

УДК 613.954:502.3+616.097

ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА У ДЕТЕЙ В УСЛОВИЯХ ВНЕШНЕСРЕДОВОЙ ЭКСПОЗИЦИИ ТОЛУОЛОМ, ФОРМАЛЬДЕГИДОМ, ФЕНОЛОМ

© 2012 Н.В. Зайцева, О.В. Долгих, Д.Г. Дианова

Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления
рисками здоровью населения, г. Пермь

Поступила в редакцию 26.09.2012

Выполнена оценка воздействия толуола, формальдегида и фенола на маркеры клеточного звена иммунной системы детей, проживающих на территории интенсивного освоения Пермского края. Одной из мишеней внешнесредовой экспозиции химическими веществами является иммунокомпетентная клетка – лимфоцит. Выявленный в данном исследовании дисбаланс субпопуляций лимфоцитов у детей, проживающих в условиях экспозиции толуолом, формальдегидом и фенолом, свидетельствует об отсутствии адекватного иммунного ответа на антигенный раздражитель (гаптен), об относительном истощении возможностей иммунной системы и неспособности последней к выработке соответствующего ответа на чужеродный агент.

Ключевые слова: *толуол, формальдегид, фенол, клеточное звено иммунитета*

Многообразие и интенсивность неблагоприятной химической нагрузки на индустриальных территориях соответствуют высокому содержанию токсикантов в биосредах и способствуют изменению иммунной системы [2-4]. Иммунная система является высоко специализированной, сложно регулируемой системой, её клеточные элементы находятся в состоянии постоянной пролиферации. В этой связи любое токсическое воздействие химического вещества обязательно амплифицируется. При этом повреждение иммунной системы может проявляться усилением или супрессией иммунных функций организма, либо вообще не проявляться клинически. Для ранней диагностики нарушений здоровья при различных путях поступления химических веществ в организм, в том числе аэрогенным способом, актуальным является выявление особенностей маркеров клеточного звена иммунной системы.

Цель работы: оценить особенности клеточного звена иммунной системы детей на территориях, характеризующихся внешнесредовой экспозицией толуолом, формальдегидом, фенолом.

Материалы и методы. Исследования выполнены на примере детского населения Пермского края. Всего обследовано 360 детей, проживающих на территориях с различным уровнем воздействия промышленных химических факторов. Биомедицинские исследования у детей выполнены в

соответствии с обязательным соблюдением этических принципов медико-биологических исследований, изложенных в Хельсинкской декларации 1975 г. с дополнениями 1983 г. Для выявления воздействия химических факторов среды обитания на состояние здоровья проведены натурные исследования содержания приоритетных загрязняющих веществ (толуол, формальдегид, фенол) в атмосферном воздухе в районе детских садов на территориях интенсивного промышленного освоения (территория наблюдения). Одновременно, по этим же показателям, были проанализированы пробы атмосферного воздуха на территориях с минимальным техногенным воздействием (контрольная территория). Химический анализ крови детей включал количественное определение содержания толуола, формальдегида и фенола. Идентификация органических веществ в биосредах (кровь) выполнялось методами газовой хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в соответствии с методическими указаниями «Сборник методик по определению химических соединений в биологических средах», утвержденными Минздравом России 06.09.99. №763-99 – 4.1.779.-99.

Основную группу составили 195 детей (средний возраст $5,32 \pm 0,08$ лет), проживающие на территориях интенсивного промышленного освоения. Контрольная группа – 165 детей (средний возраст $5,66 \pm 0,18$ лет), проживающие вне зоны антропогенного влияния промышленных предприятий. Критериями включения в исследование явились: возраст детей от 4 до 6 лет, проживание на изучаемых территориях. Критерии исключения: невозможность или нежелание родителей обследуемых детей подписать информационное согласие на участие в исследовании, участие обследуемых детей в другом исследовании. Все родители (опекуны) подписали информированное согласие на участие в

Зайцева Нина Владимировна, академик РАМН, доктор медицинских наук, профессор, директор. E-mail: root@fcrisk.ru

Долгих Олег Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом иммунобиологических методов диагностики. E-mail: oleg@fcrisk.ru

Дианова Дина Гумеровна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточных методов диагностики. E-mail: dianovadina@rambler.ru

исследовании и использовании персональных данных.

