

УДК 612.017.1: 616-053.2: 614.78

ПРИЗНАКИ ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ У ДЕТЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ С ВЫСОКОЙ ТЕХНОГЕННОЙ НАГРУЗКОЙ

© 2013 И.А. Пашнина^{1,2}, И.А. Плотникова¹, И.М. Криволапова^{1,2}, В.П. Цегельная¹, И.А. Тузанкина^{1,2}, М.Л. Каракина^{1,2}, И.А. Семишева³

¹ Областная детская клиническая больница №1, г. Екатеринбург

² Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург

³ Детская городская клиническая больница №11, г. Екатеринбург

Поступила в редакцию 30.09.2013

Обследованы дети 4-7 лет, проживающих на территории химического загрязнения (n=28) и практически здоровые дети соответствующего возраста (контрольная группа, n=18). В структуре патологии у детей, проживающих на экологически неблагоприятной территории, превалировала соединительнотканная дисплазия, на фоне которой наблюдались различные проявления транзиторных иммунопатологических процессов. Выявлено повышение частоты позитивных результатов при определении антинуклеарного фактора у детей, проживающих на экологически неблагоприятной территории, количество регуляторных Т-клеток (CD4+CD25+CD127^{low/neg}) у них не отличалось от контроля, но было увеличено количество CD4+CD25+лимфоцитов, что может свидетельствовать об активации иммунной системы и риске развития аутоиммунной патологии.

Ключевые слова: *тяжелые металлы, мышьяк, Т-регуляторные клетки, антинуклеарный фактор*

Понятие «экологическая иммунология» существует с 80-х годов XX столетия благодаря академику Р.В. Петрову. Исследования иммунологических параметров детей, проживающих в районах Владикавказа, которые в течение столетия расположены вблизи предприятия «Электроцинк», позволили сделать заключение о значительных сдвигах в функционировании системы фагоцитоза и интерферогенеза, коррелирующих с концентрацией солей Zn, Pb и Cd [1]. Описано снижение количества натуральных киллеров наряду с повышением цитотоксических Т-лимфоцитов у рабочих вредных производств при уровне Pb в крови более 35 мкг/100 мл [2]. Соединения Hg вызывают развитие аутоиммунных процессов, могут быть причиной лимфаденопатии, образования антиядерных антител, активации лимфоцитов с гиперпродукцией IgE [3]. Выборочное непосредственное ингибирование Pb биосинтеза IFN γ было показано в

экспериментах in vitro [4].

В Свердловской области комплексная химическая нагрузка занимает лидирующие позиции в росте общей заболеваемости, в частности, выступая причиной возникновения 674,2 дополнительных случаев болезней на тысячу детей ежегодно [5]. Реабилитация здоровья детей, посещающих детские коллективы, исторически расположенные в санитарно-защитных зонах промышленных предприятий, включена в приоритетные задачи областного правительства. У детей, проживающих в зоне повышенной техногенной нагрузки, имеет место хроническое поступление в организм малых доз токсикантов промышленного происхождения. Ю.Е. Вельтищев определяет возникающую у них иммунную недостаточность как «низкодозовую химическую гиперчувствительность» [6]. В связи с этим одним из перспективных направлений является оценка параметров гиперчувствительности иммунной системы, в частности, проявлений аутоиммунных реакций. Тем более, что поиск диагностических критериев токсических эффектов химических соединений является важной и одновременно сложной задачей в силу комплексного участия органических и неорганических веществ, поступающих в организм из окружающей среды в развитии патологии, эффектов их антагонизма и синергизма.

