

УДК 616-092.19:616.153.96-097.5

## ОЦЕНКА ИММУННОГО СТАТУСА В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

*Тис А.А., Мороз В.Л., Горецкая М.В., Шейбак В.М.*

Гродненский государственный медицинский университет

Оценка иммунного статуса в норме чаще всего проводится с целью определения нормативных показателей иммунной системы, установления их региональных норм, изучения влияния на иммунный статус человека различных антропогенных факторов. Рост заболеваемости, в основном, связан с нарушениями в иммунной системе. Кроме того, она может быть своеобразным индикатором действия или наличия в регионе экологически неблагоприятных факторов. Оценка иммунного статуса при той или иной патологии проводится с целью идентификации нарушенного звена иммунной системы при первичных или вторичных иммунопатологических состояниях, т.е. при заболеваниях самой иммунной системы, а также с целью выявления изменений последней под влиянием патологического процесса в тканях и органах [4, 5, 7]. Очевидно, что идентификация нарушенного звена иммунитета позволяет подтвердить (или отклонить) клинический диагноз, а также правильно выбрать соответствующие методы лечения. Следовательно, оценка иммунного статуса при различных патологических состояниях проводится с целью диагностики, лечения и, возможно, профилактики данного заболевания. По результатам иммунологического исследования можно поставить предварительный диагноз и предположительно определить уровень повреждения иммунной системы. Например, частые бактериальные инфекции чаще всего являются результатом дефекта в гуморальном звене иммунитета, тогда как вирусные и грибковые инфекции чаще свидетельствуют о преимущественных нарушениях в Т-системе иммунитета. По чувствительности организма к различным патогенным микроорганизмам можно судить об изменениях биосинтеза иммуноглобулина класса G и его субклассов (особенно IgG<sub>1</sub> и IgG<sub>2</sub>), о дефектах в системе комплемента, фагоцитоза и т.д. В ряде случаев это может быть результатом не количественного или качественного дефекта какого-то компонента или комплекса компонентов иммунной системы, а нарушения взаимосвязи между этими компонентами и, как следствие этого, ухудшения функционирования иммунной системы в целом. Для

многих пациентов с хроническими инфекционными заболеваниями характерен именно такой тип нарушений в иммунной системе, так как у них, как правило, не выявляется резких сдвигов, а обнаруживаемые изменения (как повышения, так и понижения параметров иммунной системы) могут быть не причиной, а следствием [6].

Оценка иммунного статуса человека - важнейшее направление клинической иммунологии, во многом зависит от разработки новых доступных методов анализа иммунокомпетентных клеток и продуктов их функционирования. Анализ иммунокомпетентных клеток крови может дать представление об общем физиологическом состоянии иммунной системы в данный момент времени. Секреты и смывы со слизистой поверхности могут служить материалом для оценки местного иммунитета.

Наибольшее значение иммунодиагностика имеет для установления клинического диагноза иммунодефицита. Различают 2 вида иммунодефицита: 1) первичный (врожденный); 2) вторичный (приобретенный). Первичный иммунодефицит подразумевает наличие генетического дефекта среди основных компонентов иммунной защиты организма от инфекции: комплемента, фагоцитоза, Т- и В-системы иммунитета. Среди вторичных иммунодефицитов выделены три формы: приобретенная, индуцированная и спонтанная. Примером приобретенной формы является поражение иммунной системы вирусом иммунодефицита человека. Индуцированную форму вызывают конкретные причины: рентгеновское излучение, цитостатическая терапия, применение кортикостероидов, травмы и хирургические вмешательства, а также нарушения иммунитета, развивающиеся вторично по отношению к основному заболеванию (диабет, злокачественные новообразования, заболевание печени, почек). Спонтанная форма характеризуется отсутствием явной причины, обуславливает нарушение иммунной реактивности. Клинически она проявляется в виде хронических, часто рецидивирующих инфекционно-воспалительных процессов бронхолегочного аппарата, придаточных пазух носа, уроге-

нитального и желудочно-кишечного тракта, вызванных оппортунистическими (условно-патогенными) микроорганизмами [3]. Иммунодиагностика при первичном и вторичном иммунодефицитах имеет основное и решающее значение для постановки окончательного клинического диагноза.

Первая стройная методология оценки иммунной системы создана в 1984 году академиком РАМН Р.В. Петровым. Все методы иммунодиагностики были разделены на уровни 1-го и 2-го порядка. Первые предназначаются для выявления грубых поломок в иммунной системе, вторые – для установления механизма этой поломки [7].

