

МАРКЕРЫ ИММУНОКОМПРОМЕТАЦИИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ КСЕНОБИОТИКОВ

Писарев В.М.^{1,2,3}, Тутельян А.В.^{2,4}, Хасанова Г.М.⁵

¹ФГБНУ Научно-исследовательский институт общей реаниматологии
им. В.А. Неговского, г. Москва, Россия,

²ФНКЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии,
г. Москва, Россия,

³Департамент хирургии Медицинского центра Университета Небраски,
г. Омаха, США,

⁴ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва,
Россия

⁵ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет,
г. Уфа, Россия.

Аннотация. В статье раскрываются иммунологические механизмы реагирования организма на воздействие ксенобиотических факторов внешней среды. Проводится анализ биомаркеров иммуотоксичности экотоксикантов. Предлагаются биомаркеры иммунокомпроментации врожденного и адаптивного иммунитета.

Ключевые слова: иммунитет, иммунокомпроментация, ксенобиотики, биомаркеры.

IMMUNOKOMPROMETACII MARKERS UNDER THE INFLUENCE OF XENOBIOTICS

Pisarev V.M.^{1,2,3}, Tutelyan A.V.^{2,4}, Khasanova G.M.⁵

¹Research Institute of General reanimatology them V.A. Negovskij,
Moscow, Russia,

²FNKC Pediatric Hematology, oncology and Immunology, Moscow, Russia,

³University of Nebraska Medical Center, Omaha, United States,

⁴FBUN Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor,
Moscow, Russia,

⁵Bashkir State Medical University, Ufa, Russia.

Annatation. The article reveals the immunological mechanisms of the organism's response to the influence of xenobiotic factors of the environment. The analysis of biomarkers of immunotoxicity of ecotoxicants is carried out.

Biomarkers of immunocompromentation of congenital and adaptive immunity are proposed.

Key words: immunity, immunocompromentation, xenobiotics, biomarkers.

Ксенобиотические факторы внешней среды могут изменять реактивность иммунной системы по отношению к другим воздействиям, постоянно существующим в нашем окружении (микробиота организма, вирусы, патогенные и условно-патогенные бактерии, природные или антропогенные химические соединения окружающей среды, а также фармакологические препараты). Эти изменения могут проявляться гиперреакциями клеточного и гуморального адаптивного иммунитета (гиперчувствительность по типу аллергических реакций, аутоиммунные нарушения, нарушения иммунорегуляции и провоспалительные реакции, предрасполагающие к развитию сахарного диабета, ревматоидного артрита, отложению атеросклеротических бляшек при кардиопатологии) или, наоборот, характеризоваться снижением функциональной активности клеток иммунной системы. В последнем случае наши системы врожденного и (или) адаптивного иммунитета становятся «скомпрометированными», т.е. несостоятельными для выполнения функций иммунной защиты организма от «чужого». Таким образом, иммунокомпрометация – состояние сниженной функциональной активности иммунной системы в результате иммунотоксического воздействия физических, химических, фармакологических, инфекционных факторов.

Факторы среды обитания, т.е. экологические факторы, в определенном диапазоне доз могут также быть иммунотоксикантами (экоиммунотоксикантами). Считается, что последние приводят к двум основным медицинским последствиям – увеличению риска развития инфекционных и заболеваний, прогрессированию роста опухолей. Однако, при кажущейся логичности таких выводов, четких доказательств этому в популяциях человека с использованием больших массивов данных до сих пор не получено. Это обусловлено чрезвычайной гетерогенностью реакций на экоиммунотоксиканты, в основе которой, по-видимому, лежат не только классические причины типа доза-эффект, но и генетические факторы. Мультигенные, генетически полиморфные факторы, лежащие в основе гетерогенности реакций на экоиммунотоксиканты, остаются практически неизученными, и представляют собой новую, перспективную область исследований экоиммуногенома.

Многие из экотоксикантов вызывают комплексные нарушения:

(а) системы врожденного (естественного) иммунитета - первой линии защиты от инфекционных возбудителей, не характеризующегося строгой специфичностью воздействия на патоген или индуцирующий стимул;

(б) системы адаптивного иммунитета - т.е. системы антиген-специфического реагирования, характеризующейся высокой специфичностью распознавания своих молекулярных мишеней – компонентов бактерий, вирусов, грибов, паразитов, чужеродных клеток (в т.ч. – многих

эмбриональных антигенов, мутантных белков, других белков, к которым утрачена или не приобретена иммунологическая толерантность). Признаками выраженных воздействий являются подавление костно-мозговых клеток-предшественников, атрофии тимуса, ингибция факторов комплемента, уменьшение содержания лизоцима в сыворотке крови, подавление цитотоксических Т клеток, снижение уровня CD4⁺ Т клеток, снижение активности естественных киллеров (ЕК клеток), нарушении функциональной активности антиген-представляющих клеток – макрофагов, дендритных клеток, снижении содержания В клеток и их продуктов – иммуноглобулинов, снижении уровня продукции цитокинов Т клетками.

