

На правах рукописи



ДИАНОВА
Дина Гумяровна

**НАУЧНЫЕ ОСНОВЫ ГИГИЕНИЧЕСКОГО АНАЛИЗА
ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ВЛИЯНИЯ ГАПТЕНОВ,
ПОСТУПАЮЩИХ С ПИТЬЕВОЙ ВОДОЙ,
НА ИММУННУЮ СИСТЕМУ У ДЕТЕЙ**

14.02.01 – Гигиена

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Пермь 2019

Работа выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (г. Пермь)

Научные консультанты:

Зайцева Нина Владимировна, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ.

Долгих Олег Владимирович, доктор медицинских наук, доцент.

Официальные оппоненты:

Ефимова Наталья Васильевна, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», ведущий сотрудник лаборатории эколого-гигиенических исследований

Боев Виктор Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заслуженный работник высшей школы РФ, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой общей и коммунальной гигиены

Унгурану Татьяна Николаевна, доктор медицинских наук, доцент, Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Архангельской области, главный специалист – эксперт отдела организации и обеспечения деятельности; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры гигиены и медицинской экологии

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___» _____ 2019 г. в _____ часов на заседании объединенного диссертационного совета Д 999.128.02 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации (614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, д. 26).

С диссертацией можно ознакомиться на сайте www.fcrisk.ru ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» и в библиотеке ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России (614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, д. 26), с авторефератом – на сайтах www.fcrisk.ru и www.vak.ed.gov.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2019 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, доцент

Землянова Марина Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Постоянное чрезмерно продолжающееся загрязнение окружающей среды химическими примесями природного и техногенного происхождения в сочетании с нестабильной социально-экономической ситуацией приводит к ухудшению здоровья населения (Рахманин Ю.А. с соавт., 2002; Сетко Н.П. с соавт., 2006; Ревич Б.А. с соавт., 2007; Онищенко Г.Г., Зайцева Н.В., Землянова М.А., 2011; Май И.В. с соавт., 2012; Суржиков В.Д. с соавт., 2013; Куцева Н.К. с соавт., 2012; Попова А.Ю., 2014; Агаджанян Н.А. с соавт. 2014; Авалиани С.Л. с соавт., 2017; Горбанев С.А. с соавт., 2017; Синицына О.О. с соавт., 2018). Воздействие химических факторов окружающей среды существенно влияет на внутреннюю среду организма, оказывая негативное влияние на многие его системы и адаптационные возможности, что ведет к снижению защитных сил, иммунитета, сопротивляемости организма к инфекционным заболеваниям и повышению чувствительности к развитию неинфекционной патологии (Онищенко Г.Г., 2006; Черешнев В.А., 2017; Tan S.L.W. et al., 2017; Davis M.M. et al., 2017).

В мире около 80 % заболеваний в определенной степени обусловлены потреблением некачественной питьевой воды (WHO, 2017). В целом от болезней, связанных с качеством питьевой воды, страдает более 2 млрд человек, существенную часть среди которых составляют дети (Иванов С.В. с соавт., 2017; Newsletter, WHO, 2017). Загрязнение питьевой воды гаптенами природного или техногенного происхождения (в пределах 1,2–1,5 ПДК) сопровождается достоверными изменениями иммунологических показателей организма (Гичев Ю.П., 2003). Риски для здоровья могут возникать из-за потребления воды, загрязненной металлами и органическими соединениями различного происхождения (Григорьев Ю.И. с соавт., 2014; Боев В.М. с соавт., 2017; Эльпинер Л.И., 2017). Результаты ранее проведенных исследований о влиянии факторов среды обитания на здоровье детского населения показывают, что «вклад» водного фактора в формирование иммуноассоциированных заболеваний у детей, проживающих в различных субъектах РФ, составляет 10–50 % (Государственный доклад, 2017; Лазарева Н.В. с соавт., 2017).

Иммунная дисфункция, связанная с изменениями в клеточном ответе организма, при которых наблюдается либо активация, либо торможение клеточной гибели, в итоге обуславливает развитие иммуноассоциированных заболеваний (Kerr J.F. et al., 1972; Degenhardt K. et al., 2006; Favaloro B. et al., 2012; Тузанкина И.А. с соавт., 2013; Kumar V. et al., 2014; Jorgensen I. et al., 2017; Sachet M. et al., 2017; Manskikh V.N., 2017), включающих отдельные заболевания костно-мышечной системы (Mori G. et al., 2013), некоторые болезни гепатобилиарного тракта (Demetris A.J et al., 2016). Частота заболеваний с иммунологическим компонентом в патогенезе в общей популяции детей составляет 60–80 % (Земсков А.М. с соавт., 2014; Lee A.Y.S., Gray P.E.A., 2014; Рёкен М. с соавт., 2017). Распространение иммуноассоциированных

заболеваний у детей различных возрастных категорий в ряде регионах России достигает 15–50 % (Федько Н.А. с соавт., 2014; Яцына И.В. с соавт., 2015; Даянова Р.Р., 2016; Баранова А.А. с соавт., 2017 и др.).

Реакции адаптации к средовым факторам проявляются на уровне различных, и в первую очередь, регуляторных, систем (нервной, эндокринной, иммунной, системы неспецифической резистентности) (Черешнев В.А., 2016). Действие на клетку повреждающих средовых факторов различного характера сопровождается активацией или ингибированием апоптоза (Зайцева Н.В., Долгих О.В., 2016; Zhang K.–Y. et al., 2017 и др.). При этом наиболее чувствительным к негативным воздействиям факторов среды обитания является детский организм, что определяется особенностями строения, развития и функционирования иммунной системы, наследственной предрасположенностью к неадекватным реакциям организма на внешнее раздражение в детском возрасте (Магомедова Д.Р. с соавт., 2013). Гигиеническими исследованиями доказано модифицирующее влияние на апоптоз некоторых металлов (Луценко Г.В. с соавт., 2013; Bittencourt L.O. et al., 2017; Harari F. et al., 2017), ряда органических соединений (Dziedzic A. et al., 2017; Haney S.L., 2017). Вместе с тем анализ и обобщение литературных данных выявили и ряд противоречий о влиянии факторов различной химической природы на процесс клеточной гибели.

Потребление некачественной питьевой воды приводит к нарушениям здоровья детей разных возрастных групп, что свидетельствует о необходимости установления ранних, как правило, ассоциированных с иммунной системой изменений, а также общих закономерностей и особенностей влияния гаптенов, поступающих с питьевой водой, на иммунную систему детского организма. Для задач раннего выявления и профилактики заболеваний с иммунологическим компонентом существует необходимость совершенствования ранней идентификации иммунопатологических процессов с применением высокотехнологичных и высокоинформативных лабораторных методов анализа. Иммунологические и генетические индикаторные показатели, включающие показатели апоптотической гибели клетки, в силу их чувствительности позволяют достаточно четко и корректно дать оценку степени влияния факторов водной среды на организм с их перспективным использованием для профилактики нарушений состояния иммунологического здоровья.

Степень разработанности темы исследования. Многочисленные гигиенические исследования в России и за рубежом, изучающие степень распространенности иммуноассоциированной патологии, обусловленной низкочастотным поступлением гаптенов различной химической природы с питьевой водой, объективно отражают ее неуклонный рост, особенно у детей (Недьведя М.К. с соавт., 2012; WHO, 2017). Особую актуальность проблема нарушения естественной клеточной гибели и особенности ее реализации представляют для детей, проживающих в условиях экспозиции гаптенов (Skalny A.V. et al., 2018; Kemp M.G., 2017). Изучение особенностей регуляции апоптоза внешними воздействиями, прежде всего химическими фактора-

ми техногенного и природного происхождения, является новейшей тенденцией в аспекте теоретических и практических исследований (Narayanan K.B. et al., 2015; Traboulsi H. et al., 2017; Ferrante M. et al., 2017). Однако систематизированной информации по гигиенической оценке, патогенетических особенностях воздействия химических веществ природного и техногенного происхождения на состояние здоровья детского населения крайне недостаточно. Идентификация в крови детей, потребляющих некачественную питьевую воду, широкого спектра чужеродных для организма веществ или химических примесей в концентрациях, превышающих референтные уровни, является доказательством того, что в ряде случаев заболевания связаны с негативным влиянием факторов окружающей среды: свинца, ванадия, хрома, никеля, щелочно-земельных металлов, бензола, фенолов, галогенорганических соединений (Онищенко Г.Г. с соавт., 2011; Долгих О.В. с соавт., 2016). Вместе с тем в полной мере не раскрыты механизмы формирования причинно-следственных связей между воздействием химического фактора и негативными эффектами со стороны иммунной системы, что позволило бы аргументированно разработать подходы к выявлению лиц с риском формирования дисфункции иммунной системы, ассоциированной с повышенной контаминантной нагрузкой биосред; способствовало бы разработке перспективных подходов к раннему выявлению донозологических состояний у населения, потребляющего питьевую воду, ненормированную по содержанию химических веществ природного и техногенного происхождения.

На сегодняшний день накоплен значительный материал о механизмах апоптотической гибели клеток в экспериментальных моделях, между тем практически все работы в системе *in vitro* выполнены на культурах опухолевых клеток (Leong O.K. et al., 2011; Yee N.S., 2017; Vahe C. et al., 2017). Для понимания патогенеза иммуноассоциированных заболеваний и раннего их выявления необходимо определение молекулярных механизмов и моделирования апоптотического процесса с его верификацией *in vitro* на здоровых иммунокомпетентных клетках. Однако в свете последних достижений в области такого общебиологического феномена, как апоптоз, в настоящее время существуют ограниченные сведения о механизмах взаимодействия молекул или групп молекул, которые играют ключевую роль при различных способах инициализации апоптоза, определяют его динамику и конкретные пути развития в условиях гаптенного окружения.

На современном этапе развития гигиенической науки нет достаточно точного объяснения влияния химических и других потенциально модифицирующих факторов, относящихся к гаптенам, на клеточный апоптоз и некроз. Остаются малоизученными закономерности развития апоптоза, индуцированного воздействием щелочно-земельных металлов и галогенорганических соединений у экспонированного населения различных возрастных групп; отсутствует достаточный перечень индикаторных показателей и их критеральных уровней в условиях средовой гаптенной нагрузки.

Таким образом, отсутствие научно-методического обоснования влияния специфических факторов водной среды на иммунную систему, комплекса иммунологических и генетических индикаторных показателей ранних нарушений здоровья детей, а также необходимость совершенствования комплекса профилактических мероприятий, обеспечивающих возможность контроля клеточной гибели в условиях поступления гаптенных с питьевой водой, обусловили актуальность, определили цель и задачи исследования.

Цель исследования – научно-методическое обоснование комплексного подхода к гигиеническому анализу закономерностей влияния гаптенных, поступающих с питьевой водой, на иммунную систему у детей (на примере Пермского края). В соответствии с поставленной целью решались **задачи**:

1. Разработка концептуальной модели научного обоснования комплексного подхода к гигиеническому анализу закономерностей влияния гаптенных, поступающих с питьевой водой, на иммунную систему у детей.

2. Проведение научно-методического анализа особенностей формирования территориальной внешнесредовой гаптенной нагрузки, ксенобиотического и микроэлементного состава биологических сред. Выполнение комплексной углубленной гигиенической оценки заболеваемости детского населения с оценкой риска развития у детей иммуноассоциированных заболеваний костно-мышечной системы и пищеварительного тракта в условиях поступления гаптенных с питьевой водой.

3. Гигиеническая оценка закономерностей и особенностей влияния гаптенных, поступающих с питьевой водой, на здоровье детей на основе углубленного исследования иммунной системы.

4. Научное обоснование и оценка причинно-следственных связей между диапазонами показателей клеточной гибели и содержанием химических соединений в крови с обоснованием их критических уровней для апоптоза, ассоциированных с воздействием изучаемых гаптенных, с верификацией в эксперименте *in vitro* особенностей нарушений клеточной гибели (на примере стронция и хлороформа).

5. Научно-методическое обоснование системы индикаторных показателей и критериев ранней индикации клеточной гибели, а также особенностей механизма вступления иммунокомпетентных клеток в апоптоз в условиях экспозиции химических веществ природного и техногенного происхождения.

6. Разработка и научное обоснование гигиенических рекомендаций для задач раннего выявления и предотвращения нарушений клеточной гибели, связанной с воздействием гаптенных, поступающих в организм с питьевой водой.

Научная новизна работы. Предложена и научно обоснована методология исследования, включающая концептуальную модель и основные принципы системного гигиенического анализа закономерностей влияния гаптенных, поступающих с питьевой водой, на иммунную систему.

Впервые предложены методические подходы к выделению территорий, приоритетных по критериям риска нарушения иммунной системы у дет-

ского населения, включающего в себя комплекс санитарно-гигиенических и эпидемиологических показателей.

Научно обоснованы алгоритм, методология установления закономерностей и особенностей реализации клеточной гибели при поступлении гапте-нов природного и техногенного происхождения с питьевой водой.

Впервые предложены методические подходы к выявлению закономерностей реализации клеточной гибели в условиях поступления щелочно-земельных металлов и галогенорганических соединений с питьевой водой, которые проявлялись: ослаблением процессов регистрации и редукции антигенного сигнала с мембраны в клетку, снижением способности Т-лимфоцитов отвечать на апоптогенный стимул; ареактивностью процессов ранней клеточной активации на стимуляцию гапте-ном; напряженностью окислительно-восстановительных процессов; ингибированием аннексинассоциированного апоптоза и переключением на альтернативный механизм клеточной гибели – некроз.

Научно обоснованы особенности изменений иммунологических и генетических индикаторных показателей при экспозиции *стронция*: снижение активности реакций антиокислительной защиты, дефицит количества эффекторных клеток с цитотоксической активностью и регуляторных лимфоцитов, Th1-смещение цитокинового профиля, замедление экспрессии внутриклеточных антиапоптотических сигнальных белков, ослабление p53-зависимого контроля, как фено-, так и генотипического (полиморфизм *TP53 rs1788415*); угнетение рецепторопосредованного механизма реализации клеточной гибели, а также дисбаланс факторов, отражающий замедление процессов формирования костной ткани.

Научно обоснованы особенности изменений иммунологических, биохимических и генетических индикаторных показателей в условиях экспозиции *хлороформа*: интенсификация активности реакций антиокислительной защиты, снижение уровня эффекторных клеток с хелперной активностью, активация гуморального звена иммунитета, гиперпродукция цитокинов Th2, повышение экспрессии антиапоптотических внутриклеточных белков семейства BCL-2, ингибирование митохондриального механизма реализации клеточной гибели, снижение синтетической функции печени, явления холестаза, нарушение целостности гепатоцитов и наличие полиморфно измененных генов, ассоциированных с процессами детоксикации (*CYP1A1 Ile462Val*, *MMP9 Gln279Arg*).

Доказана вероятностная зависимость нарушений процессов метаболизма костной ткани и иммунорегуляции от контаминации крови стронцием, а также развития негативных эффектов со стороны гепатобилиарного тракта, ассоциированного с иммунной системой, от содержания в биосредах экспонированных детей галогенорганических соединений.

Предложен реперный уровень стронция в крови 0,017 мг/дм³ по критерию снижения содержания регуляторных Т-лимфоцитов, обеспечивающих иммунологическую толерантность. Предложен реперный уровень содержа-

ния хлороформа в крови, который составил 0,002 мг/дм³ по критерию индукции TNF α , как фактор, характеризующий повреждение паренхимы печени.

Установлено, что в системе *in vitro* стронций в концентрации 7 мг/дм³, соответствующей ПДК для питьевой воды, замедляет апоптоз, реализуемый с участием FAS-молекулы и белка p53, и повышает интенсивность некротической гибели клетки. Верифицировано антиапоптотическое действие хлороформа *in vitro* в концентрации 0,06 мг/дм³, характеризующееся ингибированием программированной гибели Т-лимфоцитов с одновременной гиперпродукцией противоапоптозного белка bcl-2 и стимуляцией некроза Т-лимфоцитов.

Научно обоснованы на примере транскрипционного фактора критерии оценки показателей клеточной гибели, ассоциированной с контаминацией стронцием: диапазону содержания стронция в крови 0,034–0,055 мг/дм³ соответствует диапазон транскрипционного фактора p53 1,50–1,88 % (малый риск), диапазону стронция в крови 0,056–0,09 мг/дм³ – диапазон p53 1,87–1,04 % (средний риск), диапазону стронция в крови 0,095–0,15 мг/дм³ – диапазон p53 0,99–0,55 % (высокий риск), диапазону стронция в крови 0,155–0,197 мг/дм³ – диапазон p53 0,52–0,33 % (очень высокий риск).

Предложена научно обоснованная, подтвержденная достоверными математическими моделями, система индикаторных показателей ранней индикации клеточной гибели в условиях избыточного поступления гаптенов с питьевой водой, включающая: для щелочно-земельных металлов (на примере стронция) перечень из 20 показателей, для галогенорганических соединений (на примере хлороформа) – из 25 показателей.

Теоретическая и практическая значимость работы. Получены новые научные результаты, углубляющие представления о фундаментальных механизмах реализации процесса программированной клеточной гибели, а также ее особенностей в условиях экспозиции химических факторов водной гаптенной нагрузки, заключающиеся: в ингибировании рецепторопосредованного и p53-зависимого апоптоза (экспозиция щелочно-земельных металлов); в ингибировании митохондриального пути апоптоза (экспозиция галогенорганических соединений) с переключением на некроз (альтернативный механизм клеточной гибели) – независимо от специфичности гаптенной нагрузки. Теоретическую значимость представляют новые знания о механизмах реализации клеточной гибели в условиях химического гаптенного окружения, установленные в условиях *in vitro*, с их верификацией на экспериментальных моделях *in vivo*. Полученные результаты существенно расширяют представление о характере и особенностях процессов естественной гибели клетки в условиях средовой гаптенной нагрузки (на примере щелочно-земельных металлов и галогенорганических соединений).

