

ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 612.017.1064:614.7-053.2

Просекова Е.В.¹, Ситдикова Т.С.², Долгополов М.С.¹, Турянская А.И.¹, Сабыныч В.А.¹, Забелина Н.Р.¹

МОНИТОРИНГ ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОГО СТАТУСА ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ НАПРЯЖЕННОЙ ИММУНОТРОПНОЙ ЗОНЫ ИНДУСТРИАЛЬНОГО ГОРОДА

¹ГБОУ ВПО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России, 690002, Владивосток;

²КГБУЗ «Владивостокский клинико-диагностический центр», 690001, Владивосток

Проведена комплексная оценка количественных и функциональных показателей иммунокомпетентных клеток периферической крови, цитокинового и иммуноглобулинового профиля сыворотки крови с определением доверительных интервалов иммунологических параметров здоровых детей в возрасте 3–11 лет (n = 98), проживающих в напряженной иммунотропной зоне с наибольшим экологическим риском. Анализ лейкоцитов, субпопуляционного состава лимфоцитов и процессов активации клеток периферической крови проводили с помощью многопараметрового проточного цитофлуориметра COULTER EPICS XL фирмы «Beckman Coulter Inc.» с подбором панелей моноклональных антител с многоцветной комбинацией флуорохромов. Уровни цитокинов определяли иммуноферментным методом с использованием реактивов фирмы «R & D Diagnostics Inc.» (США), спонтанную и митогениндуцированную продукцию цитокинов клетками цельной крови с применением набора реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). В сыворотке крови содержание иммуноглобулинов определяли методом иммунотурбидиметрии, общего и специфического IgE — методом твердофазного иммуноферментного анализа с наборами реагентов ООО «Компания Алкор Био» (Санкт-Петербург), статистическую обработку данных выполняли по программе Statistica 10 с достоверностью 95–99%. У младших школьников по сравнению с детьми 3–6 лет выявлено статистически значимо большее количество лейкоцитов с сохранением высокого удельного веса нейтрофилов, преобладанием желтой субпопуляции Т-лимфоцитов, выраженная активация В-лимфоцитов, более высокие уровни сывороточных IgA, IgG, общего и специфического IgE (латентная сенсibilизация бытовыми аллергенами), преобладание интенсивности продукции интерлейкинов ИЛ-13 над ИЛ-4 и значимо большая обеспеченность натуральными киллерами.

Ключевые слова: иммунный статус; проточная цитометрия; клеточные субпопуляции; цитокиновый профиль; здоровые дети.

Для цитирования: Просекова Е.В., Ситдикова Т.С., Долгополов М.С., Турянская А.И., Сабыныч В.А., Забелина Н.Р. Мониторинг лабораторных показателей иммунного статуса здоровых детей, проживающих в условиях напряженной иммунотропной зоны индустриального города. Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62 (4): 216-221

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-4-216-221>

Prosekova E.V.¹, Sitdikova T.S.², Dolgopolov M.S.¹, Turyanskaya A.I.¹, Sabynych V.A.¹, Zabelina N.R.¹

THE MONITORING OF LABORATORY INDICES OF IMMUNE STATUS OF HEALTHY CHILDREN RESIDING IN CONDITIONS OF INTENSIVE IMMUNOTROPIC ZONE OF INDUSTRIAL TOWN

¹The Tikhookeanskii state medical university of Minzdrav of Russia, 690002 Vladivostok, Russia

²The Vladivostokskii clinical diagnostic center, 690001 Vladivostok, Russia

The complex evaluation was implemented concerning to quantitative and functional indices of immune-competent cells of peripheral blood, cytokine and immunoglobulin profile of blood serum with detection of confidence ranges of immunologic parameters of healthy children aged 3-11 years (n=98) residing in intensive immunotropic zone with the highest ecological risk. The multi-parametric flow cytofluorimeter COULTER EPICS XL (Beckman Coulter Inc.) with selection of panels of monoclonal antibodies with multi-color combination of fluorochromes was applied to analyze leukocytes, sub-population composition of lymphocytes and processes of activation of cells of peripheral blood. The levels of cytokines were detected using immunoenzyme technique applying reagents by «R&D Diagnostics Inc.» (USA). The reagents' kit of «Vektor-Best» (Novosibirsk) was applied to detect spontaneous and mitogen-induced production of cytokines by cells of total blood. The immuneturbidimetry technique was applied to detect content of immunoglobulins in blood serum. The total and specific IgE was detected using solid-phase immune enzyme analysis with reagents' kits by «Alkor Bio Company» (St. Petersburg). The statistical data processing was implemented using software Statistica 10 with data verification 95%-99%. In junior school children as compared with children aged 3-6 years, statistically reliable greater number of leukocytes were detected with preservation of high ratio of neutrophils, prevalence of helper sub-population of T-lymphocytes, expressed activation of B-lymphocytes, higher levels of serum IgA, IgG, common and specific IgE (latent sensibilization by domestic allergens), prevalence of intensity of production of interleukins IL-13 over IL-4 and significantly higher provision with natural killers.

Key words: immune status; flow cytometry; cell populations; cytokine profile; healthy children.

