

УДК 613.62.1:622-053.2

А.В. Игошина, О.Ю. Николенко, А.В. Тищенко, В.Ю. Николенко

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ГОРНОРАБОЧИХ С ГИПОКСИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИЕЙ*Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького,
Республиканская клиническая больница профессиональных заболеваний, г. Донецк*

Резюме. 35 горнорабочих угольных шахт с острой гипоксической энцефалопатией вследствие отравления метаном и 32 здоровых горнорабочих группы контроля прошли углубленное иммунологическое обследование. Оно включало проведение НСТ-теста, исследование Т- и В-звеньев иммунитета, определение концентрации иммуноглобулинов А, М и G, определение титров аутоантител к антигену головного мозга и т.д. Доказано, что у горнорабочих с острой гипоксической энцефалопатией имеет место снижение фагоцитарной активности нейтрофилов, также развивается Т-клеточный иммунодефицит и происходит нарушение гуморального звена иммунитета за счет снижения количества В-лимфоцитов, концентрации иммуноглобулинов G, A. Наблюдается аутосенсебилизация к антигену головного мозга.

Ключевые слова: функциональное состояние иммунной системы, горнорабочие, гипоксическая энцефалопатия

В последние годы отмечается увеличение числа горнорабочих с острыми поражениями нервной системы вследствие воздействия различных неблагоприятных факторов производственной среды угольных шахт в виде отравлений метаном, монооксидом углерода, острых перегревов [3, 4, 10, 12, 13, 16]. По данным Всемирной Федерации Токсикологических Центров, в мире отмечается формирование токсической ситуации, которая связана с ростом числа отравлений, зарегистрированных во всех странах мира [17, 19, 21]. Около 5 % от числа всех обращений за неотложной медицинской помощью у взрослых связаны с острыми отравлениями и 2–5 % — с отравлениями у детей [10, 11, 21]. Такие поражения сопровождаются развитием органической неврологической симптоматики, которая часто сохраняется в виде остаточных неврологических синдромов и приводит к инвалидности [2, 3, 6, 11, 12, 15, 20]. Причины стойкого сохранения остаточных явлений, которые развиваются после поражения нервной системы, могут заключаться в развитии нарушений иммунитета, который тесно связан с нервной системой и всегда берет участие в репаративных и защитных процессах в организме [1, 7, 12, 20, 22].

Цель исследования. Выявление основных нарушений иммунитета у горнорабо-

чих с острой гипоксической энцефалопатией вследствие отравления метаном.

Материал и методы исследования. Обследовано иммунологическими методами 35 горнорабочих угольных шахт с острой гипоксической энцефалопатией вследствие отравления метаном. Контролем были показатели иммунитета 32 здоровых горнорабочих. Средний возраст больных с отравлением метаном составлял $39,8 \pm 0,8$ лет, а в контроле — $38,9 \pm 1,4$ лет. Средний подземный стаж работы в шахте составлял $10,4 \pm 1,1$ лет, в контроле — $11,2 \pm 1,5$ года. Среди пострадавших горнорабочих 27 больных имели легкое отравление метаном, 7 — умеренное, 1 — тяжелое. Иммунологическое обследование включало изучение фагоцитарной активности нейтрофилов по результатам теста с нитросиним тетразолием (НСТ-теста), определением экспрессии поверхностных маркеров Т- и В-клеточных субпопуляций лимфоцитов CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD22+ при помощи стандартного набора моноклональных антител. Проводили определение концентрации иммуноглобулинов классов А, М, G, среднемолекулярных циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), изучали титры аутоантител к антигену головного мозга в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА), гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) к этому же антигену в реакции торможения реакции лейкоцитов (РТМЛ) [4, 5, 9, 14, 18]. Статистическая обработка полученных результатов проводилась на персональном компьютере при помощи пакета лицензионной программы «Microsoft Excel». Проводили оценку средних значений — \bar{x} , их ошибки — S_x , рассчитывали коэффициент корреляции (r), критерии Стьюдента (kS), Фишера (kF), Крускала-Уоллиса (kKW) и достоверность статистических показателей (p) [8].

Результаты и обсуждение. Результаты исследования фагоцитарной функции нейтрофилов при помощи НСТ-теста приведены в таблице.