Теоретическое и практическое значение имеет предложенная система индикаторных показателей и критериев нарушения клеточной гибели для раннего выявления дисфункции иммунореактивности, обусловленной водной

гаптенной нагрузкой щелочно-земельными металлами и галогенорганическими соединениями.

Материалы использованы при выполнении отраслевой научно-исследовательской программы «Гигиеническое обоснование минимизации рисков для здоровья населения России» (на 2011–2015 гг.) (утв. руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителя и благополучия человека Российской Федерации 21.12.2010 г.), при разработке информационно-методических материалов и др.

Методология и методы исследования. Методология данного исследования основана на оценке патогенетической связи формирования у детского населения иммунорегуляторных нарушений с экспозицией химическими веществами (на примере экспозиции щелочно-земельных металлов и галогенорганических соединений), обладающими высокой тропностью к иммунной системе, с использованием современных высококачественных методов индикации, таких как проточная цитометрия и полимеразная цепная реакция (ПЦР). В работе для достижения поставленной цели применен комплекс высокоинформативных санитарно-гигиенических, статистических и общенаучных методов исследования, методология оценки риска, клинико-анамнестических, химико-аналитических и клинико-лабораторных методов исследования, которые позволили расширить и получить новые научные сведения.

Положения, выносимые на защиту:

1. Научно-методическая концептуальная модель гигиенического анализа индикации нарушений клеточной гибели как результат поступления гаптенов с питьевой водой является основой гигиенической оценки закономерностей их влияния на иммунную систему у детей.

2. Загрязнение питьевой воды щелочно-земельными металлами и галогенорганическими соединениями и связанный с ним дисбаланс микрокомпонентного состава крови обуславливают дополнительную заболеваемость детского населения болезнями костно-мышечной системы и гепатобилиарного тракта.

3. Общей закономерностью клеточной гибели у детей в условиях поступления с питьевой водой гаптенов природного и техногенного происхождения (на примере щелочно-земельных металлов и галогенорганических соединений) является переключение механизма клеточной гибели на путь некроза, а к специфическим особенностям клеточной гибели следует отнести ингибирование внешнего пути апоптоза в условиях воздействия щелочно-земельных металлов (на примере стронция), а также торможение внутреннего механизма апоптоза в условиях воздействия галогенорганических соединений (на примере хлороформа).

4. Нарушения процессов клеточной гибели в условиях экспозиций натуральных и эксперимента *in vitro* характеризуются достоверным дисбалансом иммунологических и генетических индикаторных показателей, что позволяет их рекомендовать для ранней индикации изменений в системе регуляции апоптоза в условиях специфической гаптенной нагрузки.

5. Ранняя индикация нарушений активности иммунной системы, характеризующаяся дисрегуляцией апоптотической гибели, ассоциированной с водной экспозицией на примере галогенорганических соединений и щелочно-земельных металлов, является приоритетным звеном в системе мер по профилактике формирования дисбаланса иммунного ответа в условиях средней гаптенной нагрузки и позволяет обосновать практические рекомендации для проведения гигиенических экспертиз и оценок.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов диссертационной работы, а также обоснованность выводов определяются использованным дизайном исследования, масштабностью исследования (гигиенической оценкой и эпидемиологическим анализом охвачено 85 субъектов Российской Федерации, две территории – углубленно), продолжительным периодом мониторинга (1992–2017 гг.), воспроизводимостью результатов (обобщено более 700 тыс. единиц информации), достаточным числом наблюдений, использованием современных адекватных методов исследования: санитарно-гигиенических (исследования по 15 компонентам в питьевой воде и по 12 компонентам в атмосферном воздухе), химико-аналитических (20 000 элементоопределений), клинико-anamнестических (10 000 карт углубленного медицинского обследования, социологическое анкетирование 400 семей), иммунологических (25 000 цитофлюориметрических исследований), иммуноферментных (21 210 исследований), генетических (12 020 исследований), биохимических (12 120 исследований), позволяющих решить поставленные задачи, а также адекватных методов статистического анализа с использованием программы Statistica 6.0 (StatSoft, USA).

Материалы диссертационного исследования представлены на Международной научно-практической конференции «Экология и медицина: современное состояние, проблемы и перспективы» (Москва, 2010); VI Всемирном конгрессе по иммунопатологии и респираторной аллергии, VIII Съезде аллергологов и иммунологов СНГ, V Съезде иммунологов России (Москва, 2011); XVI Научно-практической конференции «Высокие технологии и модернизация в лабораторной медицине» (Москва, 2011); XV International scientific conference «Family health in the XXI century» (Torremolinos (Spain) – Perm (Russia), 2011); 2-й Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Гигиенические и медико-профилактические технологии управления рисками здоровью населения» (Пермь, 2011); Всероссийской научно-практической интернет-конференции «Актуальные проблемы и инновационные технологии в гигиене» (Пермь, 2014); II Международной научно-практической конференции «Чистая капля воды» (Чита, 2012); VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика» (Москва, 2014); XI–XIX Конференциях иммунологов Урала (Екатеринбург, 2014; Пермь, 2015; Калининград, 2016; Челябинск, 2017; Сочи 2018); XII Всероссийском съезде гигиенистов и санитарных врачей «Российская гигиена – развивая традиции, устремляем-

ся в будущее» (Москва, 2017); Международной конференции «Рецепторы и внутриклеточная сигнализация» (Пушино, 2011; 2015; 2017); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы безопасности и оценки риска здоровью населения при воздействии факторов среды обитания» (Пермь, 2015; 2016); Межрегиональной научно-практической интернет-конференции «Актуальные вопросы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения на уровне субъекта Федерации» (Пермь, 2017); VII Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы медицины» и «Спутниковый форум по общественному здоровью и политике здравоохранения» (Баку, 2018).

Диссертационная работа апробирована и обсуждена на расширенном заседании отделов: иммунобиологических методов диагностики, социально-гигиенического мониторинга, проблем анализа риска для здоровья ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» (протокол № 1 от 24.01.2019 г.).

Внедрение результатов исследования. Материалы диссертационного исследования использованы при оформлении результатов интеллектуальной деятельности: «Способ диагностики вторичных иммунодефицитных состояний человека, связанных с химическим контаминантом» (патент РФ на изобретение № 2452963 от 10.06.2012 г.); «Способ количественной оценки апоптоза, модифицированного органическими низкомолекулярными соединениями» (патент РФ на изобретение № 2471190 от 27.12.2012 г.); «Способ диагностики клеточного иммунодефицита у экспериментальных животных в условиях экспозиции стронцием» (Патент РФ на изобретение № 2577705 от 20.03.2016 г.); «Способ оценки у детей влияния стронция на апоптоз, ассоциированный с аллельным вариантом гена FAS» (патент РФ на изобретение № 2621155 от 19.07.2016 г.); «Способ выявления нарушений у детей иммунологической реактивности в условиях избыточной экспозиции стронцием» (патент РФ на изобретение № 2651038 от 21.07.2017 г.).

Результаты исследований использованы при подготовке методических рекомендаций «Критерии регуляции жизненного цикла клетки в условиях влияния техногенных химических факторов на население» (утв. приказом зам. руководителя Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Пермскому краю № 56 от 14.03.2014 г.), «Внутриклеточные маркеры апоптоза и цитокиновой регуляции как маркеры воздействия металлов на иммунитет» (утв. приказом зам. руководителя Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Пермскому краю № 5 от 19.01.2015 г.).

Материалы исследований используются в учебном процессе при проведении лекций и практических работ для студентов и магистров кафедры охраны окружающей среды ФГБОУ ВО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет» (акт внедрения от 17.01.2019 г.).

Результаты исследований внедрены в практическую деятельность ЧУЗ «Клиническая больница "РЖД-Медицина" города Пермь» (акт внедрения от 27.12.2018 г.) и используются в ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» в научно-исследовательской деятельности при разработке информационно-методической документации, в работе органа инспекции при выполнении санитарно-эпидемиологических исследований, гигиенических оценок и экспертиз (акт внедрения от 23.01.2019 г.).

Личный вклад автора. Доля личного участия в процессе планирования, организации и проведения исследований по всем разделам работы составила 80 %. Формирование целей, задач, научной новизны, теоретической и практической значимости исследования, анализ фактического материала и обобщение результатов полностью проведены автором работы.

Публикации. По материалам диссертационного исследования опубликовано 44 работы, в том числе одна монография в соавторстве (18,75 условных печатных листов), 14 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для публикации основных научных результатов диссертации, 5 патентов на изобретение.

Объем и структура работы. Диссертационная работа изложена на 322 страницах машинописного текста, иллюстрирована 43 рисунками и 74 таблицами. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, методологии, материалов и методов исследования, 6 глав собственных исследований, заключения, выводов, списка литературы, практических рекомендаций. Библиографический указатель содержит 431 источник, из них 110 отечественных и 321 зарубежных публикаций.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В **первой главе** представлен аналитический обзор российских и зарубежных научных литературных источников, свидетельствующий об актуальности и современности состояния изучаемой проблемы исследования. Актуальность проблемы определяется связью между иммунной дисфункцией, обусловленной либо активацией, либо ингибированием клеточной гибели, в условиях химической экспозиции с возникновением ряда заболеваний, в том числе заболеваний костно-мышечной системы и гепатобилиарного тракта. В аналитическом обзоре раскрыты современные представления о механизмах реализации клеточной гибели, дана оценка роли химических веществ, участвующих в регуляции апоптотического сигнала в клетке. Между тем в доступной литературе отсутствуют сведения об особенностях и закономерностях влияния гаптенов, поступающих с питьевой водой, на иммунную систему детей. Показано, что для понимания патогенеза заболеваний, ассоциированных с иммунными нарушениями, и своевременного их выяв-

ления необходимо определение молекулярных механизмов и моделирование апоптотического процесса с его верификацией *in vitro* на культуре иммунокомпетентных клеток. Указано, что недостаточно представлена доказательная база установления причинно-следственных связей патологических состояний, при которых иммунные механизмы имеют доминирующее значение, с приоритетными химическими загрязнителями окружающей среды. С учетом имеющихся научных данных остаются недостаточно разработанными методы раннего выявления иммуноассоциированной патологии у детей под воздействием гаптенов природного и техногенного происхождения, поступающих с питьевой водой, что диктует необходимость проведения настоящих исследований.

Во **второй главе** изложены методология, методы, объекты и объем исследований. Применены методология системного подхода к оценке и анализа влияния химических веществ природного (на примере стронция) и техногенного (на примере хлороформа) происхождения, имеющих тропность к костно-мышечной системе и гепатобилиарному тракту, ассоциированных с иммунной системой и способствующих развитию негативных тенденции в состоянии здоровья детей. Научно-исследовательская работа базируется на логически построенной и обоснованной концептуальной модели индикации у детей нарушений клеточной гибели, детерминированной гаптенами, поступающими с питьевой водой, выполненной на модели работы ФБУН «ФНЦ МПТ УРЗН» Роспотребнадзора (Рисунки 1, 2).

Оценка качества среды обитания (20 000 единицы информации). Оценка состояния воды хозяйственно-питьевого назначения селитебных территорий Российской Федерации проведена по материалам ФИФ СГМ за период 2010–2017 гг. Оценка качества питьевой воды, атмосферного воздуха на территории ПК проведена по данным собственных исследований, мониторинговых и натурных наблюдений ГУ «Пермский ЦГМС» и Центрального отдела территориального Управления Роспотребнадзора по ПК. Информация обобщена в соответствии с ГН 2.1.6.1338–03, ГН 2.1.5.1315, СанПиН 2.1.4.1074–01, СанПиН 2.1.6.1032–01. *Оценка риска для здоровья* (7 000 единиц информации). Оценка риска для здоровья детей в соответствии с многофакторным влиянием на критические органы и системы (печень, костно-мышечная система, ассоциированные с иммунной системой) выполнена в соответствии с руководством Р 2.1.10.1920-04. *Эпидемиологический анализ структуры и динамики заболеваемости детского населения* (400 000 единиц информации). На основании статистических материалов «Заболеваемость населения России» Минздрава России, Департамента мониторинга, анализа и стратегического развития здравоохранения ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения» Минздрава России проведен ретроспективный анализ заболеваемости детей от 0 до 14 лет за период 2006–2016 гг. на уровне субъектов РФ. Заболеваемость детского населения на территориальном уровне оценивали по данным государственной статистической отчетности ЛПУ: «Сведе-

ния о числе заболеваний, зарегистрированных у пациентов, проживающих в районе медицинской организации» (форма 12), данным реестров оплаченных случаев заболеваний Территориального фонда ОМС за 2010–2014 гг. и первичных учетных форм (№ 112/у). Использованы данные фонда ОМС за 2014 г. по заболеваемости 10 803 детей (экспонированная группа) в возрасте 0–14 лет. В качестве группы сравнения использовали аналогичные данные по заболеваемости 941 ребенка в возрасте 0–14 лет. Выполнен ретроспективный анализ заболеваемости детей от 0 до 14 лет за период

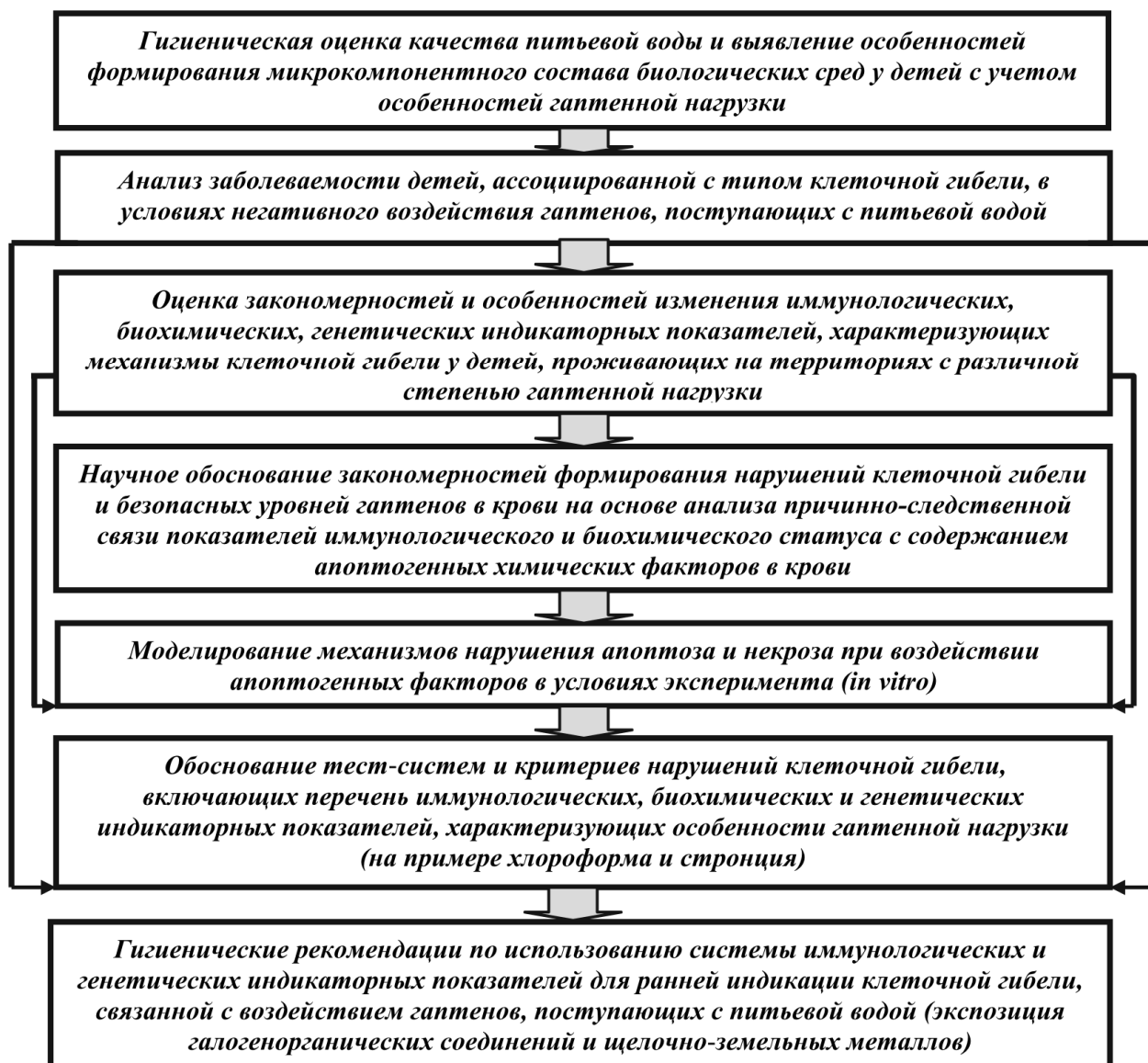


Рисунок 1 – Концептуальная модель научно-методического обоснования комплексного подхода к гигиеническому анализу закономерностей влияния гаптенов, поступающих с питьевой водой, на иммунную систему у детей в условиях экспозиции щелочно-земельных металлов и галогенорганических соединений (алгоритм обоснования и анализа закономерностей)

