

УДК 616.-056.3-053.2:612.112.94

С.Ю. Терещенко, В.И. Прохоренков, И.А. Новицкий,
И.А. Ольховский, Н.А. Шакина, И.В. Исаков,
Л.В. Васильева, Е.Г. Нейман

СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЛИМФОЦИТОВ ПУПОВИННОЙ КРОВИ НОВОРОЖДЕННЫХ И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В КАЧЕСТВЕ ПРЕДИКТОРА ФОРМИРОВАНИЯ АТОПИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ДЕТЕЙ

НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН
(г. Красноярск),
Красноярский краевой центр по профилактике и
борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями,
Красноярская государственная медицинская
академия

Ключевые слова: иммунитет, атопия, внутриутробное развитие.

Изучение времени возникновения поляризации иммунного ответа в системе Т-хелперов и влияния такой поляризации на формирование ранних проявлений атопии у детей грудного возраста составляет важное направление в рамках фундаментальной аллергологии [6]. Период внутриутробного развития и грудной возраст, особенно первые шесть месяцев жизни, являются критическими для формирования стереотипов реагирования иммунной системы, в частности для нарушений, приводящих к избыточной продукции IgE в ответ на контакт с широко распространенными аллергенами (атопия).

Исследование пуповинной крови с целью выделения группы детей с высоким риском атопии используется в последнее время достаточно широко [3, 5]. В большинстве работ в качестве маркерного предиктора использованы уровни IgE и уровень цитокинов. Так, была выявлена взаимосвязь между сенсибилизацией матери и уровнями интерферона- γ (INF γ) и интерлейкина-13 в пуповинной крови ребенка [4]. Низкий уровень IgE в пуповинной крови был обнаружен у детей от многодетных матерей, повышение отношения интерлейкин-4/INF γ — у детей с семейным анамнезом по атопии [1]. Недавние работы показали вероятную возможность использования циркулирующих дендритных клеток для прогнозирования атопии по клеточному составу пуповинной крови [2]. Таким образом, исследование иммунного статуса пуповинной крови с целью оценки вероятности формирования атопического фенотипа представляется весьма актуальным, однако в проблеме больше «белых пятен», чем готовых решений, к тому же прогресс в этой области сдерживается недостатком данных о региональных особенностях субпопуляционного состава лимфоцитов новорожденных.

Известно, что однозначное фенотипическое маркирование Т-хелперов 1-го и 2-го типов затрудни-

тельно. Для этих целей рекомендуется использование комплекса поверхностных антигенов — кластеров дифференцировки (Th1-профиль: CD26, CCR5, CXCR3, Th2-профиль: CD30, CD62L, CCR3, CCR4). Показано, что маркеры лимфоцитов CD26 и CD30 достаточно четко отражают поляризацию Т-хелперного ответа и часто изменены при наличии атопического заболевания [7, 8]. Данных о содержании лимфоцитов CD26+ и CD30+ в пуповинной крови и их связи с атопией в доступной литературе мы не встретили.

Было обследовано 153 здоровых доношенных новорожденных, у которых внутриутробное развитие, роды и ранний период адаптации протекали физиологически. На всех детей была заполнена специально разработанная анкета (90 пунктов), включавшая данные семейного анамнеза по атопическим болезням, условиям проживания, течению беременности и родов, а также антропометрические данные на момент рождения. Методом проточной лазерной цитофлуориметрии определены следующие параметры общего иммунного статуса: абсолютное и относительное содержание лимфоцитов с различными поверхностными маркерами, уровни иммуноглобулинов А, G, М и Е. Анализ проведен на проточном цитофлуориметре FACSCalibur (Becton Dickinson, США).

Для верификации баланса Th1/Th2-активности использованы следующие маркеры: количественное содержание общего IgE в плазме крови, процентное содержание лимфоцитов CD26+ и CD30+ и их отношение, процентное содержание клеток, синтезирующих INF γ , после стимуляции фитогемагглютинином (раздельно для общей популяции и Т-хелперов). Оценка внутриклеточной продукции INF γ проводилась раздельно для лимфоцитов, имеющих и не имеющих маркер активации CD69+.