Для диагностики аутоиммунных заболеваний чаще всего используются лабораторные тесты для определения аутоантител, из которых наиболее распространенными являются антинуклеарные антитела – семейство аутоантител, связывающихся с рибонуклеиновыми кислотами и ассоциированными с ними белками. Они встречаются более чем у

Пашнина Ирина Александровна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории иммунопатофизиологии. E-mail: irina_pashnina@list.ru

Плотникова Инга Альбертовна, доктор медицинских наук, заместитель главного врача по восстановительной медицине

Криволапова Ирина Михайловна, младший научный сотрудник лаборатории иммунопатофизиологии

Цегельная Виктория Петровна, врач-педиатр отделения восстановительной медицины

Тузанкина Ирина Александровна, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления

Каракина Марина Леонидовна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления

Семишева Ирина Александровна, врач ультразвуковой диагностики

90% больных с диффузными болезнями соединительной ткани, а также могут быть обнаружены при множестве других аутоиммунных, инфекционных и онкологических заболеваний [7, 8]. Определение антинуклеарного фактора (АНФ), выявляемого с помощью реакции непрямой иммунофлюоресценции на Нер-2-клетках, является наиболее чувствительным методом скрининга уровня антинуклеарных антител [8].

Ключевая роль в негативной регуляции иммунного ответа в настоящее время отводится регуляторным Т-клеткам (Treg) и продуцируемым ими цитокинам. Не вызывает сомнения участие Treg в патогенезе различных аутоиммунных и аллергических заболеваний. Однако данные литературы относительно числа регуляторных Т-клеток при этих патологических состояниях противоречивы. В одних источниках сообщается о снижении числа Treg, в других – о повышении, либо об отсутствии изменений количества этих клеток [9-16].

Цель работы: комплексная клиничко-диагностическая характеристика детей, проживающих на территории с высокой техногенной нагрузкой, в сравнении со здоровыми детьми.

Материалы и методы. Клиничко-лабораторное обследование 28 детей 4-7 лет из г. Красноуральска, поступивших для лечения в загородное отделение восстановительной медицины Областной детской клинической больницы №1, включало определение гематологических, биохимических, иммунологических параметров, ультразвуковые и функциональные методы диагностики, консультации логопеда, медицинского психолога и других врачей. Г. Красноуральск относится к территориям Свердловской области с высоким уровнем химической нагрузки на население в результате техногенного загрязнения среды обитания. Приоритетными загрязнителями по результатам оценки многофакторного риска для здоровья населения являются: пыль (сумма твердых частиц), Pb, Cd, Ni, Zn, Cu, As, Mn, диоксид серы, диоксид азота, хлороформ, нитраты. Ранжирование рисков для здоровья населения г. Красноуральска по их уровню и медицинской значимости свидетельствует о том, что наиболее приоритетными являются: (1) риск задержки психического развития детей в связи с многофакторным свинцовым загрязнением, риск почечной патологии в связи с кадмиевой экспозицией; (2) канцерогенный и неканцерогенный риск от воздействия мышьяка; (3) многофакторный риск токсического действия меди и марганца [5]. Основной вклад поступления токсикантов в организм при многофакторной токсической нагрузке связан с пищевым путем (в т.ч. в результате потребления продуктов питания, выращенных в местных условиях). На втором месте по значимости экспозиций находится почвенно-пылевой путь. В группу сравнения (контрольную) включены практически здоровые дети аналогичного возраста (n=18), проживающие в различных районах г. Екатеринбурга, и не отнесенные специалистами в области социальной гигиены к группе риска по возникновению экологической обусловленной патологии.

Подсчет количества CD4+CD25+

+CD127^{low/neg} (регуляторных Т-клеток) и CD4+CD25+CD127+ (активированных Т-хелперов) проведен методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител (Beckman Coulter, USA). Уровень АНФ определяли в реакции непрямой иммунофлюоресценции на Нер-2 клетках (Euroimmun, Germany). Содержание свинца, кадмия, мышьяка и меди определяли методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии, анализ выполнен в химической лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области». Для оценки межгрупповых различий использовали критерий Манна-Уитни, для оценки взаимосвязей между параметрами – ранговый корреляционный анализ Спирмена, различия по частоте событий оценивали с помощью критерия Хи-квадрат.