Как видно из таблицы, у больных после острого отравления метаном отмечается уменьшение количества нейтрофилов, которые выявляют фагоцитарную активность до

Таблица. Фагоцитарная функция нейтрофилов крови по результатам НСТ-теста у горнорабочих с острой гипоксической энцефалопатией, которые перенесли отравление метаном, и в контроле ($x \pm S_x$)

Показатели	Группы		Статистические отличия			
	Больные n = 35	Контроль n = 32	kS	Sp	kF	Fp
НСТ-тест, %	15,71 ± 0,72	20,93 ± 0,63	3,61	p < 0,001	2,03	0,048
Спонтанный ИАН	0,261 ± 0,005	0,323 ± 0,012	3,43	0,0010	2,90	0,0029
Стимулированный НСТ-тест, %	21,80 ± 0,64	26,74 ± 1,16	2,69	0,0088	2,14	0,032
Стимулированный ИАН	0,42 ± 0,02	0,59 ± 0,02	3,67	p < 0,001	2,10	0,040

15,71 ± 0,72 % в спонтанном НСТ-тесте и до 21,80 ± 0,64 % в стимулированном пирогеналом в сравнении с контролем 20,93 ± 0,63 % и 26,74 ± 2,1 % (kS = 3,61, p < 0,001; kF = 2,03, p = 0,048 и kS = 2,69, p = 0,0088; kF = 2,14, p = 0,032 соответственно). Индекс активации нейтрофилов (ИАН) без стимуляции, а также при добавлении пирогенала составил 0,261 ± 0,005 и 0,42 ± 0,02 и достоверно отличался от контроля — 0,323 ± 0,012 и 0,59 ± 0,02 соответственно (kS = 3,43, p < 0,001; kF = 2,90, p = 0,0029 и kS = 2,67, p < 0,001; kF = 2,10, p = 0,040 соответственно). Таким образом, уменьшение ИАН у больных при спонтанном и стимулированном фагоцитозе свидетельствует, что фагоциты имеют низкую резервную активность внутриклеточных ферментов и во время активации — это может приводить к значительной гибели нейтрофилов и недостаточности фагоцитарного звена иммунитета.

Некоторые показатели Т-клеточного иммунитета приведены на рис.1. У больных выявлено уменьшение относительного и абсолютного содержания Т-лимфоцитов по результатам определения поверхностных рецепторов CD3+ абсолютное и относительное содержание которых составило в группе больных 58,2 ± 1,4 % и 1,06 ± 0,03×10⁹/л в сравнении с контролем 74,7 ± 0,8 % и 1,74 ± 0,08×10⁹/л соответственно (kS = 9,25, p < 0,001; kF = 2,03, p = 0,048 и kS = 6,29, p < 0,001; kF = 2,55, p = 0,0088 соответственно). Исследования распределения субпопуляций Т-лимфоцитов показало, что у больных имеет место снижение как относительного, так и абсолютного содержания клеток хелперного звена CD4+ до 30,3 ± 0,6 % и 0,554 ± 0,020×10⁹/л в сравнении с контролем 45,5 ± 0,8 % и 1,049 ± 0,049×10⁹/л соответственно (kS = 10,13, p < 0,001; kF = 1,37, p = 0,366 и kS = 7,48, p < 0,001; kF = 3,13, p = 0,0014 соответственно). Одновременно установлена достоверная разница в сторону увеличения у больных только по относительному количеству Т-супрессорных клеток с CD8+-рецепторами

27,8 ± 0,8 % и 0,505 ± 0,021×10⁹/л между больными и контрольной группой 22,3 ± 0,6 % и 0,529 ± 0,030×10⁹/л (kS = 3,55, p < 0,001; kF = 3,19, p = 0,0015 и kS = 0,47, p = 0,637; kF = 1,21, p = 0,578 соответственно). Вследствие значительного уменьшения количества лимфоцитов хелперного звена соотношение CD4/CD8 достоверно было меньшим в группе пострадавших горнорабочих, составляя 1,19 ± 0,05, в сравнении с контрольным показателем 2,06 ± 0,05 (kS = 8,38, p < 0,001; kF = 1,55, p = 0,218 (p < 0,001)). Экспрессия на природных киллерах CD16+-рецепторов была значительно снижена и составляла 6,9 ± 0,3 % и 0,124 ± 0,007×10⁹/л в сравнении с контролем 18,4 ± 0,6 % и 0,421 ± 0,017×10⁹/л (kS = 12,26, p < 0,001; kF = 2,07, p = 0,040 и kS = 9,70, p < 0,001; kF = 6,31, p < 0,001 соответственно). Таким образом, по результатам исследования Т-звена иммунитета установлено, что у больных с острой гипоксической энцефалопатией при отравлении метаном развивается Т-клеточный иммунодефицит, преимущественно за счет уменьшения содержания Т-хелперов и увеличения относительного количества