Результаты исследования основных параметров иммунитета представлены в таблице. При сравнении антропометрических данных с параметрами иммунограммы не выявлено связи с ростом, окружностью головы и грудной клетки новорожденного. Для веса ребенка обнаружена корреляционная связь с отношением CD26+/CD30+ — с увеличением веса при рождении это отношение несколько возрастало ($r=0,34$). Не было обнаружено и половых различий в составе лимфоцитов, за исключением большего содержания лимфоцитов CD8+ у мальчиков: мальчики — 19,5 (14–23)%, девочки — 15,5 (12–19)%.

Одним из наиболее значимых биологических дефектов для всей группы атопических болезней является атопия с характерными для нее особенностями фенотипа циркулирующих лимфоцитов в виде снижения количества клеток, проявляющих активность Th2, и увеличения клеток с активностью Th1. Однако до настоящего времени твердо не установлено, могут ли такие особенности формироваться внутриутробно либо они приобретаются (усугубляются) в постнатальном периоде.

Целью настоящего фрагмента исследования был анализ содержания отдельных субпопуляций лимфоцитов в пуповинной крови новорожденных в зависимости от наличия атопических проявлений у ближайших родственников, прежде всего у матери.

Уровень общего IgE плазмы пуповинной крови у обследованных нами детей колебался от 0 до 280 с медианой 3,35 МЕ/л. Была выявлена положительная корреляционная связь с абсолютной концентрацией IgE содержания лимфоцитов CD30+ и отрицательная корреляционная связь между этим показателем и соотношением CD26+/CD30+, а также с содержанием лимфоцитов CD26+. Связь с дискретными группами по уровню IgE обнаруживали параметры, напрямую отражающие состояние Th1/Th2-баланса — количество лимфоцитов CD30+ и CD26+. Оказалось, что у детей с уровнем общего IgE в плазме выше 3,80 МЕ/л по сравнению с детьми с уровнем IgE меньше 3,35 МЕ/л (медиана для нашей выборки) достоверно повышено содержание лимфоцитов CD30+ — 0,41 (0,25–0,50) и 0,24 (0,18–0,34)% соответственно, и снижено содержание лимфоцитов CD26+.

Данный факт, показывающий связь основного маркера атопии (IgE) и поверхностных маркеров лимфоцитов CD30+ и CD26+ для пуповинной крови новорожденных, ранее не описывался. Вероятно, у части детей сдвиг в балансе Th1/Th2-лимфоцитов происходит уже внутриутробно, приводя к повышенной продукции IgE. В то же время мы считаем, что определяющим и генетически запрограммированным является ослабление регулирующей функции Th1-лимфоцитов на процессы синтеза IgE, а выявленное нами у части детей повышение уровней общего IgE и лимфоцитов CD30+ является отражением внутриутробной сенсибилизации и формирования атопического фенотипа уже к моменту рождения.

Характерно, что анализ количества беременностей у матерей и иммунологических показателей пуповинной крови установил отрицательную корреляционную связь между числом беременностей и уровнем лимфоцитов CD30+ ($r = -0,32$), вероятно свидетельствующим о снижении функциональной активности Т-хелперов 2-го типа. Таким образом, предыдущие повторные беременности могут снижать атопическую направленность иммунитета к моменту рождения ребенка. Этот вывод согласуется с известными данными о меньшей распространенности атопии в слаборазвитых странах (с большим числом беременностей и родов у женщин) и меньшем риске атопических заболеваний у детей из многодетных семей.

Установлено, что у детей, имевших родственников первой (отец, мать) или второй (дедушка, бабушка) линии родства, страдавших атопическими заболеваниями (1-я группа — 32 ребенка), выявлено отчетливое снижение общей продукции INF γ по сравнению с детьми, не имевшими наследственной отягощенности по атопии (2-я группа — 62 ребенка).

