УДК 616.24-003.661+612.017:622-051

ПОРУШЕННЯ Т- І В-КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У ХВОРИХ НА ПНЕВМОКОНІОЗ

НІКОЛЕНКО О.Ю., НІКОЛЕНКО В.Ю., ЛАСТКОВ Д.О., ОЛЕНІЧ В.В., ЯКУБЕНКО О.Д.

Донецький національний медичний університет ім.М.Горького

Реферат. У 137 гірників із пневмоконіозом було виявлено зменшення кількості Т- і В-лімфоцитів, а також зниження антиоксидантного захисту у вигляді зменшення антиокислювальної активності плазми крові, зменшення супероксиддисмутази. У хворих на пневмоконіоз виявлений взаємозв’язок між розвитком пневмоконіозу, Т- і В-клітинним імунітетом, антиокислювальною активністю плазми крові та супероксиддисмутазою.

Ключові слова: пневмоконіоз, імунітет, антиокислювальна активність плазми крові, сууперoксиддисмутаза.

Актуальність. Провідне місце в структурі професійної захворюваності займають захворювання органів дихання (пневмоконіози – 33,1%, хронічні бронхіти – 29,8%, а також хронічний обструктивний бронхіт (ХОЗЛ)). Пилові захворювання легенів в структурі професійних захворювань постійно зростають і склали в 2004 році 62,9%. Приріст кількості хворих ХОЗЛ пилової етіології в 2 рази перевищує приріст хворих пневмоконіозом (6,9 рази проти 3,4 рази) [1, 6, 13, 15, 16].

Пневмоконіоз у підземних робітників вугільних шахт є найважливішою крайовою патологією Донецького вугільного регіону. Пневмоконіози входять в групу інтерстіційних захворювань легень і складають серед них 24%. У гірників на пневмоконіоз часто зустрічаються ускладнення у вигляді емфіземи легень, туберкульозу, бронхіту [4, 5, 19].

На даний час є загальновідомим участь активних форм кисню (АФК) в молекулярних механізмах патогенезу захворювання легенів. Активація окислювальних процесів легеневими фагоцитами, котрі пригнічують антиоксидантний захист, збуджують перекисне окислення ліпідів, білків з клітинними ушкодженнями і рубцюванням легеневої тканини [9, 17].

У хворих із фіброзуючими процесами легень, в тому числі – із пневмоконіозом, важливу роль у розвитку і прогресуванні захворювання відіграють порушення оксидантно-антиоксидантної системи [20]. Другий напрямок адаптаційних процесів пов’язаний з генетично обумовленим підвищенням в коніофагах синтезу антиоксидантних ферментів (СОД, каталази, мієлопероксидази, глутатіонпероксидази) і низькомолекулярних антиоксидантних сполук (глутатіона, убіхінона і ін.) [3].

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ

Обстежено 137 гірників із пневмоконіозом і 47 відносно здорових гірників контрольної групи. Середній вік хворих становив (58,55±0,84) років не відрізняючись від контролю (56,59±1,09) років (S=1,24, pS=0,214), стаж роботи у хворих на пневмоконіоз гірників становив (27,04±0,87) років і не різнився від контролю (25,61±1,14) років (S=0,87, pS=0,382). При групуванні досліджених наявність пневмоконіозу позначали у хворих цифрою „1” а його відсутність у контролі „0”. Згідно аналізу рентгенографічної картини органів грудної клітки у (73,72±3,76)% хворих була інтерстіціальна, а у (26,28±3,76)% – вузликова форма пневмоконіозу. Емфізема легень виявлена у (18,97±3,35)% хворих.

