



Зайцева Н.В., Никоношина Н.А., Долгих О.В.

## Особенности иммунного профиля и полиморфизма кандидатных генов у детского населения при промышленной контаминации биосред ртутью

ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»  
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 614045, Пермь, Россия

**Введение.** Анализ негативного влияния техногенных химических веществ на здоровье детского населения промышленно развитых регионов является актуальной проблемой профилактической медицины. Избыточная кумуляция ртути в организме человека обуславливает дезадаптационные изменения иммунной регуляции физиологических процессов. Следовательно, анализ особенностей иммунного профиля, ассоциированных с полиморфными вариантами кандидатных генов как маркеров ранних нарушений состояния здоровья детского населения, является актуальным в аспекте сохранения здоровья населения промышленно развитых регионов.

**Материалы и методы.** Проведено клинико-лабораторное исследование биосред 215 детей в возрасте 4–6 лет. Группу наблюдения составили 133 человека, проживающие в условиях промышленно развитого региона. Группу сравнения составили 82 человека, проживающие на условно чистой территории. Уровень контаминации биосред ртутью определяли методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Идентификацию CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>- и CD19<sup>+</sup>-лимфоцитов проводили методом проточной цитофлуориметрии. Изучение фагоцитарной активности лейкоцитов проводили с использованием формализированных эритроцитов барана. Уровень продукции IgG определяли методом радиальной иммунодиффузии по Манчини, специфического IgG – методом аллгосорбентного тестирования с ферментной меткой. Идентификация однонуклеотидных полиморфных вариантов (SNP) генов GSTA4 (rs3756980), FOXP3 (rs3761547), метионинсинтазы MTR (rs1805087), TERT (rs10054203) проводилась методом ПЦР в режиме реального времени.

**Результаты.** Дети, проживающие вблизи предприятия химической промышленности в условиях экспозиции ртутью, не превышающей гигиенических нормативов, отличаются уровнем контаминации мочи ртутью, превышающим референтный уровень и уровень группы сравнения в 1,8 раза ( $p < 0,05$ ). Иммунный профиль детей группы наблюдения характеризуется снижением иммунорегуляторного индекса CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> за счёт CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-хелперов и гиперпродукции CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>-цитотоксических лимфоцитов, угнетением фагоцитарной активности лейкоцитов (процент фагоцитоза, фагоцитарное число, фагоцитарный индекс) на фоне повышения CD19<sup>+</sup>-лимфоцитов, сывороточного IgG и маркера специфической сенсибилизации – IgG к ртути ( $p < 0,05$ ). Изменения иммунного профиля детей с повышенным уровнем контаминации биосред ртутью ассоциированы с С-аллелем и ТС-гетерозиготным и СС-гомозиготным генотипами гена GSTA4 (rs3756980), С-аллелем и СС-генотипом гена FOXP3 (rs3761547), А-аллелем и АА-генотипом гена MTR (rs1805087) ( $OR > 1$ ;  $p < 0,05$ ), G-аллелем и GG-генотипом гена TERT (rs10054203) ( $p < 0,05$ ), отвечающими за особенности процессов детоксикации, иммунорегуляции и программы долголетия.

**Заключение.** Установленные особенности клеточного (снижение CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> за счёт дефицита CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> с одновременным повышением CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, угнетение фагоцитоза) и гуморального (гиперпродукция IgG, специфического IgG к ртути, CD19<sup>+</sup>) иммунитета, ассоциированные с полиморфными вариантами генов глутатион-S-трансферазы GSTA4 (rs3756980), фактора транскрипции FOXP3 (rs3761547), MTR (rs1805087), теломеразы TERT (rs10054203) у детей с избыточной контаминацией биосред ртутью формируют комплекс иммунных и генетических маркеров эффекта и чувствительности экспозиции ртутью.

**Ключевые слова:** иммунный профиль; полиморфизм генов; ртуть; контаминация биосред; дети

**Для цитирования:** Зайцева Н.В., Никоношина Н.А., Долгих О.В. Особенности иммунного профиля и полиморфизма кандидатных генов у детского населения при промышленной контаминации биосред ртутью. *Гигиена и санитария*. 2021; 100(10): 1133-1138. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-10-1133-1138>

**Для корреспонденции:** Долгих Олег Владимирович, доктор мед. наук, зав. отд. иммунобиологических методов диагностики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», 614045, Пермь. E-mail: oleg@fcrisk.ru

**Участие авторов:** Зайцева Н.В. – концепция и дизайн исследования, написание текста, редактирование; Никоношина Н.А. – сбор и обработка материала, написание текста, редактирование; Долгих О.В. – концепция и дизайн исследования, написание текста, редактирование. *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 спонсорской поддержки.