For citation: Prosekova E.V., Sitdikova T.S., Dolgoplov M.S., Turyanskaya A.I., Sabynych V.A., Zabelina N.R. The monitoring of laboratory indices of immune status of healthy children residing in conditions of intensive immunotropic zone of industrial town. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2017; 62 (4): 216-221. (in Russ.)*. DOI: 10.18821/0869-2084-2017-62-4-216-221

For correspondence: Prosekova E.V., doctor of medical sciences, professor, the head of the chair of clinical laboratory diagnostic, general and clinical immunology. e-mail: pros.ev@mail.ru

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 14.06.2016
Accepted 28.06.2016

Введение. Иммунограмма практически здоровых людей визуализирует индивидуальность реакции на воздействие комплекса факторов окружающей среды, влияние биологических ритмов, возрастные изменения и адаптационные резервы организма относительно нагрузочных факторов [1—5]. В последние десятилетия фиксируется снижение уровня здоровья и развитие экологически обусловленных иммунодефицитных состояний, формирующихся у людей, проживающих в городах с высоким уровнем загрязнения окружающей среды [6—12]. Иммунологические показатели отражают реакции организма на воздействие физиологических или патологических факторов, активацию или истощение иммунной системы. Индикаторами действия антропогенных факторов являются основные клеточные популяции иммунной системы человека, высокочувствительные к негативному влиянию различных средовых факторов [4, 6—8, 13, 14]. Одной из актуальных задач лаборатории клинической иммунологии является определение нормативных значений показателей иммунного статуса населения и мониторинг иммунного статуса в регионе.

Внедрение современных технологий в клинической лабораторной диагностике позволяет с большей чувствительностью определить колебания количественных и функциональных характеристик компонентов системы врожденного и адаптивного иммунитета и обосновывает необходимость определения региональных особенностей доверительных интервалов диагностической информативности используемых в клинической практике методов иммунодиагностики [1, 3, 13, 15—17].

В Приморском крае по показателю интегрального индекса воздействия (числовой показатель, являющийся результатом сжатия многокомпонентной информации и учитывающий функциональный ответ организма на воздействие факторов внешней среды) среда обитания человека является нагрузочной, ее создают климат, неблагоприятный для освоения, горный рельеф, экологические проблемы лесопользования, повышенное техногенное загрязнение с высоким классом вредности промышленных предприятий и острота проблем, связанных с быстрым увеличением автомобильного парка в регионе [7—9, 18]. Т.И. Виткиной [8, 9] и Л.В. Веремчук [7] определены экологическая обусловленность иммунопатологии и иммуноотропные зоны (зоны экологического неблагополучия с негативным комплексным влиянием экологических факторов на заболеваемость иммунопатологиями населения и зависимостью выраженности иммунологических изменений от состояния окружающей среды) в Приморском крае. В напряженной иммуноотропной зоне с наибольшим экологическим риском, индуцированными ксенобиотическими факторами и нарушениями иммунного гомеостаза находится Владивосток, имеющий значительный автомобильный парк (выброс от промышленных источников — 1—3-й классы вредности предприятий, риск от автотранспорта значительно выше ($fV = 65,2—89,9$), чем от выбросов в воздух промышленных предприятий (нормированный показатель здоровья $Wi = 18,2—22,1$)). Воздействие неблагоприятных экологических условий в промышленных центрах приводит к

постепенному истощению резервных возможностей организма и формированию у здоровых жителей иммунного дисбаланса, стадийность которого соответствует общебиологическим закономерностям адаптогенеза организма к изменению условий окружающей среды [7—9].

Цель исследования — выявление особенностей функционирования иммунокомпетентных клеток здоровых детей в индустриальном городе на основе клинико-лабораторного мониторинга цитокинового профиля и иммунного статуса.

Исследование включало оценку факторов врожденного и адаптивного иммунитета путем получения и анализа комплекса количественных и функциональных показателей иммунокомпетентных клеток, цитокинового профиля и иммуноглобулинового спектра, отражающих эффективность работы иммунной системы, определение референсных интервалов иммунологических параметров периферической крови здоровых детей, проживающих в условиях напряженной иммуноотропной зоны индустриального города.

Задачи исследования:

— анализ цитокинового профиля сыворотки крови: интерлейкинов (ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-13, ИЛ-17), интерферона гамма (ИФН γ), фактора некроза опухоли альфа (ФНО α)), спонтанной и митогениндуцированной продукции ИЛ-4 и ИФН γ клетками цельной крови;

— мониторинг уровня иммуноглобулинов (IgA, IgE, IgG, IgM и специфический IgE к смеси бытовых аллергенов) в сыворотке крови;

— оценка методом проточной цитометрии количественных и функциональных показателей процессов клеточной активации иммунокомпетентных клеток (лейкоциты, субпопуляционный состав лимфоцитов, идентификация поверхностных молекул активации, маркеров пролиферативной активности, апоптоза, межклеточной кооперации) у здоровых детей;

— определение доверительных интервалов (ДИ) иммунологических показателей здоровых детей, проживающих в условиях напряженной иммуноотропной зоны.

