

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ И СОЦИАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 616.24-008.1-053.2-092:612.017.1]:614.71:546.621

DOI: 10.17816/pmj36544-51

ОЦЕНКА ИММУННОГО СТАТУСА ДЕТСКОГО НАСЕЛЕНИЯ С ФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ НАРУШЕНИЯМИ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ, ПРОЖИВАЮЩЕГО В ЗОНЕ АЭРОГЕННОЙ ЭКСПОЗИЦИИ АЛЮМИНИЯ

О.В. Долгих*, И.Н. Аликина, М.А. Гусельников

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

ASSESSMENT OF IMMUNE STATUS IN CHILDREN WITH FUNCTIONAL RESPIRATORY SYSTEM DISORDERS, LIVING IN AEROGENIC ALUMINIUM EXPOSURE ZONE

O.V. Dolgikh*, I.N. Alikina, M.A. Guselnikov

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

Цель. Оценка иммунного статуса детей младшего школьного возраста с функциональными нарушениями дыхательной системы, проживающих на территории размещения предприятия по производству алюминия. **Материалы и методы.** Обследовано 52 ребенка в возрасте 7–11 лет, проживающих в зоне влияния предприятия по производству алюминия, которые имеют функциональные нарушения со стороны дыхательной системы. Идентификация маркера клеточной дифференцировки CD127, уровня экспрессии белка Bcl-2 и рецептора TNFR осуществлялась методом проточной цитометрии. Фагоцитарную активность клеток изучали с использованием формализированных эритроцитов барана. Содержание IgG определяли методом радиальной иммунодиффузии; уровень бета2-микроглобулина – с помощью иммуноферментного анализа. Оценки функционального состояния системы дыхания выполнялась методами спирометрии, риноманометрии, а функциональных резервов – путем расчета индекса Скибинской.

Результаты. Уровень распространенности заболеваний аллергической природы у обследованных детей был в 2,4 раза выше, а аллергический ринит диагностировался в 3,2 раза чаще, чем в группе срав-

© Долгих О.В., Аликина И.Н., Гусельников М.А., 2019

тел. +7 (342) 236-39-30

e-mail: oleg@fcrisk.ru

[Долгих О.В. (*контактное лицо) – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом иммунобиологических методов диагностики; Аликина И.Н. – младший научный сотрудник лаборатории клеточных методов диагностики; Гусельников М.А. – аспирант].

нения. Распространенность бронхиальной астмы, клинические признаки хронических лимфопролиферативных заболеваний достоверно превышали показатели у детей группы сравнения (29,4 %, $p = 0,001$). Установлены изменения иммунной реактивности относительно группы сравнения, проявляющиеся в повышении процента фагоцитирующих клеток, протеина бета2-микроглобулина, IgG, CD127, TNFR и специфического IgG к алюминию в 1,1; 1,2; 1,0; 1,7; 2,5 и 1,2 раза соответственно. Регистрировалось также угнетение экспрессии белка Bcl-2 в 2,6 раза ($p < 0,05$).

Выводы. У детей в возрасте 7–11 лет, проживающих на территории размещения предприятия по производству алюминия, чаще, чем у детей группы сравнения, диагностировались болезни органов дыхания с аллергическим компонентом, достоверно ассоциированные с контаминацией соединениями алюминия. Иммунологическое обследование выявило дисбаланс гуморального и клеточного звена иммунитета: гиперпродукцию специфического IgG к алюминию, избыточную экспрессию протеинов и рецепторов – бета2-микроглобулина, IgG, CD127, TNFR – и дефицит Bcl-2.

Ключевые слова. Система дыхания, иммунная система, алюминий, детское население.

Aim. To assess the immune status in children of primary school age with functional disorders of the respiratory system, who live in the territory with location of industrial enterprise, producing aluminium.

Materials and methods. Fifty-two children aged 7–11 years with respiratory system disorders, who live in the zone of exposure of aluminium-producing enterprise were examined. Cellular differentiation marker CD127, protein Bcl-2 and TNFR receptor expression levels were identified using the method of flow cytometry. Phagocytic activity of the cells was studied using formalinized sheep erythrocytes; IgG content was determined with radial immunodiffusion method; beta2-microglobulin level – with enzyme immunoassay. Functional status of respiratory system was assessed using spirometry, rhinomanometry methods but functional reserves – with calculated Skibinskaya index.

