

Клинико-экспериментальные исследования иммуновоспалительных механизмов формирования антракосиликоза¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний», ул.

Кутузова, 23, Новокузнецк, Россия, 654041;

²Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей — филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, пр-т Строителей, 5, Новокузнецк, Россия, 654005

Введение. В структуре профессиональных заболеваний работников основных профессий угольной промышленности широко распространены болезни органов дыхания, в процессе формирования которых ключевая роль принадлежит иммунной системе организма. Ранние проявления развития профессиональной патологии, как правило, остаются незамеченными, в связи с чем возникает необходимость изучения патогенетических механизмов, лежащих в основе ее формирования, не только в клинических, но и в экспериментальных условиях, позволяющих оценить преморбидное состояние организма для своевременной диагностики и проведения лечебно-профилактических мероприятий.

Цель исследования — на основе клинических и экспериментальных исследований изучить иммуновоспалительные механизмы формирования антракосиликоза.

Материалы и методы. Обследованы 204 шахтера, работающих в подземных условиях со значительной запыленностью рабочих мест, превышающей предельно допустимую концентрацию в 10 и более раз. Основную группу составили 115 рабочих с ранее установленным диагнозом «антракосиликоз». Группа сравнения была сформирована из 89 шахтеров без установленного диагноза патологии органов дыхания, работающих в аналогичных санитарно-гигиенических условиях. Для оценки динамики иммуновоспалительных механизмов в эксперименте проводили моделирование пылевой патологии легких на 310 белых лабораторных крысах-самцах (220 — опытные и 90 — контрольные).

Результаты. У больных антракосиликозом выявлено развитие иммунной несостоятельности механизмов гуморального звена иммунитета, проявившейся значительным снижением уровня сывороточного IgG на фоне повышения абсолютного и относительного количества В-лимфоцитов. Формирование антракосиликоза характеризуется активным развитием иммуновоспалительного процесса (повышение уровня провоспалительных цитокинов и белков острой фазы воспаления), выраженность которого усиливается при осложнении заболевания дыхательной недостаточностью. Активация синтеза противовоспалительного IL-4, являющегося мощным ингибитором макрофагального воспаления и замедляющего процессы фибрирования в бронхолегочной системе, выступает в качестве защитного механизма, препятствующего формированию дыхательной недостаточности у шахтеров с антракосиликозом.

Экспериментальное моделирование антракосиликоза позволило выявить фазовые изменения в иммунном ответе. В ранний период воздействия пылевого фактора наблюдалась активация гуморального звена (повышение уровня всех классов иммуноглобулинов) с последующим развитием воспалительного процесса (повышение концентрации белков острой фазы воспаления) на фоне баланса между субпопуляциями Т-лимфоцитов, обеспечивающего полноценное развитие защитного иммунного ответа. Длительное поступление антигена характеризовалось нарушениями гуморального иммунитета, преобладанием реакций клеточного типа и хронизацией воспалительного процесса.

Выводы. Изучение в клиничко-экспериментальных условиях иммуновоспалительных механизмов формирования антракосиликоза свидетельствует об активации срочной адаптации и поддержании компенсаторно-приспособительных реакций организма в ранний период контакта с пылевым антигеном. Хроническая форма антракосиликоза характеризуется дисбалансом регуляторных механизмов, неэффективностью местного иммунитета и интенсивным развитием генерализованного иммунного воспаления, нарастающего при присоединении инфекции и осложнении дыхательной недостаточностью.

Ключевые слова: клиничко-экспериментальные исследования; иммуновоспалительные механизмы; антракосиликоз

Для цитирования: Панев Н.И., Казицкая А.С., Коротенко О.Ю., Герасимова Г.А., Морозова О.А., Кунгурова С.О. Клиничко-экспериментальные исследования иммуновоспалительных механизмов формирования антракосиликоза. *Мед. труда и пром. экол.* 2020; 60(6). <http://dx.doi.org/10.31089/1026-9428-2020-60-6-364-370>

Для корреспонденции: Панев Николай Иванович, начальник научно-клинического отдела медицины труда ФГБНУ «НИИ КПППЗ», канд. мед. наук. E-mail: panevni@gmail.com

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Дата поступления: 30.04.2020 / Дата принятия к печати: 14.05.2020 / Дата публикации: 06.2020

Nikolay I. Panev¹, Anastasiya S. Kazitskaya¹, Olga Yu. Korotenko¹, Galina A. Gerasimova¹, Olga A. Morozova², Sofya O. Kungurova¹

Clinical and experimental studies of immuno-inflammatory mechanisms of anthracosilicosis formation

¹Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, 23, Kutuzova Str., Novokuznetsk, Russia, 654041;

²Novokuznetsk State Institute for Further Training of Physicians — Branch Campus of the “Russian Medical Academy of Continuous Professional Education” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 5, Stroiteley Ave., Novokuznetsk, Russia, 654005

Introduction. In the structure of occupational diseases of employees of the main professions of the coal industry, respiratory diseases are widespread, in the process of formation of which the key role belongs to the immune system of the body. Early manifestations of the development of professional pathology, as a rule, remain unnoticed, and therefore there is a need to study the pathogenetic mechanisms underlying its formation, not only in clinical, but also in experimental conditions, allowing to assess the premorbid state of the body for timely diagnosis and treatment and prevention.

