



**ПЕРМСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
ЖУРНАЛ**

5'2011
ТОМ 28

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКОЕ ИЗДАНИЕ

**МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ
И ТЕХНОЛОГИИ**

*Л. Ф. Телешева, О. Сабрамовских,
И. Ю. Орнер, И.Л. Батурина*
**ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ У ПАЦИЕНТОК
С ЦЕРВИКАЛЬНЫМИ НЕОПЛАЗИЯМИ,
АССОЦИИРОВАННЫМИ С ВИРУСОМ ПАПИЛЛОМЫ
ЧЕЛОВЕКА ВЫСОКОГО КАНЦЕРОГЕННОГО РИСКА**

57 *L.F. Telesbeva, O. S. Abmmovskikk,
I. Yu. Orner, I. L. Baturina*
**HUMORAL IMMUNE RESPONSE IN PATIENTS WITH
CERVICAL NEOPLASIAS ASSOCIATED WITH HUMAN
PAPILLOMA VIRUS OF HIGH CARCINOGENIC RISK**

В. П. Черемискин
**АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ
И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ФАГАМ
МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ
ПРИ ПОСЛЕРОДОВОМ ЭНДОМЕТРИТЕ**

62 *V.P. Cberemiskin*
**ANTIBIOTIC SENSITIVITY AND BACTERIOPHAGE
SENSITIVITY OF MICROORGANISMS SELECTED
IN PUERPERAL ENDOMETRITIS**

С.О. Тervo
**ОСОБЕННОСТИ ВЕГЕТАТИВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ
У ДЕТЕЙ ДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА
С ХРОНИЧЕСКИМ АДЕНОИДИТОМ**

66 *S.O. Tervo*
**PECULIARITIES OF VEGETATIVE REGULATION
IN PRE-SCHOOL CHILDREN
WITH CHRONIC ADENOIDITIS**

*Н. В. Зайцева, О. В. Долгих,
Д. Г. Дианова, Т. С. Лыхина*
**МАРКЕРЫ ИММУННОГО СТАТУСА
У АППАРАТЧИКОВ, ЗАНЯТЫХ НА ПРОИЗВОДСТВЕ
АКТИВИРОВАННЫХ УГЛЕЙ**

70 *N.V. Zaitsev O.Y. V. Dolgikh,
D. G. Dianova, T. S. Lykhina*
**IMMUNE MARKERS IN OPERATORS
OF ACTIVATED CARBON PRODUCTION**

М. А Изосимова, М. А Данилова
**ПРОБЛЕМА РЕТЕНЦИИ ТРЕТЬИХ МОЛЯРОВ
НА НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ: СРАВНИТЕЛЬНАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЕСПЕЧЕННОСТИ
ПЕРИФЕРИЧЕСКИМ КРОВОТОКОМ
РЕТЕНИРОВАННЫХ И ПРОРЕЗАВШИХСЯ ЗУБОВ
(по данным ультразвуковой доплерографии)**

75 *M. Alzosimova, M. A Danilova*
**PROBLEM OF MANDIBULAR THIRD MOLAR
RETENTION: COMPARATIVE CHARACTERISTICS
OF PERIPHERAL BLOOD SUPPLY OF RETENTIVE
AND ERUPTED TEETH
(by ultrasound dopplerography data)**

Е. А Гирев, О. А Орлов
**ВЛИЯНИЕ РАНОРАСШИРИТЕЛЕЙ
НА ЭЛАСТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ДЫХАТЕЛЬНОЙ
СИСТЕМЫ ПРИ СОЗДАНИИ ОПЕРАЦИОННОГО
ДОСТУПА В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ
РАКА ЖЕЛУДКА**

79 *E. A Girev, O. A Orlov*
**EFFECT OF RETRACTORS ON ELASTIC PROPERTIES
OF RESPIRATORY SYSTEM WHILE FORMING
OPERATIVE APPROACH IN SURGERY**

Н. Я. Лукьяненко, Я. Н. Шойхец С. Л. Леонов
**МАТЕМАТИЧЕСКИЙ АЛГОРИТМ ПОСТРОЕНИЯ
ОПТИМАЛЬНОГО СТАНДАРТА ДЕСКРИПТОРОВ
В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ
ПОЛОСТНЫХ ФОРМ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО
РАКА ЛЕГКИХ**

