



Бушуева Т.В., Минигалиева И.А., Клинова С.В., Шаихова Д.Р., Береза И.А., Амромина А.М., Мажаева Т.В., Штин Т.Н., Чернова Ю.С.

## Иммунохимические, цитогенетические изменения и генетический полиморфизм у детей, проживающих в условиях воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды

ФБУН «Екатеринбургский медицинский – научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия

**Введение.** Приоритетным направлением развития гигиенической науки является изучение биомаркеров эффектов восприимчивости и чувствительности организма человека к воздействию экотоксикантов. Особую значимость приобретает изучение индивидуальной предрасположенности к действию химических веществ на ДНК и иммунную систему.

**Цель исследования** – оценить иммунохимические, цитогенетические изменения и генетический полиморфизм у детей, проживающих в условиях воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды.

**Материалы и методы.** Исследовали иммунохимические маркерные и функционально-метаболические изменения в специализированных клетках, показатели адаптационного статуса организма и ксеногенной интоксикации у детей, находящихся под воздействием неблагоприятных факторов окружающей среды. Генетический полиморфизм определяли по двум генам детоксикации (*GSTP1*, *SOD2*). Токсическую нагрузку оценивали по концентрации в крови тяжёлых металлов.

**Результаты.** Выявлено наличие аутоантител к печени, нервной системе у 100% детей. Низкий уровень секреторного IgA наблюдался у 27% детей. Сдержанное лизоцима в слюне свидетельствует о снижении защитной функции местного иммунитета на 37,9%. Выявлена прямая связь между концентрацией металлов в крови и генетической нестабильностью в соматических клетках буккального эпителия. Полиморфизм *Pe105Val* гена *GSTP1* и полиморфизм *Ala16Val* гена *SOD2* выявлен у 45,9 и 28,4% детей соответственно.

**Ограничения исследования.** В данной работе представлены результаты обследования детей в возрасте от 3 до 6 лет с аллергопатологией, посещающих одно детское дошкольное учреждение. Отсутствие контрольной группы не позволяет провести полноценный сравнительный анализ результатов исследования у детей с аллергическими заболеваниями и без них, а также сопоставление аналогичных параметров у детей, проживающих в экологически благополучном районе.

**Заключение.** Выявлены иммунохимические, цитогенетические изменения и генетический полиморфизм у детей.

**Ключевые слова:** экспозиция к металлам; аллергия; маркеры интоксикации тяжёлыми металлами

**Соблюдение этических стандартов.** На исследование было получено разрешение локального этического комитета ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора (№ 5 от 27.12.2021 г.).

**Согласие пациентов.** Каждый участник исследования (или его законный представитель) дал информированное добровольное письменное согласие на участие в исследовании и публикацию персональной медицинской информации в обезличенной форме в журнале «Гигиена и санитария».

**Для цитирования:** Бушуева Т.В., Минигалиева И.А., Клинова С.В., Шаихова Д.Р., Береза И.А., Амромина А.М., Мажаева Т.В., Штин Т.Н., Чернова Ю.С. Иммунохимические, цитогенетические изменения и генетический полиморфизм у детей, проживающих в условиях воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды. *Гигиена и санитария*. 2022; 101(12): 1555-1561. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-12-1555-1561> <https://elibrary.ru/lqeqgt>

**Для корреспонденции:** Бушуева Татьяна Викторовна, канд. мед. наук, зав. научно-производственным отд. лабораторно-диагностических технологий, ст. науч. сотр. ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург. E-mail: bushueva@ymrc.ru

**Участие авторов:** Бушуева Т.В. – концепция и дизайн исследования, анализ и интерпретация результатов, обзор литературы; Минигалиева И.А. – концепция и дизайн исследования; Клинова С.В. – обзор литературы, написание текста; Шаихова Д.Р. – сбор данных, анализ и интерпретация результатов, обзор литературы, написание текста; Береза И.А. – сбор данных, анализ и интерпретация результатов, обзор литературы, написание текста; Амромина А.М. – сбор данных, анализ и интерпретация результатов, обзор литературы, написание текста; Мажаева Т.В. – концепция и дизайн исследования, сбор данных, анализ и интерпретация результатов, обзор литературы, написание текста; Штин Т.Н. – сбор данных, написание текста; Чернова Ю.С. – обзор литературы, написание текста. Все соавторы – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

**Финансирование.** Исследование не имело финансовой поддержки.

Поступила: 27.10.2022 / Принята к печати: 08.12.2022 / Опубликовано: 12.01.2023

Tatiana V. Bushueva, Ilzira A. Minigalieva, Svetlana V. Klinova, Daria R. Shaikhova, Ivan A. Bereza, Anna M. Amromina, Tatiana V. Mazhaeva, Tatiana N. Shtin, Julia S. Chernova

## Immunochemical, cytogenetic changes and genetic polymorphism in children living under the exposure to unfavourable environmental factors

Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation

**Introduction.** Studies of biomarkers of effects of susceptibility and sensitivity of the human body to exposure to environmental toxicants are a priority in the development of the hygiene science, individual predisposition to adverse effects of chemicals on DNA and the immune system being of special importance. **The objective of our study** was to assess immunochemical, cytogenetic changes and genetic polymorphism in children exposed to environmental hazards.