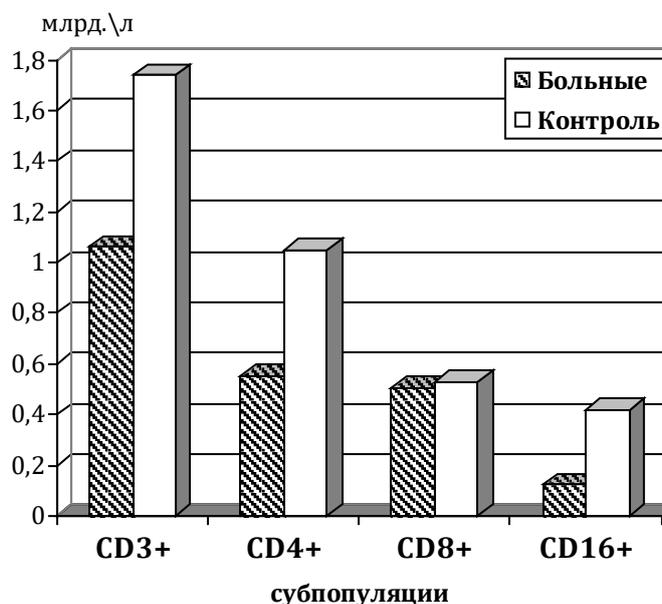


Рис. 1 Абсолютное содержание субпопуляций лимфоцитов Т-звена у больных горнорабочих с острой гипоксической энцефалопатией и в контроле

Т-супрессоров. Такая разбалансировка иммунной системы может быть началом регенераторных процессов, но в дальнейшем это может привести к развитию аутоиммунного процесса [1].

По результатам сравнения показателей В-звена иммунной системы у больных с острой гипоксической энцефалопатией вследствие отравления метаном видно, что у них имеет место достоверное уменьшение количества В-лимфоцитов при анализе экспрессии CD22+-рецепторов, как относительного их количества до $15,8 \pm 0,4$ %, так и абсолютного до $0,287 \pm 0,011 \times 10^9$ /л в сравнении с контролем $17,7 \pm 0,5$ % и $0,417 \pm 0,021 \times 10^9$ /л ($kS = 2,07$, $p = 0,041$; $kF = 1,08$, $p = 0,821$ и $kS = 3,86$, $p = 0,00026$; $kF = 2,34$, $p = 0,016$ соответственно).

У больных с острой гипоксической энцефалопатией при отравлении метаном содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови класса G составило $9,67 \pm 0,23$ г/л и был достоверно ниже в сравнении с контролем — $11,83 \pm 0,19$ г/л ($kS = 4,66$, $p < 0,001$; $kF = 2,12$, $p = 0,036$ соответственно), что может свидетельствовать о значительном угнетении В-звена иммунитета. Также отмечено достоверное снижение содержания Ig A до $1,41 \pm 0,04$ г/л в сравнении с контролем $1,91 \pm 0,07$ г/л ($kS = 4,18$, $p < 0,001$; $kF = 2,24$, $p = 0,023$ соответственно), что может свидетельствовать о повышении напряжения местного иммунного ответа и может привести к возникновению острых или обострению хронических инфекционных заболеваний (рис.2).

Концентрация Ig M составляла $0,88 \pm 0,03$ г/л в сравнении с контролем $0,92 \pm 0,04$ г/л ($kS = 0,64$, $p = 0,523$; $kF = 1,26$, $p = 0,514$ соответственно) и не отличалась у больных и здоровых горнорабочих.