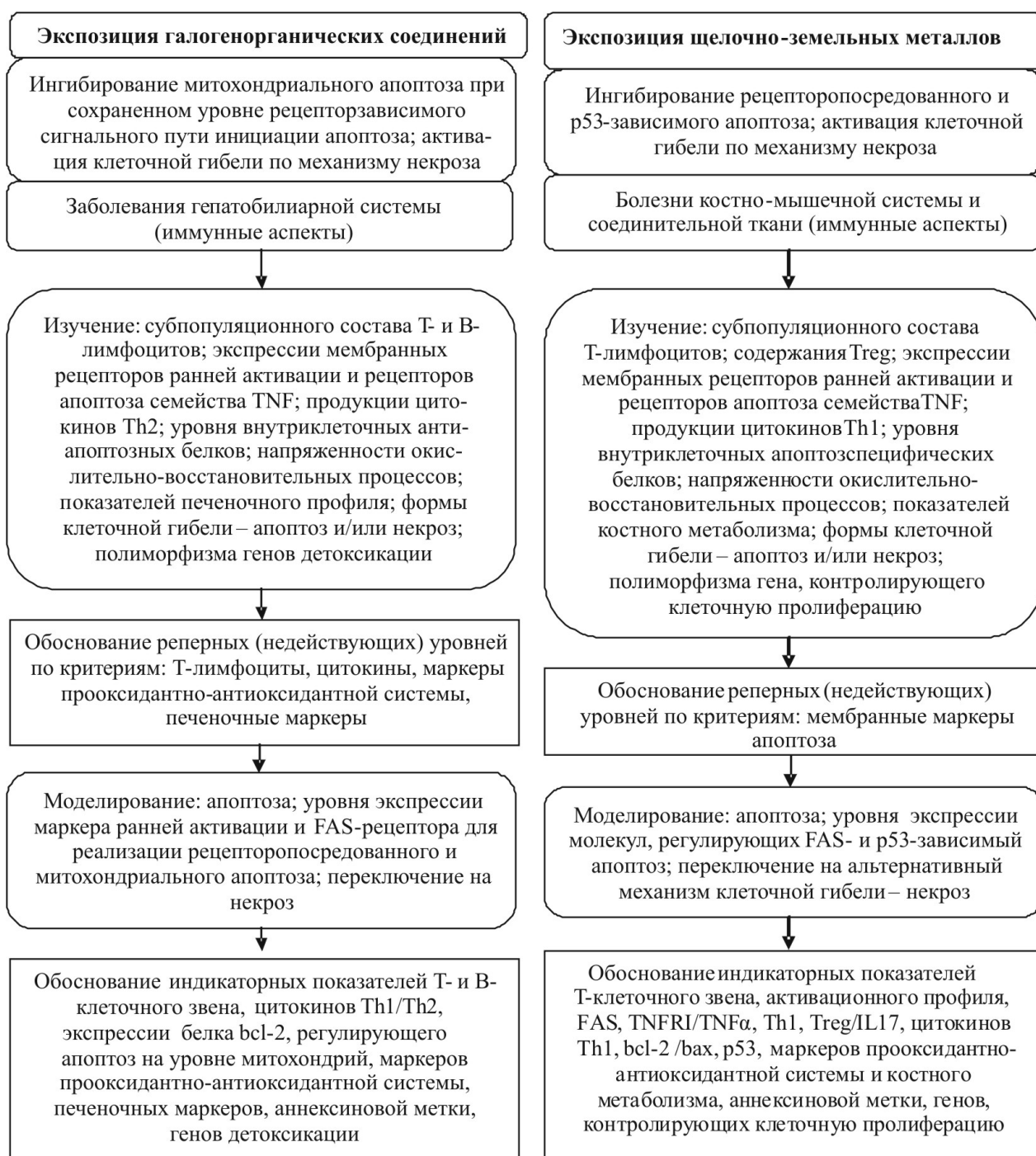


Рисунок 2 – Концептуальная модель научно-методического обоснования комплексного подхода к гигиеническому анализу закономерностей влияния гаптенов, поступающих с питьевой водой, на иммунную систему у детей в условиях экспозиции щелочно-земельных металлов и галогенорганических соединений (патогенетические аспекты особенностей гаптенной нагрузки на иммунитет)

1992–2017 гг. на территории ПК. Анализ скорости изменения динамики заболеваемости детского населения выполнен по показателю темпа прироста (убыли). Для оценки тенденции многолетней динамики использовали выравнивание динамического ряда по уравнению прямой линии с определением коэффициента аппроксимации ($R^2_{\text{апп}}$).

Общая характеристика обследуемого контингента. При планировании исследования выполнен расчет объема выборки, достаточной для проверки статистической значимости различий с учетом альфа-ошибки ($\alpha = 0,05$) и статистической мощности (80 %). Для решения поставленных задач обследованы дети, постоянно проживающие на территории ПК. Для сравнительного анализа выбраны селитебные территории ПК, различающиеся по степени воздействия природных и техногенных химических факторов: стронциевая геохимическая провинция (территория наблюдения № 1), территория ПК, где производится гиперхлорирование питьевой воды (территория наблюдения № 2), территории относительного санитарно-гигиенического благополучия ПК (территория сравнения № 1, территория сравнения № 2). Настоящее исследование выполнено с соблюдением этических требований Хельсинкской декларации ВМА 2000 г. и протокола Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине 1999 г. Проведенные исследования одобрены этическим комитетом ФБУН «ФНЦ МПТ УРЗН» Роспотребнадзора (протокол № 17 от 05.12.2011 г.). Выполнено одномоментное (поперечное) эпидемиологическое исследование. Проведено углубленное обследование 1002 детей дошкольного возраста, из них мальчиков – 487 (49 %), девочек – 515 (51 %); группа сравнения – 450 детей, группа наблюдения – 552 ребенка. *Критерии включения в исследование:* дети от 4 до 8 лет со второй группой здоровья (II б), принадлежность к европеоидной расе, отсутствие приема иммунокорректоров и глюкокортикостероидов последние шесть месяцев, отсутствие в анамнезе аутоиммунных заболеваний, врожденной патологии, онкологических заболеваний, согласие родителей (опекунов) на участие в исследовании. *Критерии исключения:* наличие заболеваний в стадии декомпенсации (органические и инфекционные поражения центральной нервной системы, заболевания сердечно-сосудистой системы, бронхолегочной и мочеполовой систем, заболевания ЖКТ); невозможность или нежелание родителей (опекунов) обследуемых детей подписать информационное согласие на участие в исследовании и использовании персональных данных; участие обследуемых детей в другом исследовании. Все родители (опекуны) подписали информированное согласие на участие в исследовании и использовании персональных данных. Выборка обследуемых была достаточна для достоверного определения межгрупповых различий.

Химико-аналитическое исследование содержания металлов в биосредах детей (кровь) выполнено методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой на приборе Agilent 7500_{сх} (Agilent Technologies Inc., USA). Исследование содержания хлорорганических соединений осуществлено методом газовой хроматографической фазы на приборе «Хроматэк-Кристалл-5000» (ЗАО СКБ Хроматэк, Россия). Оценка содержания химических факторов в биосредах проводилась относительно показателей группы сравнения и референтных уровней (40 000 единиц информации).

Цитофлюориметрические, иммуноферментные и биохимические методы исследования (более 120 000 единиц информации). Определение мембранных и внутриклеточных маркеров апоптоза, детекцию апоптоза выполняли с помощью проточного цитометра FACSCalibur фирмы Becton Dickinson («BD», USA). Проведена оценка экспрессии: CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺, CD95⁺ (FAS), CD3⁺CD16⁺CD56⁺ (NKT), CD4⁺CD25⁺, CD4⁺CD25⁺127⁻ (Treg), TNFR1, bcl-2, bax, p53. Уровень апоптоза лимфоцитов определяли с помощью окрашивания аннексином V-FITC (Annexin V-FITC) и пропидиум йодидом (PI (Propidium Iodide)) («BD», USA) Annexin V-FITC⁺PI⁻ – ранний апоптоз, Annexin V-FITC⁺PI⁺ – поздний апоптоз и/или некроз. Идентификацию цитокинов (IL1β, IL4, IL6, IL10, IL17, IFNγ, TNFα, VEGF, RANKL), LPO, остеокальцина, активности GPx, SOD, GST и костного изофермента щелочной фосфатазы выполняли на иммуноферментном анализаторе Sunrise (Tecan, Austria). Уровень MDA и антиоксидантной активности плазмы изучали с помощью СФ ПЭ-5300 (Россия). Активность АСТ и щелочной фосфатазы, содержание альбуминов, белков общих, билирубина прямого определяли на биохимическом анализаторе Keylab (Italy).

Генетические методы исследования (40 000 единиц информации). Забор материала для ПЦР проводили методом взятия мазков со слизистой оболочки ротоглотки. Затем проводили выделение ДНК с помощью сорбентного метода, в основе которого лежит разрушение клеток с дальнейшей сорбцией нуклеиновых кислот на сорбент. Для исследования полиморфных вариантов в изучаемых генах использовали методику ПЦР, в основе которой лежит реакция амплификации и детекция продуктов этой реакции в режиме реального времени (мультиплексная ПЦР). В качестве праймеров использовали участки ДНК генов: *VEGFA G634C*; *CPOX rs1131857*; *CYP1A1 Ile462Val*; *GSTA4 rs3756980*; *MMP9 Gln279Arg*; *SOD2 C14510A*; *TP53 rs178841594*; *FOXP3 T(-3499)C*; *FAS C14405T*; *ZMP STE24 rs2076697*; *TERT C309G*; *TNF G4682A*. Для определения генотипа человека использовали метод аллельной дискриминации, когда различия между гетерозиготами, гомозиготами дикого и минорного вариантов устанавливали по различиям в протекании реакций амплификации соответствующих праймеров. Статобработку данных по генотипированию проводили с использованием унифицированной программы «Ген Эксперт», служащей для расчета статистических параметров при исследовании «случай – контроль», использующих SNP.

Экспериментальные модели (6 100 единиц информации). У детей, проживающих в условиях экспозиции, для оценки влияния НМХС на клеточную гибель в системе *in vitro* из общего количества всех проб, анализируемых с учетом гаптенной нагрузки, отобрано: для изучения воздействия стронция 49 проб крови, хлороформа – 60 проб. Определяли уровень экспрессии CD25⁺-рецептора, CD95⁺-рецептора, белка bcl-2, bax, p53, содержание Annexin V-FITC⁺PI⁻-клеток и Annexin V-FITC⁺PI⁺-клеток. Для оценки влияния НМХС на реализацию апоптоза пробы инкубировали со стронцием в концентрации

7 мг/дм³ и с хлороформом 0,06 мг/дм³ в течение 4 часов при 37 °С (опытные пробы). В качестве контроля использована суспензия клеток без добавления стронция / хлороформа, которые инкубировались при таких же условиях.

Оценку вероятности возникновения (риск) нарушения клеточной гибели (диапазон отклонения индикаторного показателя клеточной гибели от ФН в зависимости от содержания стронция в крови и частоты встречаемости БКМС в данном диапазоне значений индикаторного показателя) проводили по данным научных источников из обзора литературы по изучаемой проблеме и установленным закономерностям, обнаруженным в процессе настоящего исследования.

Статистический анализ данных. Проверку распределения количественных данных проводили с помощью статистического критерия Колмогорова – Смирнова. Для описания данных, имеющих нормальное распределение, использовали среднее арифметическое значение (M), стандартное отклонение (σ) и 95%-ный доверительный интервал для среднего (95 % ДИ). Данные с распределением, отличающимся от нормального, описаны с помощью медианы (Me), 25-го и 75-го перцентилей (P_{25} ; P_{75}) и 95%-ного доверительного интервала для медианы (95% ДИ). Категориальные переменные описаны в виде относительных частот (%). Для проверки нулевых гипотез о равенстве средних значений между двумя независимыми группами с нормальным распределением применялся двухвыборочный критерий Стьюдента. Две независимые группы с распределением данных, отличающимся от нормального, сравнивали с использованием критерия Манна – Уитни. Сравнение выборочных данных с референтными уровнями выполнено с использованием одновыборочного критерия Вилкоксона. Проверка нулевых гипотез об отсутствии различий между долями проводилась с помощью критерия хи-квадрат (χ^2). Для прогноза дозовой нагрузки химическими веществами, получаемой детьми при потреблении питьевой воды, а также для прогноза изменения иммунологических ответов при экспозиции хлороформа и стронция использовали однофакторный линейный регрессионный анализ. Вклад независимых переменных в вариацию зависимых оценивали по коэффициенту детерминации (R^2). Для прогнозирования вероятности нарушения апоптоза использовали простой логистический регрессионный анализ. Для оценки связи исследуемых ответов с воздействием факторов рассчитывали отношение шансов (OR) и 95%-ный доверительный интервал для отношения шансов (52 000 единиц информации). Уровень значимости, на котором проводилась проверка нулевых гипотез, принимался равным 0,05. Статистический анализ данных осуществляли с помощью программы Statistica 6.0 (StatSoft, США).

В третьей главе представлены гигиенические особенности формирования компонентного состава водной гаптенной нагрузки, ксенобиального и микроэлементного состава биологических сред детей, потребляющих питьевую воду с повышенным содержанием химических веществ природного (на примере стронция) и техногенного (на примере хлороформа) происхождения. Оценка состояния воды хозяйственно-питьевого назначения селитеб-

ных территорий РФ в целом (по данным ФИФ СГМ) за период 2013–2017 гг. показала увеличение процента проб с превышением ПДК в 1,32 раза (с 2,68 до 3,54 %), а на территории ПК – в 1,25 раза (с 1,47 до 1,83 %). Доля нестандартных проб щелочно-земельных металлов (на примере стронция) по РФ в 2017 г. составила 7,61 %, что в 2,1 раза выше, чем в 2013 г. (3,7 %); галогенорганических соединений (на примере хлороформа) в 2017 г. – 8,82 %, что в 1,3 раза выше, чем в 2014 г. (11,31 %) (Рисунок 3). В ряде регионов РФ доля нестандартных проб питьевой воды по содержанию стронция выросла от 2,08 (2010 г.) до 54,50 % (2013 г.) (Калужская область, Центральный ФО). За 2013–2017 гг. на территории ПК удельный вес нестандартных проб питьевой воды по содержанию стронция природного происхождения вырос в 6,8 раза (с 0,37 до 2,50 %). В 2017 г. в ПК в 1,67 % проб питьевой воды зарегистрировано содержание стронция на уровне от 2 до 5 ПДК. За анализируемый период времени высокий удельный вес проб питьевой воды, не соответствующей гигиеническим нормативам по содержанию хлороформа, зарегистрирован в Южном ФО (до 67 %), Приволжском ФО (до 26 %). В 2017 г. в Новгородской, Архангельской (Северо-Западный ФО), Ярославской, Московской (Центральный ФО) областях и Пермском крае (Приволжский ФО) обнаружены пробы питьевой воды с превышением допустимых норм хлороформа в 5 раз (пробы > 5 ПДК составляли до 1,64 %).

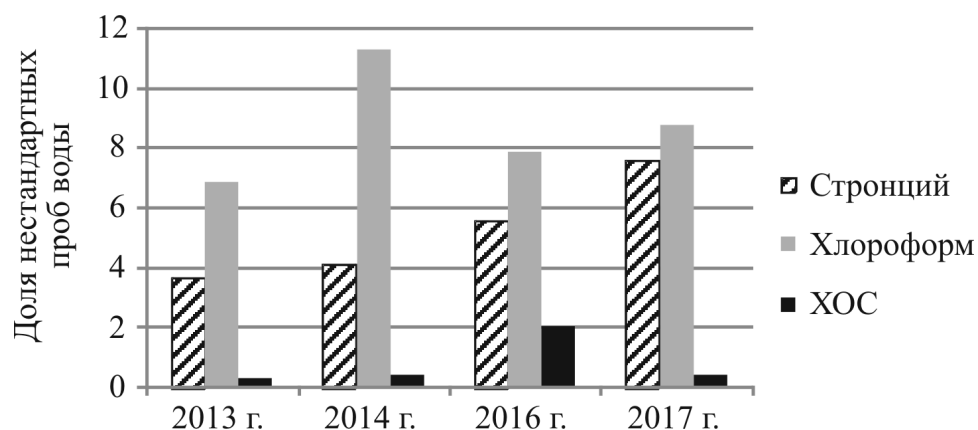


Рисунок 3 – Динамика показателей качества питьевой воды по содержанию химических веществ природного и техногенного происхождения на территории РФ (% нестандартных проб выше 1 ПДК), 2013–2017 гг.; ХОС – хлорсодержащие органические соединения (тетрахлорметан, дибромхлорметан, бромдихлорметан, дибромхлорметан, 1,2-дихлорэтан)

На территории ПК отмечается отрицательная динамика показателей химической безопасности воды подземных источников водоснабжения: в 2014 г. доля нестандартных проб составляла 11,6 %, а в 2016 г. – 17,4 % (повышение в 1,5 раза). Природно-обусловленный повышенный уровень в питьевой воде стронция (более 2 ПДК) в период 2014–2017 гг. отмечается на территории стронциевой геохимической провинции. В Пермском крае с 2014 по 2017 г. стабильно регистрируются повышения нестандартных проб по содержанию

химических веществ, образующихся в воде при хлорировании. В 2014 г. из всех исследованных проб 32 % (по содержанию хлороформа) превышали предельно допустимый уровень, а в 2017 г. – 44 % (повышение в 1,4 раза).

Стронций как фактор загрязнения среды обитания. При оценке качества хозяйственно-питьевого водоснабжения идентифицированы превышения предельно допустимых концентраций по стронцию в пробах воды, отобранных на территории стронциевой геохимической провинции (Таблица 1). Доля нестандартных проб по содержанию стронция в воде составила 16,7 %. Максимальная концентрация стронция в питьевой воде составила 8,4 мг/л (1,2 ПДК). Содержание стронция в водопроводной воде на территории сравнения не превышает ПДК. В ходе сопоставительного анализа результатов исследований установлено, что кратность превышения по стронцию в пробах воды относительно территории сравнения составляет 10,9 раза. Обнаружено, что у детей группы наблюдения в биологических средах статистически значимо ($p = 0,001$) в 1,6 раза повышено содержание стронция по сравнению с верхней границей диапазона референтных значений и в 11,3 раза – относительно значений, полученных у детей группы сравнения ($p = 0,001$) (Таблица 2). Анализ причинно-следственных связей с использованием математического моделирования выявил адекватные модели зависимости между концентрацией стронция в крови детей и концентрацией стронция в питьевой воде ($y = 0,03 + 0,015x, p < 0,001$).

