

УДК 612.017.1(571.55)

А.Н.Бутыльский, В.Я.Розенберг, Б.И.Кузник
РЕГИОНАЛЬНЫЕ СТАНДАРТЫ ИММУННОГО СТАТУСА ЗДОРОВЫХ ЖИТЕЛЕЙ ЗАБАЙКАЛЬЯ

Центр по борьбе со СПИД (главный врач - к.м.н. А.Н.Бутыльский)
Читинская государственная медицинская академия (ректор – заслуженный врач РФ, д.м.н., профессор А.В.Говорин)

В условиях широкой распространенности иммунодефицитных состояний все большую значимость приобретает проблема качественной иммунодиагностики. В силу значительных региональных популяционных и экологических различий всеми исследователями рекомендуется определение так называемых "региональных стандартов" ("нормы метода") на современном лабораторном оборудовании [3, 4, 7, 9, 10, 11]. При этом известно, что использование проточной цитометрии позволяет отслеживать ранее недоступные специалистам "минорные" субпопуляции лейкоцитов и лимфоцитов, играющие существенную роль в иммунных реакциях [1, 3, 4, 9, 11]. Основу оценки иммунного статуса составляет так называемая иммунограмма 2 уровня, описывающая состояние клеточных субпопуляций, а также фагоцитарную функцию и содержание иммуноглобулинов А, М, G. Практически полное отсутствие в литературе анализа возрастной динамики "минорных" субпопуляций лимфоцитов вместе с огромной актуальностью изучения этого компонента иммунитета определяет значимость и научную новизну данного исследования.

ЦЕЛЬЮ работы стало определение региональных стандартов иммунологических показателей в разных возрастных группах у забайкальцев - жителей Читинской области.

Были поставлены следующие **задачи**:

1. Формирование для исследования групп практически здоровых лиц разного возраста.
2. Определение показателей иммунитета у здоровых жителей Забайкалья с постулированием региональной "нормы", в том числе "минорных" субпопуляций лимфоцитов.
3. Сравнение полученных данных со сведениями литературы с выявлением региональных особенностей иммунитета у забайкальцев.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Обследование проводилось у 328 здоровых лиц (118 мужчин и 210 женщин) в г. Чите и 5 районах области с марта по май 2004 и 2006 года с предварительным отбором и многоэтапной оценкой состояния

здоровья. Привлекались к обследованию лица, не имеющие хронических заболеваний, тяжелой патологии (операции, травмы, прочие госпитализации) в течение полугода, острых заболеваний (ОРВИ, ангину, грипп и пр.) на протяжении 2 месяцев до исследования, не получающие курсы лекарственных препаратов и биодобавок, не имеющие вредных привычек, не состоящие на диспансерном учете у врачей-специалистов. Дети относились к 1 группе здоровья, находились на грудном или смешанном вскармливании, получали прививки согласно графику, не имея на них реакции, планово наблюдались специалистами и были отобраны с участием участковых педиатров и аллергологов-иммунологов. При осмотре у детей отсутствовали признаки любой патологии.

Среди обследованных 132 человека были в возрасте от 18 лет до 51 года, 85 - от 7 до 17 лет, 68 - от 1 года до 6 лет, 43 - от 6 до 12 месяцев, 29 - от 1 года до 2, 39 - от 3 до 6, 23 - от 7 до 10, 20 - от 11 до 14 и 42 подростка - от 15 до 17 лет.

По месту проживания в Петровск-Забайкальском районе находилось 50, в Краснокаменском - 55, в Шилкинском - 58, в Чернышевском - 56, в Кыринском - 29, в Агинском БАО - 50, в городе Чите - 30 человек.

У всех обследованных определялись основные показатели общего анализа крови (ОАК) с использованием автоматического гемоанализатора ABX Micros 60, иммунограммы - на проточном цитометре EpicsXL-MCL фирмы Beckman Coulter (реактивы Immunotech, Франция, поставка компании "Биохиммак") с определением в двухпараметрическом анализе поверхностных маркеров лейкоцитов CD 45+, 14+, 3+, 4+, 8+, 16+, 56+, 19+, 25+, 28+, 95+, HLA-DR+, в том числе на моноцитах. Оценивались субпопуляции Т-лимфоцитов CD3+, Т-хелперов CD3+4+, Т-киллеров CD3+8+, NK-клеток CD16+56+, В-клеток CD19+, активных Т-клеток и моноцитов с маркером HLA-DR+, минорные подгруппы - NKT CD3+16+56+, истинные цитотоксические лимфоциты (CTL) CD28+8+ (с определением всей популяции CD28+), Т-регуляторные клетки (T-reg) CD25+4+ (с определением всей популяции клеток с рецептором к ИЛ-2 - CD25+), а также экспрессирующие Fas-рецептор CD95+ (в том числе Т-хелперы). Кроме того, определялись показатели CD4+/CD8+, CD3+/CD19+. Также исследовалась фагоцитарная активность нейтрофилов в teste с поглощением латексных шариков (фагоцитарное число и фагоцитарный индекс) и концентрация иммуноглобулинов классов G, A, M методом тур-