Поступила 06.07.2021/ Принята к печати 28.09.2021 / Опубликована 31.10.2021

Nina V. Zaitseva, Natalya A. Nikonoshina, Oleg V. Dolgikh

## Features of the immune profile and polymorphism of candidate genes in children population of an industrially developed region with excessive contamination of the biological medium with mercury

Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Perm, 614045, Russian Federation

**Introduction.** Analyzing the negative impact of technogenic chemicals on the health of the children's population of industrially developed regions is an urgent problem of preventive medicine. Excessive accumulation of mercury in the human body causes disadaptation changes in the immune regulation of physiological processes. Therefore, the analysis of the features of the immune profile associated with polymorphic variants of candidate genes as markers of early disorders of the child population's health status is relevant in preserving the health of the population of industrialized regions.

**Materials and methods.** A clinical and laboratory examination of the biological media of 215 children aged 4–6 years was carried out. The observation group consisted of 133 people living in an industrially developed region. The comparison group consisted of 82 people living in a relatively clean territory. The level of contamination of the biological medium with mercury was determined by inductively coupled plasma mass spectrometry. Identification of

*CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> -, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> - and CD19<sup>+</sup> - lymphocytes was performed by flow cytometry. The study of the phagocytic activity of leukocytes was carried out using formalized ram erythrocytes. The level of IgG production was determined using radial immunodiffusion by Mancini, specific IgG to mercury was carried out using allergosorbent testing with an enzyme label. Identification of single-nucleotide polymorphic variants (SNP) of the *GSTA4* (rs3756980), *FOXP3* (rs3761547), *MTR* (rs1805087), *TERT* (rs10054203) genes was carried out by real-time PCR.*

**Results.** Children living near the territory of the chemical industry enterprise in conditions of mercury exposure at a level not exceeding hygienic standards are characterized by an increased level of mercury contamination of urine, exceeding the reference level and the level of the comparison group by 1.8 times ( $p < 0.05$ ). The immune profile of children in the observation group is characterized by a decrease in the  $CD4^+/CD8^+$  immunoregulatory index due to the decline of  $CD3^+CD4^+$  helpers and hyperproduction of  $CD3^+CD8^+$  cytotoxic lymphocytes, inhibition of the phagocytic activity of leukocytes (percentage of phagocytosis, phagocytic number, phagocytic index) against the background of an increase in  $CD19^+$  lymphocytes, serum IgG and a marker of specific sensitization - IgG to mercury ( $p < 0.05$ ). Changes in the immune profile of children with an increased level of mercury contamination are associated with the C-allele and TC-heterozygous and CC-homozygous genotypes of the *GSTA4* gene (rs3756980), the C-allele and CC-genotype of the *FOXP3* gene (rs3761547), the A-allele and AA-genotype of the *MTR* gene (rs1805087) ( $OR > 1$ ,  $p < 0.05$ ), the G-allele and GG-genotype of the *TERT* gene (rs10054203) ( $p < 0.05$ ). These genes are responsible for the features of detoxification processes, immunoregulation and longevity programs.

**Conclusion.** The established features of cellular (decrease in  $CD4^+/CD8^+$  due to  $CD3^+CD4^+$  deficiency with simultaneous increase in  $CD3^+CD8^+$ , inhibition of phagocytosis) and humoral (hyperproduction of IgG, specific IgG to mercury,  $CD19^+$ ) immunity associated with polymorphic variants of the glutathione S-transferase *GSTA4* (rs3756980), transcription factor *FOXP3* (rs3761547), *MTR* (rs1805087), *TERT* telomerase (rs10054203) in children with excessive contamination of the biological medium with mercury, a complex of immune and genetic markers of the effect and sensitivity of mercury exposure is formed.

**Keywords:** immune profile; gene polymorphism; mercury; contamination of biological media; children

**For citation:** Zaitseva N.V., Nikonoshina N.A., Dolgikh O.V. Features of the immune profile and polymorphism of candidate genes in children population of an industrially developed region with excessive contamination of the biological medium with mercury. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2021; 100(10): 1133-1138. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-10-1133-1138>. (In Russ.)

**For correspondence:** Oleg V. Dolgikh, MD, PhD., DSci., head of the department of immunobiological diagnostic methods, Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, 614045, Russian Federation. E-mail: oleg@fcrisk.ru

#### Information about authors:

Zaitseva N.V., <https://orcid.org/0000-0002-9916-5491>

Nikonoshina N.A., <https://orcid.org/0000-0001-7271-9477>

Dolgikh O.V., <https://orcid.org/0000-0003-4860-3145>

**Contribution:** Zaitseva N.V. – concept and design of the study, writing and editing the text; Nikonoshina N.A. – collection and processing of the material, writing and editing the text; Dolgikh O.V. – concept and design of the study, writing and editing the text. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

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

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

Received: July 6, 2021 / Accepted: September 28, 2021 / Published: October 31, 2021