**Materials and methods.** We examined immunochemical marker and functional metabolic changes in selected cells, indicators of the adaptive status of the body and xenogenic poisoning of children environmentally exposed to heavy metals. Gene polymorphism was determined by two detoxification genes (*GSTP1* and *SOD2*). Poisoning was assessed by blood levels of heavy metals.

**Results.** We revealed the presence of autoantibodies to the liver and nervous system in 100% of children. A low level of secretory IgA was observed in 27% of children. The salivary lysozyme level indicates a decrease in the protective function of local immunity by 37.9%. We established a direct relationship between the blood levels of heavy metals and genetic instability in somatic cells of the buccal epithelium. The Ile105Val polymorphism of the *GSTP1* gene and the Ala16Val polymorphism of the *SOD2* gene were found in 45.9% and 28.4% of children, respectively.

**Limitations.** The paper presents the results of a survey of 3 to 6 years children with allergies attending one preschool. The absence of a control cohort prevents us from comparing our findings with those that could have been obtained for children without allergies and/or living in pollution-free areas.

**Conclusion.** The immunochemical and cytogenetic changes, as well as the genetic polymorphism observed in children are most likely associated with adverse health effects of environmental hazards.

**Keywords:** heavy metal exposure; allergies; markers of heavy metal poisoning

**Compliance with ethical standards.** Study approval was provided by the Local Ethics Committee.

**Patient consent.** Each participant of the study (or his/her legal representative) gave informed voluntary written consent to participate in the study and publish personal medical information in an impersonal form in the journal "Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)".

**For citation:** Bushueva T.V., Minigalieva I.A., Klinova S.V., Shaikhova D.R., Bereza I.A., Amromina A.M., Mazhaeva T.V., Shtin T.N., Chernova J.S. Immunochemical, cytogenetic changes and genetic polymorphism in children living under the exposure to unfavourable environmental factors. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2022; 101(12): 1555-1561. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-12-1555-1561> <https://elibrary.ru/lqeqtg> (In Russian)

**For correspondence:** Tatiana V. Bushueva, MD, PhD, Head of the Research and Production Department of Laboratory and Diagnostic Technologies, Senior Researcher of Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation. E-mail: bushueva@ymrc.ru

#### Information about the authors:

Bushueva T.V., <https://orcid.org/0000-0002-5872-2001>  
Klinova S.V., <https://orcid.org/0000-0002-0927-4062>  
Bereza I.A., <https://orcid.org/0000-0002-4109-9268>  
Mazhaeva T.V., <https://orcid.org/0000-0002-8566-2446>  
Chernova J.S., <https://orcid.org/0000-0002-4248-8118>

Minigalieva I.A., <https://orcid.org/0000-0002-1871-8593>  
Shaikhova D.R., <https://orcid.org/0000-0002-7029-3406>  
Amromina A.M., <https://orcid.org/0000-0001-8794-7288>  
Shtin T.N., <https://orcid.org/0000-0002-8846-8016>

**Contribution:** Bushueva T.V. – study conception and design, analysis and interpretation of results, literature review; Minigalieva I.A. – study conception and design; Klinova S.V. – literature review, draft manuscript preparation; Shaikhova D.R. – data collection, analysis and interpretation of results, draft manuscript preparation; Bereza I.A. – data collection, analysis and interpretation of results, literature review, draft manuscript preparation; Amromina A.M. – data collection, analysis and interpretation of results, literature review, draft manuscript preparation; Mazhaeva T.V. – study conception and design, data collection, analysis and interpretation of results, literature review, draft manuscript preparation; Shtin T.N. – data collection, draft manuscript preparation; Chernova J.S. – literature review, draft manuscript preparation. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of its final version.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgement.** The study had no sponsorship.

Received: October 27, 2022 / Accepted: December 8, 2022 / Published: January 12, 2023

## Введение

Актуальность исследования биомаркеров эффектов восприимчивости и чувствительности организма человека к воздействию экотоксикантов определяется появлением новых научных технологий, позволяющих изучать механизмы действия на клеточном и геномном уровнях, метаболомный и протеомный профили, полиморфизм генов. Особую значимость для гигиенической науки приобретает выявление индивидуальной предрасположенности к действию химических веществ на иммунную систему.

В организме здорового человека происходит постоянный синтез аутоантител (ауто-АТ), которые участвуют в клиренсе продуктов обмена веществ и регуляции функционирования различных клеток [1].

Избирательное изменение иммунореактивности специфичных антител свидетельствует о стойком расстройстве функциональной деятельности определённых органов и систем, ассоциированном с клинической манифестацией любого заболевания. Появление ауто-АТ связано с аномалией сывороточной иммунореактивности. Выявление стойких аномалий в сывороточном содержании маркерных ауто-АТ определённой специфичности позволяет оценить характер изменений, происходящих в организме человека. Согласно исследованиям, совокупность ауто-АТ формирует образ, отражающий особенности молекулярного состава тела человека [2].

Воздействие факторов окружающей среды на биологические процессы изучается в течение многих лет, однако основной молекулярный механизм влияния окружающей среды на долгосрочную регуляцию генов изучен недостаточно [3].