Материал и методы. Исследование проводили среди здоровых детей Владивостока в возрасте 3—11 лет ($n = 98$), не имевших в течение предшествующего обследованию месяца острых заболеваний и не получавших фармакологического лечения, с консультативным приемом в центре здоровья КГБУЗ «Владивостокский клинико-диагностический центр». Клинико-лабораторные исследования выполняли в текущем году трехкратно в различные временные периоды (сентябрь—октябрь, декабрь—январь, март—апрель) на кафедре клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии ГБОУ ВПО «ТГМУ» Минздрава России и в иммунологической лаборатории краевого клинического центра по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями ГБУЗ «ККБ № 2». Дизайн исследования одобрен Междисциплинарным комитетом по этике ГБОУ ВПО «ТГМУ» Минздрава России 23.06.2014, протокол № 7 и 24.04.2015, протокол № 8.

Учитывая возрастные особенности становления иммун-

Клеточные факторы иммунного статуса здоровых детей, проживающих во Владивостоке

Показатели, единицы измерения удельного веса и абсолютного числа	Дети 3—6 лет (<i>n</i> = 49), 145 исследований		Дети 7—11 лет (<i>n</i> = 49), 147 исследований		Критерий Стьюдента <i>t</i>
	<i>M</i> ± <i>m</i>	ДИ	<i>M</i> ± <i>m</i>	ДИ	
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	6,75 ± 0,30	6,25—7,26	8,07 ± 0,42	7,37—8,78	2,522
Лимфоциты, %	44,32 ± 0,84	42,93—45,72	40,47 ± 1,56	37,87—43,08	2,163
Т-лимфоциты CD3 ⁺ /CD19 ⁻ , 10 ⁹ /л	3,01 ± 0,13	2,79—3,22	3,19 ± 0,11	3,01—3,38	1,091
Т-лимфоциты CD3 ⁺ /CD19 ⁻ , кл/мкл	2361,50 ± 97,78	2199,19—2523,82	2119,30 ± 79,02	1988,13—2250,47	1,926
В-лимфоциты CD3 ⁻ /CD19 ⁺ , %	14,32 ± 0,38	13,69—14,95	14,95 ± 1,06	13,20—16,70	0,560
В-лимфоциты CD3 ⁻ /CD19 ⁺ , кл/мкл	439,80 ± 27,96	393,39—486,21	464,25 ± 36,13	404,27—524,23	0,535
Т-хелперы CD3 ⁺ /CD4 ⁺ , %	38,46 ± 0,58	37,50—39,41	37,41 ± 1,08	35,61—39,20	0,855
Т-хелперы CD3 ⁺ /CD4 ⁺ , кл/мкл	1149,35 ± 39,47	1083,97—1215,03	1143,20 ± 43,86	1070,42—1215,98	0,106
Т-цитотоксические клетки CD3 ⁺ /CD8 ⁺ , %	31,42 ± 1,52	28,89—33,95	27,07 ± 1,19	25,09—29,04	2,253
Т-цитотоксические клетки CD3 ⁺ /CD8 ⁺ , кл/мкл	1041,45 ± 40,47	974,27—1108,63	859,10 ± 49,84	776,36—941,84	2,840
Активированные Т-клетки CD3 ⁺ /HLA-DR ⁺ , %	3,05 ± 0,21	2,70—3,39	2,90 ± 0,39	2,25—3,55	0,339
Активированные Т-клетки CD3 ⁺ /HLA-DR ⁺ , кл/мкл	92,7 ± 7,51	80,23—105,16	89,00 ± 10,14	72,17—105,83	0,293
Активированные клетки CD3 ⁻ /HLA-DR ⁺ , %	13,19 ± 0,52	12,33—14,06	16,55 ± 1,21	14,54—18,56	2,547
Активированные клетки CD3 ⁻ /HLA-DR ⁺ , кл/мкл	427,50 ± 33,56	371,80—483,20	527,35 ± 38,90	462,78—591,92	1,943
Активированные Т-клетки CD3 ⁺ /CD25 ⁺ , %	5,58 ± 0,24	5,18—5,98	6,79 ± 0,29	6,30—7,27	3,181
Активированные Т-клетки CD3 ⁺ /CD25 ⁺ , кл/мкл	157,45 ± 3,82	151,11—163,79	218,45 ± 12,17	198,25—238,65	4,782
Цитолитические НКТ — клетки CD3 ⁺ /CD16 ⁺ CD56 ⁺ , %	8,40 ± 0,47	7,64—9,16	8,35 ± 0,48	7,55—9,15	0,075
Цитолитические НКТ — клетки CD3 ⁺ /CD16 ⁺ CD56 ⁺ , кл/мкл	245,35 ± 9,53	229,53—261,17	266,00 ± 19,43	233,74—298,25	0,954
Цитолитические НК-клетки CD3 ⁻ /CD16 ⁺ CD56 ⁺ , %	6,33 ± 0,64	5,27—7,39	15,42 ± 0,93	13,61—16,87	7,599
Цитолитические НК-клетки CD3 ⁻ /CD16 ⁺ CD56 ⁺ , кл/мкл	225,30 ± 24,39	184,81—265,78	485,65 ± 40,82	417,90—553,40	5,475

* П р и м е ч а н и е . Здесь и в табл. 2: *t* — коэффициент достоверности различий показателей в разных возрастных группах.

ной системы, выделили 2 подгруппы: дети дошкольного возраста (3—6 лет (*n* = 49)) и дети младшего школьного возраста (7—11 лет (*n* = 49)).

