

© НИКОНОШИНА Н.А., ДОЛГИХ О.В., 2023



Никоношина Н.А., Долгих О.В.

Полиморфизм гена CYP1A1 (rs4646421) и особенности иммунного профиля у детей в условиях аэрогенной экспозиции бенз(а)пиреном

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. Воздействие бенз(а)пирена формирует особый фенотип иммунного профиля у детей. Изучение особенностей иммунной системы, ассоциированных с полиморфизмом генов детоксикации, актуально в условиях рисков для здоровья, связанных с загрязнением окружающей среды.

Материалы и методы. Выполнено клинико-лабораторное обследование 479 детей в возрасте 3–6 лет. Группу наблюдения составили 308 детей, проживающих в условиях аэрогенной экспозиции бенз(а)пиреном. В группу сравнения включён 171 ребёнок из условно чистой территории. Определение концентрации бенз(а)пирена в атмосферном воздухе и в крови проводили методом ВЭЖХ. Изучение полиморфизма CYP1A1 (rs4646421) – методом ПЦР в реальном времени. Фенотипирование CD3⁺CD4⁺-лимфоцитов выполнено методом проточной цитометрии, IgG к бенз(а)пирену – методом аллергосорбентного тестирования.

Результаты. Аэрогенная экспозиция бенз(а)пиреном в дозе 8,76 • 10⁻² мкг/(кг • день) обуславливает изменения иммунного профиля (гиперпродукция IgG к бенз(а)пирену, дефицит экспрессии CD3⁺CD4⁺-лимфоцитов и снижение CD4⁺/CD8⁺), ассоциированные с T-аллелем и CT-генотипом гена CYP1A1 (rs4646421) (OR(CI) = 2,35–6,65; p < 0,05). Дети с CT-генотипом гена CYP1A1 (rs4646421) отличаются наиболее выраженными изменениями иммунного профиля (избыток IgG к бенз(а)пирену; снижение CD3⁺CD4⁺ и CD4⁺/CD8⁺ на фоне максимальной контаминации крови бенз(а)пиреном по отношению к другим генотипическим группам (OR(CI) = 1,64–3,08; p < 0,05).

Ограничения исследования. Ограничения связаны с необходимостью увеличения выборки и верификации полученных результатов в последующих наблюдениях.

Заключение. К особенностям иммунного профиля у носителей CT-генотипов гена CYP1A1 (rs4646421) детей в условиях аэрогенной экспозиции бенз(а)пиреном в среднесуточной дозе 8,76 • 10⁻² мкг/(кг • день) следует отнести формирование специфической сенсибилизации к бенз(а)пирену, дефицит кластеров клеточной дифференцировки: CD3⁺CD4⁺-лимфоцитов, снижение CD4⁺/CD8⁺, ассоциированные с контаминацией крови бенз(а)пиреном, которые указывают на вероятность реализации наследственной предрасположенности и формирование нарушений иммунной регуляции, сопряжённых с экспозицией бенз(а)пиреном.

Ключевые слова: бенз(а)пирен; дети; иммунный профиль; генетический полиморфизм; цитохром P450

Соблюдение этических стандартов. Исследование выполнено с соблюдением этических требований Хельсинкской декларации ВМА 2000 г. и протокола Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине 1999 г. Исследование одобрено ЛЭК ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол № 23 от 20.12.2021 г.). Для участия в исследовании было получено информированное согласие.

Для цитирования: Никоношина Н.А., Долгих О.В. Полиморфизм гена CYP1A1 (rs4646421) и особенности иммунного профиля у детей в условиях аэрогенной экспозиции бенз(а)пиреном. *Гигиена и санитария*. 2023; 102(11): 1204–1209. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-11-1204-1209> <https://elibrary.ru/mwprjfn>

Для корреспонденции: Никоношина Наталья Алексеевна, мл. науч. сотр., аспирант ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения». E-mail: nat08.11@yandex.ru

Участие авторов: Никоношина Н.А. – генотипирование, оценка иммунного профиля, статистическая обработка, написание и редактирование текста; Долгих О.В. – концепция и дизайн исследования, написание и редактирование 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 спонсорской поддержки.

Поступила: 09.10.2023 / Принята к печати: 15.11.2023 / Опубликовано: 08.12.2023

Natalya A. Nikonoshina, Oleg V. Dolgikh

CYP1A1 (RS4646421) gene polymorphism and peculiarities of immune profile in children under aerogenic exposure to benzo(a)pyrene

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. The benzo(a)pyrene exposure forms the special phenotype of the immune profile in children. The study of immune system features associated with the polymorphism of detoxification genes is relevant in the conditions of health risks linked with environmental pollution.

Materials and methods. There was performed clinical and laboratory examination of four hundred seventy nine children aged of 3–6 years. The observation group consisted of 308 children living in conditions of aerogenic exposure to benzo(a)pyrene. The comparison group included 171 children from a relatively clean territory. Determination of benzo(a)pyrene concentration in an atmospheric air and in blood was carried out by HPLC. The study of polymorphism of CYP1A1 (rs4646421) gene was carried out by real-time PCR. CD3⁺CD4⁺-lymphocyte phenotyping was performed by flow cytometry, IgG to benzo(a)pyrene – by allergosorbent testing.