Для визначення поверхневих антигенів типу CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD22+, суспензію мононуклеарів наносили на предметне скло [12]. Висушені не фіксовані мазки, загорнуті у фольгу, зберігали при – (-20)-(-70)˚ С протягом 3-6 місяців. Підраховування результатів здійснювали за допомогою люмінесцентного мікроскопа МИКМЕД-2. Мічені клітини рахували по зеленій флюоресценції клітинної поверхні дифузного або гранулярного типу. Підрахунок проводили відносно 200 клітин із контролем при використовуванні фазово-контрастної мікроскопії по кількості клітин із цитоплазматичною мембраною, яка світиться, більше 1/3 периметру, або з гранулярним свіченням мембрани, чи клітин, що утворили “шапочки” (caps). Обчислювали відсотковий вміст та абсолютну кількість клітин, які несуть досліджуваний антиген [8, 11].

Метод визначення активності супероксиддисмутази (СОД) заснований на спроможності ферменту гальмувати автоокислення адреналіну при pH 10,2. Екстинцію реєстрували при 480 нм [10].

У хворих визначали антиокислювальну активність плазми крові. Метод заснований на спроможності антиоксидантів, що є в плазмі крові, змінювати швидкість перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), ініційованого розчином сульфату двухвалентного заліза, в суспензії ліпопротеїдів жовтка яйця. Інтенсивність ПОЛ оцінювалась по кількості продуктів, реагуючих при нагріванні в кислому середовищі з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) та даючих при цьому рожеву окраску. Екстинція розчину реєструвалася спектрофотометрично при довжині хвилі 532 нм. Результат визначали у відсотках [14].

Статистичний аналіз одержаних результатів проводили методами параметричної і непараметричної статистики з використанням ліцензійного пакету “Statistica 5.5” (Stat Soft Rus) („Информатика и компьютеры”, Москва) на персональному комп’ютері. Розраховували показники: середні значення ($\bar{\chi}$), їх похибки – ($S_{\bar{\chi}}$), обчислювали коефіцієнт кореляції (r), регресії (R), критерії Стьюдента (S), Крускала-Уоліса (KW), медіанний (Mk), Манна Уітні (MW), Хі-квадрат (χ^2), достовірність показників (p) [2, 7, 12, 18].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Показники клітинного імунітету у гірників із пневмоконіозом характеризувались зменшенням вмісту лімфоцитів Т- і В-ланки імунітету, тобто відносна кількість усіх Т-лімфоцитів була значно меншою (60,12±1,01)% від контролю (74,79±0,85)% (S=8,18, pS<0,001, MW=7,44, pMW<0,001), також була зменшена відносна кількість Т-хелперів (23,09±0,51)% на відміну від контролю (44,98±0,92)% (S=21,27, pS<0,001, MW=9,78, pMW<0,001), відносна кількість Т-супресорів (15,19±0,29)% на відміну від контролю (22,81±0,67)% (S=12,18, pS<0,001, MW=9,17, pMW<0,001), а також відносна кількість природних кілерів (15,98±0,38)% на відміну від контролю (18,49±0,67)% (S=3,34, pS<0,001, MW=2,69, pMW=0,007). Відносна кількість В-лімфоцитів була зменшеною (10,64±0,22)% в порівнянні з контролем (17,70±0,53)% (S=14,60, pS<0,001, MW=9,33, pMW<0,001) (рис.1).

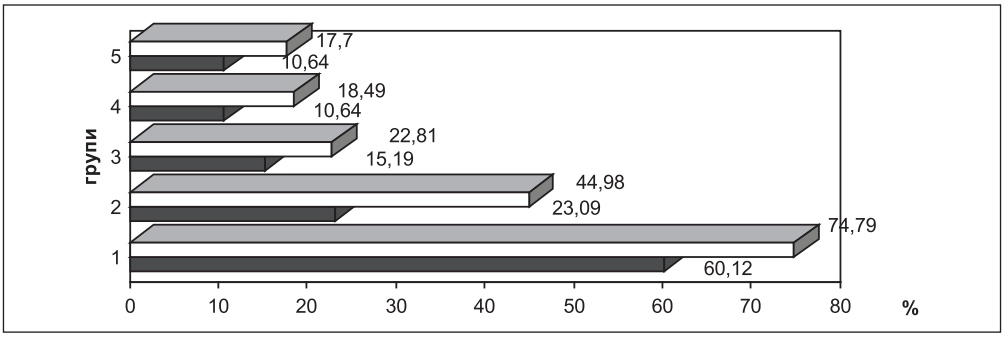

Рис. 1. Відносна кількість Т- і В-лімфоцитів у гірників із пневмоконіозом і в контролі (%)