Таблица 1.

Показатели иммунитета в разных возрастных группах здоровых жителей Читинской области
($M \pm \sigma$)

Показатель / Возраст	6-12 мес n=43	1-6 лет n=68	7-17 лет n=85	> 18 лет n=132
Лейкоциты, /мкл	11788±3019	8066±2257	6607±1797	6877±1793
Лимфоциты, %	59,8±7,3	46,7±10,4	34,8±10,2	34,7±10,1
Лимфоциты, /мкл	7121±2278	3818±1514	2286±941	2348±804
CD3+, % Т-клетки	71,2±7,8	75,7±7,3	75,4±6,2	79,3±6,8
CD3+, /мкл	5043±1632	2875±1143	1727±728	1853±621
CD3+4+, % Т-хелперы	45,0±7,7	43,2±7,0	42,9±7,7	47,5±7,2
CD3+4+, /мкл	3153±1026	1676±776	972±404	1110±405
CD3+8+, % Т-киллеры-супрессоры	22,0±6,4	26,7±6,4	27,4±5,0	29,7±6,9
CD3+8+, /мкл	1595±767	1004±400	638±334	690±271
Соотношение CD4+/ CD8+ (ИРИ)	2,23±0,75	1,72±0,54	1,65±0,53	1,72±0,62
Соотношение CD3+/ CD19+	3,86±2,25	5,50±2,71	7,48±3,4	10,57±3,90
CD3-19+, % В-лимфоциты	21,8±7,3	16,4±6,3	11,8±4,6	8,5±3,1
CD3-19+, /мкл	1553±752	637±402	271±160	203±108
CD16+56+, % НК-лимфоциты	6,7±4,0	7,0±4,2	11,5±6,3	10,5±6,0
CD16+56+, /мкл	507±407	262±191	260±174	255±185
CD3+16+56+, % NKT-клетки	1,3±0,8	2,1±1,6	3,3±2,1	4,5±2,9
CD3+16+56+,/мкл	93±74	75±58	81±81	106±84
CD3+ HLA-DR+, % Активные Т-лимфоциты	1,0±0,8	1,9±1,3	2,9±1,8	4,1±2,9
CD3+ HLA-DR+, /мкл	70±57	66±52	64±43	92±67
CD28+8+, %	3,5±1,9	5,0±2,8	5,9±2,3	6,0±2,3
CD28+8+, /мкл	260±189	180±110	135±74	135±61
CD28+8-, %	30,9±8,5	32,1±5,9	33,2±6,4	35,5±6,8
CD28+8-, /мкл	2173±901	1211±490	753±306	816±309
CD95+4+, %	0,15±0,15	0,37±0,37	0,60±0,60	0,76±0,76
CD95+4+, /мкл	9±9	13±11	13±13	17±17
CD95+4- %	0,07±0,07	0,18±0,18	0,15±0,15	0,21±0,21
CD95+4-, /мкл	5±5	6±6	3±3	5±5
CD25+4+, % Т-регуляторные клетки	4,8±1,8	5,0±1,9	7,1±2,7	8,0±3,5
CD25+4+, /мкл	337±152	183±92	161±79	183±110
CD25+4- %	2,4±1,6	3,1±2,1	4,2±2,4	3,8±2,7
CD25+4-, /мкл	179±136	111±83	97±63	86±70
Моноциты с HLA-DR Активные моноциты	71,0±12,7	75,4±11,0	80,0±9,2	80,2±7,9
Фагоцитарный индекс, базальный	3,0±0,8	3,2±1,0	3,0±1,0	3,0±1,0
Фагоцитарный индекс, стимулир.	3,4±0,8	3,5±1,0	3,5±1,0	3,5±1,0
Фагоцитарное число, базальное	36,4±11,0	35,2±10,3	36,3±10,4	36,8±9,8
Фагоцитарное число, стимулир.	44,0±12,0	41,0±10,6	42,5±10,4	43,0±10,2
IgA, г/л	0,40±0,40	0,77±0,60	1,72±0,65	2,34±0,89
IgM, г/л	0,82±0,36	1,04±0,43	1,18±0,48	1,46±0,56
IgG, г/л	6,68±2,38	9,30±3,26	12,27±2,94	13,11±3,06
Нейтрофилы, %	29,3±7,0	44,5±12,0	57,4±11,0	56,2±10,9
Нейтрофилы, /мкл	3378±962	3519±1221	3787±1200	3906±1381
Моноциты, %	9,7±4,4	7,6±4,3	6,8±3,9	7,9±3,6
Моноциты, /мкл	1149±613	745±713	489±404	540±292
Тромбоциты, /мкл	410±117	369±89	292±68	277±62