Results. The prevalence of allergic diseases in the examined children was 2,4 times higher and allergic rhinitis was diagnosed 3,2 times more often than in the group of comparison. The prevalence of bronchial asthma, clinical signs of chronic lympho-proliferative diseases reliably exceeded the level observed in children of comparison group (29.4 %, $p = 0.001$). There were established the changes in immune reactivity versus the comparison group, manifested by increase in percentage of phagocytosing cells, beta2-microglobulin protein, IgG, CD127, TNFR and specific IgG to aluminium by 1.1, 1.2, 1.0, 1.7, 2.5 and 1.2 times, respectively; suppression of protein Bcl-2 expression by 2,6 times ($p < 0.05$) was registered.

Conclusions. Among children aged 7–11 years, who live in the territory with localized aluminium-producing enterprise, the diseases of respiratory organs with allergic component, reliably associated with aluminium compound contamination, were diagnosed more often than in children of comparison group. Immunologic study detected imbalance between humoral and cellular components of immunity: hyperproduction of specific IgG to aluminium, excess expression of proteins and beta2-microglobulin receptors, IgG, CD127, TNFR and deficit of Bcl-2.

Key words. Respiratory system, immune system, aluminium, children.

ВВЕДЕНИЕ

Промышленные выбросы алюминиевых предприятий приводят к образованию в районах их размещения техногенных геохимических зон большой протяженности. Санитарная ситуация в них характеризуется как чрезвычайно напряженная. В районах размещения мощных алюминиевых произ-

водств приоритетными атмосферными загрязнениями являются алюминийсодержащие пыли сложного химического состава [1, 3]. Алюминий – токсичный элемент, способный влиять на процессы жизнедеятельности организмов. Органами-мишенями при избыточных концентрациях алюминия в организме являются нервная, костная, дыхательная и иммунная системы. Исследованиями

подтверждены неблагоприятные изменения в состоянии здоровья жителей городов, где расположены предприятия алюминиевой промышленности. У детского населения в возрасте до 7 лет они проявлялись в виде патологии органов дыхания, пищеварения, нервной системы. Кроме того, зафиксирована повышенная онкологическая заболеваемость и смертность населения всех возрастных групп [2, 4]. Для выявления ранних признаков заболеваний, в патогенезе которых решающее значение имеет уровень иммунологической толерантности, необходимо использование современных диагностических иммунологических технологий с проведением объективной оценки иммунного статуса населения техногенных провинций.

Целью данного исследования является оценка иммунного статуса детей школьного возраста с функциональными нарушениями системы органов дыхания, проживающих на территории, характеризующейся аэрогенной экспозицией алюминием.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для выявления связи нарушений соматического здоровья детского населения с неблагоприятными санитарно-гигиеническими условиями на территории проживания было проведено сравнительное изучение показателей клинико-функционального состояния систем жизнеобеспечения и частоты регистрации патологии со стороны приоритетных органов (систем-мишеней) с оценкой иммунорегуляции у детей, посещающих школьные образовательные учреждения. Обследовано 93 ребенка, 52 из которых – дети, прожи-

вающие в зоне влияния предприятий по производству алюминия, имеющие функциональные нарушения со стороны дыхательной системы. Группу сравнения составили дети ($n = 41$), не имеющие жалоб и функциональных отклонений со стороны системы органов дыхания. Гендерный состав всех групп был представлен относительно равным процентным соотношением девочек и мальчиков. Все дети проживали на территориях исследования с рождения и посещали детские образовательные учреждения. Критерии включения детского населения в группы исследования: проживание на территории влияния промышленных предприятий и «условно чистой» территории не менее 3 лет; возраст – 7–11 лет; посещение школьного образовательного учреждения на исследуемых территориях.

Клинико-функциональное и лабораторное обследование населения проводилось по специально разработанной программе, максимально учитывающей перечень возможных факторов риска (внешнесредовых, социальных, образа жизни, наследственности и т.д.) и ориентированной на углубленное обследование морфофункционального состояния органов и систем, являющихся мишенями для внешнесредовых факторов.

Процедура оценки функционального состояния системы дыхания выполнялась методом спирометрии (спирометр Schiller PSprometry с применением датчика SP-260; Schiller AG, Швейцария) с анализом показателей жизненной емкости легких (SVC), форсированной жизненной емкости легких (FVC), объема форсированного выдоха за