Результаты и обсуждение. В структуре патологии у детей из Красноуральска превалировала транзиторная иммунная недостаточность, удельный вес детей с таким диагнозом составил 75%. Клинически это проявлялось возникновением ОРВИ более 4 раз в год, которые у 64,3% детей отмечались уже на первом году жизни, наличием хронической патологии ЛОР-органов (аденоиды 2-3 ст., хр. аденоидит – 32,1%; гипертрофия небных миндалин, хронический тонзиллит – 39,3%; хронический сальпингоотит – 3,6%). Заболевания аллергической природы имели место у 25% пациентов: аллергический дерматит – 17,8%, атопический дерматит – 3,6%, поллиноз + аллергический ринит + бронхиальная астма – 3,6%. В структуре сопутствующей патологии превалировали заболевания нервной системы: резидуальная цереброорганическая недостаточность – у 78,6% (в т.ч. синдром гиперактивности – 28,6%); вегетососудистая дистония – у 32,1%; дизартрия – у 57,1% детей. Патология пищеварительной системы представлена билиарными дискинезиями, неуточненными и реактивными гепатитами (по 14,6%), хроническим энтероколитом (3,6%). Ультразвуковой скрининг сердца и брюшинного пространства позволил обнаружить функционирующее овальное окно – у 17,7%, дополнительную хорду полости левого желудочка – у 86,7%, признаки дисплазии почечной ткани у 10,7% пациентов. Различные варианты нарушения ритма (брадикардия, миграция водителя ритма, неполная блокада правой ножки пучка Гиса) выявлены у 21,4% детей.

При лабораторном обследовании выявлено, что около трети детей данной группы имели высокие титры аутоантител (табл. 1), причем у 7% титр АНФ был более 1/500, а у 10,7% оказался более 1/1000, т.е. на уровне, диагностически значимом для таких коллагенозов, как дерматомиозит и системная красная волчанка. Частота позитивных результатов в контрольной группе условно здоровых детей была значимо ниже: повышенный уровень АНФ (титр > 1/160) обнаружен только у 1 ребенка из 17. Выявление аутоантител в низких титрах у практически здоровых детей отмечено в работах многих авторов, однако титры АНФ, превышающие значения 1/160, обычно встречаются лишь в 3-5% случаев [17, 18].

Таблица 1. АНФ и субпопуляции CD4+лимфоцитов у детей из зоны повышенной техногенной нагрузки и группы сравнения

Параметр	Группа	Группа сравнения	Дети из зоны техногенной нагрузки
частота АНФ, %		6	30*
титр АНФ**		0 (0-1/80)	0 (0-1/320)
CD4+CD25+CD127 ^{low/neg} (Treg), % от CD4+***		10,0 (8,3-12,4)	9,5 (8,6-10,7)
CD4+CD25+CD127+, % от CD4+***		1,6 (0,9-2,2)	2,2* (1,3-3,4)

Примечания: * - различия с контролем: $p < 0,05$; ** - приведены: медиана (верхняя квартиль – нижняя квартиль)

При определении регуляторных Т-клеток не выявлено различий между обследованными группами (табл. 1), взаимосвязь между количеством этих клеток и титром АНФ также не обнаружена. Поскольку CD25 (рецептор интерлейкина 2) является активационным маркером лимфоцитов, и не все CD25-позитивные Т-хелперы входят в субпопуляцию Treg, была проведена оценка количества клеток с фенотипом CD4+ +CD25+CD127+ (активированные эффекторные Т-клетки). Доля этих клеток от CD4+лимфоцитов у обследованных детей оказалась гораздо меньше, чем доля Treg (табл. 1). Были выявлены значимые различия между контрольной группой и детьми из экологически неблагополучной территории, у которых число CD4+CD25+CD127+ было увеличено. Взаимосвязь между количеством CD4+CD25+CD127^{low/neg} (Treg) и CD4+CD25+CD127+ в контрольной группе не прослеживалась, а у детей из основной группы выявлена положительная корреляция между этими параметрами ($R=0,40$; $p < 0,05$). Повышение количества CD4+CD25+CD127+ в группе из зоны повышенной техногенной нагрузки может свидетельствовать об активации иммунной системы у этих детей, поскольку CD25 является ранним активационным маркером Т-лимфоцитов.