Материалом для исследования иммунологических параметров являлась венозная кровь. Анализ лейкоцитов, характеристики субпопуляционного состава лимфоцитов, процессов активации клеток периферической крови проводили с помощью многопараметрового проточного цитофлуориметра COULTER EPICS XL фирмы «Beckman Coulter Inc.», станции для подготовки проб CoulterPrepPlus и Coulter TO-prep с подбором панелей моноклональных антител с многоцвет-

ной комбинацией флюорохромоов. Для иммунофенотипирования использовали флюоресцентные частицы Flow-Count. Определяли Т-клетки, Т-хелперы, Т-цитотоксические клетки, регуляторный индекс, В-клетки, натуральные киллеры (НК-клетки), цитолитические Т-клетки (НКТ-клетки) и активированные Т- и В-клетки (CD3⁺/CD19⁻, CD3⁺/CD4⁺, CD3⁺/CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺, CD3⁻/CD19⁺, CD3⁻/CD16⁺CD56⁺, CD3⁺/CD16⁺CD56⁺, CD3⁺/HLA-DR⁺, CD3⁻/HLA-DR⁺).

Уровни цитокинов в сыворотке крови определяли в сэндвич-варианте твердофазного иммуноферментного анализа с реактивами фирмы «R & D Diagnostics Inc.» (США)

Спонтанная и митогениндуцированная продукция ИЛ-4 и ИФН_γ клетками цельной крови здоровых детей, проживающих во Владивостоке

Показатель	Дети 3—6 лет (<i>n</i> = 49)		Дети 7—11 лет (<i>n</i> = 49)		Критерий Стьюдента <i>t</i>
	<i>M</i> ± <i>m</i>	ДИ	<i>M</i> ± <i>m</i>	ДИ	
Спонтанная продукция ИФН _γ , пг/мл	11,70 ± 0,09	11,55—12,93	15,67 ± 0,81	14,33—17,01	3,662
Митогениндуцированная продукция ИФН _γ , пг/мл	269,52 ± 77,85	140,29—398,75	31,78 ± 10,43	13,46—49,11	3,038
Плазма, пг/мл	8,71 ± 0,25	8,29—9,12	16,37 ± 1,87	11,59—21,12	2,304
Спонтанная продукция ИЛ-4, пг/мл	2,19 ± 0,04	2,12—2,26	1,72 ± 0,07	1,60—1,83	5,756
Митогениндуцированная продукция ИЛ-4, пг/мл	2,97 ± 0,45	2,23—3,70	1,76 ± 0,08	1,65—1,88	2,67
Плазма, пг/мл	2,09 ± 0,37	1,47—2,71	1,95 ± 0,48	1,16—2,74	0,236

Таблица 3

Цитокиновый профиль и регуляторные цитокиновые индексы $K_{ИФН\gamma/ИЛ-4}$, $K_{ИФН\gamma/ИЛ-13}$ сыворотки крови здоровых детей 3—11 лет, проживающих во Владивостоке

Уровень цитокинов	Цитокиновый профиль сыворотки крови, пг/мл									
	ИЛ-1 β	ИЛ-4	ИЛ-6	ИЛ-8	ИЛ-13	ИЛ-17	ИФН γ	ФНО α	КИФН γ /ИЛ-4	КИФН γ /ИЛ-13
$M \pm m$	2,32 \pm 0,25	3,043 \pm 0,65	4,60 \pm 0,80	8,02 \pm 1,6	10,08 \pm 2,85	4,30 \pm 1,20	28,60 \pm 3,46	9,68 \pm 1,28	5,20 \pm 1,30	4,05 \pm 0,86
$M - tm$	1,98—3,65	2,01—4,90	3,05—5,80	7,26—10,58	7,80—14,90	2,90—6,10	17,31—34,35	7,56—11,81	4,66—9,98	3,35—6,15
$M + tm$										

согласно прилагаемой инструкции с учетом результатов на иммуноферментном анализаторе. Расчеты количества цитокинов производили путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы и выражали в пг/мл. Спонтанную и митогениндуцированную продукцию ИЛ-4 и ИФН γ клетками цельной крови исследовали с применением набора реагентов «Цитокин-Стимул-Бест» ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Уровни иммуноглобулинов М, G, A в сыворотке крови определяли методом иммунотурбидиметрии. Содержание общего и специфического IgE (к смеси бытовых аллергенов) исследовали методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов ООО «Компания Алкор Био» (Санкт-Петербург) и выражали в МЕ/мл.

Для статистической обработки всех цифровых данных использовали методы описательной, параметрической и непараметрической статистики программы Statistica 10 с подсчетом средней арифметической (M), медианы, среднего квадратичного отклонения (σ), средней ошибки средней арифметической ($\pm m$), доверительного интервала (ДИ), коэффициента достоверности показателя (t) и различий (t и p), проводили корреляционный анализ (критерий χ^2) и однофакторный дисперсный анализ (критерий Фишера F), (r — коэффициент корреляции). Объем выполненных исследований позволял оценить результаты с достоверностью 95—99%.