Примітка: 1 – CD3+ (Т-лімфоцити), 2 – CD4+ (Т-хелпери), 3 – CD8+ (Т-супресори), 4 – CD16+ (природні кілери); 5 – CD22+(В-лімфоцити)
групи: ■ – хворі на пневмоконіоз, □ – контроль.

Абсолютні показники клітинного імунітету характеризувались схожою відмінністю і були знижені відносно контролю, включаючи кількість усіх Т-лімфоцитів, яка була значно меншою (1,01±0,03)х109/л від контролю (1,74±0,08)х109/л (S=9,82, pS<0,001, MW=7,48, pMW<0,001), також були зменшені абсолютна кількість Т-хелперів (0,38±0,01)х109/л на відміну від контролю (1,05±0,05)х109/л (S=18,05, pS<0,001, MW=9,83, pMW<0,001), абсолютна кількість Т-супресорів (0,26±0,01)х109/л на відміну від контролю (0,53±0,03)х109/л (S=12,28, pS<0,001, MW=8,55, pMW<0,001), така ж динаміка була і абсолютної кількості природних кілерів (0,27±0,01)х109/л значне зменшення на відміну від контролю (0,43±0,02) х109/л (S=7,68, pS<0,001, MW=6,23, pMW=0,007). Співвідношення Т-лімфоцитів хелпери/супресори характеризувалось зменшенням коефіцієнту до (1,55±0,04) на відміну від контролю (2,03±0,06) (S=7,10, pS<0,001, MW=7,44, pMW<0,001). Абсолютні показники В-лімфоцитів були зменшені (0,18±0,01) х109/л по відношенню до контролю (0,42±0,02) х109/л (S=13,18, pS<0,001, MW=8,71, pMW<0,001) (рис. 2).

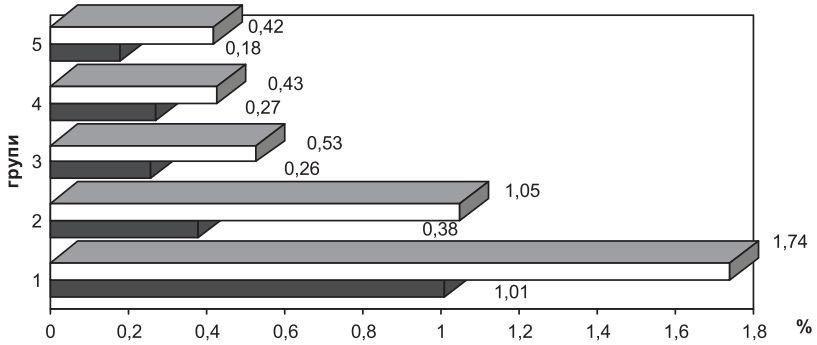

Рис. 2. Абсолютна кількість Т- і В-лімфоцитів у гірників із пневмоконіозом і в контролі (х10^9/л)

Примітка: 1 – CD3+ (Т-лімфоцити), 2 – CD4+ (Т-хелпери), 3 – CD8+ (Т-супресори), 4 – CD16+ (природні кілери); 5 – CD22+(В-лімфоцити)
групи: ■ – хворі на пневмоконіоз, □ – контроль.