При анализе взаимосвязи иммунологических параметров с концентрацией тяжелых металлов в крови детей из Красноуральска выявлены положительные корреляционные зависимости между титром АНФ и количеством клеток CD4+25+127+ с концентрацией мышьяка ($R=0,46$, $p < 0,05$ и $R=0,50$, $p < 0,01$ соответственно). Обнаружена корреляционная связь между концентрацией мышьяка и меди ($R=0,66$, $p < 0,01$), что может выступать свидетельством их синергизма. Полученные предварительные данные могут выступать в пользу участия мышьяка, содержащегося в крови детей, в процессах, связанных с продукцией антинуклеарных антител.

Выводы: в структуре патологии у детей из зоны повышенной техногенной нагрузки лидирующие позиции занимала соединительнотканная дисплазия, на фоне которой наблюдались разнообразные проявления транзиторных иммунопатологических процессов инфекционной и аллергической природы. Об аутоиммунной настроенности и усилении продукции аутоантител свидетельствовали данные лабораторного обследования: частота позитивных результатов при определении АНФ у

них была выше, чем в контрольной группе здоровых детей. Это может являться свидетельством риска развития аутоиммунной патологии под воздействием промышленного загрязнения. Исследование уровня АНФ может быть важным диагностическим критерием токсических эффектов мышьяка на организм детей с доказанной химической нагрузкой. Количество регуляторных Т-лимфоцитов CD4+ +CD25+CD127^{low/neg} у детей из экологически неблагополучной территории не отличалось от контроля, доля CD4+CD25+CD127+лимфоцитов была увеличена, что может свидетельствовать об общей активации иммунной системы. Дальнейшее изучение механизмов участия Т-регуляторных клеток и CD4+25+127+ лимфоцитов в реакции иммунной системы на токсические вещества промышленного происхождения необходимо для совершенствования подходов к реабилитации здоровья населения, проживающего на территориях с повышенным поступлением меди и мышьяка в окружающую среду.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Касохов, А.Б. Нарушение иммунобиологической реактивности в условиях загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 1999. № 5. С. 37-41.
2. Sata, F. Changes in natural killer cell subpopulations in lead workers / F. Sata, S. Araki, T. Tinagawa et al. // Int. Arch. Occup. Environ. Health. 1997. Vol. 69. № 5. P. 306-310.
3. Luster, M. Environmentally related disorders of hematologic and immune system / M. Luster, D. Wurda, C. Amentil // Med. Clin. North. Amer. 1990. № 74. P. 423.
4. Heo, Y. Posttranscriptional Inhibition of Interferon-Gamma Production by Lead / Y. Heo, T.K. Mondal, D. Gao et al. // Toxicological Sciences. 2007. Vol. 96(1). P. 92-100.
5. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Свердловской области в 2012 году: Государственный доклад. – Екатеринбург: Управление Роспотребнадзора по Свердловской области, 2012. 227 с.
6. Вельтищев, Ю.Е. Экология и здоровье детей. Химическая экпатология: лекция / Ю.Е. Вельтищев, В.В. Фокеева // Прил. журн. Российский вестник перинатологии и педиатрии. – М.: Московский НИИ педиатрии и детской хирургии, 1996. 57 с.
7. Malleson, P.N. Usefulness of antinuclear antibody testing to screen for rheumatic diseases / P.N. Malleson, M. Sailer, M.J. Mackinnon // Archives of Disease in Childhood. 1997. №77. P. 299-304.