Результаты. Вариации гематологических показателей периферической крови и показателей иммунограммы здоровых детей в течение года не превышали 3% от исходных, становились значимыми в зависимости от возраста, что определило сравнительный анализ полученных данных в группах детей дошкольного и младшего школьного возраста. В ходе исследований зафиксированы ДИ абсолютного числа лейкоцитов в периферической крови здоровых детей 3—11 лет от 6,85 до 8,22 $\cdot 10^9$ /л при значимо меньшем количестве у дошкольников (3—6 лет) по сравнению с младшими школьниками (7—11 лет) (6,25—7,26 $\cdot 10^9$ /л против 7,37—8,78 $\cdot 10^9$ /л соответственно, при $p < 0,02$ (табл. 1).

Среди лейкоцитов преобладали гранулоциты со средним уровнем относительного содержания нейтрофилов 50,23 \pm 1,49% (ДИ 7,75—52,71%) и прямой корреляционной зависимостью от общего числа лейкоцитов ($r = +0,707$). Абсолютное число нейтрофилов у детей 7—11 лет было выше, чем у дошкольников — 4,13 \pm 0,39 $\cdot 10^9$ /л (ДИ 3,48—4,78 $\cdot 10^9$ /л) против 3,39 \pm 0,17 $\cdot 10^9$ /л (ДИ 3,10—3,68 $\cdot 10^9$ /л) при $p < 0,1$. Относительный показатель моноцитов составил 7,58 \pm 0,38% (ДИ 6,94—8,21%) при отсутствии значимой корреляции с общим числом лейкоцитов ($r = -0,145$) и различий абсолютного числа клеток в возрастных подгруппах (0,55 \pm 0,03 $\cdot 10^9$ /л и 0,59 \pm 0,04 $\cdot 10^9$ /л соответственно при $p > 0,2$). Удельный вес лимфоцитов варьировал от 39,65 до 44,43% с обратной корреляционной зависимостью средней силы ($r = -0,64$) с уровнем лейкоцитов в периферической крови. Процентное содержание лимфоцитов у детей 3—6 лет было незначительно выше, чем у младших школьников ($p > 0,2$), в абсолютных показателях это различие нивелировалось (см. табл. 1).

У детей 3—6 лет в периферической крови средние показатели удельного веса и абсолютного числа Т-лимфоцитов составили соответственно 75,70 \pm 0,94% и 2361,50 \pm 97,78 кл/мкл, среди них цитотоксических Т-лимфоцитов — 1041,45 \pm 40,47 кл/мкл, с маркерами ранней активации CD3 $^+$ /CD25 $^+$ — 157,45 \pm 3,82 кл/мкл и поздней активации CD3 $^+$ /HLA-DR $^+$ — 92,7 \pm 7,51 кл/мкл, цитолитических НКТ-клеток (CD3 $^+$ /CD16 $^+$ /CD56 $^+$) — 245,35 \pm 9,53 кл/мкл (см. табл. 1). Регуляторный индекс CD4 $^+$ /CD8 $^+$ у детей 3—6 лет составил 1,21 \pm 0,06 (ДИ 1,102—1,318), у детей 7—11 лет — 1,44 \pm 0,07 (ДИ 1,31—1,57) при достоверности различий $t = 2,28$ ($p < 0,05$). У дошкольников в периферической крови абсолютное число В-лимфоцитов составило 439,80 \pm 27,96 кл/мкл и практически не отличалось от такового у младших школьников (464,25 \pm 36,13 кл/мкл). В последнем случае доля клеток с экспрессией маркеров активации CD3-/HLA-DR $^+$ была значимо выше (13,19 \pm 0,52 и 16,55 \pm 1,21% при $p < 0,02$) и зафиксированы различия в синтезе сывороточных иммуноглобулинов здоровых детей в зависимости от возраста. Так, в сыворотке крови здоровых детей 3—6 лет уровень IgA составил 1,02 \pm 0,10 г/л, IgG — 7,8 \pm 0,43 г/л, IgM — 0,94 \pm 0,08 г/л, IgE — 20,9 \pm 6,6 МЕ/мл, специфический IgE к бытовым аллергенам у 61,2% детей не определялся и у 38,2% не превышал 0,02 МЕ/мл. У детей 7—11 лет определенные следующие уровни сывороточных иммуноглобулинов: IgA — 2,04 \pm 0,15 г/л, IgG — 10,08 \pm 0,63 г/л, IgM — 1,07 \pm 0,03 г/л, IgE — 72,19 \pm 8,75 МЕ/мл, специфического IgE — 0,09 \pm 0,02 МЕ/мл. В подгруппе детей младшего школьного возраста у 2 (4,09%) уровень общего IgE превышал 200 МЕ/мл (204 и 295 МЕ/мл), у 71,43% (35) детей уровни специфического IgE к бытовым аллергенам превышали 0,02 МЕ/мл и в 2 случаях фиксировались высокие уровни специфического IgE (12 и 38,3 МЕ/мл соответственно) при отсутствии клинических проявлений аллергической патологии.

Цитолитические НК-клетки CD3-/CD16 $^+$ CD56 $^+$ определялись при удельном весе 6,33 \pm 0,64% и 225,30 \pm 24,39 кл/мкл у детей 3—6 лет и значимо больше у детей 7—11 лет (15,42 \pm 0,93% и 485,65 \pm 40,82 кл/мкл при $p < 0,001$) (см. табл. 1).