The aim of the study is to study the immune-inflammatory mechanisms of anthracosilicosis formation on the basis of clinical and experimental studies.

Materials and methods. We examined 204 miners working in underground conditions with a significant dustiness of workplaces exceeding the maximum permissible concentration by 10 or more times. The main group consisted of 115 workers with a previously established diagnosis of “anthracosilicosis”. The comparison group was formed from 89 miners without a diagnosis of respiratory pathology, working in similar sanitary conditions. To assess the dynamics of immuno-inflammatory mechanisms in the experiment, modeling of dust pathology of the lungs was performed on 310 white male laboratory rats (220-experimental and 90 — control).

Results. In patients with anthracosilicosis, the development of immune failure of humoral immunity mechanisms was revealed, which was manifested by a significant decrease in the level of serum IgG against the background of an increase in the absolute and relative number of B-lymphocytes. The formation of anthracosilicosis is characterized by the active development of the immuno-inflammatory process (an increase in the level of pro-inflammatory cytokines and proteins of the acute phase of inflammation), the severity of which increases when the disease is complicated by respiratory failure. Activation of the synthesis of anti-inflammatory IL-4, which is a powerful inhibitor of macrophage inflammation and slows down the processes of fibrosis in the bronchopulmonary system, acts as a protective mechanism that prevents the formation of respiratory failure in miners with anthracosilicosis.

Experimental modeling of anthracosilicosis revealed phase changes in the immune response. In the early period of exposure to dust factor was observed activation of humoral (increased level of all classes of immunoglobulins) and the subsequent development of the inflammatory process (increased concentrations of acute phase proteins of inflammation) in the background of the balance between subpopulations of T-lymphocytes to ensure proper development of protective immune response. Long-term intake of antigen was characterized by violations of humoral immunity, the predominance of cell-type reactions and the chronization of the inflammatory process.

Conclusions. The study of immuno-inflammatory mechanisms of anthracosilicosis formation in clinical and experimental conditions indicates the activation of urgent adaptation and maintenance of compensatory and adaptive reactions of the body in the early period of contact with dust antigen. The chronic form of anthracosilicosis is characterized by an imbalance of regulatory mechanisms, inefficiency of local immunity and the intensive development of generalized immune inflammation, which increases with the addition of infection and complication of respiratory failure.

Keywords: clinical and experimental studies; immuno-inflammatory mechanisms; anthracosilicosis

For citation: Panev N.I., Kazitskaya A.S., Korotenko O.Yu., Gerasimova G.A., Morozova O.A., Kungurova S.O. Clinical and experimental studies of immuno-inflammatory mechanisms of anthracosilicosis formation. *Med. truda i prom. ekol.* 2020; 60(6). <http://dx.doi.org/10.31089/1026-9428-2020-60-6-364-370>

For correspondence: Nikolay I. Panev, head of the scientific and clinical department of occupational medicine of the Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, Cand. of Sci. (Med.). E-mail: panevni@gmail.com

ORCIDs: Panev N.I. 0000-0001-5775-2615, Kazitskaya A.S. 0000-0001-8292-4810, Korotenko O.Yu. 0000-0001-7158-4988, Kungurova S.O. 0000-0002-9737-971X

Funding. The study had no funding.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Received: 30.04.2020 / Accepted: 14.06.2020 / Published: 06.2020

Введение. Приоритетным направлением фундаментальных исследований медицины труда является изучение патогенетических механизмов развития профессиональной и производственно обусловленной патологии [1,2].

Одной из ведущих нозологических форм профессиональных заболеваний являются болезни органов дыхания, составляющие, по данным Государственного доклада Роспотребнадзора, около 25% от общего числа вновь регистрируемых случаев. Работники угольной промышленности наиболее подвержены развитию пылевой патологии легких в виде антракосиликоза, хронического профессионального бронхита, хронической обструктивной болезни легких от воздействия промышленных аэрозолей и фиброгенных пылей [3-5].