Наиболее существенными последствиями воздействия иммунотоксикантов являются продолжительные, стойкие иммунологические нарушения (состояние иммунокомпрометации), обуславливающие увеличение вероятности хронических инфекций и частоты инфекционных заболеваний. В настоящее время считается, что периоды развития иммунной системы (внутриутробный и ранний постнатальный периоды) особенно чувствительны к воздействию экотоксикантов. Международной программой по химической безопасности (Проект Гармонизации), спонсированной Всемирной Организацией Здравоохранения, с 2009 г. предусматривается при проведении исследований химических соединений определять их иммунотоксическое воздействие на показатели адаптивного иммунитета (оценка зависимого от Т клеток иммунного ответа на антиген) и фенотип иммунокомпетентных клеток (иммуногистология, проточная цитофлуориметрия) развивающегося плода крыс. Последующие исследования позволили рекомендовать проведение оценки отдельных популяций иммунокомпетентных клеток с помощью многоцветовой проточной цитофлуориметрии [3, 4, 8, 11, 12, 13]. Исследования по определению транскриптома, характерного для клеток врожденного и адаптивного иммунитета (иммуотранскриптома) позволили установить, что из более чем 860 генов, повышенно экспрессированных в клетках иммунной системы, только 360 генов специфически экспрессируются исключительно в иммунокомпетентных клетках [10]. Такой профиль генной экспрессии предполагается использовать в культуре клеток периферической крови человека [14]. Представляется целесообразным исследовать экспрессию таких генов в иммуноаффинно выделенных популяций клеток иммунной системы (антиген-представляющих клетках, Т клетках, иммунорегуляторных клетках, функционально различных субпопуляциях Т клеток-помощников – Th1, Th2, Th17, Th23, Treg, миелоидных регуляторных клетках) при оценке иммунотоксического потенциала экотоксикантов (токсикогеномика иммунома).

Недавно прошедшее совещание международных экспертов по оценке иммунотоксичности экотоксикантов рекомендует начинать исследование иммунотоксичности с оценки ее потенциала - на основании данных

токсикологических исследований (есть ли признаки иммунотоксического потенциала), фармакологических свойств (есть ли потенциал иммуносупрессии на основании известных свойств препарата или соединения - например, при оценке веществ с противовоспалительными свойствами), иммунокомпрометирована ли уже та популяция людей, которая будет подвергаться воздействию вещества или принимать данный препарат, имеются ли структурные свойства с иммунотоксическими препаратами (целесообразно использовать биоинформатические алгоритмы при недостаточности сведений), может ли препарат (соединение) накапливаться в органах иммунной системы. При наличии данных об иммуностропности препарата (соединения) эксперты рекомендуют в обязательном порядке проверять соединения и препараты на способность подавлять активность естественных киллерных клеток в стандартных тестах с использованием клеток-мишеней [6]. Это даст возможность оценить потенциал онкогенного риска и увеличения риска развития вирусных заболеваний. Рекомендовано придавать большое значение оценке иммунотоксичности при развитии плода, при этом следует учитывать временные особенности развития иммунной системы у экспериментальных животных и человека (органогенез тимуса, время появления лимфоузлов, селезенки, CD4⁺ и CD8⁺ Т клеток в селезенке мышей, завершение формирования тимуса, экспрессии Т клеточных рецепторов на периферии [9].

Экспериментальные и клинические исследования иммунотоксичности экотоксикантов помогают определить, какие же именно показатели могут быть особенно информативными для использования в качестве биологических маркеров экоиммунотоксичности. Биологическими маркерами (биомаркерами) обычно называют показатели изменений, вызванных разными факторами в живых системах и проявляющихся на структурном, функциональном или количественном уровнях в виде молекулярных (биохимических), субклеточных или клеточных компонентов. В медицинской науке биомаркеры интересны прежде всего тем, что могут быть использованы для:

- (1) выявления ранних признаков болезни (диагностические маркеры),
- (2) предсказания течения и исхода заболевания (прогностические маркеры),
- (3) познания воздействий факторов среды на системы человека и реакций на эти воздействия – биомаркеры воздействия и биомаркеры реакции (эффекта),
- (4) понимания механизмов, лежащих в основе развития патологических процессов (патогенетически значимые биомаркеры).