При анализе цитокинового профиля сыворотки крови у детей 3—6 лет зафиксировано содержание ИФН γ в диапазоне от 7,6 до 12,9 пг/мл, что достоверно ниже, чем у детей —11 лет, — 12,3—53,6 пг/мл ($p < 0,005$). Спонтанная продукция ИФН γ клетками крови у дошкольников была достоверно ниже, чем у младших школьников (11,70 \pm 0,09 и 15,67 \pm 0,81 пг/мл соответственно при $p < 0,005$), с зеркальными различиями в продукции ИЛ-4 (2,19 \pm 0,04 и 1,72 \pm 0,07 пг/мл соответственно при $p < 0,001$). При этом адекватный ответ на митоген и индукция секреции ИФН γ зафиксирована у 61,2% (30), ИЛ-4 — у 50,6% (15) детей в возрасте 3—6 лет, а в подгруппе детей 7—11 лет продукция ИФН γ в ответ на митоген отмечена только у 22,2% (10), ИЛ-4 — у 12,05% (5) детей ($p < 0,005$) (табл. 2).

Показатели сывороточного спектра провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО α у здоровых детей не превышали 10 пг/мл (табл. 3).

В сывороточном спектре противовоспалительных цитокинов преобладал ИЛ-13 (ДИ 7,80—14,90 пг/мл). Цитокиновые регуляторные индексы оппозиционных цитокинов $K_{ИФН\gamma}$ и $K_{ИЛ-4}$ составили $5,20 \pm 1,30$ (ДИ 4,66—9,98) и $4,05 \pm 0,86$ (ДИ 3,35—6,15) соответственно (см. табл. 3).

Обсуждение. Полученные результаты позволили определить возрастную динамику показателей клеточного и гуморального иммунитета: у младших школьников по сравнению с показателями у детей дошкольного возраста отмечена более высокая обеспеченность лейкоцитами (с преобладанием гранулоцитов), лимфоцитами, активированными Т-лимфоцитами и натуральными киллерами, меньшая численность Т-цитотоксических лимфоцитов при отсутствии значимых различий в обеспеченности В-лимфоцитами при достоверно большем синтезе иммуноглобулинов и снижении митогениндуцированной продукции ИФН γ (см. табл. 1—3). ДИ исследованных показателей не выходят за пределы общепринятых референсных интервалов, но имеют особенности [6, 10, 11, 14]. В исследованиях В.Я. Розенберга и соавт. [6] в Чите у здоровых детей в возрасте до 6 лет отмечена активация специфического звена противовирусной защиты, у детей в возрасте 7—10 лет по сравнению с группой 3—6 лет выявлено меньшее число лейкоцитов и лимфоцитов, снижение абсолютного числа Т-лимфоцитов и количественных характеристик субпопуляции при увеличении популяции CD25⁺, уменьшение субпопуляции CD19⁺ на фоне роста синтеза IgG. Т.И. Виткиной и соавт. [9] при изучении воздействия факторов окружающей среды на иммунометаболический статус жителей промышленных центров Приморского края определены фенотипы, отражающие формирование иммунометаболической резистентности. Выявленная у младших школьников динамика иммунологических показателей — возрастание количества лейкоцитов, лимфоцитов при снижении пула зрелых Т-лимфоцитов, увеличение числа активированных Т-лимфоцитов, сохранение уровня Т-хелперов и снижение количества Т-цитотоксических клеток, нарушение соотношений регуляторных субпопуляций, нарастание численности активированных В-лимфоцитов и синтеза иммуноглобулинов — позволяет говорить о формировании компенсаторного иммунного дисбаланса первого фенотипа, базирующегося на активации иммунной системы в клеточном звене. Компенсированный фенотип соответствует первой фазе процесса приспособления организма к действию факторов, дестабилизирующих иммунный гомеостаз.

Заключение. Проведенные исследования состояния иммунного ответа здоровых детей, проживающих в напряженной иммунотропной зоне индустриального города, определили особенности функциональной активности и цитокиновой регуляции иммунокомпетентных клеток, процессов пролиферации и дифференцировки лимфоцитов. Возрастные особенности, динамика и митогениндуцированная продукция исследуемых провоспалительных и противовоспалительных цитокинов позволяют использовать данные показатели как эффективные для мониторинга реализации иммунного ответа и состояний, связанных с нарушением адаптационных механизмов. У младших школьников по сравнению с детьми 3—6 лет выявлено статистически значимо большее количество лейкоцитов с сохранением высокого удельного веса нейтрофилов, преобладанием Т-хелперной субпопуляции, выраженной активацией В-лимфоцитов, более высокие уровни сывороточных IgA, IgG, значимо большая обеспеченность натуральными киллерами и латентная сенсibilизация бытовыми аллергенами. Отмечено преобладание интенсивности продукции ИЛ-13 перед ИЛ-4. Оба эти цитокина являются стимуляторами пролиферации преактивированных В-лимфоцитов, активаторами гуморального иммунитета и участвуют в регуляции синтеза IgE, потребность в ИЛ-13 у здорового человека без аллергических реакций минималь-

на. Сочетание снижения секреции ИФН γ и нарушения IgG-антительного ответа определяют предрасположенность детей, проживающих в условиях напряженной иммунотропной зоны индустриального города, к реализации аллергических заболеваний органов дыхания и частым ОРЗ.