Таблица

Общая структура показателей иммунограммы пуповинной крови новорожденных

Параметр	Кол-во проб	Медиана	Интерквартильный интервал (25–75%)
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	129	12,30	8,40–14,80
Лимфоциты, %	129	37,00	30,10–44,50
CD3+, %	127	58,00	51–66
CD4+/CD8+	127	2,16	1,88–3,00
CD19+, %	120	14,00	12,00–18,50
CD4+, %	127	41,00	34–48
CD8+, %	127	18,00	14–23
CD16+CD56+, %	116	27,00	14–34
CD26+, %	117	43,31	36,05–51,39
CD30+, %	104	0,22	0,14–0,35
CD26+/CD30+	102	179,70	111,9–349,6
CD69+INF+, %	95	0,44	0,20–0,69
CD69–INF+, %	95	0,15	0,05–0,31
CD4+CD69+INF+, %	95	0,75	0,41–1,58
CD4+CD69–INF+, %	94	0,00	0–0,33
IgA, г/л	88	0,19	0–0,25
IgM, г/л	122	0,29	0,07–0,58
IgG, г/л	104	10,64	9,15–13,36
IgE, МЕ/л	110	3,35	1,6–4,8
Фагоцитарный индекс	114	40,00	38–46
Фагоцитарное число	114	4,30	3,9–4,5

Содержание клеток, продуцирующих INF γ , в 1-й группе составило 0,76 (0,43–0,78)%, а во 2-й — 0,54 (0,32–0,68)%. Чрезвычайно показательной является и тенденция к снижению содержания лимфоцитов CD26+ у детей, родившихся от матерей с кожными аллергическими проявлениями в анамнезе. В отношении маркеров, характеризующих баланс в системе Th1/Th2, установлено четкое снижение количества лимфоцитов, проявляющих Th1-активность у детей от матерей с положительным анамнезом по аллергодерматозам. Процентное содержание лимфоцитов (как активированных, так и неактивированных), продуцирующих INF γ , было значительно снижено у детей от матерей, имевших кожные проявления атопии в анамнезе. Других изменений в показателях системы Th1/Th2-лимфоцитов пуповинной крови не выявлено.

У детей, матери которых имели контакт с домашними животными во время беременности, определено повышение уровня общего IgE в плазме крови и снижение отношения CD26+/CD30+, интегрально отражающего отношение Т-хелперов 1-го и 2-го типов. Таким образом, наличие эпидермальных аллергенов в окружающей среде беременной женщины

может способствовать внутриутробной сенсибилизации плода, выражающейся в повышении уровня IgE, вероятно, обусловленное изменением баланса уровня лимфоцитов Th1 и Th2 в сторону относительного преобладания активности Th2.

Нами не выявлено достоверных различий в субпопуляционном составе лимфоцитов пуповинной крови новорожденных в зависимости от таких факторов микроэкологии жилища беременной, как количество ковров, мягкой мебели, открытых стелажей для книг и цветов.

Анализ числа совместно проживающих с матерью ребенка лиц показал наличие положительной корреляционной связи с такими показателями, как процент Т-хелперов с наличием внутриклеточного синтеза INF γ ($r=0,47$), уровнем IgM плазмы ($r=0,27$) и фагоцитарным числом ($r=0,31$). Остальные показатели иммунограммы пуповинной крови с количеством совместно проживающих с матерью ребенка лиц не коррелировали. Наиболее вероятной причиной выявленных связей является большая частота переносимых матерью ребенка инфекционных заболеваний в семьях с большим числом совместно проживающих лиц, «приносящих» возбудителей в среду проживания беременной.

Однонаправленные тенденции в изменении указанных параметров иммунной системы ребенка однозначно свидетельствуют о стимуляции его иммунной системы инфекционными факторами, прежде всего вирусными, что полностью укладывается в русло «гигиенической гипотезы» о защитной роли не тяжелых инфекционных заболеваний в отношении atopических болезней через стимуляцию Th1-звена иммунитета и высокую продукцию INF γ . Принципиально важным является установленный нами факт модифицирующего Th1/Th2-баланс влияния инфекционных факторов на иммунную систему ребенка еще в период внутриутробного развития, что не было ранее описано в литературе.