Results. Aerogenic exposure to benzo(a)pyrene at an average daily dose of 8.76 • 10⁻² µg/(kg • day) causes an increase in the level of blood contamination with PAH, forms an imbalance of the immune profile (IgG to benzo(a)pyrene hyperproduction, CD3⁺CD4⁺-lymphocyte expression deficiency and CD4⁺/CD8⁺ decrease) associated with T-allele and CT-genotype of the CYP1A1 gene (rs4646421) (OR(CI)=2.35–6.65; p<0.05). Children with the CT-genotype of the CYP1A1 gene (rs4646421) are characterized by the most pronounced changes in the immune profile (excess IgG to benzo(a)pyrene; reduction of CD3⁺CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ against the background of maximum blood contamination with benzo(a)pyrene in relation to other genotypic groups (OR(CI)=1.64–3.08; p<0.05).

Limitations. The limitations are related to the need to increase the sample and verify the results obtained in subsequent observations.

Conclusion. The peculiarities of the immune profile in CT-genotype carriers of the *CYP1A1* (rs4646421) gene under the conditions of aerogenic exposure to benzo(a)pyrene at a dose of $8.76 \cdot 10^{-2}$ mcg/(kg · day) should include the formation of specific sensitization to benzo(a)pyrene, deficiency of cellular differentiation clusters: $CD3^+CD4^+$ -lymphocytes, $CD4^+/CD8^+$ reduction associated with blood contamination with benzo(a)pyrene, which indicate the likelihood of hereditary predisposition realization and the formation of immune regulation disorders associated with exposure to benzo(a)pyrene.

Keywords: benzo(a)pyrene; children; immune profile; genetic polymorphism; cytochrome P450

Compliance with ethical standards. The study was carried out in compliance with the ethical requirements of the Helsinki Declaration of the WMA 2000 and the Protocol of the Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine 1999. The study was approved by the LEC of the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being (Protocol No. 23 of 12/20/2021). Informed consent was obtained for all participants.

For citation: Nikonoshina N.A., Dolgikh O.V. *CYP1A1* (rs4646421) gene polymorphism and peculiarities of immune profile in children under aerogenic exposure to benzo(a)pyrene. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2023; 102(11): 1204-1209. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-11-1204-1209> <https://elibrary.ru/mwvjfn> (in Russian)

For correspondence: Natalya A. Nikonoshina, junior researcher, post-graduate student of the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Perm, 614045, Russian Federation. E-mail: nat08.11@yandex.ru

Information about the authors:

Nikonoshina N.A., <https://orcid.org/0000-0001-7271-9477> Dolgikh O.V., <https://orcid.org/0000-0003-4860-3145>

Contribution: Nikonoshina N.A. — genotyping, markers of immune state, statistical processing, writing and editing text; Dolgikh O.V. — concept and design of research, writing and editing of 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: October 9, 2023 / Accepted: November 15, 2023 / Published: December 8, 2023

Введение

Бенз(а)пирен — полициклический ароматический углеводород (ПАУ) с проканцерогенными (группа 1 по классификации МАИР) и иммуносупрессивными свойствами, образующийся в результате неполного сгорания углеводородов [1].

Хроническое воздействие полициклических ароматических углеводородов (ПАУ), включая бенз(а)пирен, снижает адаптационный потенциал организма и повышает риск развития донозологических нарушений здоровья [2]. Уязвимость детей к воздействию гаптенон определяется не только несовершенством процессов адаптации и детоксикации, но и зависит от конкретных особенностей индивидуального генетического профиля [3, 4].

Известно, что определённые полиморфные варианты кандидатных генов ферментов детоксикации ксенобиотиков ассоциируются с различными нарушениями каталитической активности продуктов их экспрессии, что может стать причиной избыточной биоаккумуляции токсикантов, образования высокотоксичных метаболитов и способствовать более выраженным ответам организма на воздействие техногенных факторов [5, 6].

Изоформа цитохрома P450 *CYP1A1* относится к ферментам I фазы детоксикации ксенобиотиков. Данный фермент участвует в монооксигенировании стероидов, арахидонатов и ретиноидов, а также в биотрансформации ПАУ, включая бенз(а)пирен [7].

Следовательно, исследования генетического полиморфизма гена *CYP1A1* (rs4646421) и особенностей иммунного профиля у детей с различными его генотипами, проживающих в условиях аэрогенной экспозиции бенз(а)пиреном, имеют особое значение в аспекте идентификации маркёров эффекта и чувствительности к воздействию техногенных факторов и оценке вклада наследственной предрасположенности в формирование дезадаптационных донозологических нарушений, ассоциированных с иммунной системой.

Цель — изучить ассоциированные с полиморфизмом гена *CYP1A1* (rs4646421) особенности иммунного профиля у детей в условиях аэрогенной экспозиции бенз(а)пиреном.

Материалы и методы

Проведено обследование 479 детей в возрасте 3–6 лет (средний возраст — $4,7 \pm 0,4$ года). В группу наблюдения включены дети, проживающие в промышленном центре Восточной Сибири в условиях аэрогенной экспозиции бенз(а)пиреном ($n = 308$). В группу сравнения включены дети, проживающие на условно чистой территории ($n = 171$).