Таблица 1 – Химический анализ питьевой воды обследуемых территорий, $M(\sigma)$; 95% ДИ

Территория	Стронций, ПДК = 7,00 мг/дм ³	
	среднее значение, мг/дм ³	доля ПДК
Территория сравнения ($n = 13$)	0,71 (0,06); 0,60–0,82	0,11
Территория наблюдения ($n = 16$)	7,80 (0,62); 6,84–8,40	1,20

Таблица 2 – Химический анализ биосред обследуемых детей, $Me(P_{25}; P_{75})$ [95% ДИ], мг/дм³

Показатель	Группа сравнения ($n = 238$)	Группа наблюдения ($n = 266$)
Референтные значения	0,010–0,077**	
Диапазон концентрации	0,002–0,0170	0,0171–0,371
Среднее значение	0,0109 (0,0010; 0,0149) [0,0083–0,0149]	0,1235 (0,0856; 0,1474) [0,1108–0,1745] ^{$p=0,001, p^I=0,001$}

Примечание: ^{p} – различие с референтными значениями; ^{p^I} – различие между группой сравнения и группой наблюдения; ** – Heitland P., Köster H.D. Biomonitoring of 37 trace elements in blood samples from inhabitants of northern Germany by ICP-MS. // J. Trace Elem. Med. Biol. – 2006. – Vol. 20(4). – P. 253–262.

Хлороформ как фактор загрязнения среды обитания. Установлено, что на исследуемой территории производится гиперхлорирование водопроводной воды: хлор остаточный свободный – 62,5 % проб выше ПДК, хлор остаточный связанный – 12,5 % проб выше ПДК. Данные химико-аналитического исследования свидетельствуют об идентификации в крови всех детей, потребляющих гиперхлорированную воду, хлороформа, который в норме в крови не должен обнаруживаться (Таблица 3). В ходе выявления и оценки параметров зависимости «доза галогенорганического соединения – концентрация тригалометана в крови» получены адекватные модели зависимости между средней суточной дозой хлороформа ($y = 0,02 + 12,9x$, $p = 0,025$), поступающего с питьевой водой, и концентрацией анализируемого тригалометана в биосредах детей группы наблюдения.

Таблица 3 – Химический анализ биосред обследуемых детей, мг/дм³

Хлороформ в крови	Группа сравнения ($n = 212$)	Группа наблюдения ($n = 286$)	
		$Me (P_{25}; P_{75})$	95% ДИ
Диапазон концентрации	0,0	0,00001–0,2300	
Среднее значение	–	0,0058 (0,0037; 0,0140)	0,00089–0,0138

Очевидно, что повышенное содержание в питьевой воде химических веществ природного происхождения (на примере стронция) и техногенного происхождения (на примере хлороформа) формирует особенности микрокомпонентного состава биосред детей, потребляющих воду ненормированного качества.

В четвертой главе выявлены актуальные тенденции динамики заболеваемости БКМС и пищеварительной системы, ассоциированных с иммунной системой, у детей, проживающих в различных субъектах РФ; выполнена оценка риска здоровью экспонированных детей. По результатам официальных статистических данных темп прироста уровня общей заболеваемости детей БКМС за 2014–2016 гг. в целом по РФ составил 1,4 %. Однако в отдельных субъектах РФ темп прироста составил: в Северо-Западном ФО – 18,7 %, Сибирском ФО – 7,2 %, Приволжском ФО – 4,4 %. С 1992 по 2016 г. в Пермском регионе наблюдается рост общей заболеваемости БКМС среди детей до 6,6 раза, а зарегистрированной впервые – до 2,4 раза. Установлено, что в последние десять лет в отдельных регионах РФ отмечается рост заболеваемости детей болезнями ЖКТ. Так, в период 2006–2016 гг. высокий уровень заболеваемости и значительные темпы прироста (24 %) заболеваний органов пищеварения зарегистрированы в ПК. По сравнению с 2014 г. в целом по России в 2016 г. значительно увеличилась заболеваемость детей болезнями печени (5,8 %), причем в отдельных регионах темп прироста в последние годы превышал общероссийский до 34 раз (Курганская область (Уральский ФО) – 86,0 %, Хакасия (Сибирский ФО) – 198,4 %). За анализируемый период вре-

мени на территории ПК отмечаются превышения общероссийских показателей общей и впервые выявленной патологии печени до 5 раз. В ходе настоящего исследования выполнено распределение субъектов РФ по уровню заболеваемости детей БКМС / болезнями печени и уровню санитарно-эпидемиологического благополучия (Рисунки 4, 5).

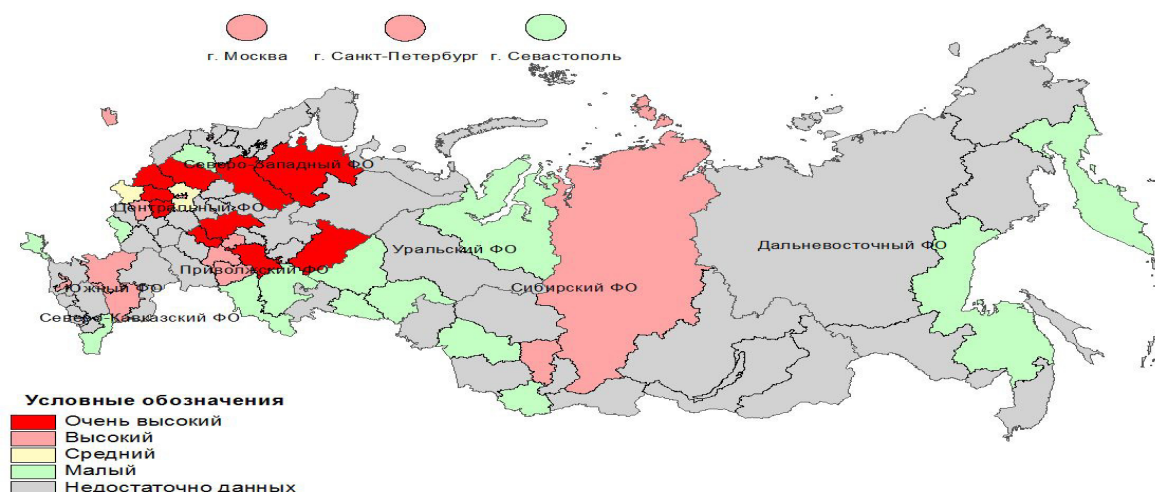


Рисунок 4 – Распределение субъектов РФ по уровню заболеваемости детского населения патологией костно-мышечной системы и соединительной ткани, ассоциированной с водной гаптенной нагрузкой щелочно-земельными металлами

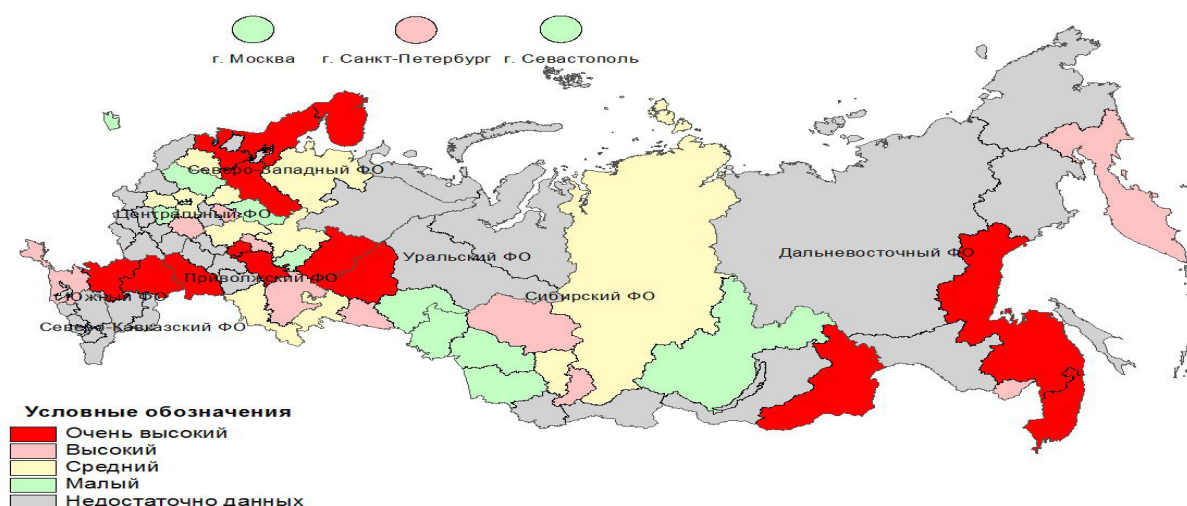


Рисунок 5 – Распределение субъектов РФ по уровню заболеваемости детского населения патологией гепатобилиарного тракта (болезни печени, желчного пузыря, желчевыводящих путей), ассоциированной с водной гаптенной нагрузкой галогенорганическими соединениями

Очевидно, ПК относится к территории с очень высоким риском нарушения здоровья детского населения (превышение общероссийских показателей общей / впервые выявленной патологии костно-мышечной системы и соедини-

тельной ткани и печени, ассоциированных с иммунной системой) в условиях экспозиции химических веществ (высокий процент проб воды, не соответствующих гигиеническим требованиям по содержанию стронция / хлороформа).

Обнаружено, что с 1992 по 2014 г. на территории стронциевой геохимической провинции ПК показатели общей и впервые установленной заболеваемости БКМС выросли в 4 (темп прироста – 257,6 %) и 2 (темп прироста – 94,4 %) раза соответственно, при этом в отдельные годы до 5 раз превышая общекраевые. По классу болезней органов пищеварения в 1992–2016 гг. регистрируется наибольший рост общей и впервые выявленной заболеваемости на территории, где используется гиперхлорированная питьевая вода, – более чем в 2 раза (темп прироста составил 99,7 и 91,7 % соответственно), при этом в 3 раза превышая аналогичные показатели по ПК в целом. Распространенность БКМС ($y = 35,29x + 2130$; $R^2_{\text{анп}} = 0,12$) и заболеваний ЖКТ у детей, проживающих в условиях стронциевой геохимической провинции и на территории, где используется гиперхлорированная вода, имеют тенденцию к повышению ($y = 46,88x + 1845$; $R^2_{\text{анп}} = 0,57$).

Установлено, что обращаемость за медицинской помощью по поводу БКМС на территории стронциевой геохимической провинции в 2,1 раза выше, чем на территории сравнения. Отношение шансов показывает связь гаптенной нагрузки с развитием заболеваний БКМС у детей, проживающих в условиях экспозиции стронция ($OR = 3,08$; 95% ДИ = 2,09–4,09; $p < 0,05$). Оценка риска для здоровья детского населения, проживающего на территории стронциевой геохимической провинции, показала, что вклад стронция в величину *HI* развития патологии костно-мышечной системы при пероральном воздействии достигает 61 % (*HI* до 2,18).

Выявлено, что обращаемость детей, проживающих на территории, где производится гиперхлорирование питьевой воды, по причине заболеваний «Болезни желчного пузыря, желчевыводящих путей и поджелудочной железы» (K80–87) в 4,7 раза выше, чем на территории, где используется качественная питьевая вода. Отношение шансов показывает связь гаптенной нагрузки с нарушением целостности гепатоцитов у детей, потребляющих гиперхлорированную воду ($OR = 13,50$; 95% ДИ = 7,48–24,41; $p < 0,05$). Установлено, что постоянное употребление гиперхлорированной воды формирует у детей риск развития патологии со стороны критических органов и систем – печень. Так, индекс опасности развития патологии печени (*HI*) составляет до 1,54. Среди показателей качества воды ведущее место по величине коэффициента опасности занимает хлороформ: *HQ* до 1,28.

В **пятой главе** обоснован перечень иммунологических и биохимических индикаторных показателей апоптоза, ассоциированных с повышенной контаминантной нагрузкой биосред. *Иммунологические, биохимические индикаторные показатели у детей, проживающих в условиях экспозиции щелочно-земельных металлов (на примере стронция)*. На основании анализа данных карт индивидуального развития и результатов клинического обследо-

вания установлено, что среди детей, проживающих на территориях с неудовлетворительным качеством питьевой воды по санитарно-химическим показателям, патология опорно-двигательного аппарата встречалась в 6 раза чаще, чем в группе сравнения (62,8 и 11,8 % соответственно, $p = 0,001$). Отношение шансов показывает связь гаптенной нагрузки с развитием у детей группы наблюдения БКМС ($OR = 12,65$; 95% ДИ = 7,94–20,17; $p < 0,05$). Установлена и параметризирована вероятностная причинно-следственная связь развития БКМС с повышенным содержанием в крови стронция ($b_0 = -2,69$; $b_1 = 5,52$; $R^2 = 0,20$; $F = 9,00$; $p = 0,001$). Результаты оценки иммунного статуса показали, что у детей с повышенным содержанием стронция в крови статистически значимо ($p = 0,042–0,001$) в 1,2 раза снижено абсолютное число CD3⁺-лимфоцитов, в среднем в 1,3 раза – количество CD8⁺-лимфоцитов по сравнению с результатами, полученными у детей группы сравнения (Таблица 4). Исследование антиоксидантного статуса показало, что у детей группы наблюдения

Таблица 4 – Иммунологические и биохимические индикаторные показатели клеточной гибели у детей, проживающих в условиях экспозиции щелочно-земельных металлов (на примере стронция), M (σ); 95% ДИ, ($p \leq 0,05$)

Показатель	ФН	Группа сравнения ($n = 200$)	Группа наблюдения ($n = 250$)	p
CD3 ⁺ , $10^9/\text{дм}^3$	0,69–2,50	2,22 (0,32); 1,90–2,52	1,80 (0,22); 1,61–2,01	0,042
CD8 ⁺ , %	13,00–41,00	29,50 (3,14); 26,51–32,51	24,71 (1,95); 22,81–26,62	0,013
CD8 ⁺ , $10^9/\text{дм}^3$	0,19–1,14	0,90 (0,13); 0,80–1,06	0,60 (0,09); 0,60–0,72	0,001
LPO, $\text{мкмоль}/\text{дм}^3$	0–350,00	215,20 (37,70); 141,33–289,18	354,52 (24,90); 296,82–412,23	0,001
MDA, $\text{мкмоль}/\text{дм}^3$	1,80–2,50	2,29 (0,08); 2,21–2,52	3,23 (0,16); 2,91–3,65	0,001
GST, $\text{нг}/\text{см}^3$	110,00– 290,00	176,39 (28,02); 121,49–231,29	120,48 (14,70); 91,74–149,41	0,001
GPx, $\text{нг}/\text{см}^3$	0–100,00	35,61 (5,96); 27,45–43,69	29,81 (5,42); 24,61–35,50	0,018
SOD, $\text{нг}/\text{см}^3$	45,00–98,00	54,10 (6,33); 41,72–66,55	40,63 (3,51); 33,79–47,59	0,001
sRANKL, $\text{пг}/\text{см}^3$	5,50–11,50	5,60 (1,97); 5,23–12,66	10,05 (5,11); 9,49–21,39	0,026
Остеокальцин, $\text{нг}/\text{мл}$	27,00–67,00	59,17 (3,15); 53,03–65,34	53,53 (4,54); 44,64–60,43	0,044
Щелочная фосфатаза, $\text{Е}/\text{дм}^3$	71,00– 645,00	323,47 (22,63); 279,09–367,83	295,90 (14,38); 267,68–324,13	0,046
Костный изофер. щелоч. фосф., $\text{Е}/\text{дм}^3$	40,00– 195,00	122,81 (13,40); 96,55–149,07	95,87 (9,92); 76,41–115,33	0,002

статистически значимо ($p = 0,001$) в 1,7 раза повышен уровень LPO в сыворотке крови, а уровень MDA в плазме крови – в 1,4 раза относительно аналогичных показателей у детей группы сравнения. Установлено, что у детей группы наблюдения статистически значимо ($p = 0,018–0,001$), в среднем в 1,3 раза, снижена активность GST, GPx, SOD по сравнению с результатами, полученными у детей группы сравнения. Установлено, что у детей, проживающих на территории наблюдения, экспрессия RANKL статистически значимо ($p = 0,026$) в 1,7 раза превышает контрольные значения. У детей, потребляющих некачественную воду по содержанию стронция, до 1,3 раза снижена активность щелочной фосфатазы, костного изофермента щелочной фосфатазы и содержание остеокальцина относительно значений, выявленных у детей, потребляющих качественную воду по содержанию стронция ($p = 0,046–0,002$).

Анализ индикаторных показателей апоптоза показал, что у детей группы наблюдения статистически значимо ($p = 0,047–0,001$), в среднем 1,3 раза, снижено количество CD95⁺-клеток, содержание VEGF и абсолютного числа Treg, в 4 раза – экспрессия TNFRI и bcl-2, в среднем в 2,1 раза – содержание белка p53 и количество Annexin V-FITC⁺PI⁺-клеток по сравнению с величинами, идентифицированными у обследуемых группы сравнения (Таблица 5).