Биомаркеры иммунотоксичности экотоксикантов относятся к более узкому спектру показателей – как правило, к показателям эффектов воздействий на иммунную систему. Таковые выявляются при постановке тестов на определение функциональной активности различных клеток иммунной системы, количественных параметров иммунитета. Нарушения Т

клеток и их субпопуляций в первую очередь сказывается на способности организма бороться с инфекционными заболеваниями, поэтому иммунологические дефекты на уровне Т клеток, вызванные острым или хроническим воздействием иммунотоксикантов может приводить к увеличению частоты инфекций, вызываемых условно патогенными микроорганизмами (бактериями, грибами, вирусами). Связано это не только с дефектами клеточного звена, но и с недоточностью гуморального, зависящего от Т клеток, В-клеточного ответа (антитела). Изолированные дефекты Т клеток предрасполагают к ограниченным и диссеминированным вирусным инфекциям (герпес, цитомегаловирус), грибковым поражениям (кандидоз), протозойным инфекциям (*Pneumocystis carinii*).

Простые наборы тестов позволяют выявлять бiomаркеры сниженного иммунитета. К ним относятся: определение уровня классов иммуноглобулинов, фагоцитарной активности (нейтрофилов и моноцитов периферической крови), продукция основных цитокинов, определяющих клеточные реакции иммунной системы (интерлейкин-2, интерлейкин-7, интерлейкин-1). Эти маркеры количественно определяются в условиях стимуляции клеток иммунной системы поликлональными активаторами – митогенами (конканавалин А, липополисахарид бактерий, фитогемагглютинин, В-клеточный митоген лаконоса). Однако даже простое содержание лимфоцитов в крови может быть показательным (ниже 1500 в 1 мм³) для первичного определения иммунокомпрометации, которое нуждается в подтверждении другими тестами.

Оценке адаптивного иммунитета придается особое внимание в иммунотоксикологии. Используются специфические реакции иммунитета – Т клеточный ответ на антигены в культуре клеток (иммуноферментные методы ELISA и определение частоты антиген-специфических клеток на антигены – ELISPOT) и кожные тесты (трихофитон, туберкулин, антигены *Candida*, дифтерийный и столбнячный анатоксины, гемоцианин улитки).

Содержание иммунокомпетентных клеток особенно важно при оценке воздействия экоиммунотоксикантов. Оценивается оно с помощью проточной цитофлуориметрии с использованием специфических антител. Однако значительная вариабельность показателей у одного и того же человека нередко снижает ценность данных методов, поэтому только неоднократные, повторные исследования экспрессии разных фенотипических маркеров (CD4, CD8, CD3, CD56, CD11c), позволяют более точно оценивать эффекты токсикантов внешней среды. В последнее время внимание привлекают и генерация иммунорегуляторных клеток (Т регуляторы, миелоидные регуляторные клетки) в ответ на различные воздействия при патологии человека. Впрочем, полноценных исследований эффектов экоиммунотоксикантов в этом направлении пока не проводилось.

Особый интерес вызывают исследования в группах людей, наиболее подверженных иммунокомпрометации – это люди, перенесшие тяжелые

состояния (критические состояния – тяжелый сепсис, септический шок, не проходящие бесследно для организма), длительные хирургические операции, большие после кровопотерь, а также постоянно принимающие фармакологические препараты, снижающие активность систем врожденного и адаптивного иммунитета. Предполагается, что эта популяция может быть наиболее чувствительна к иммунокомпрометации, вызываемой длительными воздействиями экологических иммунотоксикантов. Однако и в этом направлении полноценные исследования также пока отсутствуют.

Группы населения, профессионально связанные с воздействием экотоксикантов, тоже чрезвычайно перспективный объект для исследований с использованием биомаркеров иммунокомпрометации с целью прогноза заболеваемости и установлению закономерностей и механизмов развития и распространения инфекционных заболеваний. Так, в наших исследованиях, проведенных еще более 20 лет назад, было показано значение комплексного воздействия выхлопных газов дизельного двигателя на нарушения Т клеточного иммунитета, сопровождающимся снижением способности развивать антиген-специфические иммунные реакции [1]. При этом была выявлена различная выраженность развития иммунокомпрометации у животных разных генотипов, а также лиц с разными генотипами HLA-AB и HLA-DR, профессионально подверженных хроническому, многолетнему воздействию данной профессиональной вредности (шоферы дальних перевозок) [2]. Шоферы генотипов HLA-A2 и B5 обладали сниженным содержанием IgM и IgA. При этом наиболее часто признаки иммунокомпрометации (снижение пролиферативного ответа мононуклеаров крови на митогены, острые респираторные заболевания) встречались у шоферов генотипов HLA-B5 и HLA-DR5. Дальнейшие исследования подтвердили, что выхлопные газы дизельного двигателя являются выраженным иммунотоксикантом [7, 15].