первую секунду (FEV_1), индекса Генслера (FEV_1/FVC), форсированного экспираторного потока на уровне 25, 50 и 75 % от форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ) (MEF_{25} , MEF_{50} , MEF_{75}), пикового экспираторного потока (PEF) и минутного объема дыхания (MV) (для расчета должных значений использовались нормативные стандарты для детей по Knudson), а также методом риноманометрии (система риноманометрии SRE 2000 с датчиком Rhinostream; Interacoustics A/S, Дания) с исследованием скорости выдыхаемого потока слева и справа, суммарной скорости потоков слева и справа, общей суммарной скорости потоков с обеих сторон. Оценку функциональных резервов дыхательной и сердечно-сосудистой систем проводили путем расчета индекса Скибинской по формуле

$$((0,01 \text{ ФЖЕЛ}) \text{ ЗД})/\text{ЧСС},$$

где ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких, мл; ЗД – задержка дыхания на вдохе, с; ЧСС – частота сердечных сокращений, уд/мин. Интерпретация осуществлялась по критериям: менее 5 усл. ед. – очень плохой результат, 5–10 усл. ед. – плохой результат, 10–30 усл. ед. – средний результат; 30–60 усл. ед. – хороший результат; более 60 усл. ед. – отличный результат.

Лабораторное обследование включало исследование иммунного статуса – определение общего содержания лейкоцитов, относительного и абсолютного содержания лимфоцитов стандартными методами лабораторного анализа. Анализ относительного и абсолютного количества следующих субпо-

пуляций лимфоцитов осуществляли по экспрессии соответствующих мембранных маркеров: $CD4^+CD127^-$ – активированные Т-лимфоциты с использованием соответствующих моноклональных антител (PerCP-CyTM5.5 Mouse Anti-Human CD127 Clone HIL-7R-M21 (RUO), Mouse IgG1, κ ; BD Biosciences, США). Для анализа использовалась суспензия моноклеарных клеток периферической крови, выделенных путем центрифугирования в градиенте плотности фикол-верографина ($\rho = 1,077 \text{ g/cm}^3$) (Pharmacia). Окрашивание осуществляли согласно методике производителя моноклональных антител (BD Biosciences, США). Анализ проводили методом проточной цитометрии на проточном цитометре FACSCalibur фирмы Becton Dickinson с использованием соответствующих моноклональных антител Becton Dickinson с помощью универсальной программы CellQuestPro.

Для оценки системы апоптоза исследовали внутриклеточную экспрессию белка (Bcl-2) и поверхностную экспрессию рецептора к фактору некроза опухоли α 1-го типа (TNFR1 – Tumor Necrosis Factor Receptor) методом проточной цитометрии с использованием соответствующих моноклональных антител (PE Hamster Anti-Mouse Bcl-2 Set (RUO), PE Mouse Anti-Human TNF Clone MAb11 (RUO), BD Biosciences, США).

Фагоцитарную активность клеток изучали с использованием в качестве объектов фагоцитоза формализированных эритроцитов барана. Содержание сывороточных иммуноглобулинов A, G, M определяли методом радиальной иммунодиффузии по Манчини по

стандартной методике. В сыворотке крови определяли уровень бета2-микроглобулина методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческого набора на анализаторе Elx808IU (BioTek, США).

Анализ информации выполнялся с помощью программы Statistica 6 и специальных программных продуктов с приложениями MS-Office. Проверка на нормальность распределения измеряемых переменных осуществлялась на основе теста Колмогорова – Смирнова. Для количественной характеристики исследуемых показателей использовали значения средней (M) и ее ошибки (m), так как случайные величины анализируемых показателей соответствовали закону нормального распределения. Достоверность различий изучаемых показателей в сравниваемых группах ($M_n \pm m_n$ против $M_k \pm m_k$) устанавливали по критерию Стьюдента ($t > 2$, $p \leq 0,05$). Моделирование зависимости «концентрация химических веществ техногенного происхождения в крови – частота регистрации класса, группы заболеваний или конкретной нозологической формы» и «концентрация химических веществ техногенного происхождения в крови – частота регистрации показателей функциональных и ультразвуковых методов исследования» выполнялось методом корреляционно-регрессионного анализа с проверкой статистических гипотез относительно параметров модели. Адекватность моделей устанавливалась с использованием однофакторного дисперсионного анализа. Во всех статистических процедурах применялся уровень значимости 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ структуры заболеваемости детей группы наблюдения болезнями органов дыхания показал, что при отсутствии достоверных различий уровень распространенности заболеваний аллергической природы (МКБ 10: J30.3, J39.8, J45.0) у обследованных был в 2,4 раза выше (14,2 % в группе наблюдения против 5,9 % в группе сравнения, $p = 0,10$), в 3,2 раза чаще диагностировался аллергический ринит (10,6 и 3,3 % соответственно, $p = 0,22$). Кроме того, у детей группы наблюдения регистрировалась бронхиальная астма (3,5 %, $p = 0,30$) при отсутствии аналогичной патологии у детей группы сравнения.