Фенотипирование лимфоцитов и детекцию апоптоза проводили на проточном цитометре FACSCalibur фирмы «Becton Dickinson» («BD», USA) с использованием универсальной программы CellQuestPro с помощью компьютера Macintosh («BD», USA). Определение популяций и субпопуляций лимфоцитов (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD3⁻CD16⁺CD56⁺, CD25⁺, CD95⁺) проводили методом мембранной иммуофлюоресценции с использованием панели меченых моноклональных антител к мембранным CD-рецепторам («BD», USA). Для статистической обработки результатов исследования применялись методы математической статистики с помощью программы Microsoft® Office Excel 2003 и пакета прикладных программ Statistica 6.0. (StatSoft, USA). Для оценки уровня достоверности полученных данных использовали параметрический критерий Стьюдента с учётом нормального распределения переменных в сравниваемых группах. Для изучения взаимосвязи двух метрических переменных измеренных на одной и той же выборке применялся коэффициент корреляции Спирмена (r). Результаты исследования представлены в виде среднего значения (*M*) и ошибки средней (*m*) изученных показателей. Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$ [1].

Результаты и их обсуждение. В ходе инструментальных натуральных исследований отобрано 210 проб атмосферного воздуха на территориях детских садов на исследуемых территориях. Пробы отбирали в период отбора проб крови у детей, посещающих детские дошкольные учреждения (ДДУ). На территории интенсивного промышленного освоения размещено около 1,5 тысяч стационарных источников выбросов 40 разнопрофильных предприятий, в том числе четырех крупных предприятий нефтеперерабатывающей и химической промышленности. При исследовании качества атмосферного воздуха на территории наблюдения установлено превышение ПДК_{м.р.} (предельно допустимая концентрация максимально разовая) толуола более чем в 3 раза, кратность превышения ПДК_{м.р.} формальдегида и фенола составляет 1,5 и 1,2 раза соответственно (табл. 1). На контрольной территории не выявлено превышений ПДК_{м.р.} толуола, формальдегида и фенола ни в одной из проанализированных проб.

Анализ результатов химико-аналитического исследования крови детей основной и контрольной групп позволил выявить наличие достоверно значимых различий средних концентраций в группах по анализируемым веществам (табл. 2).

Таблица 1. Результаты исследований качества атмосферного воздуха на территории наблюдения

Показатель	Толуол	Формальдегид	Фенол
ПДК _{м.р.}	0,6 мг/м ³	0,035 мг/м ³	0,01 мг/м ³
Максимальная из разовых концентраций	1,95 мг/м ³	0,053 мг/м ³	0,012 мг/м ³
доли ПДК _{м.р.}	3,3	1,5	1,2

Таблица 2. Уровень контаминации низкомолекулярных химических соединений в крови обследованных детей (*M±m*)

Показатель	Контрольная группа	Основная группа
толуол, мг/м ³	0,00031±0,0002 (n=165)	0,0047±0,0033* (n=134)
формальдегид, мг/м ³	0,00432±0,00052 (n=121)	0,0355±0,0127* (n=154)
фенол, мг/м ³	0,0369±0,0118 (n=40)	0,373±0,0055* (n=52)

Примечание: * - разница достоверна по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

Оценка клеточного звена иммунной системы выявила, что в крови детей основной группы статистически значимо снижено процентное содержание CD3⁺, CD4⁺, CD16⁺56⁺-лимфоцитов относительно значений, полученных в группе контроля ($p < 0,05$). Отмечено, что у детей с техногенно загрязненной территории достоверно повышена экспрессия CD19⁺-рецептора и CD25⁺-рецептора на Т-лимфоцитах (по относительному и абсолютному показателю) в сравнении с результатами, зафиксированными в группе детей, проживающих на территории минимального техногенного

загрязнения ($p < 0,05$). Корреляционный анализ продемонстрировал, что у детей основной группы существует достоверная положительная взаимосвязь численности клеток, экспрессирующих ранний маркер активации, с концентрацией толуола в биосредах ($r=0,43$; $p < 0,05$).

Различные химические вещества могут вызывать нарушения функций организма, проявляющиеся неадекватными иммунными реакциями. В основе нарушений могут лежать разнообразные эффекты, от грубого повреждения стволовых клеток костного мозга, до изменения продукции

цитокинов и модуляции плотности рецепторов для молекул-регуляторов на мембранах иммунокомпетентных клеток (как в сторону уменьшения, так и увеличения). Нарушения могут быть количественными (уменьшение числа клеток вследствие селективной цитотоксичности ксенобиотика) и качественными (функциональные трансформации клеток или клеточных рецепторов) [5].