Исследование индивидуального ответа на воздействие среды обитания, которое зависит и от генетических особенностей индивидуума, остаётся актуальным в регионах, где развитая промышленность формирует риски негативного

влияния факторов окружающей среды на население. Распространённость на таких территориях аллергических заболеваний у детей вызывает особую озабоченность и требует выявления триггеров запуска метаболических нарушений [4, 5].

Система обезвреживания токсикантов с участием *GSTs* и глутатиона играет значительную роль в формировании резистентности организма к различным воздействиям и является надёжным защитным механизмом клетки. В то же время *SOD2* связывается с супероксидными побочными продуктами окислительного фосфорилирования, превращая их в перекись водорода и двухатомный кислород [6].

Полиморфизмы в генах, кодирующих данные белки, могут оказывать существенное влияние на восприимчивость организма к вредным факторам окружающей среды. Таким образом, исследование полиморфизмов *GSTP1* и *SOD2* у наиболее восприимчивых групп населения является актуальным в регионах с высокой токсической нагрузкой.

**Цель исследования** – оценить иммунохимические, цитогенетические изменения и генетический полиморфизм у детей, проживающих в условиях воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды.

## Материалы и методы

Исследование проводилось в 2021 г. в дошкольном образовательном учреждении г. Нижнего Тагила Свердловской области среди 89 детей в возрасте 3–6 лет с аллергопатологией. Изучение иммунохимических маркерных и функционально-метаболических изменений в специализированных клетках основных органов и систем тела человека (нервной системы, миокарда, печени, почек, лёгких, стенок желудка, кишечника, щитовидной железы, поджелудочной железы, надпочечников, тромбоцитов, эндотелия сосудов) осуществлялось методом иммуноферментного анализа

Таблица 1 / Table 1

**Частота встречаемости некоторых тканевых аутоантител у обследованных детей, %**  
**Frequency of occurrence of select tissue autoantibodies in the examined children, %**

Маркер Marker	Соответствует норме Corresponds to norm	Выше допустимой нормы Above the norm	Ниже допустимой нормы Below the norm
β2GP – основной фосфолипидсвязывающий белок плазмы крови β2GP – Major phospholipid-binding plasma protein	8	68	24
Fc-IgG – константный фрагмент молекулы иммуноглобулинов класса IgG Fc-IgG – constant fragment of IgG molecules	3	73	24
LuMS – антиген клеток паренхимы лёгких LuMS – antigen of lung parenchyma cells	5	55	40
KiMS – мембранный антиген клеток клубочков почек KiMS – membrane antigen of renal glomerular cells	0	73	27
ADRM – антиген мембран клеток надпочечников ADRM – adrenal cell membrane antigen	45	53	2
GaM – антиген мембран клеток желудка GaM – gastric cell membrane antigen	55	45	0
ItM – антиген мембран клеток тонкого кишечника ItM – small intestine cell membrane antigen	63	37	0
ScM – антиген мембран клеток толстого кишечника ScM – colonic cell membrane antigen	5	68	27
HMMP – специфический компонент мембран митохондрий печени HMMP – specific component of liver mitochondrial membranes	0	68	32
Инсулин / Insulin	0	75	25
Инсулиновые рецепторы отвечают за передачу сигнала от инсулина внутрь клетки Insulin receptors are responsible for transmitting the signal from insulin into the cell	8	65	27
Тироглобулин / Thyroglobulin	3	75	22

«Эли-Висцero-Тест-24» на содержание 24 аутоантител, которые появляются в сыворотке крови при развитии хронической патологии, что позволяет выявить ранние предвестники патологических перестроек организма [1]. Параметры местного иммунитета оценивали по уровню секреторного иммуноглобулина A (sIgA) и активности лизоцима в ротовой жидкости. sIgA определяли методом иммуноферментного анализа с применением наборов АО «Вектор-Бест» в соответствии с инструкцией производителя, регистрацию результатов проводили с использованием планшетного ридера Epoch (BioTek). Определение активности лизоцима проводили нефелометрическим методом с использованием культуры *Micrococcus lysodeikticus*.

Для оценки адаптационного статуса организма и ксеногенной интоксикации детей применяли цитоморфологическое исследование буккального эпителия слизистой полости рта детей. Определяли цитогенетические показатели (микроядра, протрузии, ядро с атипичной формой), пролиферации (мост между ядрами, многоядерные клетки, ядра с центральной перетяжкой) и деструкции ядра (вакуолизация ядра, кариорексис, кариопикноз, кариолизис, апоптозные тела), которые интерпретировали по литературным данным [7]. Анализ проводили на 1000 клеток, как описано в литературе [8–10].

У 74 детей из общей когорты производили забор буккального эпителия по стандартной методике. Выделение ДНК проводили с помощью набора Lumipure (Lumiprobe, Россия) из буккального эпителия. Определение полиморфизма Ile105Val гена *GSTP1* и полиморфизма Ala16Val гена *SOD2* методом qPCR производили с помощью готового коммерческого набора «SNP-Скрин» (НПК «Синтол», Россия).

Массовая концентрация металлов (Pb, Cd, Cr, Ni, Cu, Al, As, V, Mn, Co, Zn, Hg, Mg) в крови детей определяли методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой.

Математическую обработку данных проводили в Microsoft Excel, статистическую – с помощью SPSS Statistics 20.

## Результаты

Данные «Эли-Висцero-Теста-24» показали, что у 90% детей показатель средней иммунной активности снижен, при этом 50% детей имели признаки воспалительного процесса, а также аутоантитела к мембранам слизистой желудка и тонкого кишечника.