У хворих на пневмоконіоз вміст імуноглобулінів у сироватці крові класу G становив (12,73±0,12) г/л і був вірогідно вищим у порівнянні з контролем – (11,84±0,21) г/л (S=3,54, pS<0,001, MW=3,33, pMW<0,001 відповідно), що може свідчити про активування окремих груп клітин В-ланки імунітету. Також відмічено вірогідне збільшення вмісту Ig A до (2,356±0,047) г/л у порівнянні з контролем (1,978±0,083) г/л (S=4,01, pS<0,001, MW=4,24, pMW<0,001 відповідно), що може свідчити про підвищення напруження місцевої імунної відповіді. Концентрація Ig M становила (1,142±0,019) г/л у порівнянні з контролем (0,921±0,042) г/л (S=5,33, pS<0,001, MW=4,45, pMW<0,001 відповідно) і вірогідно відрізнялась у хворих та здорових гірників (рис.3).

Встановлено, що розвиток пневмоконіозу впливав на підвищення вмісту імуноглобулінів у сироватці крові класу G (KW=11,57, p=0,0007; Mk=4,80, pMk=0,028), Ig A (KW=18,16, p<0,001; Mk=10,97, pMk=0,0009) і Ig M (KW=20,17, p<0,001; Mk=17,97, pMk<0,001).

Розвиток захворювання впливав на зменшення відносної і абсолютної кількості Т-лімфоцитів (KW=55,44, p<0,001; Mk=48,23, pMk<0,001 і KW=55,99, p<0,001; Mk=35,01, pMk<0,001), відносної і абсолютної кількості Т-хелперів (KW=95,89, p<0,001; Mk=63,12, pMk<0,001 і KW=96,59, p<0,001; Mk=63,12, pMk<0,001), відносної і абсолютної кількості Т-супресорів (KW=84,23, p<0,001; Mk=63,12, pMk<0,001 і KW=73,03, p<0,001; Mk=48,04, pMk<0,001), відносної і абсолютної кількості природних кілерів (KW=7,24, p=0,007; Mk=1,4, pMk=0,237 і KW=38,80, p<0,001; Mk=27,46, pMk<0,001), а також на зменшення коефіцієнту хелпери/супресори (KW=55,38, p<0,001; Mk=35,01, pMk<0,001).

Антиоксидантну систему оцінювали за вимірюванням супероксиддисмутази і антиокислювальної активності плазми крові (рис.4).

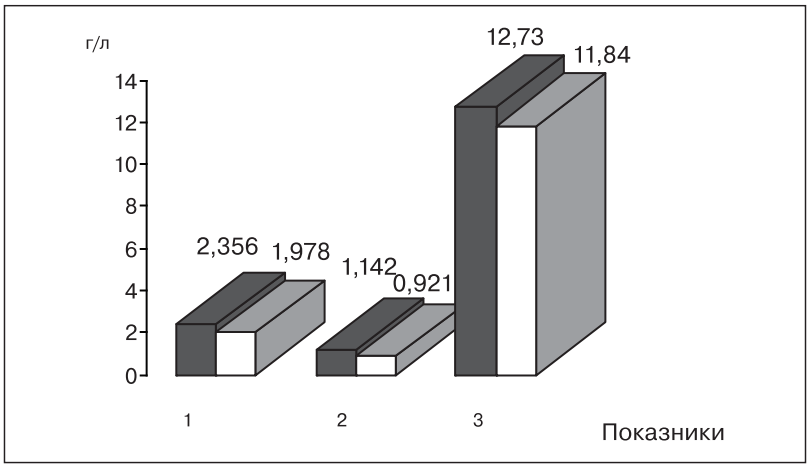

Рис 3. Вміст імуноглобулінів A, M, G в сироватці хворих на пневмоконіоз і в контролі (г/л)

Примітка: 1- Ig A, 2 - Ig M, 3- Ig G
групи: ■ – хворі на пневмоконіоз, □ – контроль.