Данные исследования являются лишь одним из примеров комплексного подхода к исследованиям экотоксикантов, вызывающих иммунокомпрометацию. Данный подход показывает, что информативность иммунологических показателей и генетически полиморфных биомаркеров может быть достаточно высока для дальнейших трансляционных разработок в области прогнозирования и оценки риска инфекционной (а возможно и онкологической) заболеваемости в популяции вследствие иммунокомпрометации.

Список литературы

1. Баймуканова Г.К. и соавт. Оценка хронического действия выхлопных газов дизельного двигателя на развитие иммунного ответа у животных // Гигиена и санитария – 1993. №3. - С. 10-12.
2. Певницкий Л.А. и соавт. Экологический иммунодефицит: иммунологические аспекты его развития и коррекции // Вестник РАМН - 1994. №4. - С. 20-28.

3. Хасанова Г.М., Янгуразова З.А. Токсичные и эссенциальные микроэлементы в организме человека крупного промышленного города // Экология урбанизированных территорий - 2007. - №3. - С. 28-30.
4. Хасанова Г.М., Тутельян А.В., Валишин Д.А., Шайхуллина Л.Р., Хасанова А.Н. Содержание микроэлементов в плазме крови при геморрагической лихорадке с почечным синдромом у рабочих промышленных предприятий города Уфы // Вестник Башкирского государственного медицинского университета - 2013. - №4. - С. 80-85.
5. Barnett J.B., Brundage K.M. Evaluating macrophages in immunotoxicity testing. // Methods Mol Biol. – 2010. №598. - P. 75-94.
6. Boverhof D.R., Ladics G., Luebke B., Botham J., Corsini E., Evans E., Germolec D., Holsapple M., Loveless S.E., Lu H., van der Laan J.W., White K.L. Jr, Yang Y. Approaches and considerations for the assessment of immunotoxicity for environmental chemicals: a workshop summary // Regul Toxicol Pharmacol. – 2014. №68(1). - P. 96-107.
7. Burchiel S.W., Lauer F.T., McDonald J.D., Reed M.D. Systemic immunotoxicity in AJ mice following 6-month whole body inhalation exposure to diesel exhaust // Toxicol Appl Pharmacol. - 2004; 196(3). - P. 337-345.
8. Corsini E., House R.V. Evaluating cytokines in immunotoxicity testing // Methods Mol Biol. – 2010. №598. - P. 283-302.
9. Hessel E.V., Tonk E.C., Bos P.M., van Loveren H., Piersma A.H. Developmental immunotoxicity of chemicals in rodents and its possible regulatory impact // Crit Rev Toxicol. – 2015. №45(1). - P. 68-82.
10. Hutton J.J., Jegga A.G., Kong S., Gupta A., Ebert C., Williams S., Katz J.D., Aronow B.J. Microarray and comparative genomics-based identification of genes and gene regulatory regions of the mouse immune system // BMC Genomics. – 2004. №5. - P. 82.
11. Gao D., Lawrence D.A. Dendritic cells in immunotoxicity testing // Methods Mol Biol. – 2010. №598. - P. 259-281.
12. Nagarkatti M., Rieder S.A., Vakharia D., Nagarkatti P.S. Evaluation of apoptosis in immunotoxicity testing // Methods Mol Biol. – 2010. №598. - P. 241-257.
13. Li Q. NK cell assays in immunotoxicity testing // Methods Mol Biol. – 2010. №598. - P. 207-219.
14. Luebke R.W., Holsapple M.P., Ladics G.S., Luster M.I., Selgrade M., Smialowicz R.J., Woolhiser M.R., Germolec D.R. Immunotoxicogenomics: the potential of genomics technology in the immunotoxicity risk assessment process // Toxicol Sci. - 2006; 94(1). - P. 22-27.
15. Nilsen A., Trønnes T., Westerholm R., Rannug U., Nilsen O.G., Helleberg H., Kautiainen A., Hedenskog M., Törnqvist M. Short-term exposure of rodents to diesel exhausts: usefulness for studies of genotoxic and immunotoxic effects // Chem Biol Interact. – 1999; 118(1). - P. 19-38.

© Писарев В.М., Тутельян А.В., Хасанова Г.М., 2018.