Обследованные выборки сопоставимы по половозрастному, социальному и этническому составу.

Определение концентрации бенз(а)пирена в атмосферном воздухе территорий проживания детей и уровня контаминации крови проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на анализаторе Agilent 1200 (Agilent Technologies Inc., США) в соответствии с МУК 4.1.1273–03 «Измерение массовой концентрации бенз(а)пирена в атмосферном воздухе и воздухе рабочей зоны методом ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием» и МУК 4.1.3040–12 «Определение массовой концентрации бенз(а)пирена в крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии». Данные исследования были выполнены сотрудниками отдела химико-аналитических методов исследования (заведующий отделом — доктор биол. наук Нурисламова Т.В.) ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения».

Анализ однонуклеотидного полиморфизма (SNP) гена цитохрома P450 *CYP1A1* (rs4646421), участвующего в метаболизме бенз(а)пирена, осуществлялся с применением методики полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени на амплификаторе CFX96 Real Time System C1000 Thermal Cycler (BioRAD, Singapur). ДНК была выделена из буккального эпителия сорбентным методом. Для генотипирования обследованных детей использовали набор реагентов для определения SNP: C6310T гена *CYP1A1* (rs4646421) («Синтол», Россия). Идентификация генотипов осуществлялась в программе TaqMan с использованием метода аллельной дискриминации.

Фенотипирование Т-хелперов ($CD3^+CD4^+$) и цитотоксических Т-лимфоцитов ($CD3^+CD8^+$) в цельной крови выполняли методом проточной цитометрии на приборе FACSCalibur («Becton Dickinson», США). Определение уровня специфической сенсibilизации к бенз(а)пирену по критерию IgG к бенз(а)пирену осуществлялось посредством аллелгосорбентного тестирования с ферментной меткой.

Статистическая обработка полученных результатов выполнена с помощью пакета прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft, USA). Тип распределения данных в сформированных выборках определяли с использованием критерия Шапиро — Уилка. Для оценки уровня достоверности различий в случае нормального распределения данных применяли параметрический *t*-критерий Стьюдента, в случае ненормального распределения — *U*-критерий Манна — Уитни. Результаты исследования представлены в виде среднего арифметического (\bar{X}) и стандартной ошибки (SE). Расчёт распределения частот генотипов и аллелей по равновесию

Таблица 1 / Table 1

Показатели иммунного профиля детей, проживающих в условиях аэрогенной экспозиции бенз(а)пиреном
Immune profile indicators in children living in the conditions of aerogenic benzo(a)pyrene exposure

Показатель Indicator	Референтный интервал [10] Reference interval [10]	Группа наблюдения Observation group <i>n</i> = 308	Группа сравнения Comparison group <i>n</i> = 171	<i>p</i>
CD3 ⁺ CD4 ⁺ -лимфоциты, % / CD3 ⁺ CD4 ⁺ -lymphocytes, %	31–60	35.24 ± 2.06	41.71 ± 1.21	0.008
CD3 ⁺ CD8 ⁺ -лимфоциты, % / CD3 ⁺ CD8 ⁺ -lymphocytes, %	13–41	26.96 ± 1.42	27.40 ± 1.11	0.744
CD4 ⁺ /CD8 ⁺ , у.е. / CD4 ⁺ /CD8 ⁺ , с.у.	0.8–4.2	1.363 ± 0.114	1.67 ± 0.081	0.012
IgG к бенз(а)пирену, у.е. / IgG to benzo(a)pyrene, с.у.	0–0.3	0.212 ± 0.021*	0.074 ± 0.017	0.001

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

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

Харди – Вайнберга, а также показателя отношения шансов OR и его 95%-ного доверительного интервала (CI) проводился с помощью онлайн-программ SNPStat и Gen-Expert. Для установления причинно-следственной связи между экспозицией бенз(а)пиреном и изменениями иммунного профиля применяли методику парного регрессионного анализа с расчётом коэффициента детерминации R^2 . Для оценки достоверности связи ответов организма с воздействием бенз(а)пирена рассчитывали отношение шансов (OR) и его 95% доверительные интервалы (CI). Различия между выборками считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Результаты гигиенической оценки качества окружающей среды сравниваемых территорий указывают на то, что концентрация бенз(а)пирена в атмосферном воздухе промышленного центра определяется на уровне 7,4 ПДКсс, в то время как содержание бенз(а)пирена в атмосферном воздухе условно чистой территории – на уровне 0,8 ПДКсс [8, 9]. Средняя суточная доза аэрогенной экспозиции бенз(а)пиреном для детей из промышленного центра ($8,76 \cdot 10^{-2}$ мкг/(кг · день)) в 9,3 раза превышает значение данного показателя у детей из условно чистой территории ($0,94 \cdot 10^{-2}$ мкг/(кг · день)) ($p < 0,05$).

В результате проведённого химико-аналитического исследования биосред детского населения промышленно развитой территории выявлено наличие контаминации крови бенз(а)пиреном. Так, содержание бенз(а)пирена в крови детей в группе наблюдения ($0,002287 \pm 0,000369$ мкг/дм³) в 2,1 раза превышает значение данного показателя в группе сравнения ($0,001087 \pm 0,000464$ мкг/дм³) и его референтный уровень (0 мкг/дм³) ($p < 0,05$).