Таблица 5 – Индикаторные показатели клеточной гибели у детей, проживающих в условиях экспозиции щелочно-земельных металлов (на примере стронция), ($p \leq 0,05$)

Показатель	ФН	Группа сравнения ($n = 200$)		Группа наблюдения ($n = 250$)		p
		Me (P ₂₅ ; P ₇₅)	95% ДИ	Me (P ₂₅ ; P ₇₅)	95% ДИ	
CD95 ⁺ , %	15,00–25,00	16,0 (13,50; 18,50)	14,81–18,61	12,50 (11,00; 14,00)	11,30–14,61	0,001
Treg, 10 ⁹ /дм ³	0,015–0,04	0,04 (0,009; 0,046)	0,009–0,048	0,03 (0,03; 0,006)	0,03–0,05	0,047
p53, %	1,20–1,80	0,97 (0,31; 2,07)	0,84–2,12	0,43 (0,21; 0,75)	0,40–0,63	0,001
TNFRI, %	1,00–1,50	1,07 (0,25; 2,00)	0,98–1,59	0,25 (0,11; 0,41)	0,24–0,46	0,001
bcl-2, %	1,00–1,50	0,41 (0,29; 0,58)	0,38–0,63	0,10 (0,07; 0,17)	0,10–0,15	0,001
TNFα, пг/см ³	0–6,00	0,84 (0,06; 1,66)	0,67–3,25	1,84 (1,33; 2,53)	1,58–3,52	0,001
VEGF, пг/см ³	10,00–700,00	301,30 (157,41; 455,01)	261,70–384,60	226,10 (122,95; 306,21)	194,61–267,30	0,012
Ann V-FITC ⁺ PI ⁺ , %	1,50–2,50	2,45 (1,75; 2,75)	2,16–2,68	1,20 (0,91; 1,75)	1,19–1,55	0,001
Ann V-FITC ⁺ PI ⁺ , %	7,00–11,00	6,09 (4,84; 7,08)	5,71–6,51	8,03 (7,30; 8,78)	7,08–8,32	0,001

Анализ показателей иммунограмм выявил, что у детей группы наблюдения статистически значимо ($p = 0,001$) экспрессия TNF α превышала ФН и контрольные значения в среднем в 2,8 раза, а количество Annexin V-FITC⁺PI⁺-клеток – в 1,3 раза относительно результатов, зафиксированных у детей группы наблюдения. В условиях воздействия стронция отмечается ингибирование апоптоза, при этом повышается гибель клетки по пути некроза, что является дополнительным механизмом в регуляции иммунного ответа в условиях повышенной гаптенной нагрузки.

Полученные результаты доказывают особую значимость апоптоза в механизмах иммунорегуляции и в сопряженных во времени процессах локальной резорбции и формирования костной массы, а CD3⁺, CD8⁺, FAS, TNFR, Treg, p53, bcl-2, TNF α , VEGF, RANKL; LPO, MDA, GST, GPx, SOD, щелочная фосфатаза, костный изофермент щелочной фосфатазы, остеокальцин, Annexin V-FITC⁺PI⁺-клетки, Annexin V-FITC⁺PI⁺-клетки являются индикаторными показателями нарушения клеточной гибели в условиях избыточного поступления в организм щелочно-земельных металлов (на примере стронция).

Иммунологические, биохимические индикаторные показатели у детей, проживающих в условиях экспозиции галогенорганических соединений (на примере хлороформа). Оценка состояния здоровья детей на основании анализа карт индивидуального развития ребенка выявила, что у 35,6 % обследованных, проживающих на территории, где производится гиперхлорирование питьевой воды, приоритетными видами патологии являются функциональные расстройства желудочно-кишечного тракта. В ходе клинико-функционального обследования установлено, что в группе наблюдения и группе сравнения в качестве основного диагноза регистрировались «Болезни органов пищеварения» (K00–K93; 63,0 и 37,0 % соответственно, $p = 0,010$). Отношение шансов показывает связь гаптенной нагрузки с развитием у детей, потребляющих гиперхлорированную воду, дискинезии пузырного протока и желчного пузыря ($OR = 2,77$; 95% ДИ = 1,92–4,01; $p < 0,05$). Сравнительный анализ иммунограмм выявил статистически значимое ($p = 0,003–0,001$) снижение до 1,2 раза процентного содержания CD3⁺-клеток и CD4⁺-клеток у детей основной выборки в сравнении с контрольными значениями (Таблица 6). В группе обследуемых, проживающих в условиях экспозиции хлороформа, отмечается статистически значимое ($p = 0,042–0,001$), в среднем в 1,2 раза, повышение содержания CD16⁺CD56⁺-лимфоцитов и CD19⁺-лимфоцитов в сравнении с контрольными величинами. Установлено, что у детей, потребляющих гиперхлорированную воду, содержание MDA и LPO статистически значимо ($p = 0,001$) в 1,2 и 1,4 раза соответственно выше значений, полученных у детей, потребляющих качественную питьевую воду. Обнаружено статистически значимое ($p = 0,002–0,001$) увеличение активности SOD и GPx у детей группы наблюдения относительно значений, полученных у детей группы сравнения, кратность превышения составила 1,5 и 2,2 раза соответственно. Доля проб с завышенным содержанием АОА относительно ФН в плазме крови детей группы наблюдения составила

42,7 %, что в 2 раза выше аналогичного показателя в группе сравнения – 19,6 %. Обнаружено, что у детей группы наблюдения статистически значимо ($p = 0,017-0,001$) повышена активность АСТ и печеночной фракции изоферментов щелочной фосфатазы, содержание билирубина прямого в сыворотке крови в среднем в 1,2, 2,0 и 4,0 раза соответственно по сравнению с результатами, полученными у детей группы сравнения. У детей группы наблюдения доля проб со значительным сниженным содержанием общего белка и альбумина по сравнению с ФН составила 8,7 и 14,6 % соответственно против 2,1 и 4,6 % в группе сравнения (кратность снижения составила 4,1 и 3,2 раза соответственно). У детей группы наблюдения активность АЛТ повышена в 4,3 против 0,3 % случаев в группе сравнения (кратность превышения составила более 10 раз).

Таблица 6 – Иммунологические и биохимические индикаторные показатели клеточной гибели у детей, проживающих в условиях экспозиции галогенорганических соединений (на примере хлороформа), $M(\sigma)$; 95% ДИ, ($p \leq 0,05$)

Показатель	ФН	Группа сравнения ($n = 212$)	Группа наблюдения ($n = 286$)	p
CD3 ⁺ , %	55,00–84,00	73,00 (1,49); 71,09–74,15	66,77 (0,69); 65,40–69,51	0,001
CD4 ⁺ , %	31,00–60,00	42,03 (1,98); 38,62–42,59	37,00 (0,68); 35,70–38,21	0,003
CD19 ⁺ , %	6,00–25,00	14,00 (1,01); 12,78–14,80	15,51 (0,83); 14,96–16,92	0,003
CD19 ⁺ , 10 ⁹ /дм ³	0,09–0,66	0,32 (0,03); 0,31–0,38	0,42 (0,02); 0,42–0,51	0,001
NKT, %	5,00–27,00	11,00 (1,50); 10,06–13,07	12,50 (0,02); 11,56–13,86	0,042
LPO, мкмоль/дм ³	0–350,00	352,92 (24,13); 194,41–511,06	498,32 (26,36); 451,01–545,64	0,001
MDA, мкмоль/дм ³	1,80–2,50	2,30 (0,05); 2,20–2,40	2,79 (0,08); 2,63–2,95	0,001
GPx, нг/см ³	0–100,00	36,93 (1,47); 34,02–39,79	82,32 (9,29); 63,90–100,00	0,001
SOD, нг/см ³	45,90–98,00	31,83 (0,72); 30,36–33,18	46,67 (5,89); 35,06–58,14	0,002
Печеноч. фракция изофер. щелочной фосфатазы, Е/дм ³	6,36–7,14	5,78 (0,89); 3,74–7,82	11,17 (1,00); 9,25–13,12	0,001
Билирубин прямой, мкмоль/дм ³	0–4,30	1,90 (0,40); 1,53–2,26	7,49 (0,88); 2,93–9,23	0,017
АСТ, Е/дм ³	6,00–37,00	24,25 (2,51); 23,55–29,16	32,85 (1,09); 30,18–35,02	0,003

Обнаружено, что у детей группы наблюдения статистически значимо ($p = 0,001$), в среднем в 2,2 и в 4,3 раза, повышена продукция цитокинов Th2 типа: IL4 (1,69 [1,61–4,43] пкг/мл) и IL6 (3,72 [3,11–9,56] пкг/мл) по сравнению со значениями, выявленными в группе сравнения: IL4 (0,93 [0,91–1,86] пкг/мл) и IL6 (0,60 [0,45–2,46] пкг/мл) и ФН: IL4 (0–4,00 пкг/мл); IL6 (0–10,00 пкг/мл). Установлено, что у детей, проживающих в условиях воздействия хлороформа, статистически значимо ($p = 0,001$) повышена экспрессия IL1 β (3,52 [3,46–4,26] пкг/мл) относительно значений, полученных у детей, проживающих на условно «чистой территории», кратность превышения составила 1,43 раза (2,47 [2,06–4,74] пкг/мл). Установлено, что при потреблении ненормированной питьевой воды по содержанию хлороформа у детей статистически значимо ($p = 0,001$) в 1,75 раза выше содержание bcl-2 (1,12 [0,98–1,15] %) по сравнению с контрольными значениями (0,64 [0,38–0,93] %). У детей группы наблюдения статистически значимо ($p = 0,001$) в 1,67 раза снижено количество Annexin V - FITC⁺PI⁻-клеток и в 2,42 раза повышено содержание Annexin V - FITC⁺PI⁺-клеток относительно цифр, зафиксированных в группе сравнения ($p = 0,001$) (Таблица 7).

Таблица 7 – Индикаторные показатели клеточной гибели у детей, детей, проживающих в условиях экспозиции галогенорганических соединений (на примере хлороформа), ($p \leq 0,05$)

Показатель	ФН	Группа сравнения ($n = 212$)		Группа наблюдения ($n = 286$)		P
		Me (P ₂₅ ; P ₇₅)	95% ДИ	Me (P ₂₅ ; P ₇₅)	95% ДИ	
Ann V-FITC ⁺ PI ⁻ , %	1,50–2,50	1,78 (1,24; 2,40)	1,76–8,87	1,06 (0,78; 1,31)	0,97–1,18	0,001
Ann V-FITC ⁺ PI ⁺ , %	7,00–11,00	8,87 (6,53; 12,32)	9,06–10,71	21,49 (15,11; 26,28)	18,48–22,50	0,001

Показано, что у детей, потребляющих гиперхлорированную воду, происходит ингибирование митохондриального механизма реализации апоптоза, угнетение клеточной гибели (без участия FAS-рецепции) по пути апоптоза и активация гибели клетки путем некроза. Таким образом, CD3⁺-лимфоциты, CD4⁺-лимфоциты, CD19⁺-лимфоциты, NKT, IL4, IL6, IL1 β , bcl-2, LPO, MDA, AOA, GPx, SOD, общие белки, альбумины, печеночная фракция изоферментов щелочной фосфатазы, прямой билирубин, АСТ, АЛТ, Annexin V-FITC⁺PI⁻-клетки и Annexin V-FITC⁺PI⁺-клетки следует отнести к индикаторным показателям клеточной гибели в условиях экспозиции галогенорганических соединений (на примере хлороформа).

В главе шестой детализируются особенности генетического статуса детей, потребляющих некачественную питьевую воду (экспонированные группы). Оценка генетического статуса детей, проживающих в условиях экспозиции щелочно-земельных металлов (на примере стронция). Установле-

на повышенная частота гетерозиготного генотипа гена *TP53 rs17884159* по отношению к группе сравнения (в 1,3 раза) с достоверными его ассоциациями с содержанием транскрипционного фактора 53 в лимфоцитах. Статистический анализ SNP-различий гена *TP53 rs17884159* между группами наблюдения и сравнения позволил установить, что «случаи» и «контроли» находятся в равновесии Харди – Вайнберга, позволяющем проанализировать данные с применением мультипликативной модели. В нашем случае различие генотипов *TP53 rs17884159* между выборками достоверно описывается как мультипликативной ($\chi^2 = 5,28$; $p = 0,02$), так и аддитивной моделями ($\chi^2 = 4,88$; $p = 0,03$). В результате моделирования установлено, что у детей с генотипом *TT* статистически значимо ($p < 0,05$) снижена экспрессия транскрипционного фактора p53 в клетках по сравнению с детьми, имеющими другие генотипы гена *TP53* (Таблица 8).

Таблица 8 – Зависимость содержания клеток p53 (%) в крови от генотипа гена *TP53* в различных генетических моделях ($n = 130$)

Модель	Генотип	n	Ответ (среднее, %)	Различие средних (95 % ДИ)	p	AIC	BIC
Кодоми- нантная	<i>C/C</i>	34	0,62 (0,08)	0,00	0,049	69,8	78,3
	<i>C/T</i>	20	0,41 (0,07)	-0,21 (-0,43 – 0,02)			
	<i>T/T</i>	8	0,27 (0,08)	-0,35 (-0,67 – -0,04)			
Доминантная	<i>C/C</i>	34	0,62 (0,08)	0,00	0,020	68,6	74,9
	<i>C/T - T/T</i>	28	0,37 (0,06)	-0,25 (-0,045 – -0,04)			
Рецессивная	<i>C/C - C/T</i>	54	0,54 (0,06)	0,00	0,087	71,1	77,5
	<i>T/T</i>	8	0,27 (0,08)	-0,27 (-0,58 – 0,03)			
Сверх- доминантная	<i>T/T - C/C</i>	42	0,55 (0,07)	0,00	0,230	72,2	79
	<i>C/T</i>	20	0,41 (0,07)	-0,14 (-0,36 – 0,08)			
<i>Log-адди- тивная</i>	-	-	-	-0,18 (-0,33 – - 0,04)	0,014	67,9	74,3

Таким образом, *TP53 rs17884159* рекомендуется в качестве генетического индикаторного показателя клеточной гибели в условиях экспозиции щелочно-земельных металлов (на примере стронция).

Оценка генетического статуса детей, проживающих в условиях экспозиции галогенорганических соединений (на примере хлороформа). Выявлено статистически значимое повышение в 3,0 раза распространенности минорного аллеля гена цитохрома P-450 *CYP1A1 Ile462Val*, описываемое как мультипликативной ($\chi^2 = 4,17$; $p = 0,04$), так и аддитивной моделями ($\chi^2 = 4,35$; $p = 0,04$). Аллельный полиморфизм гена *MMP9 Gln279Arg* характеризуется наличием статистически значимых различий группы наблюдения с группой сравнения (повышение распространенности мутантного аллеля *MMP9 Gln279Arg* в 2,5 раза), что описывается как мультипликативной ($\chi^2 = 19,18$; $p = <0,001$), так и аддитивной моделями ($\chi^2 = 20,21$; $p < 0,001$).

Следовательно, *MMP9 Gln279Arg*, *CYP1A1 Ile462Val* могут быть отнесены к генетическим индикаторным показателям клеточной гибели в условиях экспозиции галогенорганических соединений (на примере хлороформа).

В **седьмой главе** на основании анализа особенностей формирования микрокомпонентного состава биологических сред и результатов углубленного клинико-лабораторного обследования детей, проживающих в условиях воздействия химических факторов природного и техногенного происхождения, с целью уточнения и обоснования патогенетических механизмов развития заболеваний, ассоциированных с типом клеточной смерти, были оценены причинно-следственные связи. *Оценка причинно-следственных связей формирования нарушений клеточной гибели, обусловленных щелочно-земельными металлами (на примере стронция).* Отношение шансов показывает связь гаптенной нагрузки с повышением образования LPO и MDA у детей группы наблюдения ($OR = 4,62-9,80$; 95% ДИ = $2,94-15,16$; $p < 0,05$), с изменением активности GST, GPx и SOD у детей, потребляющих питьевую воду с повышенным содержанием стронция ($OR = 3,53-8,91$; 95% ДИ = $2,38-14,51$; $p < 0,05$). Установлена связь гаптенной нагрузки с повышением ионизированного кальция, уровня RANKL и TNF α у детей, проживающих на территории наблюдения ($OR = 1,77-3,31$; 95% ДИ = $0,66-5,04$; $p < 0,05$); с дефицитом уровня регуляторных клеток, p53 и Annexin V-FITC⁺PI⁻ клеток у детей группы наблюдения ($OR = 1,51-11,04$; 95% ДИ = $0,59-17,79$; $p < 0,05$). Использование регрессионного анализа выявило снижение экспрессии Treg ($R^2 = 0,19$; $F = 5,43$; $p < 0,05$). Результаты математического моделирования с использованием методического приема оценки отношения шансов изменения иммунологических тестов при возрастании концентрации стронция в крови позволили установить статистически значимую вероятностную зависимость повышения содержания ионизированного кальция, MDA, TNF α , RANKL, Annexin V-FITC⁺PI⁺ ($R^2 = 0,17-0,80$; $F = 7,89-1741,00$; $p = 0,009-0,001$) и снижение уровня FAS, Treg, TNFR1, p53, VEGF, Annexin V-FITC⁺PI⁻ и активности костного изофермента щелочной фосфатазы при увеличении концентрации стронция в крови ($R^2 = 0,35-0,70$; $F = 38,69-638,93$; $p = 0,001$) (Таблица 9).

На основе научного обоснования, оценки причинно-следственных связей и построения математических моделей обоснованы индикаторные показатели клеточной гибели (FAS, TNFR1, TNF α , p53, Treg, VEGF, аннексиновая метка, LPO, MDA, GST, SOD, GPx, RANKL, щелочная фосфатаза, костный изофермент щелочной фосфатазы, остеокальцин) и патогенетические механизмы апоптозассоциированных нарушений при избыточном поступлении в организм стронция с питьевой водой. Реперный уровень стронция в качестве лимитирующего по критерию снижения содержания Treg лимфоцитов составил $0,017 \text{ мг/дм}^3$. Механизмы реализации клеточной гибели на уровне лимфоцита в условиях избыточного поступления в организм стронция представлены на Рисунке 6 в виде гипотетической схемы.