## Введение

Анализ негативного влияния тяжёлых металлов на здоровье населения регионов с развитой химической промышленностью является актуальной проблемой профилактической медицины. Ртуть – тяжёлый металл, вещество I класса опасности, проявляющее токсические свойства даже в малых концентрациях: обладает выраженным прямым и опосредованным нейротоксическим действием путём первичных нарушений передачи нервных импульсов, а также стимуляции образования аутоантител к клеткам-предшественникам нейронов, основному белку миелина (MBP), эндотелиальным клеткам головного мозга, рецепторам серотонина, нейротрофическому фактору головного мозга (BDNF) и миелин-ассоциированному гликопротеину (MAG) [1]. Кроме того, ртуть индуцирует функциональные изменения паренхиматозных органов, печени и почек, оказывает негативное влияние на сердечно-сосудистую систему, эндокринные железы и гонады, а также снижает уровень антиоксидантной защиты организма [2]. Избыточная кумуляция ртути как высокотоксичного тяжёлого металла в организме человека индуцирует реакции дезадаптации и, как следствие, нарушения гомеостатического равновесия. Выявленные ранние изменения нервной, гуморальной и иммунной регуляции физиологических процессов в дальнейшем могут трансформироваться в выраженные клинические синдромы обусловленных техногенными химическими факторами заболеваний [3, 4]. При этом именно детская популяция является наиболее уязвимой к изменениям качества окружающей среды по причине несовершенства адаптационных, детоксикационных и конституционально зависимых процессов в растущем организме ребенка [5, 6]. Следовательно, анализ особенностей иммунного профиля, ассоциированных с полиморфизмом генов-кандидатов как маркеров ранних нарушений состояния здоровья детского населения, является актуальным в аспекте обеспечения безопасности среды обитания и сохранения здоровья населения промышленно развитых регионов.

## Материалы и методы

Проведено клинико-лабораторное обследование детского населения региона с развитой химической промышленностью. Всего обследованы 215 детей в возрасте от 4 до 6 лет. Группу наблюдения составили 133 человека, постоянно проживающие на территории, приближённой к производственной площадке предприятия химической промышленности, ранее использовавшего металлургическую ртуть в производственном процессе. Группу сравнения составили 82 человека, проживающие на условно чистой территории. Обследованные группы сопоставимы по этническому, гендерному, возрастному составу и социальному статусу.

Исследование выполнено в соответствии с нормами, изложенными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов» 1975 года с дополнениями 1983 года, в гармонизации с Национальным стандартом Российской Федерации ГОСТ-Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика» (ICH E6 GCP). Родители или иные законные представители несовершеннолетних подписали добровольное информированное согласие на проведение обследования детей.

Определение уровня контаминации мочи ртутью как маркера экспозиции детского населения неорганической ртутью проводилось методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой на приборе Agilent 7900cx (Agilent Technologies Inc., США) в соответствии с МУК 4.1.1470-03 «Атомно-абсорбционное определение массовой концентрации ртути в биоматериалах (моче, волосах, конденсате альвеолярной влаги) при гигиенических исследованиях» [7].

Анализ популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов, включая идентификацию клеточных  $CD3^+CD4^+$ -,  $CD3^+CD8^+$ - и  $CD19^+$ -маркеров, проводили методом проточной цитофлуориметрии на приборе FACSCalibur (Becton Dickinson, США) с использованием универсальной программы CellQuestPro.

Таблица 1 / Table 1

**Особенности иммунного профиля детского населения с избыточной контаминацией биосред ртутью, проживающего в промышленно развитом регионе****Features of the immune profile of child population of an industrially developed region with excessive contamination of the biological media with mercury**

Показатель Index	Референтный уровень Reference level	Группа наблюдения Observation group <i>n</i> = 133	Группа сравнения Comparison group <i>n</i> = 82	<i>p</i>	
CD19 <sup>+</sup> -лимфоциты, %	CD19 <sup>+</sup> -lymphocytes, %	6–25	12.608 ± 0.975	11.655 ± 1.579	0.04
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> -лимфоциты, %	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> -lymphocytes, %	31–60	36.294 ± 1.809	41.862 ± 3.385	0.01
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> -лимфоциты, %	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> -lymphocytes, %	13–41	40.137 ± 2.827	30.310 ± 2.709	0.01
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> , у.е.	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> , cu	0.8–4,2	0.954 ± 0.086	1.490 ± 0.210	0.01
Процент фагоцитоза, %	Percentage of phagocytosis, %	35–60	45.811 ± 2.292	50.345 ± 2.172	0.01
Фагоцитарное число, у.е.	Phagocytic number, cu	0.8–1,2	0.856 ± 0.069	0.979 ± 0.066	0.01
Фагоцитарный индекс, у.е.	Phagocytic index, cu	1.5–2	1.813 ± 0.064	1.960 ± 0.067	0.01
IgG, г/дм <sup>3</sup>	IgG, g/ cubic dm <sup>3</sup>	10.96–16	12.327 ± 0.438	10.062 ± 1.154	0.01
IgG к ртути, у.е.	IgG to mercury, cu	0–0.1	0.209 ± 0.029*	0.152 ± 0.031	0.01

Примечание. \* – различия с референтным уровнем достоверно значимы ( $p < 0,05$ ).

Note. \* – the differences with the reference level are significantly significant ( $p < 0.05$ ).