Иммунный профиль детского населения промышленно развитой территории характеризуется признаками иммуно-

супрессии на фоне специфической гиперсенситизации к бенз(а)пирену (табл. 1).

Так, у 73,4% (226) детей в группе наблюдения выявлено достоверное снижение содержания Т-хелперов – CD3⁺CD4⁺-лимфоцитов ($p < 0,05$), что обуславливает снижение иммунорегуляторного индекса CD4⁺/CD8⁺ ($p < 0,05$) по отношению к группе сравнения. Однако содержание цитотоксических CD3⁺CD8⁺-лимфоцитов в сравниваемых группах было сопоставимым ($p > 0,05$).

У 62% ($n = 191$) детей в условиях аэрогенной экспозиции бенз(а)пиреном установлено повышение продукции специфического IgG к бенз(а)пирену относительно группы сравнения и референтного уровня, что указывает на формирование специфической гиперсенситизации к данному гаптену ($p < 0,05$).

Результаты анализа причинно-следственных связей между экспозицией бенз(а)пиреном и ответами организма указывают на то, что выявленные изменения иммунного профиля (CD3⁺CD4⁺-, CD4⁺/CD8⁺, IgG к бенз(а)пирену) сопряжены с повышением уровня контаминации крови бенз(а)пиреном ($R^2 = 0,482–0,988$) (табл. 2).

Генетический профиль детского населения промышленного центра характеризовался достоверно повышенной частотой Т-аллеля и гетерозиготного СТ-генотипа (гена цитохрома P450) *CYP1A1* (rs4646421), участвующего в биотрансформации бенз(а)пирена ($p < 0,05$) (табл. 3).

Результаты сравнительной оценки контаминации крови бенз(а)пиреном и показателей клеточного и гуморального иммунного профиля у носителей различных генотипов гена *CYP1A1* (rs4646421) демонстрируют вклад генетической предрасположенности в формирование нарушений детоксикации бенз(а)пирена и его избыточной биоаккумуляции и, как следствие, более выраженной иммуносупрессии и специфической гиперсенситизации у носителей Т-аллеля – СТ и ТТ-генотипов (табл. 4).

Таблица 2 / Table 2

Параметры моделей зависимости «маркёр экспозиции – маркёр эффекта»

Parameters of the dependency models "exposure marker – effect marker"

Маркёр экспозиции Exposure marker	Маркёр эффекта Effect marker	Направление изменения показателя Direction of the indicator change	b_0	b_1	F	p	R^2
Бенз(а)пирен Benzo(a)pyrene	IgG к бенз(а)пирену, у.е. IgG to benzo(a)pyrene, с.у.	Повышение / Elevation	–0.561	17.26	330.89	0.001	0.988
Бенз(а)пирен Benzo(a)pyrene	CD3 ⁺ CD4 ⁺ -лимфоциты, % CD3 ⁺ CD4 ⁺ -lymphocytes, %	Снижение / Decline	–1.113	–108.58	2.664	0.001	0.524
	CD4 ⁺ /CD8 ⁺ , у.е. / CD4 ⁺ /CD8 ⁺ , с.у.	Снижение / Decline	–2.367	16.99	6.533	0.001	0.482

Примечание. b_0 и b_1 – параметры регрессионной модели; F – критерий Фишера; p – уровень достоверности различий; R^2 – коэффициент детерминации.

Note: b_0 and b_1 – parameters of the regression model; F – Fisher's criterion; p – the confidence level of differences between samples; R^2 – coefficient of determination.

Таблица 3 / Table 3

Распределение частот генотипов и аллелей гена *CYP1A1* (rs4646421) у детей, проживающих в условиях аэрогенной экспозиции бенз(а)пиреном**Distribution of genotypes and alleles frequencies of *CYP1A1* (rs4646421) gene in children living in the conditions of aerogenic benzo(a)pyrene exposure**

Ген Gene	Генотип / аллель Genotype / allele	Группа наблюдения / Observation group <i>n</i> = 308	Группа сравнения / Comparison group <i>n</i> = 171	OR	
				значение / value	95% CI
<i>CYP1A1</i> (rs4646421)	CC	0.726	0.906	0.27	0.15–0.48
	CT	0.246	0.047	6.65	3.13–14.13
	TT	0.028	0.047	0.58	0.22–1.53
	C	0.849	0.930	0.43	0.27–0.68
	T	0.151	0.070	2.35	1.47–3.75

Примечание / Note: $\chi(T)^2 = 13.50$; $p = 0.001$; $\chi(CT)^2 = 11.46$; $p = 0.001$.

Установлено, что уровень контаминации крови бенз(а)пиреном у носителей СТ- и ТТ-генотипов гена *CYP1A1* (rs4646421) как в группе наблюдения, так и в группе сравнения достоверно повышен по отношению к СС-генотипам ($p < 0,05$). Однако повышение концентрации бенз(а)пирена в крови детей в группе наблюдения достоверно ассоциировано лишь с СТ-генотипом ($p < 0,05$), в то время как связь с ТТ-генотипом не является достоверной ($p > 0,05$).