Частота встречаемости антител к различным органам и системам у обследованных детей отражена в табл. 1.

У обследованных детей выявлены признаки патологических изменений дегенеративного характера в лёгких (LuMS) и паренхиме почек (KiMS). Повышенный уровень ауто-АТ к клеткам надпочечников (ADRM) у 53% детей свидетельствует о состоянии активного стресса, а у 3% – о затухающем стрессе. У обследованных детей в 100% случаев выявлены повышенные уровни ауто-АТ HMMP, что может быть признаком нарушения процессов детоксикации в печени. Выявлены маркеры патологии нервной системы (белок S100) в 100% наблюдений, щитовидной железы (ауто-АТ к тироглобулину у 97% детей и у 68% – к рецепторам тиреотропного гормона).

Считается, что секреторный IgA (sIgA) играет ключевую роль в здоровом иммунном ответе на аллергены слизистой оболочки и является биологическим маркером реакции организма на агрессивные факторы внешней среды (экологическое неблагополучие, стресс, неполноценное питание, инфекции, бесконтрольное применение антибиотиков и химиотерапевтических препаратов) [11]. Активация антигенпрезентирующих клеток, которые усиливают процесс трансформации В-лимфоцитов в плазматические клетки, приводит к увеличению синтеза данного типа антител. Низкий уровень секреторного IgA на слизистых оболочках способствует беспрепятственному проникновению аллергенов через слизистые оболочки респираторного и желудочно-кишечного тракта и свидетельствует об уменьшении защитных ресурсов организма [12]. Среднее значение sIgA в группе

Таблица 2 / Table 2

**Цитогенетические и кариологические показатели клеток буккального эпителия детей, %о (расчёт на 1000 клеток)**  
**Cytogenetic and karyological parameters of children's buccal epithelial cells, %о (per 1,000 cells)**

Показатель / Parameters		Значения, %о / Values, %о
Цитогенетические показатели Cytogenetic parameters	Микроядра (МЯ) / Micronuclei (MN)	2.55 ± 0.37
	Протрузии (ПР) / Protrusions (P)	2.56 ± 0.23
	Частота клеток с цитогенетическими повреждениями (сумма МЯ и ПР) Frequency of cells with cytogenetic damage (MN + P)	5.11 ± 0.46
	Ядро атипичной формы / Atypical nucleus	6.72 ± 0.44
Показатели пролиферации Cell proliferation parameters	Мост между ядрами / Internuclear bridge	0.43 ± 0.07
	Двухъядерные, многоядерные клетки / Binucleated and multinucleated cells	4.85 ± 0.34
	Ядра с центральной перетяжкой / Nuclei with a central constriction	2.65 ± 0.27
Показатели деструкции ядра Parameters of nucleus destruction	Вакуолизация ядра Nucleus vacuolization	99.45 ± 4.55
	Ранняя деструкция ядра Early nucleus destruction	
Завершение деструкции ядра Completion of nucleus destruction	Кариорексис / Karyorrhexis	10.91 ± 1.03
	Кариопикноз / Karyopyknosis	54.79 ± 2.69
	Кариолизис / Karyolysis	8.18 ± 0.68
	Апоптозные тела / Apoptotic bodies	12.54 ± 0.99

соответствовало 159,5 мг/л при норме 70–250 мг/л, однако у 52,8% детей показатель имел отклонения, в том числе у 27% обследованных он был ниже нормы.

Выявленное снижение активности лизоцима слюны в среднем на 37,9% от рекомендуемой нормы свидетельствует о формировании иммунной недостаточности защитного барьера слизистой.

Цитогенетические и кариологические показатели клеток буккального эпителия детей свидетельствуют о высокой генетической нестабильности в соматических клетках (табл. 2).

Встречаемость ядер атипичной формы отмечается у 85 из 89 обследованных детей (95,5%). Клетки с цитогенетическими повреждениями по сумме микроядер (МЯ) и протрузий (ПР) обнаружены у 83 из 89 детей (93,3%).

Изменения показателей пролиферации (двухъядерные или многоядерные клетки) встречаются у 85 из 89 (95,5 %) детей, ядра с центральной перетяжкой – у 75 из 89 (84,3%) детей, мост между ядрами – у 30 из 89 (33,7%) детей (см. ри-

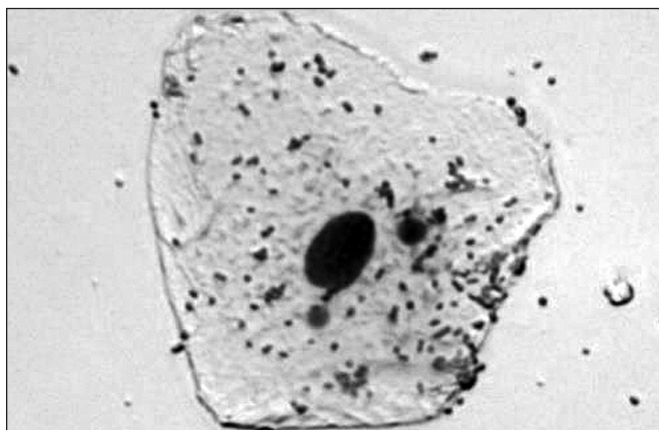
сунок). Деструкция ядра по показателям вакуолизации ядра, кариопикнозу, апоптозным телам выявлена у 100% обследованных детей, по кариорексису – у 88 из 89 детей (98,9%), по кариолизису – у 85 из 89 детей (95,5%).