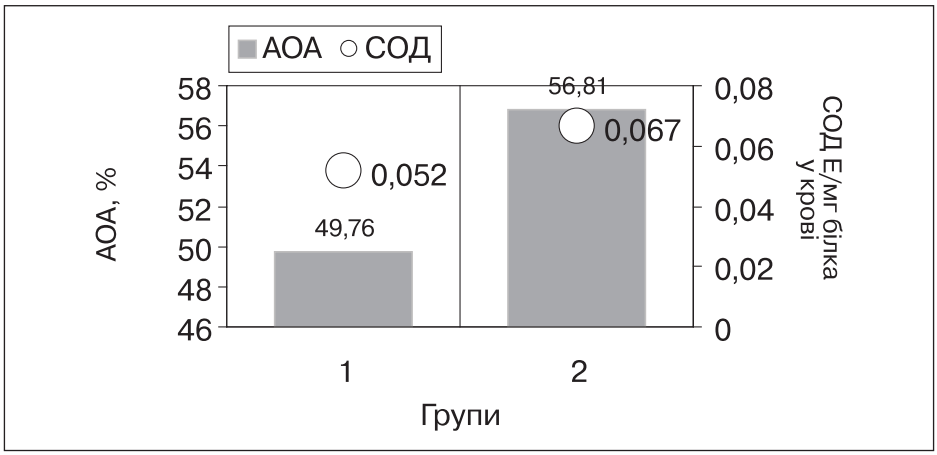

Рис. 4. Антиоксидантна система за вимірюванням супероксиддисмутази і антиокислювальної активності плазми крові у хворих на пневмоконіоз і в контролі

Примітка: 1 – хворі на пневмоконіоз, 2 – контрольна група

Супероксиддисмутаза (СОД) у хворих на пневмоконіоз була знижена до (0,052±0,001) Е/мг білка в крові на відміну від контролю (0,067±0,002) Е/мг білка в крові (S=11,84, p<0,001; MW=10,19, pMW<0,001).

Розвиток захворювання впливав на рівень супероксиддисмутази у хворих на пневмоконіоз (KW=84,68, pKW<0,001, Mk=60,43, pMk<0,001). В той же час супероксиддисмутаза мали позитивний кореляційний зв’язок із розвитком захворювання (r=0,8865, p<0,001) (з рівняння регресії видно, що пневмоконіоз зв’язаний із рівнем супероксиддисмутази, ПК = -0,386861717 + 25,3695535*(СОД).

Антиокислювальна активність плазми крові у хворих на пневмоконіоз була знижена до (49,76±0,46) % на відміну від контролю (58,81±0,74) % (S=7,87, p<0,001; MW=7,78, pMW<0,001).

Розвиток захворювання впливав на рівень антиокислювальної активності плазми крові у хворих на пневмоконіоз (KW=60,91, pKW<0,001, Mk=42,77, pMk<0,001). В той же час антиокислювальної активності плазми крові мали негативний кореляційний зв’язок із розвитком захворювання (r=-0,5039, p<0,001) (з рівняння регресії видно, що пневмоконіоз зв’язаний із рівнем супероксиддисмутази, ПК = 2,60003718 - 0,0359830145*(АОА).