8. Ланин, С.В. Иммунологическая лабораторная диагностика аутоиммунных заболеваний / С.В. Ланин, А.А. Тоголян. - СПб: Человек, 2010. 272 с.
9. Ehrenstein, M.R. Compromised Function of Regulatory T Cells in Rheumatoid Arthritis and Reversal by Anti-TNF / M.R. Ehrenstein, J.G. Evans, A. Singh et al. // Therapy. J. Exp. Med. 2004. Vol. 200. P. 277-285.
10. Kleer, I.M. CD4⁺ CD25^{bright} regulatory T cells actively regulate inflammation in the joints of patients with the remitting form of juvenile idiopathic arthritis / I.M. Kleer, L.R. Wedderburn, L.S. Taams et al. // J. Immunol. 2004. Vol. 172. P. 6435-6443.
11. Akdis, M. T regulatory cells in allergy: novel concepts in the pathogenesis, prevention, and treatment of allergic diseases / M. Akdis, K. Blaser, C.A. Akdis // J. Allergy Clin. Immunol. 2005. V. 116, №5. P. 961-968.
12. Lawson, C.A. Early rheumatoid arthritis is associated with a deficit in the CD4⁺CD25^{high} regulatory T cell population in peripheral blood / C.A. Lawson, A.K. Brown, V. Bejarano et al. // Rheumatology. 2006. №45. P. 1210-1217.
13. Донецкова, А.Д. Регуляторные Т-клетки при аллергии у детей / А.Д. Донецкова, Н.И. Шарова, М.М. Литвина и др. // Мед. иммунология. 2008. Т. 10, № 2-3. С. 159-166.
14. Han, G.M. CD4⁺CD25^{high} T cell numbers are enriched in the peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis / G.M. Han, N.J. O'Neil-Andersen, R.B. Zurier, D.A. Lawrence // Cel. Immunol. 2008. Vol. 253. P. 92-101.
15. Торгашина, А.В. Т регуляторные клетки при системной красной волчанке и ревматоидном артрите / А.В. Торгашина, С.Ю. Быковская, С.К. Соловьев, Е.Л. Насонов // Научно-практическая ревматология. 2009. №3. P. 50-59.
16. Пашина, И.А. Количество регуляторных Т-клеток у детей с ювенильными артритом // Российский иммунологический журнал. 2013. Т. 7(16). №2-3(1). С. 74-76.
17. Wananukul, S. Prevalence of positive antinuclear antibodies in healthy children / S. Wananukul, W. Voramethkul, Y. Kaewopas, O. Hanvivatvong // Asian Pacific J. of Allergy and Immunology. 2005. №23. . 153-157.
18. Malleson, P.N. Review for the generalist: The antinuclear antibody test in children - When to use it and what to do with a positive titer / P.N. Malleson, M. Mackinnon, M. Sailer-Hoeck, C. Spencer // Pediatric Rheumatology. 2010. №8. P. 27.

SIGNS OF IMMUNOPATHOLOGICAL PROCESSES AT CHILDREN, LIVING IN THE TERRITORY WITH HIGH TECHNOGENIC LOADING

© 2013 I.A. Pashnina^{1,2}, I.A. Plotnikova¹, I.M. Krivolapova^{1,2}, V.P. Tsegelnaya¹,
I.A. Tuzankina^{1,2}, M.L. Karakina^{1,2}, I.A. Semisheva³

¹ Regional Children Clinical Hospital No. 1, Ekaterinburg

² Institute of Immunology and Physiology UB RAS, Ekaterinburg

³ Children City Clinical Hospital No. 11, Ekaterinburg

Children of 4-7 years, living at the territory of chemical pollution (n=28) and almost healthy children of the corresponding age (control group, n=18) are surveyed. In pathology structure at children, living at ecologically unsuccessful territory, it was prevailed the connective tissue dysplasia, on the phone of which various manifestations of transitional immunopathological processes were observed. Increase in frequency of positive results at definition of anti-nuclear factor at children from ecologically unsuccessful territory is revealed, the quantity of regulatory T-cells (CD4⁺CD25⁺CD127^{low/neg}) at them didn't differ from control, but the quantity of CD4⁺CD25⁺CD127⁺ lymphocytes that can testify the activation of immune system and risk of development of autoimmune pathology was increased.

Key words: heavy metals, arsenic, T-regulatory cells, anti-nuclear factor

Irina Pashnina, Candidate of Biology, Research Fellow at the Immune Pathophysiology Laboratory. E-mail: irina_pashnina@list.ru

Inga Plotnikova, Doctor of Medicine, Deputy Head Physician on Rehabilitation Medicine

Irina Krivolapova, Minor Research Fellow at the Immune Pathophysiology Laboratory

Viktoriya Tsegelnaya, Doctor Pediatric at the Rehabilitation Medicine Department

Irina Tuzankina, Doctor of Medicine, Professor, Main

Research Fellow at the Immune Inflammation Laboratory

Marina Karakina, Candidate of Medicine, Research Fellow at the Immune Inflammation Laboratory

Irina Semisheva, Doctor of Ultrasonic Diagnostics