Результаты исследования полиморфизма гена *GSTP1*, кодирующего белок из семейства глутатион-S-трансфераз, которые детоксифицируют широкий спектр эндогенных токсинов и токсинов окружающей среды, свидетельствуют о наличии G/G гомозиготного носительства делеции гена у 6,8% детей, что может быть связано с отсутствием функционирующего фермента глутатион-S-трансферазы, а гетерозиготная форма полиморфизма (A/G), ассоциированная со снижением активности фермента, обнаружена у 45,9% детей (табл. 3). Вариант гомозиготного носительства T/T гена *SOD2*, свидетельствующий о нормальной активности фермента митохондриальной супероксиддисмутазы, наблюдался всего у 22,9% детей исследуемой группы, а наличие гомозиготного носительства (C/C), ассоциированного с отсутствием функционирующего фермента, выявлено у 28,4% детей.

Таблица 3 / Table 3

**Распределение частот генотипов и аллелей у детей**  
**Genotype and allele frequency distribution in children**

Ген Gene	Генотипы и аллели Genotypes and alleles	Частота, % Frequency, %
<i>GSTP1</i>	Генотип (genotype) A/A	47.3
	Генотип (genotype) A/G	45.9
	Генотип (genotype) G/G	6.8
	Аллель (allele) A	70.3
	Аллель (allele) G	29.7
<i>SOD2</i>	Генотип (genotype) T/T	22.9
	Генотип (genotype) T/C	48.7
	Генотип (genotype) C/C	28.4
	Аллель (allele) C	52.7
	Аллель (allele) T	47.3



Клетка буккального эпителия с двумя микроядрами (метод окраски микропрепарата по Романовскому–Гимзе, микроскопия при увеличении ×400).

A buccal epithelial cell with two micronuclei (Romanowsky–Giemsa staining, 400×).

Несмотря на отсутствие референтных значений концентрации металлов в крови у здоровых детей, проживающих в Свердловской области, в медицинской литературе описаны результаты комплексной оценки состояния здоровья и определены значения для металлов, не оказывающие значимого влияния на детский организм [13]. Результаты нашего исследования показали, что средняя концентрация металлов в крови детей обследованной группы превышает значения, при которых отклонения в состоянии здоровья минимальны (для свинца – на 23,6%, никеля – в 1,7 раза, кобальта – в 2 раза, кадмия – в 2,4 раза). Повышенные концентрации свинца обнаружены у 24,7% детей, никеля – у 23,6%, кадмия – у 22,5%, кобальта – у 21,3%.

Статистический анализ данных позволил выявить прямую слабую корреляционную связь между концентрацией мышьяка в крови детей и наличием цитогенетических изменений букального эпителия, а именно: ядер атипичной формы ( $r = 0,34$ ;  $p < 0,01$ ), протрузии ( $r = 0,28$ ;  $p < 0,05$ ), частоты обнаружения клеток с цитогенетическими повреждениями ( $r = 0,27$ ;  $p < 0,05$ ) и кариолизисом ( $r = 0,26$ ;  $p < 0,01$ ). Также выявлена связь концентрации ванадия с наличием моста между ядрами ( $r = 0,56$ ;  $p < 0,01$ ); концентрации марганца – с количеством апоптозных тел ( $r = 0,46$ ;  $p < 0,01$ ), ядер атипичной формы ( $r = 0,31$ ;  $p < 0,05$ ), наличием кариопикноза ( $r = 0,38$ ;  $p < 0,01$ ); концентрации никеля – с наличием кариопикноза ( $r = 0,52$ ;  $p < 0,01$ ); концентрации хрома – с количеством ядер с центральной перетяжкой ( $r = 0,50$ ;  $p < 0,01$ ); концентрации свинца – с двухъядерными, многоядерными клетками ( $r = 0,39$ ;  $p < 0,01$ ).

## Обсуждение

Для оценки вреда, причинённого здоровью в результате химического загрязнения окружающей среды, в науке используются разные подходы, основанные на изучении определённых маркеров в биоматериалах. По данным литературы, у значительной части населения Европы в биологических пробах обнаруживается накопление кадмия и свинца в концентрациях выше национальных референтных значений. Тем не менее установление любого «порога воздействия» является произвольным, поскольку не существует «безопасного» уровня воздействия: даже низкие уровни экспозиции негативно воздействуют на здоровье человека, а нижний порог отрицательного влияния не определён [8, 14]. В наших исследованиях у каждого четвёртого ребёнка концентрации в крови свинца, кадмия, никеля, кобальта превышали в несколько раз среднеобластные значения, при этом патологические цитогенетические повреждения соматических клеток букального эпителия выявлены в 95,5% наблюдений, что может свидетельствовать о влиянии токсических факторов на детей.