ВИСНОВКИ

1. При дослідження Т- і В-клітинного імунітету у хворих на пневмоконіоз виявлено зниження абсолютної і відносної кількості Т- і В –клітин та підвищення функціональної активності В- лімфоцитів, що проявлялося в підвищенні кількості імуноглобулінів класі А, М, G.
2. Зниження активності супероксиддисмутази та антиокислювальної активності плазми крові свідчить про пригнічення антиоксидантної системи у хворих на пневмоконіоз.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Бабанов С. А.* Функциональные особенности внешнего дыхания и сердечно-сосудистой системы при воздействии фиброгенныъх аэрозолей / С. А. Бабанов // Мед.труда и пром.экология. – 2007. – № 7. – С. 6-14.
2. *Боровиков В. П.* STATISTICA / В. П. Боровиков, И. П. Боровиков– М. : Б.и., 1998. – 583 с.
3. *Величковский Б. Т.* Патогенетическая классификация профессиональных заболеваний органов дыхания, вызванных воздействием фиброгенной пыли / Б. Т. Величковский // Пульмонология. – 2008. – № 4. – С. 93-101.
4. Значение видеоторакоскопии в диагностике сложных случаев профессиональных болезней легких / П. Н. Любченко, Т. В. Стоцкая, В. А. Кузмичев [и др.] // Пульмонология. – 2008. - № 4. – С. 119-122.
5. *Каменецький М. С.* Морфологічний субстрат рентгенологічної картини пневмоконіозу робітників вугільних шахт Донбасу / М. С. Каменецький, М. Б. Первак // Пром. діагностика, пром.терапія. – 2007. – № 3. – С. 5-10.
6. *Кундієв Ю.І.* Порівняльна характеристика стану професійної захворюваності в Україні і світі / Ю.І. Кундієв., А.М. Нагорна, Л.О. Добровольський //Укр.журн. з проблем мед. праці.–2009.– Т.18, №2. – С.3-11.
7. *Лапач С. Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А.В. Губенко, П. Н. Бабич. – Киев: Морион, 2000. – 320 с.
8. Лимфоциты: Методы: Пер. с англ. / Под ред. Дж. Клаусса. – М. : Мир, 1990. – 396 с.
9. *Любченко П. Н.* Пневмокониоз в современном меняющемся мире / П. Н. Любченко // Мед.труда и пром.экология. – 2004. – № 6. – С. 1-5.
10. *Макаревич О. П.* Активность супероксиддисмутазы крови в острый период различных заболеваний / О. П. Макаревич, П. П. Голиков // Лаб. дело. – 1983. – № 6. – С. 24-27.
11. Моноклональные антитела в клинической радиационной иммунологии: Метод. рекомендации / Сост.: В.Г. Бебешко, А.А. Чумак, Д.А. Базыка. – Киев, 1993. – 15 с.
12. Однофакторный дисперсионный анализ в пакете STADIA.6.0 / Применение математических методов в исследованиях по физиологии человека // Ю. Е. Лях, Ю. Г. Выхованец, Е. И. Чуприна [и др.] / Под ред. В.Н.Казакова. – Донецк: Из-во медунивер., 2000. – С. 11-28.
13. *Остапенко Т.А.* Особливості та переваги методів функціональної діагностики професійних захворювань бронхолегеневої системи / Т.А.Остапенко, А.В.Басанец // Журн.практ. лікаря. – 2005. – № 4. – С. 16-18.
14. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов / Г. И. Клебанов, И. В. Бабенкова, Ю. О. Теселкин [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 5. – С. 59-62.
15. Постэкспозиционные сроки диагностики профессиональных заболеваний /

Е.Я.Николенко, С.И. Ткач, В.П. Брыкалин [и др.] / Вестник гигиены и эпидемиологии. – 2006. – Т. 10, № 1. – С. 85-89.

16. Реабилитация больных с пылевыми заболеваниями легких / Г.А. Бондаренко, Т.П. Бодаченко, С.Б.Конюкова [и др.] // Вестник гигиены и эпидемиологии. – 2006. – Т. 10, № 1. – С. 65-70.

17. Роль антиоксидантных систем в регенерации эпителия трахеи после термического ожога верхних дыхательных путей / В. И. Новоселов, Э. К. Мубаракшина, В. А. Янин [и др.] // Пульмонология. – 2008. – № 6. – С. 80-83.

18. *Сергиенко В. И.* Математическая статистика в клинических исследованиях / В. И. Сергиенко, И. Б. Бондарева. – М.: ГЕОТАРМЕД, 2001. – 256 с.

19. *Солоділов А.І.* Захворювання на пневмоконіоз гірників вугільних шахт у Донецькій області / А.І.Солоділов // Вестник гигиены и эпидемиологии. – 2006. – Т. 10, № 1. – С. 37-40.