бидиметрии (реактивы Sentinel, Италия). Стандартная статистическая обработка проводилась с использованием программного пакета MS Excel.

Изучением возрастной динамики показателей иммунограммы у детей занимались группы отечественных исследователей под руководством

Е.И.Соколова (1988), Вельтищева Ю.Е., Ветрова В.П. (2000), Р.М.Хайтова (2001), а также зарубежные авторы (Ellis E.F., Robbins J.B., 1978, Tollerud C. et al, 1990, Remy N. et al, 1991, классификация иммуносупрессии по CDC, 1993). Ученые представляют данные о динамике некоторых

показателей в разные периоды жизни детей - по-месячно и в общем до 1 года, а также в различные возрастные периоды вплоть до 17 лет. Для определения региональных особенностей мы решили в качестве эталона воспользоваться данными, полученными Н.В. Шабашовой (2002), Р.И. Сепиашвили (2003).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Результаты исследований представлены в таблице 1.

Разделение общей группы детей в возрасте от 1 года до 17 лет на подгруппы 1-2 года, 3-6, 7-11, 12-14 и 15-17 лет уточняет общую картину, но не влияет в целом на возрастную динамику показателей иммунитета и их региональные особенности. Поэтому в нашей работе для достижения поставленных целей мы пользуемся более укрупненными группами, которые подвергнуты сравнению с данными, имеющимися в отечественной литературе (табл. 2).

У детей в возрасте 6-12 месяцев наблюдается значительный лейкоцитоз и лимфоцитоз. Вместе с тем, особенностью является высокий Т-лимфоцитоз с низким уровнем CD3+HLA-DR+. Это характеризует незрелость Т-звена иммунитета, слабость активационных возможностей и попытку компенсации функции за счет количественного роста. Низкие цифры В-субпопуляции и уров-

ня IgA не позволяют говорить об адекватной противовирусной защите, что усугубляется NK-лимфопенией.

В отношении противовирусного потенциала такая же картина сохраняется и в следующей возрастной группе (1-6 лет). При этом имеет место попытка компенсации данной функции за счет роста CD3+8+ после 3 летнего возраста. Большая акцентуация Т-звена (в том числе Т-хелперной субпопуляции) на фоне угнетения гуморального иммунитета с низкими цифрами IgG, отмечается в сравнении с данными по Европейской части России (табл.2). Это может свидетельствовать о большей склонности иммунитета маленьких забайкальцев к аллергическим реакциям и вирусным заболеваниям. Очевидно, что в этих группах детей особенности иммунитета могут быть объяснены экологической обстановкой и генетическими факторами в популяции.

У жителей области в возрасте 7-17 лет показатели гуморального звена иммунитета не отличаются от контрольных, кроме тенденции к понижению числа В-лимфоцитов. В то же время показатели Т-звена иммунитета оказались более высокими. Такая же картина прослеживается и в группе взрослых забайкальцев. Мы не исключаем определенного влияния сезонных колебаний на эти показатели, хотя московские и петербургские

Таблица 2.