На первом этапе выявляются грубые дефекты иммунитета с помощью ориентировочных тестов (тесты **первого уровня**):

- **Определение общего количества лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови.**

- **Определение Т-лимфоцитов** методом Е-РОК и **В-лимфоцитов** – ЭМ-РОК или ЕАС-РОК в периферической крови.

- **Определение фагоцитарной активности лейкоцитов:** определение абсолютного числа нейтрофилов и моноцитов; интенсивности поглощения микробов нейтрофилами и моноцитами; способности фагоцитов убивать микроорганизмы. Способность к фагоцитозу – одна из основных функций лейкоцитов, поэтому ее оценка широко применяется для анализа их функциональной активности. Фагоцитарная активность нейтрофилов обычно повышается в начале развития воспалительного процесса. Снижение фагоцитарной активности нейтрофилов ведет к хронизации воспалительного процесса и поддержанию аутоиммунного процесса, так как при этом нарушается функция разрушения и выведения иммунных комплексов из организма. Данные показатели являются отражением степени токсического угнетения функции иммунокомпетентных клеток, циркулирующих в кровотоке, отражением общей интоксикации организма в течение воспалительного процесса. Основной функцией нейтрофила и моноцита являются киллинг и разрушение микроба, т.е. заверченный фагоцитоз. Для оценки киллинга используют определение образования активных форм кислорода в процессе фагоцитоза. Восстановление нитросинего тетразолия (НСТ-тест) свидетельствует об образовании супероксидного радикала. Имеет диагностическое значение при гнойно-бактериальных заболеваниях: сепсис, абсцессы, лимфаденит, острая и хроническая пневмония, рак легкого и другие злокачественные опухоли, грибковые, паразитарные заболевания, вирусный гепатит (разгар болезни), обтураци-

онная желтуха, остеомиелит.

- **Определение концентрации сывороточных IgG, IgA, IgM** по методу Манчини.

- Повышенное содержание IgA в сыворотке крови наблюдается при заболеваниях: хронические заболевания печени (инфекционный гепатит, цирроз), подострые и хронические инфекции (туберкулез, грибковые заболевания), аутоиммунные заболевания (системная красная волчанка, ревматоидный артрит), инфекционный мононуклеоз, муковисцидоз, рак молочной железы. Количество IgA снижено при: приобретенных и врожденных синдромах с дефицитом образования антител (комбинированные иммунодефицитные заболевания), гастроэнтеропатии с потерей белка, обширные термические ожоги, иммунодепрессивная терапия, поздние сроки беременности.

- Повышенное содержание IgG в сыворотке крови наблюдается при: хронических заболеваниях печени, подострых и хронических инфекциях, коллагенозах, муковисцидозе, инфекционном мононуклеозе, синдроме Шегрена, восстановительной фазе ожоговой болезни. Снижено количество IgG при: иммунодефицитных состояниях, гастроэнтеропатиях с потерей белка, нефротическом синдроме, потере белка через кожу (ожоги, пузырчатка), дистрофической миотонии, иммуносупрессивной терапии, поздних сроках беременности.

- Повышенное содержание IgM в сыворотке крови наблюдается при: подострых и хронических инфекциях, заболеваниях печени, коллагенозах, лимфосаркоме, врожденной краснухе, сифилисе, токсоплазмозе, муковисцидозе, героиновой наркомании. Снижено количество IgM при: иммунодефицитных состояниях, синдроме Уоскотта-Олдрича, агаммаглобулинемии Брутона, гастроэнтеропатии с потерей белка, обширных ожогах, проведении иммуносупрессивной терапии, беременности.

- **Определение циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК)** в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА). Имеет значение для контроля лечения, оценки активности процесса и прогноза аутоиммунных заболеваний: ревматоидный полиартрит, системная красная волчанка, склеродермия, острый гломерулонефрит, геморрагический васкулит, наследственная микросфероцитарная анемия, идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура, рак легкого, рак молочной железы, хронический лимфолейкоз. У больных с предопухолевыми заболеваниями выявляются ЦИК в 21-25% случаев, при наличии опухолей – в 58-76%, при метастазах в печень более чем в 75%, бронхиальной астме, инфаркте миокарда, вирус-

ном гепатите.