Более половины детей (54,0 %) группы наблюдения имели клинические признаки хронических лимфопролиферативных заболеваний (J35.0, J35.1, J35.2, J35.9), уровень распространенности которых был достоверно выше, чем у детей группы сравнения 2 (29,4 %, $p = 0,001$). Гипертрофия небных миндалин диагностировалась практически у каждого третьего обследованного ребенка группы наблюдения (39,8 %), в то время как данная патология встречалась лишь у 10,0 % детей группы сравнения ($p = 0,001$). У детей группы наблюдения в 3,5 раза чаще выявлялись хронические неспецифические воспалительные заболевания верхних дыхательных путей (J31.0, J31.2, J31.9) – 61,9 и 17,6 % соответственно ($p = 0,001$), при этом воспалительный процесс имел более распространенный характер – практически 2/3 детей имели признаки хронического назофарин-

гита (61,9 против 3,3 %, $p = 0,001$), а хронический ринит и хронический фарингит как отдельные нозологические формы диагностировались в 1,6–5,1 раза чаще, чем у детей группы сравнения 2 (10,6 и 16,8 % – группа наблюдения; 6,7 и 3,3 % – группа сравнения), однако достоверных различий показатели не имели ($p = 0,06–0,52$).

Расчет индекса Скибинской позволил установить, что в группе сравнения функциональные и адаптационные резервы сердечно-сосудистой и дыхательной систем у всех обследованных имели средний уровень (10–30 усл. ед.), в то время как в группе наблюдения 25 % имели низкие значения – на уровне 5–10 усл. ед.

Установлена зависимость частоты выявления у детей хронических неспецифических заболеваний верхних дыхательных путей от концентрации в моче алюминия ($R^2 = 0,704$; $p \leq 0,00$).

Анализ среднegrupповых значений показателей спирографии у детей школьного возраста (группа наблюдения) не выявил достоверных различий в сравниваемых группах: среднegrupповые показатели функции внешнего дыхания соответствовали физиологической норме ($p = 0,09–0,80$), однако все показатели у детей группы наблюдения были в 1,2–1,3 раза ниже, чем у детей группы сравнения.

Сопоставительный анализ регистрации вариантов реализации функции внешнего дыхания показал, что вариант нормы имело практически равное количество детей обеих исследуемых групп (89,2 % – группа наблюдения против 76,9 % в группе сравнения, $p = 0,2$). Сравнительное изучение частоты

регистрации отклонений от нормы параметров спирограммы показало, что в группе наблюдения в целом отклонения от нормы встречались в 2,1 раза реже (10,8 и 23,1 % соответственно, $p = 0,2$), однако обструктивные нарушения легкой и умеренной степени выраженности регистрировались только в группе наблюдения, но без статистической значимости ($p = 0,6–0,7$).

По результатам оценки данных ринометрии у 64,4 % детей группы наблюдения зарегистрировано снижение проходимости носовых ходов, которое преимущественно было легким (29,7 %). Каждый пятый в группе наблюдения испытывал выраженное затруднение носового дыхания и лишь 13,9 % – умеренное.

По результатам данной работы у группы детей (группа наблюдения) с функциональными нарушениями системы дыхания зафиксировано достоверное повышение уровня специфической сенсибилизации к алюминию по отношению к норме и группе сравнения в 4,0 и 1,2 раза соответственно.

В ходе исследования выявлены нарушения иммунологической резистентности у детей, проживающих в условиях техногенной нагрузки (таблица).

Установлены разнонаправленные изменения содержания сывороточных иммуноглобулинов А, М и G с преимущественным дефицитом IgG ($p < 0,05$) и IgM по отношению к возрастной норме. Сравнение с группой контроля выявило достоверное снижение всех анализируемых антител с преимущественным дефицитом IgG ($p < 0,05$) (снижение в 1,5 раза в сравнении с контролем).

**Показатели иммунитета у детей с функциональными
нарушениями системы дыхания**

Показатель	Физиологическая норма	Группа наблюдения (<i>n</i> = 52)	Группа сравнения (<i>n</i> = 41)
Bcl-2, %	1–1,5	0,795 ± 0,716**	2,085 ± 1,56
Treg (CD4 ⁺ CD127 ⁻) отн., %	0,8–1,2	4,237 ± 4,065**	2,548 ± 1,753
TNFR1, %	1–1,5	2,555 ± 3,004*	1,008 ± 0,509
IgG, г/дм ³	10,96–16	10,287 ± 0,471*	10,063 ± 0,494*
Фагоцититарное число, усл. ед.	0,8–1,2	0,654 ± 0,038*	0,62 ± 0,045*
IgG к алюминию, усл. ед.	0–0,1	0,238 ± 0,051	0,192 ± 0,065
Бета2-микроглобулин, мкг/см ³	0–0,003	0,901 ± 0,087	1,05 ± 0,359

Примечание: * – разница достоверна относительно референтного интервала ($p < 0,05$); ** – разница достоверна относительно группы сравнения ($p < 0,05$).