У носителей СТ-гетерозигот и ТТ-гомозигот наблюдается повышение уровня продукции специфического IgG к бенз(а)пирену по отношению к СС-гомозиготам в сравниваемых группах ($p < 0,05$). Гиперпродукция специфического IgG к бенз(а)пирену в группе наблюдения достоверно ассоциирована с СТ-генотипом гена *CYP1A1* (rs4646421) ($p < 0,05$), связь с ТТ-генотипом не является достоверной ($p > 0,05$).

Напротив, содержание CD3⁺CD4⁺-лимфоцитов и значение иммунорегуляторного индекса CD4⁺/CD8⁺ у носителей СТ- и ТТ-генотипов достоверно снижено по отношению к СС-гомозиготам в сравниваемых группах ($p < 0,05$). Снижение содержания CD3⁺CD4⁺-лимфоцитов и CD4⁺/CD8⁺ в группе наблюдения также достоверно ассоциировано лишь с СТ-генотипом ($p < 0,05$). Выявленная связь снижения содержания CD3⁺CD4⁺-лимфоцитов и CD4⁺/CD8⁺ с ТТ-генотипом недостоверна ($p > 0,05$).

При попарном сравнении соответствующих генотипов сохраняется тренд повышения концентрации бенз(а)пирена в крови и IgG к бенз(а)пирену, а также снижения содержания CD3⁺CD4⁺-лимфоцитов и значения иммунорегуляторного индекса CD4⁺/CD8⁺ в группе наблюдения относительно группы сравнения ($p < 0,05$). Однако связь повышения уровня контаминации крови, специфической гиперсенси-

Таблица 4 / Table 4

Сравнительная оценка уровня контаминации крови бенз(а)пиреном и показателей иммунного профиля у детей с различными генотипами гена *CYP1A1* (rs4646421)**Comparative assessment of blood contamination level with benzo(a)pyrene and immune profile indicators in children with different genotypes of *CYP1A1* (rs4646421) gene**

Показатель Index	Группа Group	Генотип / Genotype		
		СС	СТ	ТТ
Концентрация бенз(а)пирена в крови, мкг/дм ³ Benzo(a)pyrene concentration in blood, µg/dm ³	Группа наблюдения Observation group	0.001562 ± 0.000214	0.002295 ± 0.000283	0.002856 ± 0.000503
	Группа сравнения Comparison group	0.000873 ± 0.000166	0.001094 ± 0.000201	0.001492 ± 0.000247
	OR (95%CI)	0.71 (0.47–1.07)	1.97 (1.14–3.38)	1.68 (0.44–6.37)
CD3 ⁺ CD4 ⁺ -лимфоциты, % CD3 ⁺ CD4 ⁺ -lymphocytes, %	Группа наблюдения Observation group	40.29 ± 2.90	32.39 ± 2.29	32.22 ± 2.86
	Группа сравнения Comparison group	45.07 ± 3.87	40.26 ± 4.04	39.91 ± 3.52
	OR (95%CI)	0.53 (0.35–0.80)	3.08 (1.85–5.14)	1.03 (0.27–3.90)
CD4 ⁺ /CD8 ⁺ , у.е. CD4 ⁺ /CD8 ⁺ , c.u.	Группа наблюдения Observation group	1.603 ± 0.159	1.296 ± 0.190	1.256 ± 0.146
	Группа сравнения Comparison group	2.092 ± 0.312	1.570 ± 0.293	1.520 ± 0.182
	OR (95%CI)	0.83 (0.55–1.25)	1.64 (1.01–2.65)	1.64 (0.40–6.69)
IgG к бенз(а)пирену, у.е. IgG to benzo(a)pyrene, c.u.	Группа наблюдения Observation group	0.164 ± 0.034	0.288 ± 0.037	0.323 ± 0.041
	Группа сравнения Comparison group	0.064 ± 0.008	0.081 ± 0.009	0.087 ± 0.010
	OR (95%CI)	0.93 (0.61–1.40)	1.72 (1.06–2.79)	1.55 (0.38–6.33)

Примечание. OR (95%CI) – показатель отношения шансов с доверительным интервалом (95%).

Note: OR (95% CI) is the indicator of the odds ratio with a confidence interval (95%).

билизации с одновременным угнетением клеточного иммунного ответа с СТ-генотипом и ТТ-генотипом гена *CYP1A1* (rs4646421), установленная в группе наблюдения, в группе сравнения отменяется ($OR > 1; p > 0,05$).

Обсуждение

Биотрансформация бенз(а)пирена осуществляется ферментами I и II фазы детоксикации ксенобиотиков, однако ключевыми факторами метаболизма данного ПАУ являются ферменты цитохрома P450: *CYP1A1*, *CYP1A2* и *CYP1B1*. Современное понимание механизмов бенз(а)пирен-зависимой иммуносупрессии и канцерогенеза связано с диол-эпоксидным и катион-радикальным путями биотрансформации данного ПАУ [11].

Диол-эпоксидный механизм метаболизма бенз(а)пирена включает последовательность превращений бенз(а)пирена в бенз(а)пирен-7,8-диол-9,10-эпоксиды (BDPE) с различными стереохимическими структурами, которые ковалентно связываются с пуриновыми основаниями нуклеотидов, что приводит к нарушениям репликации ДНК, мутациям в генах регуляции клеточного цикла и клеточной пролиферации и способствует канцерогенезу [12].