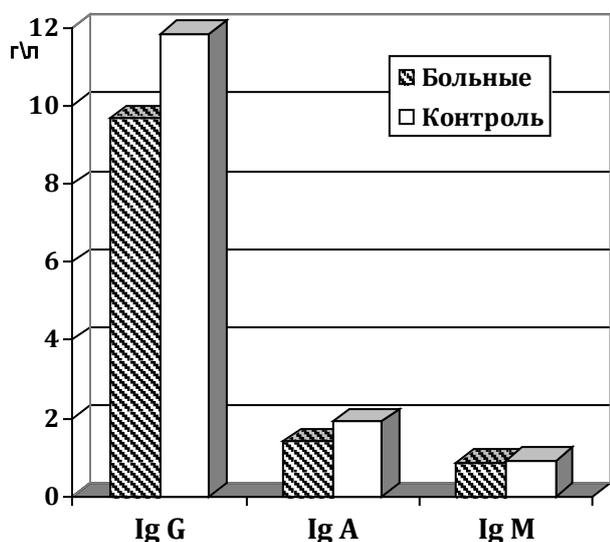


Рис. 2 Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови больных горнорабочих с острой гипоксической энцефалопатией и в контроле

В наших исследованиях у больных с острой гипоксической энцефалопатией была выявлена аутосенсibilизация к антигену головного мозга. У пострадавших выявлены антитела к антигену головного мозга $1,35 \pm 0,14$, которые в контроле не определялись. ЦИК у больных повышены до $0,63 \pm 0,03$ г/л в отличие от контрольной группы $0,50 \pm 0,02$ г/л ($kS = 2,31$, $p = 0,023$, $kF = 2,70$, $p = 0,0062$). ЦИК были прямо связаны с тяжестью состояния пострадавших горнорабочих ($r = +0,61$, $p < 0,001$) и в большинстве случаев тяжесть отравления влияла на увеличение уровня ЦИК ($kKW = 12,67$, $p = 0,0018$; $\chi^2 = 9,26$, $p = 0,0097$). Таким образом, при острых гипоксических энцефалопатиях вследствие отравления метаном возникают нарушения не только нервной системы, но и иммунитета, что требует дальнейшего его исследования у пострадавших горнорабочих, поисков эффективной иммунокорректирующей терапии и дальнейшей кооперации специалистов разных специальностей в реабилитации таких больных [7, 13].

Выводы. У горнорабочих с острой гипоксической энцефалопатией имеет место снижение фагоцитарной активности нейтрофилов по показателям НСТ-теста. По результатам исследования Т-звена иммунитета установлено, что у обследованных больных развивается Т-клеточный иммунодефицит, преимущественно за счет уменьшения содержания Т-хелперов и киллеров.

При острой гипоксической энцефалопатии у пострадавших горнорабочих имеет место нарушение гуморального звена иммунитета за счет уменьшения количества В-лимфоцитов, концентрации иммуноглобулинов G, A и аутосенсibilизации к антигену головного мозга, что свидетельствует о необходимости поисков эффективной иммунокорректирующей терапии.

A.V. Igoshina, O.Y. Nikolenko, A.V. Tischenko, V.Y. Nikolenko
THE IMMUNE SYSTEM FUNCTION IN MINERS WITH HYPOXIC ENCEPHALOPATHY

Summary. 35 miners of coal mines with acute hypoxic encephalopathy due to poisoning with methane and 32 healthy miners of the monitoring group held in-depth immunological examination. It included the holding of NBT-test, the study of T — and B-links of immunity, determine the concentration of immunoglobulins A, M and G, determining titters of autoantibodies to the antigen of brain, etc. In miners with acute hypoxic encephalopathy is a decrease in phagocytic activity of neutrophils, develops T-cell immunodeficiency too and there is a disorder of humoral immunity by reducing the number of B-lymphocytes, immunoglobulins G, A concentrations are proven. There is autosensibilization to the antigen of the brain.