84 *N. Ya. iukyanenko, Ya. N. Shoikbet, S. L Leonov*
**MATHEMATICAL CONSTRUCTION ALGORITHM
OF OPTIMAL DESCRIPTOR STANDARDS
IN DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF PERIPHERAL LUNG
CANCER CAVITY FORMS**

**БИОЛОГИЯ
И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА**

*И. П. Корюкина, В. В. Сидоров, Ю. Н. Маслов,
Л. Е. Леонова, Л. Е. Чернышева,
Г. В. Куранов, Ю. Ю. Красина*
**ОЦЕНКА АНТИМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ
СЕРОВОДОРОДНОЙ МИНЕРАЛЬНОЙ ВОДЫ
КУОРТА .УСТЬ-КАЧКА.**

90 *I.P. Koryukma, V.V. Sidorov, Yu.N. Maslov,
L E. Leonova, L E. Cbemysbova,
G. V. Kuranov, Yu. Yu. Krasina*
**ASSESSMENT OF ANTIMICROBIAL PROPERTIES
OF HYDROSULFURIC MINERAL WATER OF HEALTH
RESORT .UST-KACHKA.**

**BIOLOGY
AND EXPERIMENTAL MEDICINE**

**МАРКЕРЫ ИММУННОГО СТАТУСА У АППАРАТЧИКОВ,
ЗАНЯТЫХ НА ПРОИЗВОДСТВЕ АКТИВИРОВАННЫХ УГЛЕЙ**

Я. В. Зайцева, О. В. Долгих, Д. Г. Дтнова, Т. С. Лыхина

Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Пермь

Для рабочей зоны промышленных предприятий типичным является интенсивное воздействие на организм многокомпонентных гаптенных комбинаций. Многочисленные работы демонстрируют нарушение процесса клеточной гибели при стрессовых состояниях, как в сторону активации, так и в сторону ингибирования. Вместе с тем не получен ответ на вопрос, как условия производственной среды модифицируют запрограммированную клеточную гибель, используя CD25⁺- и СВ95-факторы клеточной активации. Цель работы — идентификация иммунологических маркеров апоптоза у аппаратчиков, занятых на производстве активированных углей. Установлено, что у аппаратчиков содержание относительного и абсолютного чисел CD25⁺, CD95⁺ было достоверно выше, чем в группе контроля ($p < 0,05$). У обследуемых основной группы отмечено достоверное угнетение апоптоза относительно контрольных значений в 1,8 раза ($p < 0,05$). Комплексный анализ изученных параметров (CD25⁺, CD95⁺, позитивность аннексиновой метки, цитокиновый профиль) свидетельствует о замедлении процессов апоптоза у аппаратчиков, занятых на производстве активированных углей.

Ключевые слова: апоптоз, активационные маркеры, цитокины, гаптены.

ВВЕДЕНИЕ

Улучшение условий труда, широкое внедрение комплекса санитарно-гигиенических и лечебно-профилактических мероприятий на производстве способствуют значительному снижению профессиональной заболеваемости. Вместе с тем использование в промышленности достижений науки и техники, широкое применение новых химических веществ приводят к появлению новых факторов производственной среды, которые могут оказывать неблагоприятное влияние на организм работающих [3,4, 5].

Даже относительно низкие концентрации химических производственных факторов в воздухе рабочей зоны приводят к возникновению отклонений в общей иммуноло-

гической реактивности организма человека. Экзогенные соединения в превышающих референтные значения концентрациях могут вызвать апоптоз, изменить регулирование запрограммированной смерти клетки, а также способны модулировать программу апоптоза посредством как известных механизмов, так и еще окончательно не установленных. Учитывая специфическое воздействие различных химических соединений на регуляцию апоптоза, их влияние может стать пусковым механизмом иммунопатологических процессов.

Для задач ранней диагностики нарушений здоровья в условиях производства актуальным является выделение маркерных показателей изменения иммунного статуса.