Таблица 9 – Параметры моделей зависимости «стронций в крови – вероятность отклонения индикаторного показателя клеточной гибели» у экспонированных детей

Индикаторный показатель клеточной гибели	Направление изменения показателя	Параметры модели		Коэффициент детерминации (R^2)	Критерий Фишера (F)	Достоверность различий (p)
		b_0	b_1			
Ионизированный Са, ммоль/дм ³	Повышение	0,79	6,21	0,17	7,89	0,009
MDA, мкмоль/дм ³	Повышение	0,52	9,34	0,30	35,06	<0,001
Костный изофермент щелочной фосфатазы, Е/дм ³	Снижение	-2,20	18,34	0,44	38,69	0,001
VEGF, пг/см ³	Снижение	-0,11	-7,78	0,80	531,55	< 0,001
TNFR1, %	Снижение	1,87	-23,35	0,68	497,10	0,001
TNF α , пг/см ³	Повышение	2,01	11,96	0,54	317,14	0,001
p53, %	Снижение	1,34	-23,77	0,70	638,93	0,001
Treg, %	Снижение	0,32	-3,55	0,68	596,61	0,001
Treg, 10 ⁹ /дм ³	Снижение	1,01	-1,82	0,45	7,54	< 0,001
CD95, 10 ⁹ /дм ³	Снижение	2,00	-8,04	0,35	124,33	< 0,001
sRANKL, пг/см ³	Повышение	0,12	3,76	0,80	1741	0,001
AnnV-FITC ⁺ PI ⁻ , %	Снижение	0,41	-1,42	0,10	12,94	0,001
AnnV-FITC ⁺ PI ⁺ , %	Повышение	0,19	3,02	0,80	1131	0,001

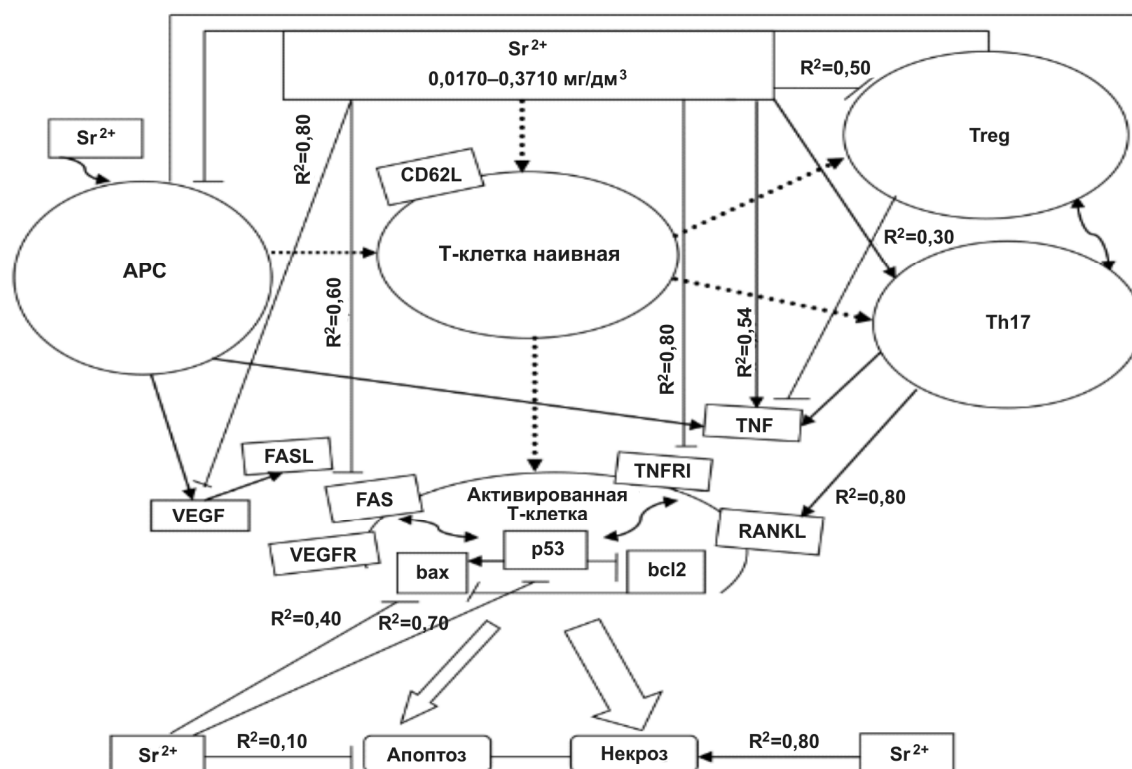


Рисунок 6 – Гипотетическая схема клеточной гибели в условиях экспозиции стронция; → – активация эффекта; T – ингибирование эффекта

Оценка причинно-следственных связей формирования нарушений клеточной гибели, обусловленных галогенорганическими соединениями (на примере хлороформа). Отношение шансов показывает связь гаптенной нагрузки (хлороформ в крови) с повышением образования LPO и MDA у детей группы наблюдения ($OR = 1,21-16,7$; 95% ДИ = $0,84-31,91$; $p < 0,05$). Отношение шансов демонстрирует связь гаптенной нагрузки с увеличением активности GST, GPx и SOD у детей, потребляющих питьевую воду с повышенным содержанием хлороформа ($OR = 2,31-6,56$; 95% ДИ = $1,47-14,08$; $p < 0,05$). Отношение шансов показывает связь гаптенной нагрузки с повышением АОА у детей группы наблюдения ($OR = 3,05$; 95% ДИ = $2,03-4,58$; $p < 0,05$). Отношение шансов выявляет связь гаптенной нагрузки с повышением активности трансаминаз и печеночной фракции изоферментов щелочной фосфатазы у детей, проживающих в условиях экспозиции хлороформа ($OR = 6,33-13,26$; 95% ДИ = $3,64-26,10$; $p < 0,05$). Отношение шансов показывает связь гаптенной нагрузки с ингибированием синтетической функции гепатоцитов у детей, потребляющих ненормированную воду по содержанию хлороформа ($OR = 3,59-4,10$; 95% ДИ = $1,54-10,89$; $p < 0,05$). Установлены статистически значимые вероятностные причинно-следственные связи между уровнем в крови галогенорганических соединений и повышением уровня MDA, LPO, активности GPx, SOD, трансаминаз ($R^2 = 0,10-0,65$; $F = 10,27-434,89$; $p = 0,042-0,001$) (Таблица 10). На основе построения математических моделей логистической регрессии установлены статистически значимые вероятностные причинно-следственные связи между содержанием галогенорганических соединений в крови и повышением билирубина общего ($R^2 = 0,68$; $F = 466,50$; $p = 0,001$); между концентрацией тригалометанов в биосредах и снижением общих белков, альбуминов ($R^2 = 0,42-0,82$; $F = 137,55-640,89$; $p = 0,020-0,001$).

Доказательством нарушения регуляции клеточной гибели является установленная вероятностная причинно-следственная связь между содержанием в крови галогенорганических соединений в крови и повышением экспрессии CD19⁺, CD16⁺ CD56⁺, bcl-2, ($R^2 = 0,10-0,83$; $F = 8,62-1255,00$; $p = 0,001$); между концентрацией тригалометанов в крови и снижением уровня CD3⁺, CD4⁺ ($R^2 = 0,63-0,67$; $F = 401,31-492,65$; $p = 0,001$). У детей, потребляющих гиперхлорированную воду, установлена статистически значимая вероятностная причинно-следственная связь между содержанием галогенорганических соединений в крови и повышением экспрессии IL1 β , IL4, IL6, IL10 ($R^2 = 0,20-0,76$; $F = 50,59-391,65$; $p = 0,001$).

На основе построения математических моделей логистической регрессии, описывающих значимые вероятностные причинно-следственные связи «химический фактор в крови – индикаторный показатель», обоснованы реперные уровни содержания галогенорганических соединений в крови. Для хлороформа реперный уровень по критерию повышения АСТ составил $0,009 \text{ мг/дм}^3$, для LPO – $0,061 \text{ мг/дм}^3$, для bcl-2 – $0,003 \text{ мг/дм}^3$. Гипотетическая схема, суммирующая возможные механизмы регуляции хлороформом клеточной гибели, представлена на Рисунке 7.

Таблица 10 – Параметры моделей зависимости «галогенорганическое соединение в крови – вероятность отклонение индикаторного показателя клеточной гибели» у экспонированных детей

Индикаторный показатель клеточной гибели	Направление изменения показателя	Параметры модели		Коэффициент детерминации (R^2)	Критерий Фишера (F)	Достоверность различий (p)
		b_0	b_1			
CD19 ⁺ , %	Повышение	-1,85	12,27	0,20	55,40	0,001
CD16 ⁺ CD56 ⁺ , %	Повышение	-3,46	32,47	0,85	1255,00	0,001
CD16 ⁺ CD56 ⁺ , 10 ⁹ /дм ³	Повышение	-1,94	4,01	0,10	8,62	0,001
bcl-2, %	Повышение	-3,37	228,05	0,83	465,5	0,001
CD3 ⁺ , 10 ⁹ /дм ³	Снижение	-2,50	200,24	0,63	401,31	0,001
CD4 ⁺ , 10 ⁹ /дм ³	Снижение	-3,30	490,81	0,67	492,65	0,001
IL1 β , пг/см ³	Повышение	-3,91	16534,0	0,76	263,06	0,001
IL4, пг/см ³	Повышение	-2,55	33,29	0,57	319,65	0,001
IL6, пг/см ³	Повышение	-1,59	223,38	0,19	50,59	0,001
IL10, пг/см ³	Повышение	-2,59	374,10	0,40	138,28	0,001
MDA, мкмоль/дм ³	Повышение	-0,13	390,22	0,65	434,89	0,001
LPO, мкмоль/дм ³	Повышение	-0,35	3,65	0,10	10,51	0,042
SOD, нг/см ³	Повышение	-1,07	4521,40	0,12	27,85	0,001
GPx, нг/см ³	Повышение	1,53	33,92	0,10	10,27	0,041
Общий белок, г/дм ³	Снижение	-3,43	45,06	0,82	640,89	0,020
Альбумины, г/дм ³	Снижение	-3,09	37,77	0,42	137,55	0,001
АСТ, Е/дм ³	Повышение	-2,08	12,10	0,10	15,98	0,001
АЛТ, Е/дм ³	Повышение	-5,12	196,34	0,11	20,24	0,001
Билирубин общий, мкмоль/дм ³	Повышение	-4,27	38,72	0,68	465,50	0,001

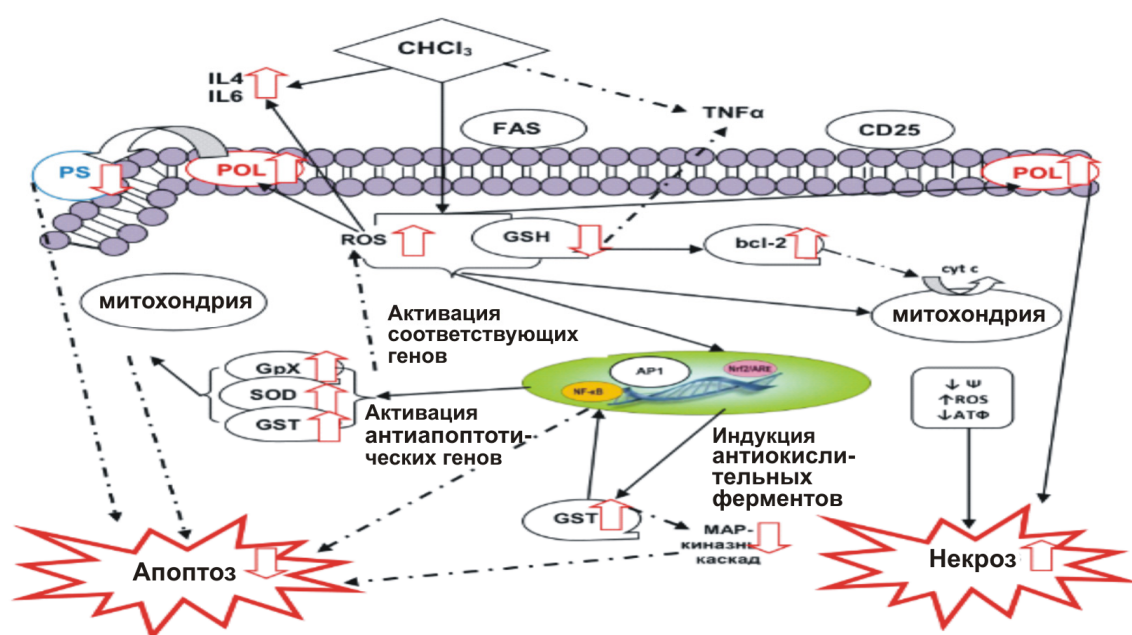


Рисунок 7 – Гипотетический механизм действия хлорсодержащих примесей на регуляцию апоптотической гибели клетки; → – потенцирование эффекта; - ► – ингибирование эффекта

На основе комплексного научного анализа установлено, что экспозиция продуктами гиперхлорирования питьевой воды формирует дисбаланс между интенсивностью реакций, связанных с генерацией перекисных соединений, и активностью систем их детоксикации, что модифицирует реализацию клеточной гибели, а именно замедляет клеточную гибель по пути апоптоза и повышает гибель клетки по механизму некроза.

В **восьмой главе** верифицированы особенности нарушений клеточной гибели, индуцированной стронцием и хлороформом. *Экспериментальные модели в условиях экспозиции щелочно-земельных металлов (на примере стронция)*. Экспериментально доказано, что стронций в концентрации 7 мг/дм³, соответствующей ПДК для воды водных объектов, ингибирует гибель клетки по пути апоптоза с переключением на реализацию клеточной гибели по пути некроза (Таблица 11). Обнаружено статистически значимое ($p < 0,001$) снижение, в среднем в 1,7 раза, экспрессии CD95-маркера и уровня белка p53 в опытных пробах (после добавления стронция). После внесения в опытные образцы крови стронция отмечается статистически значимое ($p < 0,001$) снижение в 4,7 раза количества Annexin V-FITC⁺PI⁻-клеток и повышение количества Annexin V-FITC⁺PI⁺-клеток в 1,3 раза ($p = 0,021$).

Таблица 11 – Характеристика показателей иммунного статуса детей с учетом нагрузки щелочно-земельными металлами (на примере стронция) ($n = 49$), Me (P_{25} ; P_{75}), ($p \leq 0,05$)

Показатель	Проба без добавления стронция	Проба с добавлением стронция	p
CD95 %	12,50 (11,00; 14,00)	8,00 (7,10; 11,00)	$< 0,001$
p53, %	0,42 (0,40; 0,62)	0,25 (0,15; 0,40)	$< 0,001$
Ann V-FITC ⁺ PI ⁻ , %	0,89 (0,60; 1,19)	0,19 (0,18; 0,35)	$< 0,001$
Ann V-FITC ⁺ PI ⁺ , %	9,16 (8,47; 10,98)	12,33 (10,42; 15,01)	0,021

Следовательно, CD95⁺, p53, Annexin V-FITC⁺PI⁻-клетки, Annexin V-FITC⁺PI⁺-клетки являются индикаторными показателями клеточной гибели в условиях избыточного поступления щелочно-земельных металлов (на примере стронция) в организм.

Экспериментальные модели в условиях экспозиции галогенорганических соединений (на примере хлороформа). Анализ результатов эксперимента позволил установить, что при внесении в культуру клеток 0,06 мг/дм³ хлороформа статистически значимо ($p = 0,046–0,020$) в 1,4 раза повышается уровень bcl-2, в 1,2 раза снижается количество Annexin V-FITC⁺PI⁻-клеток и в 1,3 раза повышается количество Annexin V-FITC⁺PI⁺-клеток по сравнению с результатами, полученными в пробе без добавления хлороформа (Таблица 12).

Таблица 12 – Характеристика показателей иммунного статуса детей с учетом нагрузки галогенорганическими соединениями (на примере хлороформа) ($n = 60$), Me (P_{25} ; P_{75}), ($p \leq 0,05$)

Показатель	Проба без добавления хлороформа	Проба с добавлением хлороформа	P
bcl-2, %	1,00 (0,98; 1,07)	1,40 (1,23; 1,88)	0,020
Ann V-FITC ⁺ PI ⁻ , %	1,06 (0,78; 1,31)	0,89 (0,58; 1,20)	0,020
Ann V-FITC ⁺ PI ⁺ , %	21,49 (15,11; 26,28)	27,22 (12,10; 33,20)	0,046

Установлено, что в диапазоне изучаемой концентрации хлороформа наблюдается переключение клеточной гибели по пути некроза на фоне нарушения барьерной функции митохондриальных мембран. Доказано, что bcl-2, Annexin V-FITC⁺PI⁻, Annexin V-FITC⁺PI⁺ являются индикаторными показателями клеточной гибели в условиях экспозиции галогенорганических соединений (на примере хлороформа).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено научное обоснование методологических подходов и системы индикаторных показателей ранней индикации и критериев нарушения клеточной гибели, модифицированной хронической водной гаптенной нагрузкой щелочно-земельными металлами и галогенорганическими соединениями. Определение клеточной гибели (апоптоз / некроз), как системы индикаторных показателей, позволило провести количественную оценку апоптоза, интегрирующую отдельные изменения иммунных компартментов: функции регуляторных и эффекторных клеток, сигнальных молекул, генетических и биохимических маркеров, и констатировать преимущественное переключение реализации гибели лимфоцитов по пути некроза в условиях экспозиции щелочно-земельных металлов (на примере стронция) и галогенорганических соединений (на примере хлороформа). Предложена методология и научно-методический подход к оценке нарушений иммунного гомеостаза при воздействии неблагоприятных химических факторов среды обитания различного происхождения, с обоснованием и разработкой системы иммунологических и генетических индикаторных показателей для выявления нарушений клеточной гибели в условиях водной гаптенной нагрузки.