· **Определение гемолитической активности комплемента.** Комплементарная активность сыворотки является объективным показателем иммунологической реактивности организма, принимает активное участие в защите организма от инфекции. Любой воспалительный процесс при адекватном иммунном ответе сопровождается повышением уровня комплемента. Дефицит комплемента способствует накоплению иммунных комплексов, хронизации воспалительного процесса. Снижение уровня общей гемолитической активности (СН50) может наблюдаться как вторичное состояние при инфекционных заболеваниях бактериального и вирусного характера, гнойно-септических процессах, системной красной волчанке, ревматоидном васкулите, ревматической полимиалгии, бактериальном эндокардите, смешанной криоглобулинемии, гломерулонефрите, тяжелых энтеропатиях с потерей белка, первичном билиарном циррозе печени.

Тесты **второго уровня** обозначают как аналитические, позволяющие оценить функциональную активность Т-, В-лимфоцитов, НК-клеток, вспомогательных клеток и фагоцитов [5-7]:

· **Анализ поверхностных маркеров мононуклеарных клеток** с помощью моноклональных антител, взаимодействующих с основными антигенами мононуклеарных клеток. Фенотипирование лимфоцитов и их субпопуляции определяют с помощью диагностикомов: фиксированных частиц, покрытых моноклональными антителами. Этот тест применяется для оценки иммунного статуса с целью постановки диагноза, контроля и оценки эффективности терапии при иммунодефицитных состояниях и различных видах иммунопатологии. С помощью CD3 – определяют Т-лимфоциты, CD4 – Т-хелперы, CD8 – Т-супрессоры и цитотоксические лимфоциты, CD16 – естественные киллеры, CD20 – В-лимфоциты, CD25 – активированные Т- и В-лимфоциты.

· **Анализ пролиферативного ответа мононуклеарных клеток** на Т- и В-митогены и специфические антигены. Судят по реакции бласттрансформации лимфоцитов, выполняемой с использованием митогенов – фитогемагглютинаина (ФГА) и конканавалина А (ConA) – при оценке пролиферативной активности Т-лимфоцитов, липополисахарида (ЛПС) – при оценке В-лимфоцитов. Кооперативные процессы между Т- и В-лимфоцитами оценивают по стимуляции на митоген лаконоса.

Заключение об иммунном статусе пациента можно сделать только при иммунологическом об-

следовании его в стадии ремиссии заболевания (как практически здорового). Иммунологическое обследование должно быть комплексным и проводиться не менее двух-трех раз с интервалом 5-7 суток. Оценка иммунограммы может быть сделана с учетом клинической картины заболевания у данного пациента. Иммунограмма, «оторванная» от клинической картины, теряет всякий смысл. Анализ иммунограмм, выполненных в динамике обследования, всегда более информативен в диагностическом и в прогностическом отношении, нежели оценка однократно полученной иммунограммы.

Развитие иммунодиагностики предполагается в следующих направлениях.

Оценка цитокинового статуса, уровня ключевых цитокинов иммунной системы организма.

Цитокины, уровень которых изменяется при наличии инфекционного процесса: ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-18,  $\gamma$ -интерферон. Указанные группы цитокинов определяют направление дифференцировки Т-хелперов соответственно в Th-1 и Th2-клетки. Интенсивность развития воспалительного процесса зависит от концентрации фактора некроза опухоли- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8.

Оценка цитокинового статуса должна включать:

- определение количества цитокинов в супернатанте активированных культур лимфоцитов или в биологических жидкостях;
- определение содержания цитокинов внутри клетки, особенно  $\gamma$ -ИНФ и ИЛ-4, как маркеров Th1- и Th2-клеток, соответственно;
- определение на поверхности клетки-мишени рецепторов для соответствующего цитокина, ответственного за передачу сигнала с поверхности клетки к ядру;
- идентификация сигнальных молекул, осуществляющих передачу сигнала от рецептора к ядру, что ведет к активации клетки и повышению ее функциональной активности.

Оценка цитокиновой системы является сложным многоэтапным процессом, включающим методы как классической клинической иммунологии, так и молекулярной биологии.

Оценка гуморальных и клеточных факторов местного иммунитета.