Таблица 3. Характеристика показателей клеточно-го звена иммунной системы всех обследуемых детей ($M \pm m$)

Показатели	Контрольная группа (n=100)	Основная группа (n=195)
CD3 ⁺ , %	72,58±0,74	66,33±0,41*
CD3 ⁺ , 10 ⁹ /л	1,83±0,06	1,92±0,05
CD4 ⁺ , %	40,60±0,99	36,31±0,44*
CD4 ⁺ , 10 ⁹ /л	1,02±0,04	1,06±0,03
CD8 ⁺ , %	25,94±0,77	24,73±0,34
CD8 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,66±0,03	0,71±0,02
CD19 ⁺ , %	13,79±0,50	15,63±0,24*
CD19 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,35±0,02	0,45±0,01*
CD16 ⁺ 56 ⁺ , %	11,56±0,75	7,92±0,26*
CD16 ⁺ 56 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,29±0,02	0,23±0,01
CD25 ⁺ , %	6,29±0,30	7,00±0,17*
CD25 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,16±0,01	0,20±0,01*
CD95 ⁺ , %	27,13±1,05	24,90±0,97
CD95 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,67±0,03	0,69±0,03

Примечание: * - разница достоверна по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

В результате повышенной контаминации биологических субстратов толуолом, формальдегидом и фенолом у детей основной группы отмечается достоверное изменение количества иммунных клеток (CD3⁺, CD4⁺, CD19⁺, CD16⁺56⁺, CD25⁺) ($p < 0,05$). Все выше перечисленные клетки являются

ответственными за рост, дифференцировку клеток организма, распознавание и уничтожение трансформированных и отживших клеток. Выявленный в данном исследовании дисбаланс субпопуляций лимфоцитов у детей, проживающих в условиях экспозиции толуолом, формальдегидом и фенолом, свидетельствует об отсутствии адекватного иммунного ответа на антигенный раздражитель (гаптен), об относительном истощении возможностей иммунной системы и неспособности последней к выработке соответствующего ответа на чужеродный агент.

Для доказательства взаимосвязи между гигиеническими факторами и состоянием здоровья населения необходима комплексная оценка, включающая в себя наряду с контролем качества объектов среды обитания анализ содержания вредных химических соединений в биологических средах человека, а также оценка лабораторных показателей клеточного звена иммунной системы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Гланц, С. Медико-биологическая статистика. Под ред. Н.Е. Бузикашвили и соавт. – М.: Практика, 1998. 459 с.
2. Дианова, Д.Г. Оценка здоровья детей, проживающих в условиях воздействия фенолом // Академ. журн. Западной Сибири. 2012. №1. С. 6.
3. Долгих, О.В. Особенности лимфоцитарно-клеточного звена у детей, проживающих на техногенно нагруженных территориях / О.В. Долгих, Н.В. Зайцева, Д.Г. Дианова и др. // Биологические мембраны. 2012. Т. 29, №. 5. С. 349-353.
4. Зайцева, Н.В. Особенности реактивности лимфоцитов в условиях экспозиции тяжелыми металлами / Н.В. Зайцева, Д.Г. Дианова, О.В. Долгих // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. 2012. Т. 10, вып. 2. С. 129-132.
5. Куценко, С.А. Основы токсикологии. – СПб.: Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, 2002. 395 с.

FEATURES OF CELLULAR IMMUNITY IN CHILDREN ENVIRONMENTALLY EXPOSED TO TOLUENE, FORMALDEHYDE AND PHENOL

© 2012 N.V. Zaitseva, O.V. Dolgikh, D.G. Dianova

Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm

In this study, we assessed the impact of toluene, formaldehyde and phenol on cellular immunity markers in children, living in heavily industrialized areas of the Perm Region. Among the target cells of environmental exposure to the chemical substances are such immunocompetent cells as lymphocytes. The detected imbalance of lymphocyte subpopulations in the children exposed to toluene, formaldehyde and phenol indicates the absence of adequate immune response to the haptens, relative immunodeficiency and the inability of the immune system to respond to antigens.

Key words: toluene, formaldehyde, phenol, cellular immunity

Nina Zaitseva, Academician of RAMS, Doctor of Medicine, Professor, Director.
E-mail: root@fcrisk.ru

Oleg Dolgikh, Doctor of Medicine, Professor, Chief of the Immunobiological Methods of Diagnostics. E-mail: oleg@fcrisk.ru

Dina Dianova, Candidate of Medicine, Senior Research Fellow at the Laboratory of Cellular Methods of Diagnostics. E-mail: dianovadina@rambler.ru