Литература

1. Gabrielsson S., Soderlund A., Nilsson C. et al. // *Clin. Exp. Immunol.* — 2001. — Vol. 126, No. 3. — P. 390–396.
2. Hagendorens M.M., Ebo D.G., Schuerwegh A.J. et al. // *Clin. Exp. Allergy.* — 2003. — Vol. 33, No. 5. — P. 633–639.
3. Hsieh F.H., Lam B.K., Penrose J.F. et al. // *J. Exp. Med.* — 2001. — Vol. 193, No. 1. — P. 123–133.
4. Kopp M.V., Zehle C., Pichler J. et al. // *Clin. Exp. Allergy.* — 2001. — Vol. 31, No. 10. — P. 1536–1543.
5. Nilsson C., Larsson A.K., Hoglind A. et al. // *Clin. Exp. Allergy.* — 2004. — Vol. 34, No. 3. — P. 373–380.
6. Romagnani S., Parronchi P., D'elios M.M. et al. // *Int. Arch. Allergy Immunol.* — 1997. — Vol. 113, No. 1–3. — P. 153–156.
7. Schade R.P., Van Ieperen-Van Dijk A.G., Versluis C. et al. // *J. Allergy Immunol.* — 2002. — Vol. 109, No. 2. — P. 357–362.
8. Yamamoto J., Adachi Y., Onoue Y. et al. // *Allergy.* — 2000. — Vol. 55, No. 11. — P. 1011–1018.

Поступила в редакцию 26.04.2006.

SUBPOPULATION STRUCTURE OF THE LYMPHOCYTES OF THE UMBILICAL BLOOD OF NEWBORNS AND PROSPECTS OF ITS USE AS THE PREDICTOR OF ATOPIC DISEASES AT CHILDREN

S.Yu. Tereshchenko, V.I. Prohorenkov, I.A. Novitsky, I.A. Ol'hovsky, N.A. Shakina, I.V. Isakov, L.V. Vasil'eva, E.G. Neyman

Scientific research institute of medical problems of the North of the Siberian branch of the Russian Academy of Medical Science, Krasnoyarsk regional center of AIDS and infectious diseases prophylaxis, Krasnoyarsk state medical academy

Summary — 153 in term newborns underwent the analysis on immune parameters of the umbilical blood and questioning of mothers about the allergic anamnesis. The results of research show the stimulation of immune system of the child by infectious factors in the intra-uterine period. These facts correlate to the “hygienic hypothesis” about a protective role of mild infectious diseases in the atopical illnesses through the stimulation of the Th1 of immunity and high production of the γ -interferon.

Pacific Medical Journal, 2007, No. 3, p. 41–43.

УДК 616.14-005.6-085.273.53

В.С. Пашин, О.А. Киридон, А.П. Карабаш, Д.В. Родькин, С.В. Бояркин, А.А. Копырин

ОПТИМИЗАЦИЯ РЕЖИМА АНТИКОАГУЛЯНТНОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ С ТРОМБОЗОМ ГЛУБОКИХ ВЕН В УСЛОВИЯХ СТАЦИОНАРА

Сахалинская областная больница
(г. Южно-Сахалинск)

Ключевые слова: тромбоз, флебит, схемы лечения, антикоагулянты.

Болезни вен ног до сих пор остаются одной из ведущих причин утраты трудоспособности и инвалидизации. Тромбозы в системе глубоких вен ниж-

них конечностей представляют собой наиболее частую и тяжелую разновидность венозных тромбозов. Значительный диаметр этих магистральных сосудов делает возможным формирование в них эмболоопасного тромба больших размеров, а интенсивный поток крови создает условия для легкого его отрыва и тромбоэмболии легочной артерии. Заболевание нередко протекает бессимптомно и остается нераспознанным. В долговременной перспективе распространенный тромбоз глубоких вен ведет к формированию посттромбофлебитической болезни, проявляющейся хронической венозной недостаточностью вплоть до развития трофических язв нижних конечностей, что существенно снижает трудоспособность и качество жизни пациентов [4].

Комплекс лечебных мероприятий при тромбозе в системе глубоких вен нижних конечностей достаточно