Анализ отношения шансов изменения показателей гуморального иммунитета при возрастании концентрации контаминантов в биологических средах позволил установить достоверное ($p < 0,05$) понижение концентрации IgA при увеличении концентрации фенола, формальдегида, хрома в крови ($R^2 = 0,49–0,65$ при $p < 0,05$) и понижение концентрации IgG при увеличении концентрации марганца, фенола в крови, фторидов в моче ($R^2 = 0,09–0,39$ при $p < 0,05$).

У детей группы наблюдения, проживающих на экспонированной соединениями алюминия территории, выявлено достоверное повышение относительного количества Т-регуляторных лимфоцитов (Treg) – (CD4⁺CD127⁻) по отношению к физиологической норме (у 75 %) и группе сравнения в 1,7 раза. Данные результаты свидетельствуют о нарушенном контролинге возникновения новообразований, возникновении лимфо-пролиферативных процессов.

Установлено угнетение экспрессии белка Bcl-2, участвующего в апоптозе. У 75 % детей наблюдается достоверное снижение данного показателя по отношению к физиологической норме, а также по отношению к группе сравнения – понижение в 2,6 раза ($p < 0,05$).

В ходе исследования выявлено повышение содержания TNFR1 относительно нормы (у 75 % детей) и группы контроля в 2,5 раза ($p < 0,05$). Фактор некроза опухоли (ФНО, TNF) считается важным компонентом, способствующим уничтожению раковых клеток. Этот белок запускает иммунную реакцию организма на любой внешний раздражитель. Повышение данного показателя может указывать на избыточную внешнюю активацию иммунорегуляторных процессов, что может привести к запуску аллергических и аутоиммунных процессов, а в дальнейшем к возможной утрате контроля над возникновением онкологических заболеваний.

В группе наблюдения установлено повышение уровня бета-2-микроглобулина у 100 % детей по отношению к физиологической норме, а по отношению к группе сравнения повышение уровня экспрессии белка составило 1,2 раза ($p < 0,05$). Бета-2-микроглобулин является белком, который находится на поверхности практически всех клеток организма. Он присутствует в большинстве физиологических жидкостей, играет важную роль в механизме формирования иммунного ответа. Его содержание в крови увеличивается при онкологических процессах, таких как миелома, лейкомия и лимфома, а также при воспалительных состояниях. В нашем случае повышение белка бета-2-микроглобулина в сыворотке крови может быть связано с избыточной гаптенной стимуляцией алюминием.

Выводы

Структура заболеваний органов дыхания у детей исследуемой территории характеризуется в 2,4 раза большей распространенностью аллергических болезней и в 1,8–3,5 раза хронических неспецифических воспалительных заболеваний носоглотки и процессов, сопровождающихся гиперплазией лимфоидного кольца, что может быть ассоциировано с контаминацией алюминием.

По результатам иммунологического обследования детского населения (группа на-

блюдения) выявлен гомеостатический дисбаланс, обусловленный гиперпродукцией специфического IgG к алюминию, избыточной экспрессией протеина бета-2-микроглобулина, IgG, CD127⁺, TNFR в 1,2; 1,0; 1,7; 2,5 и 1,2 раза соответственно, а также угнетением белка Bcl-2 в 2,6 раза ($p < 0,05$).

Библиографический список

1. Долгих О.В., Кривцов А.В., Бубнова О.А., Отавина Е.А., Безрученко Н.В., Колегова А.А., Мазунина А.А., Гусельников М.А. Анализ показателей иммунного статуса у детей в условиях аэрогенной экспозиции металлами. Гигиена и санитария 2017; 96 (1): 26–29.
2. Рыжикова И.А., Соколов В.Г. Проблема токсичности алюминия для биологических систем. Актуальные проблемы экологии Ярославской области: материалы 2-й науч.-техн. конф. Ярославль 2003; 174.
3. MacGillivray D.M., Kollmann T.R. The role of environmental factors in modulating immune responses in early life. Front Immunol 2014; 5: 434.
4. Zhu Y.Z., Liu D.W., Liu Z.Y., Li Y.F. Impact of aluminum exposure on the immune system: a mini review. Environ Toxicol Pharmacol 2013; 35 (1): 82–87.

Материал поступил в редакцию 21.07.2019