Цель исследования — идентификация иммунологических маркеров апоптоза у аппаратчиков, занятых на производстве активированных углей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Всего, включая группу контроля, обследованы 115 человек. В основную группу вошли 76 человек, аппаратчики предприятия, специализирующегося на производстве активированных углей. Возраст обследуемых основной группы от 20 до 60 лет (средний возраст $43,65 \pm 2,14$ г.), мужчин - 37 (48,7%) человек, женщин — 39 (51,3%) человек. Исследование проведено с учетом рабочего стажа на производстве активированных углей (средний стаж $4,73 \pm 0,64$ г.). Контрольную группу составили 39 человек в возрасте от 20 до 54 лет (средний возраст $39,83 \pm 2,90$ г.), мужчин - 20 (51%), женщин - 19 (49%), не имеющих контакта с производственными вредностями. Основная и контрольная группы были сопоставимы по соматической заболеваемости. Выборка обследуемых была достаточна для достоверного определения межгрупповых различий.

Определение популяций и субпопуляций лимфоцитов CD25⁺, CD95⁺ проводили методом мембранной иммунофлюоресценции с использованием панели меченых моноклональных антител к мембранным CD-рецепторам. Уровень апоптоза лимфоцитов определяли с помощью окрашивания аннексии V-FITC (Annexin V-FITC, FITC (Fluorescein Isothiocyanate) и пропидиум йодид (PI — Propidium Iodide). Положительные события отражали относительное содержание нежизнеспособных клеток в анализируемом образце. Фенотипирование лимфоцитов, определение уровня апоптотических клеток проводили на проточном цитометре «FACSCalibur» фирмы «Beaop Dickinson*

(«BD», США) с использованием универсальной программы CellQuestPro.

Цитокины определяли с помощью иммуноферментного анализа (тест-системы фирмы «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) на анализаторе «Е1,808Ш». Выявлялась экспрессия интерлейкина-1-бета (ИЛ1P), ИЛ4, ИЛ6, ИЛ8, ИЛ10, интерферона-гамма (ИФу), фактора некроза опухоли альфа (ФНОα).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Microsoft Office и дополнительной программы статистического анализа Statistica 6.0. Достоверность различий между группами считали значимой при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ результатов показал, что у всех обследуемых основной группы зафиксировано статистически значимое повышение активационного маркера CD25⁺ как в относительных, так и в абсолютных величинах по сравнению с контрольными значениями ($p < 0,05$) (табл. 1). Увеличение содержания лимфоцитов, экспрессирующих CD25⁺, свидетельствует об активации Т- и В-лимфоцитов [1].

Таблица 1

Характеристика отдельных показателей иммунной системы обследуемых

| Показатели | Контрольная группа (n=39), М ± т | Аппаратчики (n=76), М ± т |
|----------------------------------------|----------------------------------|---------------------------|
| CD25 ⁺ , % | 9,21 ± 0,63 | 13,94 ± 0,67 * |
| CD25 ⁺ , 10 ⁶ /л | 0,18 ± 0,01 | 0,31 ± 0,02 * |
| CD95 ⁺ , % | 35,14 ± 1,55 | 42,18 ± 1,21 * |
| CD95 ⁺ , 10 ⁶ /л | 0,69 ± 0,03 | 0,97 ± 0,05 * |
| Annexin V-FITC+PI, % | 4,77 ± 0,42 | 2,72 ± 0,45 * |
| Annexin V-FITC'Pr. % | 13,06 ± 1,17 | 11,12 ± 1,44 |

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

Повышение относительного и абсолютного чисел сигнального маркера апоптоза CD95⁺ (Fas) у аппаратчиков имеет выраженный характер с высокой степенью достоверности ($p < 0,05$). Однако Fas лишь отражает готовность клеток к рецепции апоптогенного сигнала [6]. Вклад CD95⁺ в генетически детерминированную клеточную гибель зависит от специфической восприимчивости клетки к Fas-зависимому апоптозу [8]. Изучение активационных и сигнальных маркеров апоптоза у аппаратчиков в условиях производства активированных углей выявило положительный коэффициент корреляции между CD25⁺- и CD95⁺-лимфоцитами ($r = 0,67$; $p < 0,05$). Увеличение количества CD25⁺- и CD95⁺-клеток, связанных между собой корреляционной связью, свидетельствует о повышении активационно-пролиферативных процессов в лимфоцитарно-клеточном звене. Данные результаты свидетельствуют в пользу повышения активности Т-клеточно-го звена иммунитета с ростом гаптенной нагрузки, с продолжительной специфической или неспецифической активацией Т-лимфоцитов и/или с постоянной персистенцией активированных лимфоцитов вследствие нарушения их элиминации из периферической крови [2].