ВЫВОДЫ

1. Концептуальная модель идентификации нарушений клеточной гибели, включающая иммунологические и генетические индикаторные показатели, позволила обосновать научные основы гигиенического анализа законо-

мерностей влияния гаптенных, поступающих с питьевой водой, на иммунную систему детей, конкретизировать и доказать научные представления о патогенезе клеточной гибели в условиях экспозиции щелочно-земельных металлов и галогенорганических соединений.

2. Гигиеническая оценка качества питьевой воды, выполненная на территории Российской Федерации в период 2010–2017 гг., позволила установить, что в 12 регионах доля нестандартных проб по содержанию природного стронция, обладающего тропностью к костной ткани и связанными с ней органами и системами, достигала 54 %; в 26 регионах доля нестандартных проб по содержанию галогенорганических соединений, потенциально способных оказывать негативное воздействие на печень, ассоциированную с иммунной системой, достигала 67 %. Гигиеническая оценка качества воды централизованных источников водоснабжения на территории стронциевой геохимической провинции позволила выявить, что доля нестандартных проб по содержанию стронция в воде составила 16,7 %, концентрация стронция в питьевой воде достигала 1,2 ПДК, что выше аналогичной концентрации на территории сравнения в 10,9 раза; на территории, где используется гиперхлорированная вода, хлор остаточный свободный выше ПДК идентифицирован в 62,5 % пробах, хлор остаточный связанный – в 12,5 % пробах.

3. Анализ особенностей формирования состояния качества микрокомпонентного состава биологических сред у детей позволил выявить повышенный уровень содержания стронция в крови детей, проживающих на территории стронциевой геохимической провинции, по отношению к референтным (в 1,6 раза) и контрольным (в 11,3 раза) значениям ($p < 0,05$). Анализ причинно-следственных связей позволил построить адекватные модели зависимости между концентрацией стронция в питьевой воде и концентрацией стронция в крови детей. Установлено, что на исследуемой территории с приоритетными компонентами загрязнения питьевой воды галогенорганическими соединениями хлороформ идентифицирован в крови у всех обследованных детей, концентрации которого в норме не должны обнаруживаться. Получена параметризованная модель «доза галогенорганического соединения – концентрация хлороформа в крови».

4. Гигиенический анализ заболеваемости позволил установить, что темп прироста уровня общей заболеваемости у детей (0–14 лет) за 2014–2016 гг. болезнями костно-мышечной системы и соединительной ткани в целом по РФ составил 1,4 %, болезнями печени – 5,8 %. Установлена связь гаптенной нагрузки с развитием болезней костно-мышечной системы и соединительной ткани у детей, проживающих в условиях экспозиции стронция ($OR = 3,1$; 95 % ДИ = 2,1–4,1; $p < 0,05$). Длительное пероральное поступление стронция с питьевой водой формирует у экспонированного детского населения неприемлемый неканцерогенный риск развития болезней опорно-двигательного аппарата ($HI = 2,18$, где наибольший вклад в индекс опасности вносит стронций – до 61 %). Установлена связь гаптенной нагрузки у детей, потребляю-

щих гиперхлорированную воду, с развитием дискинезии пузырного протока и желчного пузыря (K82.8) ($OR = 2,8$; 95 % ДИ = 1,9–4,0; $p < 0,05$). Установлено, что хроническое поступление галогенорганических соединений у экспонированного детского населения формирует индекс и коэффициент опасности для гепатобилиарной системы на уровне HI до 1,54; HQ до 1,28.

5. По результатам углубленной комплексной сравнительной оценки иммунного статуса обследуемых детей выявлены общие **закономерности** изменения клеточной гибели, обусловленные как щелочно-земельными металлами, так и галогенорганическими соединениями, поступающими с питьевой водой: активация процессов свободнорадикального окисления с накоплением продуктов пероксидации (при повышенном содержании стронция в крови уровень LPO превысил контрольные значения на 65 % и MDA – на 38 %, при идентификации хлороформа – LPO на 40 % и MDA – на 25 %); сдвиг в субпопуляционном составе лимфоцитов (дефицит $CD3^+$ -клеток относительно контрольных значений до 18 %); ареактивность процессов ранней активации по уровню экспрессии $CD25$ -рецептора; ингибирование апоптоза с переключением на альтернативный механизм клеточной гибели по пути некроза (Ann V-FITC⁺PI⁻; Ann V-FITC⁺PI⁺). Установлены **особенности** механизма реализации апоптоза, индуцированного стронцием, характеризующиеся изменениями передачи апоптогенного стимула через рецепторы семейства TNF и p53-опосредованного пути проведения апоптогенного сигнала; **особенностями** апоптоза, ассоциированного с хлороформом, является ингибирование митохондриальных апоптотических событий.

6. Выполнение углубленной комплексной сравнительной оценки иммунного статуса обследуемых детей при содержании стронция в крови выше референтного уровня 0,1235 [0,1108–0,1474] мг/дм³ позволило выявить **особенности** изменения показателей, участвующих в реализации апоптоза, характеризующиеся дефицитом: в среднем в 1,3 раза активности GST, GPx, SOD, щелочной фосфатазы, костного изофермента щелочной фосфатазы, уровня остеокальцина, абсолютного числа Treg и $CD8^+$ -лимфоцитов, количества $CD95^+$ -клеток, содержания VEGF; экспрессии TNFR1 и bcl-2 – в 4 раза; уровня p53 и количества Ann V-FITC⁺PI⁻-клеток – в 2,1 раза по сравнению с результатами, идентифицированными в группе сравнения ($p < 0,05$). Установлено повышение относительно контрольных значений экспрессии RANKL в 1,7 раза и TNF α в 2,8 раза, а также количества Ann V-FITC⁺PI⁺-клеток в 1,3 раза ($p < 0,05$).

7. При комплексном анализе иммунных нарушений, обусловленных недопустимой концентрацией хлороформа в крови 0,0058 [0,00089–0,0138] мг/дм³, выявлены **особенности** показателей, характеризующиеся снижением: в 1,2 раза процентного содержания $CD4^+$ -клеток; в 1,7 раза количества Ann V-FITC⁺PI⁻-клеток ($p < 0,05$); повышением: содержания билирубина прямого в сыворотке крови – в 4 раза; активности печеночной фракции изофермента щелочной фосфатазы – в 2 раза; количества $CD19^+$ -клеток и NKT – в 1,2 раза; в 1,8 раза

уровня bcl-2; количества Ann V-FITC⁺PI⁺-клеток – в 2,4 раза; продукции цитокинов Th2 типа IL4, IL6 с кратностью превышения 2,2 и 4,3 раза соответственно; в 1,43 раза экспрессии провоспалительного цитокина IL1 β и в 1,2 раза активности АСТ по сравнению с контрольными значениями ($p < 0,05$). Обнаружено повышение активности SOD и GPx с кратностью превышения 1,5 и 2,2 раза соответственно относительно величин, зафиксированных в группе сравнения ($p < 0,05$), что характеризует условия окислительного стресса как приоритетные в переключении реализации клеточной гибели на механизм некроза.

8. По результатам проведенного научного обоснования и оценки **причинно-следственных связей** установлена зависимость **повышения** уровней ионизированного кальция, MDA, TNF α , RANKL, Ann V-FITC⁺PI⁺ ($R^2 = 0,2-0,8$; $F = 8-1741,0$; $p < 0,05$) от содержания в крови **стронция**, выявлена статистически значимая вероятность **снижения** количества FAS, Treg, TNFR1, p53, VEGF, Ann V-FITC⁺PI⁺, активности костного изофермента щелочной фосфатазы ($R^2 = 0,2-0,7$; $F = 5,4-638,0$; $p < 0,05$), что характеризует гаптенопосредованное угнетение процессов иммунорегуляции и ингибирование рецептор-зависимого и p53-регулируемого апоптогенного сигнала в клетке.

9. Выявлена зависимость, указывающая на снижение экспрессии CD3⁺, CD4⁺, общих белков, альбуминов ($R^2 = 0,4-0,8$; $F = 137-640$; $p < 0,05$) в присутствии **галогенорганических соединений** в крови; установлено повышение активности внутриклеточных ферментов GPx, SOD, АЛТ, АСТ, а также количества MDA, LPO, CD19⁺, CD16⁺CD56⁺, bcl-2, IL1 β , IL4, IL6, IL10, билирубина общего ($R^2 = 0,1-0,8$; $F = 8,7-1255,0$; $p < 0,05$) при повышении концентрации галогенорганических соединений в биосредах, что подтверждает гаптеноассоциированную активацию процесса свободнорадикального окисления и напряжение функционального состояния системы антиоксидантной защиты организма на фоне субпопуляционного клеточного и цитокинового дисбаланса.

10. На основе научного обоснования, оценки причинно-следственных связей и построения математических моделей предложены недействующие (реперные) уровни стронция в крови, изменяющие показатели клеточной гибели. Реперный уровень стронция в качестве лимитирующего по критерию снижения содержания Treg-лимфоцитов составил 0,017 мг/дм³. На основе построения математических моделей обоснован реперный уровень содержания хлороформа в крови, который составил 0,003 мг/дм³ по критерию повышения bcl-2; по критерию повышения АСТ – 0,009 мг/дм³.

11. Верификация в эксперименте особенностей нарушений клеточной гибели позволила провести моделирование условия изменений летальной программы лимфоцита и экспериментально доказать, что стронций *in vitro* в концентрации 7 мг/дм³, не превышающей недействующую концентрацию, снижает в 1,7 раза FAS-зависимый и p53-опосредованный апоптоз, ингибирует апоптоз по критерию Ann V-FITC⁺PI⁺ в 4,7 раза и стимулирует гибель

клетки по пути некроза в 1,3 раза ($p < 0,05$). Установлено, что при внесении в культуру клеток хлороформа в концентрации 0,06 мг/дм³ происходит статистически значимое в 1,2 раза ингибирование апоптоза без угнетения CD95⁺-опосредованного и p53-опосредованного механизма клеточной гибели, одновременно в 1,4 раза повышается экспрессия bcl-2, а также количество клеток, гибнущих по механизму некроза (позитивных по PI), в среднем в 1,3 раза от исходного уровня ($p < 0,05$).

12. Научно обоснована система индикаторных показателей и их критериальных параметров в условиях влияния стронция, к которым относятся мембранные (CD3⁺, CD8⁺, FAS, TNFR, Treg, аннексиновая метка), транскрипционные (bcl-2, p53), межклеточные (VEGF, RANKL, TNF α) и биохимические (LPO, MDA, GST, Gpx, SOD, щелочная фосфатаза, костный изофермент щелочной фосфатазы, остеокальцин) индикаторные показатели, а также генетические маркеры (*TP53 rs17884159*). Установлено, что экспозиция стронция замедляет рецепторзависимый (FAS, TNFR) и p53-регулируемый апоптоз, тем самым обуславливает особенности реализации апоптоза в условиях негативного воздействия щелочно-земельных металлов.

13. Разработана и предложена тест-система индикаторных показателей для выявления нарушений клеточной гибели в условиях воздействия хлороформа, включающая: CD3⁺, CD4⁺, CD19⁺, NKT, аннексиновую метку, IL4, IL6, IL10, IL1 β , bcl-2, AOA, GPx, SOD, MDA, LPO, общий белок, альбумины, АСТ, АЛТ, билирубин общий, билирубин прямой, печеночную фракцию изофермента щелочной фосфатазы и *CYP1A1 Ile462Val*, *MMP9 Gln279Arg*. Установлены достоверные ассоциации экспозиции хлороформа с активацией антиоксидантной системы (SOD, GPx) и элементами ингибирования митохондриального апоптоза, что характеризует особенности развития клеточной гибели в условиях влияния галогенорганических соединений.

14. Результаты исследования выявили, что хлороформ и стронций, идентифицированные в крови детей на уровне, превышающем реперные, референтные и контрольные значения, ингибируют апоптоз в ранней его фазе и включают развитие некроза как преимущественного механизма и особенности патогенеза гибели клетки, что отражает закономерности клеточной гибели при хронической гаптенной нагрузке компонентами природного (щелочно-земельными металлами) и техногенного (галогенорганическими соединениями) происхождения.

15. Научно обоснованы рекомендации для раннего выявления нарушений клеточной гибели, обусловленной водной гаптенной нагрузкой, что позволяет использовать систему иммунологических и генетических индикаторных показателей для совершенствования системы индикации иммунорегуляторных нарушений и минимизации негативных последствий со стороны иммунной системы.

РЕКОМЕНДАЦИИ

Для органов и организаций Роспотребнадзора. При анализе медико-гигиенической ситуации необходимо учитывать, что на территориях, где используется питьевая вода, не соответствующая гигиеническим нормативам по санитарно-химическим показателям, формируются риски дополнительных случаев заболеваний (заболевания костно-мышечной системы и гепатобилиарного тракта), в основе которых лежит нарушение клеточной гибели, тип нарушения которой опосредован воздействием конкретного химического вещества. В качестве критериев оценки могут быть применены реперные концентрации химических веществ в крови и обусловленные ими нарушения клеточной гибели.

Использование системы иммунологических и генетических индикаторных показателей и маркеров чувствительности нарушения клеточной гибели, ассоциированных с повышенной контаминантной нагрузкой биосред, позволит аргументированно разработать подходы к выявлению лиц с риском формирования дисфункции иммунной системы; способствовать разработке перспективных подходов к раннему выявлению донозологических состояний у населения, проживающего в неудовлетворительных санитарно-гигиенических условиях.

Использование комплекса иммунологических и генетических индикаторных показателей и критериев нарушения клеточной гибели, причинно-следственных связей в условиях гаптенной нагрузки необходимо для установления, предупреждения, устранения или уменьшения вредного влияния факторов среды обитания на здоровье человека.

Для организаций здравоохранения. Для своевременного выявления и установления степени выраженности нарушений функциональной активности иммунной системы, в частности изменения клеточной гибели при экспозиции щелочно-земельных металлов (на примере стронция), рекомендованы следующие индикаторные показатели клеточной гибели: мембранные (Annexin V-позитивные лимфоциты, CD3⁺, CD8⁺, CD95⁺, CD4⁺25⁺127⁻, TNFRI), межклеточные (VEGF, RANKL, TNF α), внутриклеточные (bcl-2, p53), биохимические (LPO, MDA, GST, GPx, SOD, щелочная фосфатаза, костный изофермент щелочной фосфатазы, остеокальцин) и генетические маркеры чувствительности (*TP53 rs17884159*).

Для целенаправленной ранней индикации и прогнозирования функциональных нарушений иммунной системы (клеточной гибели) в условиях негативного средового воздействия галогенорганических соединений (на примере хлороформа) рекомендован перечень иммунологических, биохимических и генетических индикаторных показателей: CD3⁺, CD4⁺, CD19⁺, NKT, аннексиновая метка, bcl-2, IL1 β , IL4, IL6, IL10, AOA, LPO, GPx, SOD, MDA, печеночная фракция изоферментов щелочной фосфатазы, общие белки, аль-

бумины, общий билирубин, билирубин прямой, АСТ, АЛТ, гены *CYP1A1 Ile462Val*, *MMP9 Gln279Arg*.

Для организаций и учреждений высшего образования. На основе углубленных и расширенных данных о механизмах программированной клеточной гибели, ее особенностях при экспозиции химических факторов осуществлять подготовку студентов медико-биологических специальностей и профессиональную переподготовку специалистов здравоохранения и специалистов в области охраны окружающей среды и экологической безопасности.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Представленные результаты диссертационной работы делают возможным изложить основные направления исследования с перспективой их дальнейшего развития:

- ♦ дальнейшая разработка и последующее расширение номенклатуры химических веществ природного и техногенного происхождения, потенциально способных оказывать неблагоприятное воздействие на здоровье детей, а именно на развитие заболеваний печени и костно-мышечной системы и соединительной ткани, ассоциированных с иммунной системой;

- ♦ дальнейшее совершенствование методов раннего выявления нарушений здоровья с учетом наиболее чувствительных групп населения с применением современных методов иммунодиагностики и методов генетического мониторинга;

- ♦ переход от фиксации тех или иных вариантов иммунодефицитных состояний, вызванных химическими факторами, к своевременному их выявлению;

- ♦ укрепление доказательной базы для установления причинно-следственных связей патологических состояний, при которых иммунные механизмы имеют доминирующее значение, с приоритетными химическими факторами окружающей среды;

- ♦ моделирование и прогнозирование с дальнейшей верификацией в системе *in vitro* / *in vivo* механизмов развития патологического процесса в условиях экспозиции химических веществ различного генеза;

- ♦ совершенствование системы применения маркеров экспозиции и индикаторных показателей эффекта для своевременного выявления и доказательства вреда здоровью при выполнении санитарно-эпидемиологических исследований, исследований, гигиенических оценок и экспертиз.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

*Статьи в рецензируемых журналах,
рекомендованных ВАК при Минобрнауки РФ*

1. Цитокиновый профиль у детей в условиях техногенной нагрузки / О.В. Долгих, **Д.Г. Дианова**, Т.С. Лыхина, А.В. Кривцов, Р.А. Харахорина, А.М. Гугович // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2011. – № 1(33). – С. 149–150.
2. Особенности клеточной гибели у детей / О.В. Долгих, Н.В. Зайцева, **Д.Г. Дианова**, А.М. Гугович // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2011. – № 1(33). – С. 150.
3. Гугович, А.М. Маркеры клеточной активации и апоптоза в условиях воздействия химических факторов / А.М. Гугович, О.В. Долгих, **Д.Г. Дианова** // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2011. – № 3(790). – Ч. 1. – С. 152–155.
4. Особенности апоптоза у детского населения экспонированного хлороформом / О.В. Долгих, Н.В. Зайцева, **Д.Г. Дианова**, Я.И. Вайсман // Российский иммунологический журнал. – 2014. – Т. 8 (17), № 2(1). – С. 49–51.
5. Зайцева, Н.В. Метод проточной цитометрии в диагностике нарушений показателей иммунной системы у детей, проживающих в условиях техногенной нагрузки / Н.В. Зайцева, **Д.Г. Дианова** // Российский иммунологический журнал. – 2014. – Т. 8 (17), № 2(1). – С. 60–62.
6. Количественная оценка биомаркеров апоптоза и клеточной регуляции у детей с повышенным содержанием стронция в организме / **Д.Г. Дианова**, Н.А. Вдовина, Е.А. Пирогова, Е.А. Рочев // Российский иммунологический журнал. – 2015. – Т. 9(18), № 2(1). – С. 129–131.
7. Система медиаторов иммунной регуляции как маркеров иммунологических нарушений у школьников в условиях повышенного поступления стронция с питьевой водой / О.В. Долгих, А.В. Кривцов, К.Г. Старкова, В.А. Лучникова, О.А. Бубнова, **Д.Г. Дианова**, Н.В. Безрученко, Н.А. Вдовина // Анализ риска здоровью. – 2015. – № 3(11). – С. 61–67.
8. Вариабельность иммунных показателей и маркеров апоптоза в условиях экспозиции хлороформом / О.В. Долгих, К.Г. Старкова, **Д.Г. Дианова**, Н.А. Вдовина, В.А. Лучникова // Российский иммунологический журнал. – 2015. – Т. 9(18), № 2(2). – С. 19–21.
9. Иммуномодулирующие эффекты у детей в условиях воздействия стронция при поступлении с питьевой водой / К.Г. Старкова, О.В. Долгих, **Д.Г. Дианова**, Т.М. Лебедева // Гигиена и санитария. – 2016. – № 95(1). – С. 63–65.
10. Разработка методических подходов к идентификации особенностей генетического полиморфизма и экспрессии генов у детей в условиях воздействия химических средовых факторов на примере стронция / О.В. Долгих, Н.В. Зайцева,

А.В. Кривцов, К.Г. Старкова, **Д.Г. Дианова**, О.А. Бубнова, Е.А. Отавина, Н.В. Безрученко // Анализ риска здоровью. – 2016. – № 31. – С. 34–40.