Исследование проводилось в рамках единого научного направления ГБОУ ВПО «ГГМУ» Минздрава России «Медико-биологические закономерности патогенеза социально значимых заболеваний и разработка современных технологий их диагностики, лечения, профилактики в условиях экологического разнообразия Дальнего Востока России».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Ярилин А.А. *Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы: руководство для врачей.* М.: ГЭОТАР-Медиа; 2009.
2. Черешнев В.А., Гусев В.Ю. Иммунологические и патофизиологические механизмы системного воспаления. *Медицинская иммунология.* 2012; 14(1-2): 9—20.
3. Ярилин А.А. *Иммунология.* М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010.
4. Литвинова Л.С., Гуцол А.А., Сохоневич Н.А., Кофанова К.А., Хазиахматова О.Г., Шуплецова В.В. и др. Основные поверхностные маркеры функциональной активности Т-лимфоцитов. *Медицинская иммунология.* 2014; 16(1): 7—26.
5. Зурочка А.В., Хайдуков С.В., Кудрявцев И.В., Черешнев В.А. *Проточная цитометрия в медицине и биологии.* Екатеринбург: РИО УрО РАН; 2013.
6. Розенберг В.Я., Бутыльский А.Н., Кузник Б.И. Возрастная динамика показателей гемограммы и иммунного статуса у детей различного возраста. *Медицинская иммунология.* 2011; 13(2-3): 61—6.
7. Веремчук Л.В., Янькова В.И., Виткина Т.И., Голохваст К.С., Барскова Л.С. Загрязнение атмосферы урбанизированной территории как системный процесс взаимодействия факторов окружающей среды. *Здоровье. Медицинская экология.* Наука. 2015; 61(3): 35—42.
8. Виткина Т.И., Веремчук Л.В., Кики П.Ф. Выделение факторов риска развития хронического бронхита в промышленных центрах Приморского края. *Здоровье населения и среда обитания.* 2005; (2): 22—7.
9. Виткина Т.И., Веремчук Л.В., Кики П.Ф. Воздействие факторов окружающей среды на иммунометаболический статус жителей промышленных центров Приморского края. *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук.* 2013; (3-2): 44—7.
10. Добродеева Л.К. Иммунологическая реактивность, состояние здоровья населения *Архангельской области.* Монография. Екатеринбург: Издательство ИФПА; 2004.
11. Малиновская В.В., Паршина О.В., Гусева Т.С., Чеботарева Т.А., Каряева С.К. Особенности иммунного и микроэлементного статуса детей, проживающих в условиях техногенного воздействия промышленного города. *Детские инфекции.* 2010; 9(1): 23—7.
12. Троценко А.А., Журавлева Н.Г., Будилова Е.В., Терехин А.Т. Факторы изменчивости неспецифического иммунитета жителей Северо-Запада европейской части России. Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: *Экология и безопасность жизнедеятельности.* 2010; (1): 59—67.
13. Кудрявцев И.В., Борисов А.Г., Волков А.Е., Савченко А.А., Серебрякова М.К., Полевщиков А.В. Анализ уровня экспрессии CD56 и CD57 цитотоксическими Т-лимфоцитами различного уровня дифференцировки. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2015; (2): 30—5.
14. Троценко А.А. Особенности формирования иммунитета на разных этапах жизненного цикла человека. *Международный научно-исследовательский журнал.* 2015; (6-2). Available at: www.cyberleninka.ru.
15. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян Арег А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлюориметров-анализаторов» (проект). *Медицинская иммунология.* 2012; 14(3): 55—68.