Отмечено значимое ($p < 0,05$) снижение количества апоптотических аннексин-окрашенных лимфоцитов у аппаратчиков в 1,8 раза относительно контрольных значений. Однако зафиксировано, что уровень некротических клеток у обследуемых основной группы находится в диапазоне контрольных величин. Вероятно, наличие в рабочей зоне химических компонентов промышленного производства приводит к ингибированию апоптоза у аппаратчиков. Замедление апоптоза эффекторных клеток в условиях гаптенной нагрузки оказывает негативное влияние на редукцию возможного патологического процесса, нарушая сис-

тему контроля гомеостаза и способствуя возникновению инверсии иммунного ответа.

Концентрация ИЛ6 и ИЛ8 в сыворотке крови аппаратчиков достоверно выше контрольных значений ($p < 0,05$) (табл. 2). Содержание ИЛ1 α , ФНО α , ИФу и ИЛ10 в сыворотке обследуемых основной группы статистически значимо ниже контрольных значений. ИЛ1 β , ИФу и ФНО α повышают чувствительность клетки к FasL (Fas-лиганд), при этом не увеличивая экспрессию CD95⁺ [7].

Т а б л и ц а 2

Характеристика цитокинового профиля обследуемых

| Показатели | Контрольная группа (n=39), М \pm ш | Аппаратчики (n=76), М \pm га |
|-----------------------|--------------------------------------|--------------------------------|
| ИЛ1 α , пкг/мл | 1,66 \pm 0,25 | 1,1410,21 * |
| ИЛ4, пкг/мл | 0,80 \pm 0,06 | 0,8510,06 |
| ИЛ6, пкг/мл | 1,75 \pm 0,14 | 2,7910,35 * |
| ИЛ8, пкг/мл | 5,79 \pm 0,44 | 7,0910,84* |
| ИЛ10, пкг/мл | 4,49 \pm 0,39 | 2,5810,21 * |
| ИФу, пкг/мл | 5,64 \pm 0,56 | 4,0310,34* |
| ФНО α , пкг/мл | 1,56 \pm 0,15 | 1,0310,09* |

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

Снижение уровня ИФу на фоне повышенного содержания ИЛ6 и сниженной экспрессии ИЛ10 указывает на преобладание Тп2-типа иммунного ответа, что может косвенно свидетельствовать об иммунопатологических сдвигах, определяющих инверсию дифференцировки Т-хелперов.

Учитывая повышенную чувствительность ТЫ-клеток к факторам апоптоза [9], можно полагать, что модификация апоптоза Т-лимфоцитов в результате воздействия техногенных факторов является одним из механизмов смещения цитокинового баланса в сторону Тп2-клеток, и, соответственно, преобладания

связанных с ними иммунорегуляторных механизмов инверсии иммунного ответа.

Полученные данные свидетельствуют о том, что дефицит проапоптотических цитокинов ИЛ 1В, ИФу, ФНО α может определять снижение апоптоза у аппаратчиков.

Установлена прямая корреляционная зависимость от продолжительности производственного стажа повышения экспрессии антиапоптотического цитокина ИЛ4 ($r=0,49$; $p<0,05$).

Выводы

Оценка результатов исследования позволила установить у аппаратчиков производства активированных углей достоверно повышенную экспрессию активационных CD25- и сигнальных СB95-маркеров по сравнению с контрольными значениями ($p<0,05$). В то же время количество клеток, вступивших на путь апоптоза, характеризовалось достоверно пониженным уровнем по сравнению с контрольными значениями ($p<0,05$). Выявлен дисбаланс цитокиновой сети с преобладанием продукции Тп2-медиаторов клеточной регуляции (ИЛ6) и снижением проапоптотических регуляторов клеточной гибели (ИЛ 1В, ИФу, ФНО α) ($P<0,05$).