11. Диагностика нарушений апоптоза у детей, проживающих в условиях стронциевой геохимической провинции / О.В. Долгих, Н.В. Зайцева, **Д.Г. Дианова**, А.В. Кривцов, О.А. Бубнова, М.А. Гусельников, Н.В. Безрученко, Е.А. Отавина // Российский иммунологический журнал. – 2016. – Т. 10 (19), № 2 (1). – С. 98–100.

12. Методические подходы к идентификации особенностей генетического полиморфизма, как маркеров ранних нарушений иммунной регуляции в условиях хронической экспозиции стронцием / О.В. Долгих, Н.В. Зайцева, А.В. Кривцов, **Д.Г. Дианова**, Н.В. Безрученко, М.А. Гусельников // Российский иммунологический журнал. – 2017. – Т. 11(20), № 3. – С. 369–371.

13. Особенности регуляции иммунной системы у детей, проживающих в условиях стронциевой геохимической провинции / **Д.Г. Дианова**, О.В. Долгих, А.В. Кривцов, О.О. Синицына, Е.А. Отавина // Гигиена и санитария. – 2018. – Т. 97, № 1. – С. 25–29.

14. Отавина, Е.А, Критерии показателей клеточной гибели в условиях избыточной контаминации биосред стронцием / Е.А Отавина, **Д.Г. Дианова** // Российский иммунологический журнал. – 2018. – Т. 12(21), № 4. – С. 719–721.

15. Пат. № 2452963 РФ, МПК G01N33/53, C12Q1/68. Способ диагностики вторичных иммунодефицитных состояний человека, связанных с химическим контаминантом / Н.В. Зайцева, О.В. Долгих, А.В. Кривцов, **Д.Г. Дианова**, Т.С. Лыхина, Д.В. Ланин, А.М. Гугович, Р.А. Харахорина; заявитель и патентообладатель – ФБУН «ФНЦ МПТ УРЗН» (RU). – № 2011108163/15; заявл. 02.03.2011; опубли. 10.06.2012. Бюл. № 16. – 16 с.

16. Пат. № 2471190 РФ, МПК G01N33/49. Способ количественной оценки апоптоза, модифицированного органическими низкомолекулярными соединениями / Н.В. Зайцева, О.В. Долгих, **Д.Г. Дианова**, Т.С. Лыхина, А.В. Кривцов, А.М. Гугович, Р.А. Харахорина; заявитель и патентообладатель – ФБУН «ФНЦ МПТ УРЗН» (RU). – № 2011140115/15; заявл. 03.10.2012; опубли. 27.12.2012. Бюл. № 36. – 15 с.

17. Пат. № 2577705 РФ: МПК G01N33/53/ Способ диагностики клеточного иммунодефицита у экспериментальных животных в условиях экспозиции стронцием: О.В. Долгих, Н.В. Зайцева, А.В. Кривцов, О.А. Бубнова, **Д.Г. Дианова**, Н.А. Вдовина, В.А. Лучникова, К.Г. Старкова, Е.А. Пирогова, Н.В. Безрученко; заявитель и патентообладатель ФБУН «ФНЦ МПТ УРЗН» (RU). – № 2015113110/15; заявл. 09.04.2015; опубли. 20.03.2016. Бюл. № 8. – 15 с.

18. Пат. № 2621155 РФ, МПК G01N33/49. Способ оценки у детей влияния стронция на апоптоз, ассоциированный с аллельным вариантом гена FAS / О.В. Долгих, Н.В. Зайцева, А.В. Кривцов, О.А. Бубнова, **Д.Г. Дианова**, К.Г. Старкова, Е.А. Отавина, Н.В. Безрученко, Т.А. Легостаева, И.В. Перминова; заявитель и патентообладатель ФБУН «ФНЦ МПТ УРЗН» (RU). – № 2016129560; заявл. 19.07.2016; опубли. 31.05.2017. Бюл. № 16. – 15 с.

19. Пат. № 2651038 РФ, МПК G01N33/49. Способ выявления нарушений у детей иммунологической реактивности в условиях избыточной экспозиции стронцием / О.В. Долгих, Н.В. Зайцева, А.В. Кривцов, О.А. Казакова, **Д.Г. Дианова**, Е.А. Отавина, Н.В. Безрученко, М.А. Гусельников, И.В. Перминова, А.А. Мазунина, Н.А. Никоношина, Т.А. Легостаева; заявитель и патентообладатель ФБУН «ФНЦ МПТ УРЗН» (RU). – № 2017126444; заявл. 21.07.2017; опубл. 18.04.2018. Бюл. № 11. – 15 с.

Публикации в других изданиях

20. Зайцева, Н.В. Особенности иммунологических и генетических нарушений человека в условиях дестабилизации среды обитания / Н.В. Зайцева, О.В. Долгих, **Д.Г. Дианова**. – Пермь: Изд-во Перм. нац. исслед. политехн. ун-та, 2016. – 300 с.

21. Особенности апоптоза у детей, проживающих в Пермском крае / О.В. Долгих, **Д.Г. Дианова**, А.В. Кривцов, Т.С. Лыхина // Инновационные технологии в медицине: Материалы IV научно-практической конференции с международным участием. – Хургада (Египет), 2010. – С. 10–11.

22. Иммунный статус детей в условиях техногенной нагрузки / О.В. Долгих, **Д.Г. Дианова**, Т.С. Лыхина, А.В. Кривцов, Р.А. Харахорина, А.М. Гугович // Экология и медицина: современное состояние, проблемы и перспективы: материалы международной научно-практической конференции. – М., 2010. – С. 8–12.

23. Гугович, А.М. Особенности регуляции клеточного звена иммунитета у детей в условиях техногенной контаминации биосред / А.М. Гугович, О.В. Долгих, **Д.Г. Дианова** // Медицинский академический журнал. – 2010. – Т. 10, № 5. – С. 136–137.

24. Модифицирующие факторы процесса апоптоза у детей в условиях техногенной нагрузки / О.В. Долгих, Н.В. Зайцева, **Д.Г. Дианова**, Е.М. Лекомцева // Аллергология и иммунология. – 2011. – Т. 12, № 2. – С. 228.

25. Оценка цитокинового профиля у детей, проживающих на промышленно развитой территории / О.В. Долгих, **Д.Г. Дианова**, А.М. Гугович, Р.А. Харахорина // Family health in the XXI century: Proceedings of the XV international scientific conference. – Torremolinos (Spain) – Perm (Russia), 2011. – Part I. – P. 150.

26. Особенности лимфоцитарно-клеточного звена у детей, проживающих на техногенно-нагруженных территориях / О.В. Долгих, Н.В. Зайцева, **Д.Г. Дианова**, Т.С. Лыхина, А.В. Кривцов, А.М. Гугович // Рецепторы и внутриклеточная сигнализация: сборник статей международной конференции / под ред. В.П. Зинченко, С.С. Колесникова, А.В. Бережнова. – Пущино: Fix-Print, 2011. – Т. 2. – С. 478–483.

27. Характеристика лимфоцитарного звена у детей, проживающих на техногенно измененных территориях / Н.В. Зайцева, О.В. Долгих, **Д.Г. Дианова**, Т.С. Лыхина, А.В.Кривцов, А.М. Гугович // Высокие технологии мо-

дернизация в лабораторной медицине: тезисы докладов XVI Научно-практической конференции. – М., 2011. – С. 10–11.

28. Гугович, А.М. Особенности иммунного статуса детей в условиях различной техногенной нагрузки / А.М. Гугович, О.В. Долгих, **Д.Г. Дианова** // Гигиенические и медико-профилактические технологии управления рисками здоровью населения: материалы 2-й Всероссийской научно-практической конференции с международным участием / под. ред. акад. РАМН Г.Г. Онищенко, чл.-корр. РАМН Н.В. Зайцевой. – Пермь: Книжный формат, 2011. – С. 452–454.

29. Особенности лимфоцитарно-клеточного звена у детей, проживающих на техногенно-нагруженных территориях / О.В. Долгих, Н.В. Зайцева, **Д.Г. Дианова**, Т.С. Лыхина, А.В. Кривцов, А.М. Гугович // Биологические мембраны. – 2012. – Т. 29, № 5. – С. 349–353.

30. Иммунологические маркеры нарушения здоровья детей, потребляющих питьевую воду с повышенным содержанием хлорорганических соединений / **Д.Г. Дианова**, О.В. Долгих, Р.А. Харахорина, А.М. Гугович // Чистая капля воды: материалы II Международной научно-практической конференции. – Чита, 2012. – С. 28–30.

31. Zaytseva, N.V. Effects of cellular immunity in conditions of surplus supply of strontium with consumed water / N.V. Zaytseva, **D.G. Dianova**, O.V. Dolgykh // EJNH. – 2014. – № 1. – P. 7–8.

32. **Дианова, Д.Г.** Изучение молекулярных механизмов апоптоза у детей с химической контаминацией биосред / Д.Г. Дианова, Н.В. Зайцева, О.В. Долгих // Молекулярная диагностика: сборник трудов VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – М., 2014. – С. 377–379.

33. Гены детоксикации и иммунологические маркеры эффекта у детей в условиях воздействия хлороформа при поступлении с питьевой водой / О.В. Долгих, К.Г. Старкова, А.В. Кривцов, А.С. Сбоев, **Д.Г. Дианова**, Н.А. Вдовина // Актуальные проблемы безопасности и анализа риска здоровью населения при воздействии факторов среды обитания: материалы VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием / под ред. проф. А.Ю. Поповой, акад. РАН Н.В. Зайцевой. – Пермь: Книжный формат, 2015. – С. 497–500.

34. Долгих, О.В. Апоптотический сигналинг и его регуляция стронцием / О.В. Долгих, Н.В. Зайцева, **Д.Г. Дианова** // Рецепторы и внутриклеточная сигнализация: сборник статей международной конференции / под ред. В.П. Зинченко, А.В. Бережнова. – Пущино: Fix-Print, 2015. – Т. 2. – С. 547–552.

35. Экспрессия мембранного маркера CD62L иммунокомпетентными клетками в условиях экспозиции стронцием / О.В. Долгих, Н.В. Зайцева, **Д.Г. Дианова**, А.В. Кривцов // Аллергология и иммунология. – 2016. – Т. 17, № 2. – С. 158.

36. Долгих, О.В. Регуляция стронцием апоптотического сигнала в иммуноцитах / О.В. Долгих, Н.В. Зайцева, **Д.Г. Дианова** // Биологические мембраны. – 2016. – Т. 33, № 1. – С. 80–84.

37. Долгих, О.В. Оценка влияния стронция на клеточную гибель в системе *in vitro* / О.В. Долгих, Н.В. Зайцева, **Д.Г. Дианова** // Аллергология и иммунология. – 2016. – Т. 17, № 4. – С. 294–295.

38. Диагностика вторичных иммунодефицитов в условиях стронциевой геохимической провинции / **Д.Г. Дианова**, О.В. Долгих, И.Н. Аликина, К.Г. Старкова, Е.А., А.В. Кривцов, Н.В. Безрученко, М.А. Гусельников // Актуальные проблемы безопасности и анализа риска здоровью населения при воздействии факторов среды обитания: материалы VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием / под ред. проф. А.Ю. Поповой, акад. РАН Н.В. Зайцевой. – Пермь: Книжный формат, 2016. – С. 268–271.

39. Иммуномодулирующие эффекты у детей в условиях воздействия стронция при поступлении с питьевой водой / О.В. Долгих, К.Г. Старкова, **Д.Г. Дианова**, Т.М. Лебедева // Биомедицина XXI века: достижения и перспективные направления развития: сборник научных трудов / под. ред. акад. РАН, РАЕН Ю.А. Рахманина. – М.: РАЕН, 2016. – С. 107–112.

40. Показатели гибели клетки в условиях избыточного поступления хлорсодержащих соединений с питьевой водой / **Д.Г. Дианова**, Н.В. Зайцева, О.В. Долгих, А.В. Кривцов // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2017. – № 1. – С. 80–87.

41. Долгих, О.В. Диагностические маркеры нарушения клеточной гибели, обусловленные экспозицией стабильного стронция / О.В. Долгих, Н.В. Зайцева, **Д.Г. Дианова** // Аллергология и иммунология. – 2017. – Т. 18, № 2. – С. 100–105.

42. Долгих, О.В. Сигнализация при апоптозе в условиях экспозиции хлорсодержащими соединениями / О.В. Долгих, Н.В. Зайцева, **Д.Г. Дианова** // Рецепторы и внутриклеточная сигнализация: сборник статей международной конференции / под ред. В.П. Зинченко, С.С. Колесникова, А.В. Бережнова. – Пущино: Fix-Print, 2017. – Т. 2. – С. 496–502.

43. Долгих, О.В. Особенности изменения маркерных показателей иммунной регуляции у детей в условиях экспозиции стронцием / О.В. Долгих, Е.А. Отавина, **Д.Г. Дианова** // Российская гигиена – развивая традиции, устремляемся в будущее: материалы XII Всероссийского съезда гигиенистов и санитарных врачей / под. ред., проф. А.Ю. Поповой, акад. РАН, проф. В.Н. Ракитского, проф. Н.В. Шестопалова. – М.: Издательско-торговая корпорация «Дашков и К⁰», 2017. – С. 447–450.

44. Генетический полиморфизм и тандемные повторы в гене D2 рецептора дофамина в условиях экспозиции стронцием / О.В. Долгих, А.В. Кривцов, А.А. Мазунина, О.А. Казакова, Е.А. Отавина, **Д.Г. Дианова**, И.Н. Аликина // Актуальные вопросы обеспечения санитарно-эпидемиологического

благополучия населения на уровне субъекта Федерации: материалы межрегиональной научно-практической интернет-конференции / под ред. проф. А.Ю. Поповой, акад. РАН Н.В. Зайцевой. – Пермь: Изд-во Перм. нац. исслед. политехн. ун-та, 2017. – С. 276–279.

Список сокращений

АЛТ	Аланинаминотрансфераза	APC	Антигенпрезентирующая клетка
АОА	Антиоксидантная активность	ARE	Антиоксидант-респонсивный элемент
АСТ	Аспартатаминотрансфераза	cyt c	Цитохром с
БКМС	Болезни костно-мышечной системы и соединительной ткани	GPx	Глутатионпероксидаза
ЖКТ	Желудочно-кишечный тракт	GST	Глутатионтрансфераза
НМХС	Низкомолекулярные химические соединения	LPO	Гидроперекиси липидов
ТФ ОМС	Территориальный фонд обязательного медицинского страхования	MDA	Малоновый диальдегид
ПК	Пермский край	PS	Фосфатидилсерин
ФИФ СГМ	Федеральный информационный фонд социально-гигиенического мониторинга	POL	Перекисное окисление липидов
ФН	Физиологическая норма	ROS	Активные формы кислорода
ФО	Федеральный округ	SOD	Супероксиддисмутаза
AP1	Активирующий протеин 1	Ψ	Потенциал митохондриальный

Дианова Дина Гумяровна

**НАУЧНЫЕ ОСНОВЫ ГИГИЕНИЧЕСКОГО АНАЛИЗА
ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ВЛИЯНИЯ ГАПТЕНОВ,
ПОСТУПАЮЩИХ С ПИТЬЕВОЙ ВОДОЙ,
НА ИММУННУЮ СИСТЕМУ У ДЕТЕЙ**

14.02.01 – Гигиена

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Подписано в печать 14.03.2019. Формат 60×90/16.
Усл. печ. л. 2,0. Тираж 100 экз. Заказ № 740/2019.

Отпечатано в типографии издательства
Пермского национального исследовательского
политехнического университета.
Адрес: 614990, г. Пермь, Комсомольский проспект, 29, к. 113.
Тел. (342) 219-80-33.