20. *Bargagli E., Olivieri C., Bennett D. at all*. Oxidative stress in the pathogenesis of diffuse lung diseases: a review. // Respir. Med. – 2009. – Vol.103, № 9. – P.1245-1256.

РЕЗЮМЕ

ПОРУШЕННЯ Т- І В-КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У ХВОРИХ НА ПНЕВМОКОНІОЗ

О.Ю. Ніколенко, В.Ю. Ніколенко, Д.О. Ластков, В.В. Оленіч, О.Д. Якубенко

Донецький національний медичний університет ім.М.Горького, Україна

У 137 горняков с пневмокониозом было выявлено уменьшение количества Т- и В-лимфоцитов, а также снижение антиоксидантной защиты в виде уменьшения антиокислительной активности плазмы крови, уменьшение супероксиддисмутазы. У больных пневмокониозом выявлена взаимосвязь между развитием пневмокониоза, Т- и В-клеточным иммунитетом, антиокислительной активностью плазмы крови, а также супероксиддисмутазой.

Ключевые слова: пневмокониоз, иммунитет, антиокислительная активность плазмы крови, супероксиддисмутаза.

SUMMARY

DISTURBANCES T- AND B-CELLULAR IMMUNITY AND ANTIOXIDATIVE PROTECTION OF THE BLOOD OF THE PNEUMOCONIOSIS PATIENTS

O.Yu.Nikolenko, D.O.Lastkov, V.Yu.Nikolenko, V.V.Olenich, O.D.Jakubenko

M.Gorky Donetsk national medical university

For 137 miners with pneumoconiosis the diminution of amount T- and B-cytes, and also a drop of antioxidatic protection in the form of a diminution of antioxidative activity of a blood plasma, a diminution of a superoxide dismutase has been determined. The correlation between pneumoconiosis, T-and B-cellular immunodefence and antioxidative activity of a blood plasma, and also a superoxide dismutase in pneumoconiosis patients has been determined.

Keywords: a pneumoconiosis, immunity, antioxidative activity of a blood plasma, a superoxidedismutase.

УДК:576.8.097.3:577.112:612.8:591.881

ВИЗНАЧЕННЯ АНТИТІЛОУТВОРЕННЯ ДО НЕЙРОСПЕЦИФІЧНИХ БІЛКІВ (НСБ) ПРИ ВНУТРІШНЬОМОЗКОВОМУ ВВЕДЕННІ СИНГЕННИХ ТА АЛОГЕННИХ ФЕТАЛЬНИХ НЕЙРОКЛІТИН-ПРЕКУРСОРІВ (НКП)

ЛЮБИЧ Л.Д.

ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад.А.П.Ромоданова АМН України»

Успішна стратегія трансплантації нейрогенних стовбурових клітин (НСК) та НКП для заміщення втрачених або порушених функцій ЦНС потребує тривалого виживання пересаджених клітин та інтеграції з системою реципієнта, а також відсутності несприятливих побічних наслідків. Необхідно враховувати роль імунної системи як безпосередньо в процесі втручання при трансплантації, так і у відповідь на пересаджувані клітини.

Останні дослідження свідчать, що можливою здатністю алогенних НСК викликати імунну активацію у віддаленому періоді після трансплантації не можна нехтувати: алотрансплантати НСК та НПК індукують ефекторну фазу імунної відповіді при трансплантації у мозок за умови експресії ними антигенів гістосумісності та костимуляторних молекул, проте рівень імунної відповіді недостатній для відторгнення трансплантату [11,15,16,20,28]. НСК людини розпізнаються і викликають імунну відповідь в ало- і ксеногенних системах ex vivo, тобто вони мають низький, проте не незначний імунологічний потенціал, рівень якого є достатнім для активації периферичних лімфоцитів реципієнта [35].

У зв‘язку з цим з метою уникнення небажаних побічних ефектів при трансплантації алогенних НКП значні зусилля дослідників спрямовано