Катион-радикальный механизм биотрансформации бенз(а)пирена основан на способности ферментов цитохрома P450 путём одноэлектронного окисления образовывать свободные катионные радикалы на C_6 атоме углерода, которые, как и BDPE, обладают генотоксическими и канцерогенными свойствами [13]. Образование активных форм кислорода на фоне снижения экспрессии антиоксидантного транскрипционного фактора Nrf2 может быть причиной угнетения иммунного ответа вследствие окислительного стресса [14]. В данном исследовании мы верифицировали признаки угнетения клеточного иммунного ответа у детей, проживающих в условиях аэрогенной экспозиции бенз(а)пиреном, о чём свидетельствует достоверное снижение содержания $CD3^+CD4^+$ -лимфоцитов и $CD4^+/CD8^+$.

Однако бенз(а)пирен является не только иммуносупрессивным, но и сенсибилизирующим гаптенем. Так, в нашем исследовании показано, что иммунный профиль детей, проживающих в условиях аэрогенной экспозиции бенз(а)пиреном в дозе $8,76 \cdot 10^{-2}$ мкг/(кг · день), характеризуется повышением уровня продукции специфического IgG к бенз(а)пирену. Реализация сенсибилизирующих свойств бенз(а)пирена связана с AhR-рецептором, запускающим как провоспалительные, так и противовоспалительные процессы [15], сопровождающиеся нарушением регуляции антиген-презентирующих клеток, миграцией клеток Лангерганса, активацией эффекторных Т-лимфоцитов, гиперпродукцией провоспалительных цитокинов: IL-5, IL-13 и IL-17, а также усилением IgE-опосредованного высвобождения гистамина и IL-4 базофилами [16, 17].

Ключевой фермент биотрансформации бенз(а)пирена *CYP1A1* (Cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1) – арилгидрокарбонгидроксилаза относится к гем-содержащим ферментам семейства цитохрома P450, которые катализируют различные реакции метаболизма I фазы детоксикации ксенобиотиков: С-, N- и S-окисление и деалкилирование. Он участвует в метаболизме ряда ксенобиотиков, включая бенз(а)пирен, лекарственных средств, а также стероидов, арахиноидов и ретиноидов [18].

Ген *CYP1A1*, локализованный на участке q22–q24 15-й хромосомы, экспрессируется в печени, лёгких, ЖКТ и в головном мозге. Полиморфизм гена *CYP1A1* (rs4646421) (IVS1-728 C>T), рассмотренный в данной работе, обуславливает замену С→Т в 1-м интроне гена и ассоциируется с нарушениями негативной регуляции его экспрессии, что приводит к повышению уровня продукции данного фермента и активации биотрансформации бенз(а)пирена с образованием высокотоксичных канцерогенных метаболитов. В литературе имеются данные об ассоциации полиморфизма *CYP1A1* (rs4646421) с онкологическими заболеваниями,

но они противоречивы [12, 19]. Ассоциации полиморфных вариантов данного гена с изменениями иммунного профиля и особенностями контаминации крови бенз(а)пиреном населения промышленно развитых регионов также ранее не были изучены.

В данном исследовании мы впервые выявили не только изменения клеточного (снижение $CD3^+CD4^+$ -, $CD4^+/CD8^+$) и гуморального (повышение IgG к бенз(а)пирену) иммунного профиля на фоне повышенной контаминации крови бенз(а)пиреном в условиях аэрогенной экспозиции данным ПАУ в среднесуточной дозе $8,76 \cdot 10^{-2}$ мкг/(кг · день), ассоциированные с Т-аллелем и СТ-генотипом гена *CYP1A1* (rs4646421), но и выполнили сравнительную оценку данных показателей у детей с различными генотипами.

Выявленная нами частота Т-аллеля *CYP1A1* (rs4646421) (15,1%) у детей, проживающих в промышленном центре Восточной Сибири, соотносится с его частотой в общей популяции (12,3%) и европейской популяции (10,1%). Однако частота данного аллеля в обобщённой азиатской (42,2%) и в частности восточноазиатской (41%) популяции превышает полученное нами значение [20].

Установленное нами достоверное ($p < 0,05$) повышение уровня контаминации крови бенз(а)пиреном у носителей гетерозиготного СТ-генотипа гена *CYP1A1* (rs4646421) в группе наблюдения, отличающихся гиперпродукцией фермента *CYP1A1*, вероятно, указывает на признаки избыточной биоаккумуляции данного ПАУ у детей с данным генотипом. Кроме того, максимальное повышение концентрации бенз(а)пирена в крови у детей с СТ-генотипом гена *CYP1A1* (rs4646421) может усугублять токсическое действие избытка бенз(а)пирена путём увеличения реакционного выхода продуктов его биотрансформации.

В свою очередь достоверное повышение уровня специфической сенсибилизации по критерию IgG к бенз(а)пирену с одновременным угнетением клеточного иммунного ответа ($CD3^+CD4^+$ -, $CD4^+/CD8^+$) у детей с СТ-генотипом гена *CYP1A1* (rs4646421), по-видимому, отражает действие повышенных концентраций бенз(а)пирена в крови вследствие избыточной биоаккумуляции бенз(а)пирена в крови и указывает на признаки генетически детерминированной повышенной чувствительности к воздействию бенз(а)пирена у детей с данным генотипом.