Изучение фагоцитарной активности лейкоцитов периферической венозной крови по критериям процента фагоцитоза, фагоцитарного числа, фагоцитарного индекса и абсолютного фагоцитоза проводили с использованием формализированных эритроцитов барана.

Уровень продукции IgG определяли методом радиальной иммунодиффузии по Манчини.

Определение уровня специфической сенсибилизации к гаптанам по критерию специфического IgG к ртути проводили методом аллергосорбентного тестирования с ферментной меткой.

Для статистической обработки результатов исследования применялись методы математической статистики с помощью пакета прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft, США). Для определения характера распределения данных в исследованных выборках использовали критерий Шапиро – Уилка. Для оценки достоверности полученных данных использовали параметрический критерий Стьюдента с учётом нормального распределения переменных в сравниваемых группах. В случае отклонения от нормального распределения для сравнения данных использовали непараметрический *U*-критерий Манна – Уитни. Результаты исследования представлены в виде среднего арифметического значения (*M*) и его стандартной ошибки (*m*) изученных показателей. Различия между группами считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

У обследуемых был изучен полиморфизм SNP четырёх кандидатных генов с применением методики ПЦР в режиме реального времени на приборе CFX96 Real Time System C1000 Thermal Cycler (BioRAD, Singapur). Генетический материал был выделен из буккального соскоба при помощи комплекта реагентов для экстракции ДНК из клинического материала «АмплиПрайм ДНК-сорбВ Форма 2 вариант 100» (ООО «НекстБио» Россия) с помощью сорбентного метода. Для определения генетического полиморфизма исследуемых генов использовали тест-системы («Синтол», Россия) – наборы реагентов для определения полиморфизмов: T(-3499)C гена иммунного ответа *FOXP3* (rs3761547)4; T/C гена фермента глутатион-S-трансферазы 4a *GSTA4* (rs3756980); A2756G гена фермента метионинсинтазы *MTR* (rs1805087), C309G теломеразной обратной транскриптазы *TERT* (rs10054203). Для определения генотипа человека применяли метод аллельной дискриминации в специализированной программе TaqMan, согласно которому различия между гетерозиготами, гомозиготами полиморфных вариантов устанавливали по различиям в протекании реакций амплификации соответствующих праймеров.

Расчёт распределения частот генотипов и аллелей по равновесию Харди – Вайнберга, а также показателя отношения шансов *OR* и его 95%-го доверительного интервала (*CI*) в группах наблюдения и сравнения проводился с помощью унифицированных онлайн-программ SNPStat и Gen-Expert, используемых для расчёта статистических параметров для исследований «случай – контроль», использующих SNP-диагностику однонуклеотидных полиморфизмов.

## Результаты

Гигиеническая оценка качества объектов среды обитания обследованного контингента на территории предприятия химической промышленности позволила установить, что среднегодовые концентрации ртути не превышают установленных гигиенических нормативов. Содержание ртути в атмосферном воздухе регистрируется на уровне предела обнаружения. Максимальное содержание ртути в питьевой воде отмечается на уровне 0,0003 мг/л, тогда как ПДК ртути в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования составляет 0,0005 мг/л. Содержание ртути в почве регистрируется на уровне 0,005 мг/кг с максимальной концентрацией 0,0066 мг/кг при ПДК ртути в почве 2,1 мг/кг. В снежном покрове содержание растворимых соединений ртути в среднем не превышает фонового уровня, однако единичные максимальные значения, зафиксированные вблизи территории размещения предприятия химической промышленности, достигают 3,2Ф относительно фонового уровня [8, 9].

Результаты химико-аналитического исследования биосред детей, проживающих в селитебной зоне, расположенной на границе СЗЗ территории размещения предприятия химической промышленности, показали изменения микрэлементного состава биосред обследованного контингента. Так, в группе наблюдения был выявлен повышенный уровень контаминации мочи ртутью ( $0,00032 \pm 0,0001$  мкг/см<sup>3</sup>) по отношению к аналогичному значению в группе сравнения ( $0,00018 \pm 0,0001$  мкг/см<sup>3</sup>) и референтному уровню ( $0-0,0001$  мкг/см<sup>3</sup>) [10].

Иммунный профиль 64,7% детей с избыточной контаминацией биосред ртутью, проживающих в селитебной зоне территории размещения предприятия химической промышленности, характеризуется повышением процентного содержания цитотоксических CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов относительно группы сравнения ( $R^2 = 0,1163$ ;  $p < 0,05$ ) (табл. 1).

В то же время 74,8% детей, включённых в группу наблюдения, отличаются достоверным снижением Т-хелперов – CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов ( $R^2 = 0,7623$ ;  $p < 0,05$ ) (табл. 1, 2).