Слизистые оболочки являются входными воротами для большинства инфекций, и от функциональной активности иммунокомпетентных клеток в значительной степени зависит развитие инфекционного процесса [2]. Анализ факторов местного иммунитета дает больше информации об этиопатогенезе заболеваний. На модели иммунокомпетентных клеток слизистых дыхательного и желудочно-ки-

шечного тракта получены определенные представления о частичной автономности и обособленности местного иммунитета. Основным механизмом местного иммунитета при этом является продукция секреторной формы IgA (sIgA), регуляция синтеза которого осуществляется иммунокомпетентными клетками, локализованными в секреторных органах. Кроме того, особенностью местного иммунитета является наличие уникального для каждого органа набора клеточных популяций, продуцирующих определенный спектр цитокинов. Взаимоотношение системного и регионального иммунитета – главный вопрос современной теории иммунологической сети второй генерации, авторами которой являются P. Varela и A. Coutinho. Согласно этой теории, элементарный (единичный) клон иммунокомпетентных клеток динамически связан со многими другими элементами (клонами). Каждый такой элемент ведет себя строго в соответствии со своим локальным окружением, однако из-за того, что вся система представляет собой сетевую структуру, имеет место глобальная кооперация, которая под воздействием внешних и внутренних импульсов приводит к спонтанному переходу всей системы в новое состояние. Переход от локальных (региональных) закономерностей к глобальным составляет сущность теории иммунологической сети [1].

В ЦНИЛе Гродненского государственного медицинского университета сотрудниками лаборатории «Иммунобиологии и прогнозирования развития патологических состояний» используется описанная выше оценка иммунного статуса человека. В экспериментальной работе проводятся исследования иммунного статуса животных в различных модельных ситуациях, включающие:

1. Определение общего количества лейкоцитов и лимфоцитов в крови.
2. Оценка фагоцитоза.
3. Определение количества В-лимфоцитов.
4. Определение антителообразующих клеток в селезенке по методу Cunningham.
5. Определение циркулирующих иммунных комплексов.

К тестам второго уровня, проведение которых возможно на базе ЦНИЛа, относятся:

1. Реакция непрямой иммунофлюоресценции с моноклональными антителами ИКО-101, с помощью которых определяют Т-хелперы, ИКО-109 -

определяют мономорфную детерминанту антигена II класса системы гистосовместимости крыс (RT-IA), присутствующую на В-лимфоцитах, на активированных Т-лимфоцитах и на 30% моноцитов.

2. Реакция бласттрансформации лимфоцитов:
  - тимуса,
  - селезенки,
  - крови.
3. Цитотоксическая активность макрофагов:
  - перитонеальной жидкости,
  - селезенки.

В лаборатории проводятся также опыты *in vitro* с клиническим и экспериментальным материалом для тестирования новых препаратов при оценке их влияния на иммунокомпетентные клетки крови, перитонеальной жидкости, клетки тимуса и селезенки с целью выявления оптимальных концентраций в диапазоне заданных доз.

Таким образом, лаборатория «Иммунобиологии и прогнозирования развития патологических состояний» проводит комплексную оценку иммунного статуса организма в норме и патологии, в эксперименте и с использованием клинического материала. Сотрудники лаборатории готовы к взаимовыгодному сотрудничеству с другими подразделениями университета и других учреждений, заинтересованными в развитии иммунологических исследований.

#### Литература

1. Алексанян Ю.Т., Арутюнян В.М., Давтян Т.К., Акопян Г.С. Роль суперантигенов в регуляции воспаления и местного иммунитета при периодической болезни // Иммунология – 1999. - №2. – С.9-13.
2. Гельберг И.С., Шейбак В.М., Мороз В.Л., Кузнецов О.Е. Опыт типирования клеток лаважной жидкости // Медицинская панорама. – 2002. - №8. - С.30.
3. Ильина Н.И., Латышева Т.В., Пинегин Б.В., Сетдикова Н.Х. Синдром вторичной иммунной недостаточности (протоколы диагностики и лечения) // Иммунология – 2000. - №5. – С.8-9.
4. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунограмма в клинической практике. – М.: Наука, 1990. – 224 с.
5. Новиков Д.К., Новикова В.И. Оценка иммунного статуса. - М. Витебский медицинский институт, 1996. - 282 с.
6. Новиков Д.К., Сергеев Ю.В. Иммунодиагностика: неиспользуемые возможности и достоверность получаемой информации. //Иммунология Аллергология Инфектология. - 1999. - № 1. - С. 8-14.
7. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Оценка иммунного статуса человека в норме и при патологии // Иммунология. – 2001. - №4 – С.4-6.