Средние значения частоты встречаемости клеток с микроядрами и протрузиями, а также с цитогенетическими повреждениями у обследованных детей (см. табл. 2) составляли  $2,55 \pm 0,37$ ,  $2,56 \pm 0,23$  и  $5,11 \pm 0,46\%$  соответственно, что существенно выше по сравнению со здоровыми детьми (по данным ряда исследователей) и совпадает с показателями детей с аллергическим дерматитом и бронхиальной астмой по результатам авторов, проводивших этот тест [15]. Например, по данным Сычевой Л.П. с соавт. [16], частота встречаемости клеток с микроядрами, протрузиями и цитогенетическими нарушениями в группе условно здоровых детей (Тульская область), не страдающих хроническими заболеваниями, без патологии бронхолёгочной системы и аллергических реакций, составляет соответственно  $0,66 \pm 0,09$ ,  $0,99 \pm 0,12$  и  $1,66 \pm 0,16\%$ . Результаты, полученные Мейер А.В. и соавт. [17], свидетельствуют о том, что у детей, проживающих в г. Ташкенте (Республика Узбекистан), данные показатели существенно ниже по сравнению с выявленными в нашем исследовании и составляют  $0,40 \pm 0,07$ ,  $2,95 \pm 0,36$  и  $3,35 \pm 0,38\%$  соответственно для

частоты встречаемости клеток с микроядрами, протрузиями и цитогенетическими нарушениями. За фоновый уровень в данном исследовании принимались дети сельской местности (с. Красное, Республика Узбекистан): частота встречаемости клеток с микроядрами, протрузиями и цитогенетическими нарушениями составила соответственно  $0,22 \pm 0,07$ ,  $1,73 \pm 0,26$  и  $1,92 \pm 0,27\%$ . У детей, проживающих в сельских населённых пунктах Кемеровской области, частота встречаемости клеток с микроядрами, протрузиями и цитогенетическими нарушениями составляет  $0,42 \pm 0,11$ ,  $1,68 \pm 0,22$  и  $2,14 \pm 0,30\%$  соответственно [18]. Сопоставимая частота встречаемости клеток с микроядрами и клеток с протрузиями у обследованных нами детей Нижнего Тагила указывает на влияние большого числа стрессовых факторов, среди которых большое значение имеет загрязнение окружающей среды промышленными токсикантами, в том числе канцерогенами. Дети дошкольного возраста являются наиболее чувствительной группой населения, их иммунитет как защитная система организма не полностью сформирован, поэтому наличие в клетках букального эпителия цитогенетических нарушений служит индикатором недостаточной способности иммунной системы нивелировать различного рода стрессы (включая высокую токсическую нагрузку, что выявлено нами по уровню содержания металлов в крови) [19–21].

Отклонения показателей иммунной системы, а именно повышенный уровень ауто-АТ к клеткам надпочечников (ADRM) у 56% детей, могут свидетельствовать о состоянии активного или затухающего стресса [22, 23].

Считается, что ещё один показатель, секреторный IgA (sIgA), играет ключевую роль в формировании здорового иммунного ответа на аллергены слизистой оболочки и является биологическим маркером реакции организма на агрессивные факторы внешней среды (экологическое неблагополучие, стресс, неполноценное питание, инфекции, бесконтрольное применение антибиотиков и химиотерапевтических препаратов) [11]. Активация антигенпрезентирующих клеток, которые усиливают процесс трансформации В-лимфоцитов в плазматические клетки, приводит к увеличению синтеза данного иммуноглобулина. Низкий уровень секреторного IgA на слизистых оболочках способствует беспрепятственному проникновению аллергенов через естественные барьеры респираторного и желудочно-кишечного тракта [8].

Патология желудочно-кишечного тракта у обследованных детей проявляется повышенным образованием антител к париетальным клеткам желудка (GaM), клеткам стенки тонкого кишечника (ItM) и стенки толстого кишечника (ScM). Считается, что повышение образования аутоантител этих классов связано с воспалением слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, формированием острого гастрита, дуоденита и может свидетельствовать о непереносимости глютена. Возможно, эти процессы поддерживают аллергические заболевания и иммунную недостаточность, диагностированные у детей [1, 21].

Признаком нарушения процессов детоксикации в печени являются повышенные уровни ауто-АТ HMMP у всех обследованных детей. Антимитохондриальные антитела направлены против ферментов окислительного фосфорилирования внутренней мембраны митохондрий клеток печени. Накопление аутоантител происходит при развитии дегенеративных изменений в паренхиме печени [22]. *GSTP1* участвует в детоксикации ксенобиотиков, вызывая воспаление, окислительный стресс, и в сочетании с воздействием токсикантов формирует повышенный риск сенсибилизации к любому аллергену. Замена одной аминокислоты в *SOD2* вызывает снижение доступности MnSOD в митохондриальном матриксе, что приводит к неэффективной конверсии супероксида в менее токсичные формы. Можно предположить, что снижение детоксикационной способности усугубляется полиморфизмом генов *GSTP1* и *SOD2* и нерациональным питанием [23].