Таблица 2 / Table 2

Параметры моделей зависимости «маркер экспозиции – маркер эффекта»  
Parameters of the models of the "exposure marker – effect marker" dependence

Маркер экспозиции Exposure marker	Маркер эффекта Effect marker	Направление изменения показателя Direction of the index change	$b_0$	$b_1$	$F$	$p$	$R^2$
Ртуть (моча) Mercury (urine)	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> -лимфоциты / CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> -lymphocytes	Снижение / Decreasing	-2.77	3862.8	416.4	0.000	0.76
	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> -лимфоциты / CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> -lymphocytes	Повышение / Increasing	-1.28	457.5	18.06	0.001	0.11
	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	Снижение / Decreasing	-1.44	1336.9	87.53	0.000	0.40
	Процент фагоцитоза / Percentage of phagocytosis	Снижение / Decreasing	-4.34	4897.9	967.8	0.000	0.88
	Фагоцитарное число / Phagocytic number	Снижение / Decreasing	-0.97	882.9	159.4	0.000	0.53
	Фагоцитарный индекс / Phagocytic index	Снижение / Decreasing	-3.48	2405.08	391.3	0.000	0.74
	IgG	Повышение / Increasing	-2.04	670.6	26.91	0.000	0.40
	IgG к ртути / IgG to mercury	Повышение / Increasing	1.09	-1091.2	648.1	0.000	0.82

Примечание.  $b_0$  и  $b_1$  – параметры модели;  $F$  – критерий Фишера;  $p$  – показатель достоверности;  $R^2$  – коэффициент детерминации.  
Note.  $b_0$  and  $b_1$  – model parameters;  $F$  – the Fisher criterion;  $p$  – confidence index;  $R^2$  – coefficient of determination.

Установленное снижение фагоцитарной активности лейкоцитов по критерию процента фагоцитоза, фагоцитарного числа, фагоцитарного индекса свидетельствует об угнетении клеточного звена врождённого иммунного ответа у детей с избыточной контаминацией биосред тяжёлыми металлами по отношению к группе сравнения ( $R^2 = 0,53-0,88$ ;  $p < 0,05$ ).

Гуморальный иммунный статус детей с избыточной контаминацией биосред ртутью характеризуется повышением уровня сывороточного IgG ( $R^2 = 0,40$ ;  $p < 0,05$ ) на фоне повышения содержания В-лимфоцитов (CD19<sup>+</sup>) ( $p < 0,05$ ) относительно группы сравнения. Кроме того, установленный избыточный уровень специфического IgG к ртути у детей по отношению к группе сравнения указывает на развитие гиперсенситизации к специфическому гаптену ( $R^2 = 0,82$ ;  $p < 0,05$ ).

Установленные изменения клеточного и гуморального иммунного профиля детей с повышенным уровнем контаминации биосред ртутью, проживающих вблизи территории размещения предприятия химической промышленности, достоверно ассоциируются с полиморфными аллелями и генотипами кандидатных генов ферментов детоксикации ксенобиотиков *GSTA4* (rs3756980) и *MTR* (rs1805087), иммунного ответа – *FOXP3* (rs37615474)

и клеточной пролиферации *TERT* (rs10054203). Распределение частот аллелей (табл. 2) и генотипов (табл. 3) данных генов соответствует равновесию Харди – Вайнберга ( $p < 0,05$ ) и описывается мультипликативной (тест  $\chi^2$ ,  $df = 1$ ) и аддитивной (тест Кохрана – Армитаджа для линейных трендов,  $\chi^2 = [0,1,2]$ ,  $df = 1$ ) моделями наследования (табл. 3, 4).

Дисбаланс показателей иммунной регуляции у обследованных детей с избыточной контаминацией биосред ртутью достоверно ассоциирован с С-аллелем гена фермента глутатион-S-трансферазы 4 $\alpha$  *GSTA4* (rs3756980) за счёт значительного преобладания гетерозиготных ТС-генотипов в группе наблюдения относительно группы сравнения ( $OR > 1$ ;  $p < 0,05$ ).

Полиморфизм гена транскрипционного фактора *FOXP3* (rs3761547), обеспечивающего развитие и дифференцировку регуляторных Т-лимфоцитов (Treg), характеризуется наибольшей распространённостью вариантного С-аллеля и соответствующего гомозиготного СС-генотипа относительно группы сравнения ( $OR > 1$ ;  $p < 0,05$ ).

Генофонд детей с избыточной контаминацией биосред ртутью отличается повышенной частотой А-аллеля и соответствующего гомозиготного АА-генотипа гена фермента фолатного цикла – метионинсинтазы *MTR* (rs1805087) по отношению к группе сравнения ( $OR > 1$ ;  $p < 0,05$ ).