Содержание лейкоцитов, лимфоцитов и клеток различных субпопуляций, а также иммуноглобулинов, в периферической крови (данные сравнения) [2, 4, 9, 10]

Показатель	Дети до 1 года		Дети от 1 до 6 лет		Дети от 7 до 17 лет		Взрослые от 18 до 60 лет	
	%	$\times 10^3$ в мм^3	%	$\times 10^3$ в мм^3	%	$\times 10^3$ в мм^3	%	$\times 10^3$ в мм^3
Лейкоциты		6,4-11,0□		6,8-10,0		4,7-7,3		4,0-8,0
Лимфоциты	39-59	2,7-5,4□	38-53	2,9-5,1	36-43	2,0-2,7	28-39	1,6-2,4
CD3+	58-67□	1,9-3,6□	62-69□	1,8-3,0□	66-76□	1,4-2,0□	50-76□	0,80-1,21□
CD4+	38-50	1,5-2,8	30-40□	1,0-1,8□	33-41□	0,7-1,1□	31-46□	0,5-0,9□
CD8+	18-25	0,8-1,2	25-32	0,8-1,5	27-35	0,6-0,9	26-40□	0,41-0,64
Индекс CD4/CD8	1,5-2,9		1,0-1,6□		1,0-1,4□		1,0-1,5□	
CD16+	8-17□	0,3-0,7	8-15□	0,2-0,6	9-16	0,2-0,3	9-16	0,17-0,40
CD20+	19-31□	0,5-1,5	21-28□	0,7-1,3	12-22□	0,3-0,5□	11-16□	0,20-0,40
HLA-DR+	25-38□	1,00-1,52	27-38□	1,00-1,52	19,5-39□	0,45-0,87□	19-30□	0,34-0,72
CD25+	7-12	0,28-0,36	8-12	0,32-0,48	10-16	0,23-0,37	13-24□	0,21-0,58
IgA*, г/л		0,33-0,7□ [2]		0,95-1,57□ [2]		1,14-2,22 [2]		0,9-2,5 [4]
IgM*, г/л		0,49-1,03 [2]		0,63-1,11□ [2]		0,65-1,27 [2]		0,65-2,8 [4]
IgG*, г/л		5,16-9,68 [2]		9,06-13,94 [2]		10,27-14,7 [2]		7,2-16,4 [4]

Примечания: □□□ - показатель в контрольной группе меньше (□) или больше (□) соответствующего показателя в группе забайкальцев.

* - нормы показателей взяты из соответствующих источников [].

авторы (Сепиашвили Р.И., 2003; Шабашова Н.В., 2002; Вельтищев Ю.Е., Ветров В.П., 2000) эти влияния не обнаружили.

Таким образом, если активность гуморального звена, уровень иммуноглобулинов и число NK стабилизируются после 7 лет, то в Т-звене преобладание хелперной популяции (с низким уровнем CD25+) свидетельствует о большей склонности к аллергическим и аутоиммунным состояниям, а уменьшение Т-киллерной - напряжение противовирусной составляющей иммунитета у всех возрастных групп забайкальцев. Безусловно, кроме этно-генетической и экологической составляющей, имеет место и стрессовый фактор экстремальной социально-экономической обстановки.

В дальнейшем мы проследили, как изменяются отдельные показатели клеточного и гуморального иммунитета в разных возрастных группах жителей Читинской области.

Из-за высокого лейкоцитоза абсолютные значения показателей иммунограммы детей до 1 года малоинформативны, поэтому мы обратили внимание на относительные величины.

Наши результаты подтверждают данные литературы о незрелости многих показателей иммунной системы в этом возрасте (Вельтищев Ю.Е., Ветров В.П., 2000, Шабашова Н.В., 2002, Дранник Г.Н., 2003, Сепиашвили Р.И., 2003, Земсков А.М., Земсков В.М., Карапулов А.В., 2005), что находит отражение в наиболее низких уровнях Т-клеток, активных Т-клеток (CD3+ HLA-DR+), Т-киллеров, соотношения CD3+/CD19+, уровня всех классов иммуноглобулинов. Минорные субпопуляции, обладающие в основном регулирующими и компенсаторными свойствами (CD3+16+56+ - NKT, CD28+8+ - CTL), и лимфоциты с маркером готовности к апоптозу (CD95+), также отличаются минимальным процентным содержанием, не играя существенной роли в поддержании иммунного гомеостаза в этом возрасте.

В возрастной группе от 1 года до 6 лет из-за явления физиологического перекреста (после 5 лет) наблюдается снижение уровня лимфоцитов. Рост Т-клеточной популяции, сопровождающийся снижением индекса CD4+/CD8+ к 3 годам, а также уровня В-клеток, указывает на уменьшение избыточной стимуляции гуморального звена со стабилизацией продукции иммуноглобулинов на более высоком уровне. Низкое число NK-клеток компенсируется ростом киллерной популяции CD3+8+, а также минорных групп CD3+16+56+,

CD28+8+. Таким образом, в возрасте от 1 года до 6 лет наблюдается активизация специфического звена противовирусной защиты (Т-киллеры), осуществляющей в дополнении к врожденному иммунитету (через NK-клетки), и при обязательном участии минорных субпопуляций лимфоцитов.