Key words: immune system function, miners, hypoxic encephalopathy

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабаева А.Г. Регенерация и система иммуногенеза / А.Г. Бабаева. – М: Медицина, 1985. – 256 с.
2. Гипоксические нарушения у горнорабочих с острыми отравлениями метаном / Игошина А.В, Тищенко А.В., Бондаренко Г.А. [и др.] // Вестник гигиены и эпидемиологии. – 2016. – Т. 20, №1. – С. 14-16.
3. Игошина А.В. Электроенцефалографічні та клініко-вестибулярні особливості гіпоксичних енцефалопатій при гострих отруєннях метаном / А.В. Игошина // *Materialy X Miedzynarodowej naukowo-praktycznej konferency "Naukowa przestrzen Europy - 2014"*, 07-15 kwietnia 2014 roku. – Volume 28. Medycyna. – Przemysl: Nauka i studia, 2014. – Str. 43-49.
4. Иммунологические методы / Под ред. Г.Фримеля: Пер. с нем. А.П. Тарасова. – М.: Медицина, 1987. – 472 с.
5. Климов В.В. Тест восстановления нитросинего тетразолия, стимулированного пирогеалом / В.В. Климов, Т.В. Кошована // *Лаб. дело*. – 1982. – №10. – С.48-49.
6. Клініко-неврологічні порушення при токсичній та токсико-гіпоксичних енцефалопатіях у гірників вугільних шахт із вторинною артеріальною гіпертензією внаслідок отруєння метаном та монооксидом вуглецю / А.В. Игошина, О.А. Статінова, О.Г. Ладарія [и др.] // *Materialy X mezinarodni vedecko-prakticka konference "Efektivni nastroje modernich ved - 2014"*. – Dil 23. Lekarstvi.: Praha. Publishing House "Education and Science" s.r.o. – Stran. 37-41.
7. Кооперація спеціалістів при реабілітації гірників із шахтними отруєннями / В.Ю. Ніколенко, В.П. Камков, В.В. Новосельська, Ю.О. Головін // *Архив клинической и экспериментальной медицины*. – 2003. Додаток. – Т.12, №2. – С. 90.
8. 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.
9. Моноклональные антитела в клинической радиационной иммунологии: Метод, рекомендации / В.Г. Бешко, А.А. Чумак, Д.А. Базыка, Н.В. Беляева. – Киев, 1993. – 15 с.
10. Неотложная терапия острых отравлений и эндотоксикозов: Справочник для врачей / Под ред. акад. РАМН, проф. Е.А. Лужникова. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2010. – 472 с.
11. Неотложная медицинская помощь пострадавшим при авариях и катастрофах / Г.А. Можаяв, В.Н. Заболотный, В.Н. Дьяконов, И.Р. Малыш. – Київ: Здоров'я, 1995. – 272 с.
12. Ніколенко В.Ю. Хвороби нервової системи в гірників і мунопатологія / В.Ю. Ніколенко. – Донецьк: Донеччина, 1999. – 288 с.
13. Ніколенко В. Ю. Острые производственные отравления в Донбассе / В. Ю. Ніколенко // *Вестник гигиены и эпидемиологии*. – 2001. – Т. 5, № 1. – С. 87-89.
14. Новиков Д.К. Клеточные методы иммунодиагностики / Д.К. Новиков, В.И. Новикова. – Минск: Беларусь, 1979. – 222 с.
15. Основні вегетативно-вестибулярні порушення при токсико-гіпоксичній енцефалопатії внаслідок гострого отруєння монооксидом вуглецю та метаном у гірників вугільних шахт / А.В. Игошина, В.Ю. Ніколенко, Г.В. Тищенко, О.Ю. Ніколенко // *Международный неврологический журнал*. – 2015. – Т.75, №5. – С. 143-148.
16. Посobie для медичинских работников МЧС / Под ред. Э.Я.Фистала, В.В.Черкесова. – Донецьк, 2016. – 350 с.
17. Профессиональная патология : национальное руководство / Под ред. Н.Ф.Измерова. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 784 с.
18. Справочник медицинские лабораторные технологии / Под ред. А. И. Карпищенко. – Санкт-Петербург: Интермедика, 2002. – Т. 2. – 600 с.
19. Delayed leukoencephalopathy after acute carbon monoxide intoxication / Geraldo A.F., Silva C., Neutel D. [и др.] // *J. Radiol. Case Rep*. – 2014. – Vol.8, N5. – PP. 1-8.
20. Statin-Induced Expression of CD59 on Vascular Endothelium in Hypoxia: a Potential Mechanism for the Anti-inflammatory Actions of Statins in Rheumatoid Arthritis / A. R. Kinderlerer, R. Steinberg, M. Johns [et al.] // *Arthritis Res. Ther*. – 2006. – Vol. 8, № 4. – P. 130.
21. The Correlation between Maternal Exposure to Air Pollution and the Risk of Orofacial Clefts in Infants: a Systematic Review and Meta-Analysis / A. Rao, M.K. Ahmed, P.J. Taub, J.S. Mamoun // *J. Oral. Maxillofac. Res*. – 2016 – Vol. 7, № 1. – PP. 103-108.
22. Xiang W.P. Delayed encephalopathy of acute carbon monoxide intoxication in rats: potential mechanism and intervention of dexamethasone / W.P. Xiang, H. Xue, B.J. Wang // *Pak. J. Pharm. Sci*. – 2014. – 6 Suppl. – PP. 2025-2028.