## Заключение

По результатам оценки иммунохимических и цитогенетических изменений у детей можно судить о снижении защитной функции местного иммунитета, который является первым барьером при контакте с аллергенами и тяжёлыми металлами, проникающими в организм из окружающей среды. Выявленный у всех обследованных детей избыток антител часто указывает на дегенеративные изменения в паренхиме печени, что нарушает её детоксикационную функцию. Полиморфизм генов *GSTP1* и *SOD2*, влияя на качественные и количественные функциональные свойства ферментов детоксикации, может повышать накопление токсических металлов и метаболитов, оказывая отри-

цательное действие на состояние здоровья. Циркуляция тяжёлых металлов в крови провоцирует избыток АФК при недостаточной активности фермента, кодируемого *SOD2*, что способно привести к накоплению перекисных анионов, участвующих в процессе перекисного окисления клеточных мембран и ДНК. Окислительный стресс может влиять на состояние ядерного хроматина и вызывать изменение экспрессии генов, приводя к одноцепочечным и (или) двухцепочечным разрывам ДНК.

Результаты проведённого нами обследования детей, проживающих в экологически неблагоприятном городе, свидетельствуют о возможном участии тяжёлых металлов в формировании нарушений функционального состояния органов и систем.

## Литература

(п.п. 3–6, 11, 14, 21–23 см. References)

1. Поletaev A.B., Churilov L.P. Физиологическая иммунология, аутоиммунитет и здоровье. *Вестник Международной академии наук (Русская секция)*. 2009; (1): 11–6.
2. Хритоненко Т.В. Новые подходы к раннему выявлению патологических изменений в организме человека. *Вестник Клинической больницы № 51*. 2010; (10): 49–51.
3. Дерюгина А.В., Ивашенко М.Н., Игнатъев П.С., Самоделькин А.Г., Белов А.А., Гушин В.А. Оценка генотоксических эффектов в буккальном эпителии при нарушениях адаптационного статуса организма. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018; 63(5): 290–2. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-5-290-292>
4. Левински М.В., Калаев В.Н., Буторина А.К. Анализ встречаемости клеток с микроядрами в буккальном эпителии и уровень сывороточных антител среди детского и взрослого населения, проживающего в различных районах города Кшиинева. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2008; (2): 12–6.
5. Сычева Л.П., Киселев С.М., Шандала Н.К. Применение буккального микроядерного цитомного теста для оценки состояния здоровья объектов ядерного наследия. *Гигиена и санитария*. 2021; 100(4): 339–46. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-4-339-346>
6. Кривоша Е.К., Юрченко В.В., Ингель Ф.И., Юрцева Н.А., Синицына Е.Р., Макарова А.С. Применение цитомного анализа буккального эпителии в системе гигиенической оценки условий обучения студентов разных факультетов одного вуза. *Гигиена и санитария*. 2018; 97(2): 179–87. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2018-97-2-179-187>
7. Лесниченко Д.А. Уровни секреторного иммуноглобулина у лиц с аллергией к бытовым клещам. *Медицинская иммунология*. 2017; 19(S): 130.
8. Плотникова И.А. *Комплексный подход к оценке состояния здоровья и эффективности реабилитационных мероприятий у детей, проживающих в условиях воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды*: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. Екатеринбург; 2011.
9. Панина А.И. Микроядерный тест как метод оценки стабильности генома детей с аллергическими заболеваниями. *Успехи современного естествознания*. 2014; (6): 81–2.
10. Сычева Л.П., Бяхова М.М., Земляная Г.М., Коваленко М.А., Шереметьева С.М. Цитогенетические показатели, пролиферация и апоптоз эпителиальных клеток у детей, больных бронхиальной астмой. *Пульмонология*. 2008; (6): 67–70.
11. Мейер А.В., Дружинин В.Г., Ларионов А.В., Толочко Т.А. Генотоксические и цитологические эффекты в буккальных эпителиоцитах детей, проживающих в экологически различных районах. *Цитология*. 2010; 52(4): 305–10.
12. Мейер А.В., Толочко Т.А., Минина В.И., Тимофеева А.А. Влияние полиморфизма генов репарации ДНК на кариологический статус клеток буккального эпителии человека при экспозиции радоном. *Экологическая генетика*. 2014; 12(1): 28–38.
13. Юрченко В.В., Кривоша Е.К., Подольная М.А., Беляева Н.Н., Малышева А.Г., Дмитриева Р.А. и др. Микроядерный тест эпителии щеки в комплексной оценке экологического благополучия детей в Москве. *Гигиена и санитария*. 2007; 96(6): 83–5.
14. Орлова В.А., Михайлова И.И., Минутко В.Л., Симонова А.В. Аномалии уровней сывороточных аутоантител к антигенам нервной ткани у больных шизофренией: мультипараметрическая иммунологическая оценка. *Социальная и клиническая психиатрия*. 2015; 25(4): 45–53.