Таблица 3 / Table 3

Распределение частот генотипов кандидатных генов детского населения с избыточной контаминацией биосред ртутью, проживающего в промышленно развитом регионе (мультипликативная модель)

Distribution of genotype frequencies of candidate genes of the child population of an industrially developed region with excessive contamination of the biological media with mercury (multiplicative model)

SNP	Алель/генотип Allele/genotype	Группа наблюдения Observation group $n = 133$	Группа сравнения Comparison group $n = 82$	Критерий соответствия Criterion of compliance $\chi^2$	Уровень значимости level of significance $p$	Показатель отношения шансов Index the odds ratio $OR$	
						значение value	доверительный интервал confidence interval 95% CI
<i>GSTA4</i> (rs3756980)	T	0.850	0.949	5.34	0.02	0.30	0.11–0.87
	C	0.150	0.051			3.28	1.14–9.42
<i>FOXP3</i> (rs3761547)	T	0.693	0.878	8.72	0.01	0.31	0.14–0.69
	C	0.308	0.122			3.19	1.44–7.06
<i>MTR</i> (rs1805087)	A	0.850	0.700	6.45	0.01	2.43	1.21–4.87
	G	0.150	0.300			0.41	0.21–0.83
<i>TERT</i> (rs10054203)	C	0.573	0.750	6.88	0.01	0.45	0.24–0.82
	G	0.427	0.251			2.24	1.22–4.10

Таблица 4 / Table 4

**Распределение частот аллелей кандидатных генов детского населения с избыточной контаминацией биосред ртутью, проживающего в промышленно развитом регионе (аддитивная модель)****Distribution of allele frequencies of candidate genes of the child population of an industrially developed region with excessive contamination of the biological media with mercury (additive model)**

SNP	Аллель/генотип Allele/genotype	Группа наблюдения Observation group <i>n</i> = 133	Группа сравнения Comparison group <i>n</i> = 82	Критерий соответствия Criterion of compliance $\chi^2$	Уровень значимости level of significance <i>p</i>	Показатель отношения шансов Index the odds ratio <i>OR</i>	
						значение value	доверительный интервал confidence interval 95% <i>CI</i>
<i>GSTA4</i> (rs3756980)	TT	0.740	0.939	4.01	0.04	0.19	0.05–0.70
	TC	0.220	0.020			13.54	1.67–109.49
	CC	0.040	0.041			0.98	0.13–7.24
<i>FOXP3</i> (rs3761547)	TT	0.614	0.822	3.81	0.01	0.35	0.13–0.94
	TC	0.154	0.111			1.45	0.41–1.20
	CC	0.231	0.067			4.20	1.05–16.83
<i>MTR</i> (rs1805087)	AA	0.700	0.500	6.47	0.01	2.33	1.03–4.50
	AG	0.300	0.400			0.64	0.28–1.47
	GG	0	0.100			0.08	0–1.52
<i>TERT</i> (rs10054203)	CC	0.542	0.660	3.98	0.04	0.61	0.37–1.38
	CG	0.062	0.180			0.30	0.08–1.20
	GG	0.396	0.160			3.44	1.33–8.91

Кроме того, группа наблюдения характеризуется наибольшей распространённостью вариантного G-аллеля и его гомозиготного GG-генотипа гена теломеразной обратной транскриптазы *TERT* (rs10054203) относительно группы сравнения ( $OR > 1$ ;  $p < 0,05$ ).

**Обсуждение**

Иммунный профиль детского населения с избыточной контаминацией биосред ртутью, проживающего в промышленно развитом регионе, характеризуется изменениями клеточного звена иммунного ответа (снижение иммунорегуляторного индекса  $CD4^+/CD8^+$ ) на фоне активации гуморального иммунитета ( $CD19^+$ , IgG), что указывает на признаки хронического воспаления в результате непосредственного иммунотоксического действия ртути [11, 12].

Выявленные ассоциации изменения показателей иммунной регуляции у детей с избыточной контаминацией биосред ртутью с полиморфными вариантами кандидатных генов обуславливают изменения процессов детоксикации ксенобиотиков, клеточной пролиферации и иммунного ответа. Так, фермент глутатион-S-трансфераза — продукт экспрессии гена *4a GSTA4* (rs3756980), обладая глутатион-пероксидазной активностью, участвует в детоксикации продуктов перекисного окисления липидов, являясь важным компонентом антиоксидантной системы, а также регулирует апоптоз дифференцированных олигодендроцитов, оказывая нейропротективное действие. Вариантный C-аллель данного гена ассоциирован со сниженной функциональной активностью фермента и, как следствие, с угнетением антиоксидантной защиты организма и снижением нейропротективного потенциала, что имеет особое значение при избыточной контаминации биосред ртутью как нейротоксикантом в условиях оксидативного стресса [13, 14].

По данным литературы, C-аллель гена *FOXP3* (rs3761547) обуславливает снижение функциональной активности продукта экспрессии, что влечёт за собой нарушение процессов иммуносупрессии, а также угнетение Fas-FasL-опосредованного апоптоза и ослабление противоопухолевой защиты организма [15, 16].

Одновременно вариантный G-аллель гена теломеразной обратной транскриптазы *TERT* (rs10054203) ассоциируется с нарушениями репликации и репарации ДНК, клеточной пролиферации и апоптоза и, как следствие, с повышенным риском гиперпролиферативных заболеваний, включая злокачественные опухоли [17, 18].