Таким образом, комплексный анализ изученных параметров позволил определить основные клеточные фенотипы и характерные для них рецепторные детерминанты (CD25, CD95*, позитивность аннексиновой метки, цитокиновый профиль), отвечающие за процедуру апоптоза. Характер их изменений свидетельствует о замедлении процессов апоптоза у аппаратчиков, занятых на производстве активированных углей, что ведет к формированию риска старения клетки и инверсии иммунного ответа.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ковальчук Л. В. Антигенные маркеры клеток иммунной системы человека CD (cluster differentiation) система/Л. В. Ковальчук,- М: РГМУ, 2003 - 77 с.
2. Маркеры активации на Т-хелперах и цитотоксических Т-лимфоцитах на различных стадиях хронического вирусного гепатита С/В. Ю. Никитин, И. А. Сухина, В. Н. Цыган и др.//Вестник Российской военно-медицинской академии— 2007.— Т. 1.— С. 65—71.
3. Принципы изучения болезней предположительно химической этиологии и их профилактика. Гигиенические критерии состояния окружающей среды — Женева: ВОЗ, 1990.- 75 с.
4. Профессиональный риск для здоровья работников (руководство)/Под ред. Н. Ф. Измерова и Э. И. Денисова— М.: Тривант, 2003.- 448 с.
5. Рахманин Ю. А. Современные научные проблемы совершенствования методологии оценки риска здоровью населения/ Ю. А. Рахманин, С. М. Новиков, С. И. Иванов //Гигиена и санитария.— 2005 — № 2.— С. 3-8.
6. Экспрессия Fas (С095)-лимфоцитов в реакции апоптоза у больных хроническим панкреатитом/О. Е. Турышева, А. Р. Хасанова, Л. Н. Мингазетдинова, Э. Г. Муталовд//Современные наукоемкие технологии.- 2009- № 9.- С. 40-44.
7. Differential response of human lung epithelial cells to Fas-induced apoptosis/M. Nakamura, G. Matute-Bello, C. Liles et al.//Am. J. Pathol.- 2004.- Vol. 164.- № 6.- P. 1949—1958.
8. Human purified protein derivative-specific CD4* T-cells use both CD95*-dependent and CD95*-independent cytolytic mechanisms/D. Lewinsohn, T. Bement, J. Xu et al.// J. of Immunol.- 1998.- № 160.- P. 2374-2379.

9. *Lingnau K* IL-4 in combination with TGF- β favors an alternative pathway of cell development independent of IL-12/IL-18. *J. of immunol* — 1998 — № 9 — P. 4709-4718.

***N. V. Zaitseva, O. V. Dolgikh,
D. G. Dianova, T. S. Lykhina***

IMMUNE MARKERS IN OPERATORS OF ACTIVATED CARBON PRODUCTION

Occupational areas of manufacturing enterprises are characterized by intense long-term exposure of employees to multi-component hapten compounds. Numerous studies have reported about cell death disorders including both activation and inhibition of cell deaths caused by stress conditions. Nevertheless, it is still unknown how occupational environment modifies programmed cell deaths using CD25⁺ and CD95⁺ cell activation factors. The aim of the study is to identify immunologic markers of apoptosis in operators of activated carbon

production. The relative and absolute CD25⁺, CD95⁺ number content was established to be reliably higher than in the control group ($p < 0,05$). Reliable apoptosis suppression in the main group has been found to be 1,8-fold higher than the control values ($p < 0,05$). Thus, complex analysis of the studied parameters (CD25⁺, CD95⁺, Annexin V positivity Cytokine Profile) demonstrates retardation of apoptotic processes in operators of activated carbon production.

Keywords: apoptosis, activation markers, cytokines, haptens.

*Контактная информация:
Зайцева Нина Владимировна,
доктор мед. наук, профессор, чл.-корр. РАМН,
директор Федерального государственного
учреждения науки Федерального научного
центра медико-профилактических технологий
управления рисками здоровью населения,
614045, г. Пермь, ул. Орджоникидзе, 82,
тел. 8 (342) 233-11-25*

Материал поступил в редакцию 26.02.2011