16. Хайдуков С.В., Зурочка А.В. Проточная цитометрия как современный метод анализа в биологии и медицине. *Медицинская иммунология*. 2007; 9(4-5): 73—8.
17. Новиков П.Д., Коневалова Н.Ю., Титова Н.Д. Принципы оценки иммунного статуса и диагностики иммунодефицитных болезней. *Имунопатология, аллергология, инфектология*. 2005; (2): 8—22.
18. Юдин С.В., Маслов Д.В. Влияние антропогенных факторов на онкологическую заболеваемость населения Приморского края. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2004; (3): 46—9.
9. Vitkina T.I., Veremchuk L.V., Kiku P.F. The effect of environmental factors on the immune-metabolic status of people living in industrial areas of Primorsky region. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2013; (3-2): 44—7. (in Russian)
10. Dobrodeeva L.K. *Immunological Reactivity, State of Health of the Population of the Arkhangelsk Region: Monograph [Immunologicheskaya reaktivnost', sostoyanie zdorov'ya naseleniya Arkhangel'skoy oblasti*. Monografiya]. Ekaterinburg: Izdatel'stvo IFPA; 2004. (in Russian)
11. Malinovskaya V.V., Parshina O.V., Guseva T.S., Chebotareva T.A., Karyeva S.K. Peculiarities of immune and microelement status of children living in conditions of technogenic influence of industrial city. *Detskie infektsii*. 2010; 9(1): 23—7. (in Russian)
12. Trotsenko A.A., Zhuravleva N.G., Budilova E.V., Terekhin A.T. Variability of factors of nonspecific immunity inhabitants of the North-West European part of Russia. *Vestnik Rossiyskogo universiteta družby narodov. Seriya: Ekologiya i bezopasnost' zhiznedeyatel'nosti*. 2010; (1): 59—67. (in Russian)
13. Kudryavtsev I.V., Borisov A.G., Volkov A.E., Savchenko A.A., Serebryakova M.K., Polevshchikov A.V. CD56 and CD57 expression by distinct populations of human cytotoxic T lymphocytes. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2015; (2): 30—5. (in Russian)
14. Trotsenko A.A. Peculiarities of immunity formation at different stages of human life-cycle. *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal*. 2015; (6-2). Available at: www.cyberleninka.ru. (in Russian)
15. Khaydukov S.V., Baydun L.A., Zurochka A.V., TotolyanAreg A. The standardized technology «Research subpopulation of peripheral blood lymphocytes using flow cytometry analyzers (projekt)». *Meditsinskaya immunologiya*. 2012; 14(3): 55—68. (in Russian)
16. Khaydukov S.V., Zurochka A.V. Flow cytometry as a modern analytical tool in biology and medicine. *Meditsinskaya immunologiya*. 2007; 9(4-5): 73—8. (in Russian)
17. Novikov P.D., Konevalova N.Yu., Titova N.D. The principles of evaluation of immune status and diagnostic of immunodeficiency diseases. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya*. 2005; (2): 8—22. (in Russian)
18. Yudin S.V., Maslov D.V. Anthropogenic factors and oncological morbidity in primorsky region. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2004; (3): 46—9. (in Russian)

REFERENCES

1. Khaïtov R.M., Pinegin B.V., Yarilin A.A. *Manual of Clinical Immunology. Diagnosis of Diseases of the Immune System: Guidelines for Physicians [Rukovodstvo po klinicheskoy immunologii. Diagnostika zabolevaniy immunnnoy sistemy: rukovodstvo dlya vrachey]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2009. (in Russian)
2. Chereshnev V.A., Gusev V.Yu. Immunological and pathophysiological mechanisms of systemic inflammation. *Meditsinskaya immunologiya*. 2012; 14(1-2): 9—20. (in Russian)
3. Yarilin A.A. *Immunology [Immunologiya]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2010. (in Russian)
4. Litvinova L.S., Gutsol A.A., Sokhnevich N.A., Kofanova K.A., Khaziakhmatova O.G., Shupletsova V.V. et al. Basic surface markers of functional activity T-lymphocytes. *Meditsinskaya immunologiya*. 2014; 16(1): 7—26. (in Russian)
5. Zurochka A.V., Khaydukov S.V., Kudryavtsev I.V., Chereshnev V.A. *Flow Cytometry in Biology and Medicine [Protochnaya tsitometriya v meditsine i biologii]*. Ekaterinburg: RIO UrO RAN; 2013. (in Russian)
6. Rozenberg V.Ya., Butyl'skiy A.N., Kuznik B.I. Age-related dynamics of hemogram and immune profile in children at different ages. *Meditsinskaya immunologiya*. 2011; 13(2-3): 61—6. (in Russian)
7. Veremchuk L.V., Yan'kova V.I., Vitkina T.I., Golokhvast K.S., Barskova L.S. Air pollution urban area as a systemic process of interaction between environmental factors. *Zdorov'e. Meditsinskaya ekologiya*. Nauka. 2015; 61(3): 35—42. (in Russian)
8. Vitkina T.I., Veremchuk L.V., Kiku P.F. Allocation of risk factors in the development of chronic bronchitis in the industrial centers of Primorye Territory. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*. 2005; (2): 22—7. (in Russian)

Поступила 14.06.16

Принята к печати 28.06.16

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.36-053.1-092:612.017.1

Курабекова Р.М.¹, Шевченко О.П.^{1,2}, Цирульникова О.М.^{1,2}, Можейко Н.П.¹, Цирульникова И.Е.¹, Олефиренко Г.А.¹

СВЯЗЬ УРОВНЯ ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА БЕТА 1 С ФИБРОЗОМ ПЕЧЕНИ У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ГЕПАТОБИЛИАРНОЙ СИСТЕМЫ

¹ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава РФ, Москва;

²Кафедра трансплантологии и искусственных органов ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова», Москва

Исследован уровень трансформирующего фактора роста бета 1 (TGF-β1) в плазме крови детей с терминальной стадией печеночной недостаточности до и после трансплантации печени, проанализирована связь уровня цитокина со степенью фиброза печени. Показано, что уровень TGF-β1 в плазме крови детей с печеночной недостаточностью ниже такового у здоровых детей и зависит от степени тяжести фиброза печени. Так, уровень цитокина в крови пациентов выше при фиброзе 2-й и 3-й степени тяжести, чем при фиброзе 1-й и 4-й степени. После родственной трансплантации доли печени уровень TGF-β1 в плазме крови пациентов повышается независимо от исходной степени тяжести фиброза.

Ключевые слова: трансформирующий фактор роста бета 1; биомаркер; цитокин; заболевания печени; трансплантация печени.

Для корреспонденции: Шевченко Ольга Павловна, д-р мед. наук, проф. ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова»; e-mail: transplant2009@mail.ru