Полиморфизм гена *MTR* (rs1805087) в обследованной выборке характеризуется повышенной частотой A-аллеля дикого типа. Продукт экспрессии данного гена — метионинсинтаза является ключевым ферментом фолатного цикла, метаболизирующим реметилирование гомоцистеина с образованием метионина, что минимизирует возможное негативное влияние на сердечно-сосудистую систему в результате гипергомоцистеинемии в условиях окислительного стресса [19, 20]. Таким образом, полиморфно изменённые участки генов ферментов детоксикации формируют предрасположенность к развитию заболеваний нервной, сердечно-сосудистой систем и онкопролиферативных состояний.

**Заключение**

В результате химико-аналитического исследования установлены изменения микроэлементного состава биосред детского населения, проживающего вблизи предприятия химической промышленности, характеризующиеся избыточным уровнем контаминации мочи ртутью.

Клинико-лабораторный анализ проб крови обследованного контингента позволил определить комплекс особенностей клеточного и гуморального иммунного профиля детского населения промышленно развитого региона с избыточной контаминацией биосред ртутью, ассоциированных с полиморфными вариантами генов детоксикации ксенобиотиков, клеточного цикла и иммунного ответа.

Клеточное звено иммунного ответа у детей с избыточной контаминацией биосред ртутью характеризуется снижением иммунорегуляторного индекса  $CD4^+/CD8^+$  на фоне дефицита Т-хелперов ( $CD3^+CD4^+$ ) и избыточного содержания цитотоксических Т-лимфоцитов ( $CD3^+CD8^+$ ) ( $p < 0,05$ ).

Выявлено угнетение фагоцитарной активности лейкоцитов по критерию процента фагоцитоза, фагоцитарного

числа, фагоцитарного индекса, абсолютного фагоцитоза относительно группы сравнения ( $p < 0,05$ ).

Установлены признаки активации гуморального иммунного ответа по критерию содержания В-лимфоцитов (CD19<sup>+</sup>) и IgG по отношению к аналогичным значениям в группе сравнения ( $p < 0,05$ ). Избыточный уровень специфического IgG к ртути указывает на признаки развития гиперсенситизации к данному металлу ( $p < 0,05$ ).

Изменения иммунного профиля детского населения промышленно развитого региона с повышенным уровнем контаминации биосред ртутью ассоциированы с С-аллелем и ТС-гетерозиготным и СС-гомозиготным генотипами гена *GSTA4* (rs3756980), С-аллелем и СС-генотипом гена

*FOXP3* (rs3761547), А-аллелем и АА-генотипом гена *MTR* (rs1805087) ( $OR > 1$ ;  $p < 0,05$ ), G-аллелем и GG-генотипом гена *TERT* (rs10054203).

Установленные особенности клеточного (снижение CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> в результате снижения CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> с одновременным повышением CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, угнетение фагоцитоза) и гуморального (повышение CD19<sup>+</sup>, гиперпродукция IgG, а также специфического IgG к ртути) иммунитета, ассоциированные с полиморфными вариантами генов *GSTA4* (rs3756980), *FOXP3* (rs3761547), *MTR* (rs1805087), *TERT* (rs10054203), у детей с избыточной контаминацией биосред ртутью формируют комплекс иммунных и генетических маркеров избыточной гаптенной нагрузки ртутью.

## Литература

(п.п. 1–5, 10, 11, 13–17, 19, 20 см. References)

- Савченко О.В. Влияние загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами на здоровье детей дошкольного возраста. *Экология человека*. 2018; (3): 16–20. <https://doi.org/10.33396/1728-0869-2018-3-16-20>
- Уланова Т.С., Стенно Е.В., Вейхман Г.А., Недошитова А.В. Методические и практические аспекты определения общей ртути в образцах цельной крови, мочи и волос методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. *Анализ риска здоровью*. 2018; (2): 119–28. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2018.2.14>
- Государственные доклады о состоянии и охране окружающей среды Российской Федерации за 2012–2018 гг. Доступно: [https://www.mnr.gov.ru/docs/gosudarstvennye\\_doklady/](https://www.mnr.gov.ru/docs/gosudarstvennye_doklady/)
- Государственные доклады о состоянии и охране окружающей среды Иркутской области за 2010–2019 гг. Доступно: <https://irkobl.ru/sites/ecology/>
- Бодяенкова Г.М., Курчевенко С.И. Закономерности изменений иммунного ответа при воздействии паров металлической ртути на работающих. *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2012; (3-2): 50–2.
- Боженко В.К., Захаренко М.В., Кулинич Т.М., Джикия Е.Л., Сенчукова А.Л., Станевич У.С. и соавт. Исследование уровня экспрессии гена *TERT* в слизистой оболочке толстой кишки при различной патологии. *Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии*. 2020; 20(3): 15–39.