Заключение

В результате гигиенической оценки качества атмосферного воздуха территорий проживания обследованных детей установлено, что содержание бенз(а)пирена на территории промышленного центра Восточной Сибири составляет 7,4 ПДКсс, на условно чистой территории – 0,8 ПДКсс. Среднесуточная доза аэрогенной экспозиции бенз(а)пиреном для детей в группе наблюдения составляет $8,76 \cdot 10^{-2}$ мкг/(кг · день), для детей в группе сравнения – $0,94 \cdot 10^{-2}$ мг/(кг · день). Уровень контаминации крови бенз(а)пиреном детей в группе наблюдения достоверно превышает аналогичное значение в группе сравнения ($p < 0,05$). Изменения иммунного профиля: снижение содержания $CD3^+CD4^+$ -лимфоцитов, и значения $CD4^+/CD8^+$ на фоне гиперпродукции IgG к бенз(а)пирену ассоциированы с Т-аллелем и СТ-генотипом гена *CYP1A1* (rs4646421) ($OR(CI) = 2,35–6,65; p < 0,05$). Дети с гетерозиготным генотипом гена *CYP1A1* (rs4646421) в группе наблюдения характеризуются наиболее выраженными изменениями иммунного профиля: избыток IgG к бенз(а)пирену; снижение содержания $CD3^+CD4^+$ -лимфоцитов и $CD4^+/CD8^+$ на фоне максимальной контаминации крови бенз(а)пиреном по отношению к представителям других генотипических классов ($OR(CI) = 1,64–3,08; p < 0,05$). Следовательно, изменения иммунного профиля детей в условиях аэрогенной экспозиции бенз(а)пиреном в дозе $8,76 \cdot 10^{-2}$ мг/(кг · день): избыток IgG к бенз(а)пирену; снижение содержания $CD3^+CD4^+$ -лимфоцитов и $CD4^+/CD8^+$ на фоне максималь-

но повышенной контаминации крови бенз(а)пиреном, ассоциированные с СТ-генотипом гена *CYP1A1* (rs4646421) ($p < 0,05$), указывают на признаки генетически обусловленных нарушений биотрансформации бенз(а)пирена, его избыточной биоаккумуляции и, как следствие, развития более выраженных негативных ответов со стороны иммунной системы детей в условиях аэрогенной экспозиции по данным

ПАУ. Таким образом, выявленные показатели ($CD3^+CD4^+$, $CD4^+/CD8^+$, IgG к бенз(а)пирену, СТ-генотип гена *CYP1A1* (rs4646421)) можно отнести к маркерам эффекта и чувствительности к воздействию бенз(а)пирена, которые могут использоваться для задач диагностики и профилактики формирования донозологических нарушений иммунного профиля у детей в условиях аэрогенной экспозиции бенз(а)пиреном.

Литература

(п. п. 1, 2, 7, 12–20 см. References)

3. Артеменков А.А. Деадаптивные генетикоэволюционные процессы в популяциях человека промышленных городов. *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова*. 2020; 28(2): 234–48. <https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ2020282234-248> <https://elibrary.ru/lfszla>
4. Маснавиева Л.Б., Ефимова Н.В., Кудяева И.В. Риск развития сенсibilизации к экполлютантам у подростков с наследственным химическим грузом. *Анализ риска здоровью*. 2021; (2): 123–31. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2021.2.12> <https://elibrary.ru/zqwwpb>
5. Крийт В.Е., Сладкова Ю.Н., Мельнов С.Б., Рейнюк В.Л., Пятибрат А.О. Результаты исследований генотоксических эффектов диоксинов в зависимости от полиморфизмов генов детоксикации ксенобиотиков и стажа работы пожарных. *Здоровье населения и среда обитания – ЗНУСО*. 2022; 30(5): 65–75. <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2022-30-5-65-75> <https://elibrary.ru/onyyaf>
6. Казакова О.А., Долгих О.В. Особенности полиморфизма генов I и II фазы детоксикации у женщин с диагнозом «самопроизвольный аборт», контаминированных фенолом. *Российский иммунологический журнал*. 2021; 24(1): 85–90. <https://doi.org/10.46235/1028-7221-243-PR1> <https://elibrary.ru/nvtuaf>
8. Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2018 году». М.; 2019.
9. *Состояние загрязнения атмосферы в городах на территории России за 2017 г.: Ежегодник*. СПб.; 2018.
10. Ву А.Х.Б., ред. *Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам*. Пер. с англ. М.: Лабора; 2013.
11. Мирошников М.В., Султанова К.Т., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Сравнительный обзор активности ферментов системы цитохрома P450 человека и лабораторных животных. Прогностическая ценность доклинических моделей *in vivo*. *Трансляционная медицина*. 2022; 9(5): 44–77. <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2022-9-5-44-77> <https://elibrary.ru/izgdrt>