В возрастной группе 7-17 лет продолжается постепенное падение числа лейкоцитов и лимфоцитов до уровня взрослых, причем лимфоцитарный пул стабилизируется у детей 11 - 14 лет. За счет этого снижаются количественные (но не процентные) характеристики ряда субпопуляций (Т-клетки, Т-хелперы, Т-киллеры, лимфоциты с антиапоптотическим маркером CD28+), что говорит об их стабильном функционировании с предыдущего возрастного этапа. В этой возрастной группе появляются признаки увеличения популяции CD25+, что может отражать формирование адекватной реакции лимфоцитов на ИЛ-2 и увеличение влияния Т-reg (CD4+25+). Одновременно при этом возрастает и выходит на стабильный уровень процент NK-клеток CD16+56+, свидетельствующий о созревании этого важного звена неспецифической защиты.

В возрасте от 11 до 14 лет продолжается уменьшение субпопуляции CD19+ на фоне роста IgG, что говорит о растущих функциональных возможностях В-клеток. В целом можно сказать, что в данной возрастной группе (7-17 лет) происходит дальнейшее созревание иммунной системы и во врожденном, и в адаптивном звене защиты.

У взрослых жителей Читинской области максимум (по сравнению с другими возрастными группами) отмечен для относительных показателей уровня CD3+, CD3+4+ (Т-хелперов), CD3+8+ (Т-киллеров), CD3+16+56+ (NKT-субпопуляции), числа и процента CD3+HLA-DR+ (активных Т-клеток), что свидетельствует о продолжающемся до этого возраста созревании Т-звена иммунитета. В то же время цифры основных минорных субпопуляций остаются стабильными, завершив развитие в предыдущем возрастном континенте.

Минимальные цифры, характеризующие В-клеточную популяцию (CD19+), приводят к рекордному падению показателя CD3+/CD19+ и вместе с невысоким уровнем IgA и IgM могут свидетельствовать о высокой активности гуморального звена иммунитета. Интересно, что показатели фагоцитоза во всех возрастных группах остаются практически одинаковыми, что может

говорить об их формировании уже к концу первого полугодия жизни.

Таким образом, в результате наших исследований сформировано достаточно четкое понятие региональных стандартов для показателей иммунной системы здоровых людей различного возраста. Вместе с тем, необходимо признать, что состояние иммунитета детей нуждается в дальнейшем изучении, и дополнительная разбивка на меньшие возрастные группы поможет разобраться в механизмах становления и функционирования иммунной системы. Сказанное явится дальнейшей задачей наших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бобкова М.Р. Иммунитет и ВИЧ-инфекция. - М.: Олимпия-Пресс, 2006. с. 112-121.
2. Вельтищев Ю.Е., Ветров В.П. Объективные показатели нормального развития и состояния здоровья ребенка (нормативы детского возраста). М.: Московский НИИ педиатрии и детской хирургии МЗ РФ, 2000. с.26-42.
3. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. - М.: ООО "Медицинское информационное агентство", 2003. с. 56-69.
4. Земсков А.М., Земсков В.М., Карапулов А.В. Клиническая иммунология. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. с. 288-292.
5. Клиническая иммунология и аллергология (под ред. Л. Йегера), в 3 томах., т.1. - М.: Медицина, 1990. - с. 94, 126.
6. Клиническая иммунология и аллергология / Под. ред. Г.Лолора-младшего и др. - М.: Практика, 2000. - с. 607-624, 687.
7. Коненков В.И. Медицинская и экологическая иммуногенетика. - Новосибирск.: СО РАМН, 1999. - с.15-37.
8. Розенберг В.Я. Hla-антигены, иммунитет и гемостаз у здоровых людей: Автореф. дис. ...канд. мед. наук. - Чита, 1998. 22 С.
9. Сепиашвили Р.И. Основы физиологии иммунной системы. - М.: Медицина-Здоровье, 2003. - С. 40-47, 173-181.
10. Шабашова Н.В. Лекции по клинической иммунологии. - Спб.: ООО "Издательство фолиант", 2002. - С.38-48.
11. Ярилин А.А. Основы иммунологии. - М., Медицина, 1999. - 607 с.