## References

1. Poletaev A.B., Churilov L.P. Immunophysiology, natural autoimmunity and human health. *Vestnik Mezhdunarodnoy akademii nauk (Russkaya sektsiya)*. 2009; (1): 11–6. (in Russian)
2. Khritonenko T.V. New approaches to early revealing of pathological changes in the human body. *Vestnik Klinicheskoy bol'nitsy № 51*. 2010; (10): 49–51. (in Russian)
3. Guerrero-Bosagna C., Skinner M.K. Environmentally induced epigenetic transgenerational inheritance of phenotype and disease. *Mol. Cell Endocrinol*. 2012; 354(1–2): 3–8. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2011.10.004>
4. Hoffjan S., Nicolae D., Ostrovnaia I., Roberg K., Evans M., Mirel D.B., et al. Gene-environment interaction effects on the development of immune responses in the 1<sup>st</sup> year of life. *Am. J. Hum. Genet*. 2005; 76(4): 696–704. <https://doi.org/10.1086/429418>
5. Mani M.S., Kabekkodu S.P., Joshi M.B., Dsouza H.S. Ecogenetics of lead toxicity and its influence on risk assessment. *Hum. Exp. Toxicol*. 2019; 38(9): 1031–59. <https://doi.org/10.1177/0960327119851253>
6. Di Pietro G., Magno L.A.V., Rios-Santos F. Glutathione S-transferases: an overview in cancer research. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol*. 2010; 6(2): 153–70. <https://doi.org/10.1517/1742520903427980>
7. Deruygina A.V., Ivashchenko M.N., Ignat'ev P.S., Samodelkin A.G., Belov A.A., Gushchin V.A. The evaluation of genotoxic effects in buccal epithelium under disorders of adaption status of organism. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2018; 63(5): 290–2. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-5-290-292> (in Russian)
8. Levinski M.V., Kalaev V.N., Butorina A.K. The analysis of the contents of cells with micronuclear in bukkal epithelium and the level of serum antibodies among children and adult population living in various areas of city of Kishinev. *Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik «Chelovek i ego zdorov'e»*. 2008; (2): 12–6. (in Russian)
9. Sycheva L.P., Kiselev S.M., Shandala N.K. Buccal micronucleus cytome assay for the assessment health status of population living in the area of nuclear heritage. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2021; 100(4): 339–46. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-4-339-346> (in Russian)
10. Krivtsova E.K., Yurchenko V.V., Ingel' F.I., Yurtseva N.A., Sinityna E.R., Makarova A.S. Buccal micronucleus cytome assay in the system of the hygienic evaluation of learning conditions of students of different faculties of the same university. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2018; 97(2): 179–87. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2018-97-2-179-187> (in Russian)
11. Hiremath G., Olive A., Shah S., Davis C.M., Shulman R.J., Devaraj S. Comparing methods to collect saliva from children to analyze cytokines related to allergic inflammation. *Ann. Allergy Asthma Immunol*. 2015; 114(1): 63–4. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2014.09.012>
12. Lesnichenko D.A. Secretory immunoglobulin levels in individuals allergic to house mites. *Meditsinskaya immunologiya*. 2017; 19(S): 130. (in Russian)
13. Plotnikova I.A. *An integrated approach to assessing the state of health and the effectiveness of rehabilitation measures in children living under the influence of adverse environmental factors*: Diss. Ekaterinburg; 2011. (in Russian)
14. Vorkamp K., Castaño A., Antignac J.P., Boada L.D., Cequier E., Covaci A., et al. Biomarkers, matrices and analytical methods targeting human exposure to chemicals selected for a European human biomonitoring initiative. *Environ. Int*. 2021; 146: 106082. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106082>
15. Pанина А.И. Micronucleus test as a method for assessing the stability of the genome of children with allergic diseases. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*. 2014; (6): 81–2. (in Russian)
16. Sycheva L.P., Byakhova M.M., Zemlyanaya G.M., Kovalenko M.A., Sheremet'eva S.M. Cytogenetic indexes, proliferation and apoptosis in epithelial cells of children with bronchial asthma. *Pul'monologiya*. 2008; (6): 67–70. (in Russian)
17. Meyer A.V., Druzhinin V.G., Larionov A.V., Tolochko T.A. Genotoxic and cytotoxic effects in buccal cells of children living in ecologically different Kuzbass areas. *Tsitologiya*. 2010; 52(4): 305–10. (in Russian)

## Original article

18. Meyer A.V., Tolochko T.A., Minina V.I., Timofeeva A.A. Influence of DNA repair genes polymorphism of the karyology of buccal epithelium cells in humans exposed to radon. *Ekologicheskaya genetika*. 2014; 12(1): 28–38. (in Russian)
19. Yurchenko V.V., Krivtsova E.K., Podol'naya M.A., Belyaeva N.N., Malysheva A.G., Dmitrieva R.A., et al. Buccal epithelial micronuclear test in the comprehensive assessment of children's ecological well-being in Moscow. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2007; 96(6): 83–5. (in Russian)
20. Hampshire A., Trender W., Chamberlain S.R., Jolly A.E., Grant J.E., Patrick F., et al. Cognitive deficits in people who have recovered from COVID-19. *EClinicalMedicine*. 2021; 39: 101044. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.101044>
21. Orlova V.A., Mikhaylova I.I., Minutko V.L., Simonova A.V. Abnormal levels of serum autoantibodies to neuronal antigens in schizophrenic patients: multiparameter immunologic evaluation. *Sotsial'naya i klinicheskaya psikiatriya*. 2015; 25(4): 45–53. (in Russian)
22. Melén E., Nyberg F., Lindgren C.M., Berglund N., Zucchelli M., Nordling E., et al. Interactions between glutathione S-transferase P1, tumor necrosis factor, and traffic-related air pollution for development of childhood allergic disease. *Environ. Health Perspect.* 2008; 116(8): 1077–84. <https://doi.org/10.1289/ehp.11117>
23. Holla L.I., Kankova K., Vasku A. Functional polymorphism in the manganese superoxide dismutase (MnSOD) gene in patients with asthma. *Clin. Biochem.* 2006; 39(3): 299–302. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2005.12.001>