References

1. Kohno R., Nagata Y., Ishihara T., Amma C., Inomata Y., Seto T., et al. Benzo[a]pyrene induces NLRP1 expression and promotes prolonged inflammasome signaling. *Front. Immunol.* 2023; 14: 1154857. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1154857>
2. Suzuki T., Hidaka T., Kumagai Y., Yamamoto M. Environmental pollutants and the immune response. *Nat. Immunol.* 2020; 21(12): 1486–95. <https://doi.org/10.1038/s41590-020-0802-6>
3. Artemenkov A.A. Disadaptive genetic-evolutionary processes in human populations of industrial cities. *Rossiyskiy mediko-biologicheskiy vestnik imeni akademika I.P. Pavlova*. 2020; 28(2): 234–48. <https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ2020282234-248> <https://elibrary.ru/lfszla> (in Russian)
4. Masnavieva L.B., Efimova N.V., Kudyaeva I.V. Risk of sensitization to ecopollutants in teenagers with inherited chemical burden. *Analiz riska zdorov'yu*. 2021; (2): 123–30. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2021.2.12> <https://elibrary.ru/rmqjcd>
5. Kriyt V.E., Sladkova Yu.N., Mel'nov S.B., Reynyuk V.L., Pyatibrat A.O. Results of studying genotoxic effects of dioxins depending on polymorphisms of xenobiotic detoxification genes and the length of service of firefighters. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya – ZNiSO*. 2022; 30(5): 65–75. <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2022-30-5-65-75> <https://elibrary.ru/onyyaf> (in Russian)
6. Kazakova O.A., Dolgikh O.V. Polymorphism of genes controlling phase I and II detoxification in phenol-exposed women with spontaneous miscarriage diagnosis. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal*. 2021; 24(1): 85–90. <https://doi.org/10.46235/1028-7221-243-PR1> <https://elibrary.ru/nvtuaf> (in Russian)
7. Grishanova A.Y., Perepechaeva M.L. Aryl hydrocarbon receptor in oxidative stress as a double agent and its biological and therapeutic significance. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23(12): 6719. <https://doi.org/10.3390/ijms23126719>
8. State Report «On the state and environmental protection of the Russian Federation in 2018». Moscow; 2019. (in Russian)
9. *The state of atmospheric pollution in cities in Russia for 2017: Yearbook*. St. Petersburg; 2018. (in Russian)
10. Tietz N.W. *Clinical Guide to Laboratory Tests*. Philadelphia: W.B. Saunders; 1995.
11. Miroshnikov M.V., Sultanova K.T., Makarova M.N., Makarov V.G. A comparative review of the activity of enzymes of the cytochrome P450 system in humans and laboratory animals. Prognostic value of preclinical models *in vivo*. *Translyatsionnaya meditsina*. 2022; 9(5): 44–77. <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2022-9-5-44-77> <https://elibrary.ru/izgdrt> (in Russian)
12. Barnes J.L., Zubair M., John K., Poirier M.C., Martin F.L. Carcinogens and DNA damage. *Biochem. Soc. Trans.* 2018; 46(5): 1213–24. <https://doi.org/10.1042/BST20180519>
13. Ammar R.B., Al Saedi F.J., Ahmed E.A., Rajendran P. Benzo(a)pyrene-induced ROS-mediated lung cancer. In: Chakraborti S., Ray B.K., Roychoudhury S., eds. *Handbook of Oxidative Stress in Cancer: Mechanistic Aspects*. Singapore: Springer; 2022: 463–76. https://doi.org/10.1007/978-981-15-9411-3_37
14. Abd El-Fattah E.E., Abdelhamid A.M. Benzo[a]pyrene immunogenetics and immune archetype reprogramming of lung. *Toxicology*. 2021; 463: 152994. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2021.152994>
15. Lei F., Tian Y., Miao J., Pan L., Tong R., Zhou Y. Immunotoxicity pathway and mechanism of benzo[a]pyrene on hemocytes of *Chlamys farreri* in vitro. *Fish Shellfish Immunol.* 2022; 124: 208–18. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.04.009>
16. Poulain-Godefroy O., Bouté M., Carrard J., Alvarez-Simon D., Tscopoulos A., de Nadai P. The aryl hydrocarbon receptor in asthma: friend or foe? *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(22): 8797. <https://doi.org/10.3390/ijms21228797>
17. Wang E., Tu W., Do D.C., Xiao X., Bhatti S.B., Yang L., et al. Benzo(a)pyrene enhanced dermatophagoides group 1 (Der f 1)-induced TGFβ1 signaling activation through the aryl hydrocarbon receptor-RhoA axis in asthma. *Front. Immunol.* 2021; 12: 643260. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.643260>
18. Dračinská H., Indra R., Jelínková S., Černá V., Arlt V.M., Štiborová M. Benzo[a]pyrene-induced genotoxicity in rats is affected by co-exposure to Sudan I by altering the expression of biotransformation enzymes. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(15): 8062. <https://doi.org/10.3390/ijms22158062>
19. Kaya Z., Gursoy S. Association between CYP1A1 polymorphisms and esophageal cancer susceptibility: a case-control study. *In Vivo*. 2023; 37(2): 868–78. <https://doi.org/10.21873/invivo.13155>
20. National Center for Biotechnology Information. *CYP1A1* (rs4646421). ALFA Allele Frequency. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs4646421>