## References

- Kern J.K., Geier D.A., Mehta J.A., Homme K.G., Geier M.R. Mercury as a hapten: A review of the role of toxicant-induced brain autoantibodies in autism and possible treatment considerations. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2020; 62: 126504. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126504>.
- Jyothi N.R., Farook N.A.M. Mercury toxicity in public health. In: *Heavy Metal Toxicity in Public Health*. IntechOpen; 2020: 51–7. <https://doi.org/10.5772/intechopen.90333>
- Al Osman M., Yang F., Yaw Massey I. Exposure routes and health effects of heavy metals on children. *Biomaterials*. 2019; 32(4): 563–73. <https://doi.org/10.1007/s10534-019-00193-5>
- Yann J., Galineau J., Hulin A., Caini F., Marquis N., Navel V., et al. Health effects of ambient air pollution: do different methods for estimating exposure lead to different results? *Environ. Int.* 2014; 66: 165–73. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.02.001>
- Boverhof D.R., Ladics G., Luebke B., Botham J., Corsini E., Evans E., et al. Approaches and considerations for the assessment of immunotoxicity for environmental chemicals: a workshop summary. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2014; 68(1): 96–107. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2013.11.012>
- Savchenko O.V. Environmental heavy metals pollution effect on pre-school children's health. *Ekologiya cheloveka*. 2018; (3): 16–20. <https://doi.org/10.33396/1728-0869-2018-3-16-20> (in Russian)
- Ulanova T.S., Stenko E.V., Veykhan G.A., Nedoshitova A.V. Methodical and practical aspects related to total mercury determination in whole blood, urine and hair with mass-spectrometry with inductively coupled plasma. *Анализ риска здоровью*. 2018; (2): 119–28. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2018.2.14> (in Russian)
- State reports on the state and environmental protection of the Russian Federation for 2012–2018. Available at: [https://www.mnr.gov.ru/docs/gosudarstvennye\\_doklady/](https://www.mnr.gov.ru/docs/gosudarstvennye_doklady/) (in Russian)
- State reports on the state and environmental protection of the Irkutsk region for 2010–2019. Available at: <https://irkobl.ru/sites/ecology/> (in Russian)
- Wu A.N. *Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests*. 4<sup>th</sup> ed. San Francisco: W.B Saunders Company; 2006.
- Oulhote Y., Shamim Z., Kielsen K., Weihe P., Grandjean P., Ryder L.P., et al. Children's white blood cell counts in relation to developmental exposures to methylmercury and persistent organic pollutants. *Reprod. Toxicol.* 2017; 68: 207–14. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2016.08.001>
- Bodienkova G.M., Kurchevchenko S.I. Change of regularities of immune response in workers exposed to metal mercury vapors. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2012; (3-2): 50–2. (in Russian)
- Carlström K.E., Zhu K., Ewing E., Krabbendam I.E., Harris R.A., Falcão A.M. Gsta4 controls apoptosis of differentiating adult oligodendrocytes during homeostasis and remyelination via the mitochondria-associated Fas-Casp8-Bid-axis. *Nat. Commun.* 2020; 11(1): 4071. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17871-5>
- Curtis J.M., Grimsrud P.A., Wright W.S., Xu X., Foncea R.E., Graham D.W., et al. Downregulation of adipose glutathione S-transferase A4 leads to increased protein carbonylation, oxidative stress, and mitochondrial dysfunction. *Diabetes*. 2010; 59(5): 1132–42. <https://doi.org/10.2337/db09-1105>
- Georgiev P., Charbonnier L.M., Chatila T.A. Regulatory T cells: the many faces of Foxp3. *J. Clin. Immunol.* 2019; 39(7): 623–40. <https://doi.org/10.1007/s10875-019-00684-7>
- Tao R., Hancock W.W. Resistance of Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells to Nur77-induced apoptosis promotes allograft survival. *PLoS One*. 2008; 3(5): e2321. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002321>
- Li Y., Xiang C., Shen N., Deng L., Luo X., Yuan P., et al. Functional polymorphisms on chromosome 5p15.33 disturb telomere biology and confer the risk of non-small cell lung cancer in Chinese population. *Mol. Carcinog.* 2019; 58(6): 913–21. <https://doi.org/10.1002/mc.22980>
- Bozhenko V.K., Zakharenko M.V., Kulich T.M., Dzhiykiya E.L., Senchukova A.L., Stanovich U.S., et al. Investigation of the level of *TERT* gene expression in the colon mucosa in various pathologies. *Vestnik Rossiyskogo nauchnogo tsentra rentgenoradiologii*. 2020; 20(3): 15–39. (in Russian)
- Alves Antunes L.A., Cabral Machado C.M., Kuntz Couto A.C., Barbosa Lopes L., Cunha Sena F., Volpe Abreu F., et al. A polymorphism in the *MTRR* gene is associated with early childhood caries and underweight. *Caries Res.* 2017; 51(2): 102–8. <https://doi.org/10.1159/000451037>
- Li W.H., Lv W.W., Dai S.X., Pan M.L., Huang J.F. Joint associations of folate, homocysteine and MTHFR, MTR and MTRR gene polymorphisms with dyslipidemia in a Chinese hypertensive population: a cross-sectional study. *Lipids Health Dis.* 2015; 14: 101. <https://doi.org/10.1186/s12944-015-0099-x>