Влияние на здоровье рабочих вредных производственных веществ в сочетании с воздействием экологических, нервно-эмоциональных и социальных факторов приводит к ослаблению и срыву адаптационных механизмов, нарушению иммунологической реактивности [6,7].

Понимание иммунологических механизмов формирования профессиональных и производственно обусловлен-

ных заболеваний дает возможность управлять процессами иммунной защиты и позволяет использовать выявленные закономерности иммунного ответа для разработки эффективных лечебно-профилактических мероприятий.

Ранние формы профессиональной патологии, как правило, остаются клинически не заметными, в связи с чем возникает необходимость изучения патогенетических механизмов, лежащих в основе ее формирования, не только в клинических условиях, но и в эксперименте.

Использование экспериментальных моделей, приближенных к производственным условиям, позволяет изучить динамику развития патологического процесса с момента воздействия на организм вредного фактора.

Цель исследования — на основе клинико-экспериментальных исследований изучить иммуновоспалительные механизмы формирования антракосиликоза.

Материалы и методы. В клинике Научно-исследовательского института комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний (НИИ КППГЗ) были обследованы 204 шахтера, работающие в подземных условиях со значительной запыленностью рабочих мест, превышающей

ПДК в 10 и более раз. Основную группу составили 115 шахтеров с ранее установленным диагнозом «антракосиликоз» (АС), из них 78 человек имели осложнение в виде дыхательной недостаточности (ДН). Группа сравнения была сформирована из 89 шахтеров, работающих в тех же санитарно-гигиенических условиях, без установленного диагноза патологии органов дыхания. Исследуемые группы статистически не различались между собой по возрасту и стажу работы в пылевых условиях. У всех лиц проведено обследование органов дыхания и диагностика иммунологических показателей. Обследование пациентов соответствовало этическим стандартам биоэтического комитета НИИ КППЗ, разработанным в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2013 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003. Все обследованные лица дали информированное согласие на участие в исследовании.

Для оценки наличия дыхательной недостаточности и степени ее развития определялось насыщение артериальной крови кислородом (сатурация кислорода методом отраженной пульсоксиметрии с использованием пульсоксиметра медицинского ARMD YX300): I степень ДН — сатурация (SpO₂) — 90-94%, II степень ДН — сатурация (SpO₂) — 75-89%, III степень ДН — сатурация (SpO₂) — менее 75%. Для исследования функции внешнего дыхания была проведена спирография на спирометре «Валента».

На проточном цитометре FC500 (Beckman Coulter, США) с помощью моноклональных антител (производитель конъюгатов антител Beckman Coulter) было изучено относительное и абсолютное количество CD3+, CD4+, CD8+, CD20+, CD16+, рассчитан иммунорегуляторный индекс (IRI) — соотношение CD4+ / CD8+. Уровень сывороточных иммуноглобулинов (Ig A, M, G и циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) определяли иммунотурбидиметрическим методом. Определялась фагоцитарная активность нейтрофилов (ФАН) с частицами латекса. Изучался уровень белков острой фазы воспаления: гаптоглобина (Hr) и С-реактивного белка (СРБ). Концентрацию цитокинов (IL-1 β , 2, 4, 6 и TNF- α) измеряли методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью реактивов ЗАО «Вектор-Бест».

Для оценки динамики иммуновоспалительных механизмов в эксперименте проводили моделирование пылевой патологии легких на 310 белых лабораторных крысах-самцах (220 — опытные и 90 — контрольные). Животные опытной группы подвергались ингаляционному воздействию в затравочной камере угольно-породной пыли (УПП, уголь марки газово-жирный с размером пылевых частиц до 5 микрон в средней концентрации 50 мг/м³; 5 раз в неделю по 4 часа в интермиттирующем режиме). Общая продолжительность эксперимента составила 12 недель.

Экспериментальные исследования проведены в соответствии с международными правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей «Guide for the Care and Use of Laboratory animals» (Страсбург, 1986), «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу Минздрава СССР от 12.08.1977 г. № 755; приказ Минздрава СССР № 1179 от 10.10.1983 г. «Об утверждении нормативов затрат кормов для лабораторных животных в учреждениях здравоохранения») и «Правилами лаборатор-

ной практики» (приказ Минздравсоцразвития России от 23.08.2010 г. № 708н).

Для оценки иммунологических показателей производили забор крови из хвостовой вены экспериментальных животных через 1, 3, 6, 9 и 12 недель воздействия. Уровень сывороточных иммуноглобулинов: IgA, IgG, IgM (г/л) определяли иммуноферментным анализом с помощью наборов реактивов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Определение в крови концентрации позитивных реактантов острой фазы воспаления — гаптоглобина (Hr, мг/дл) и церулоплазмينا (Ср, мг/дл) — проводилось иммунотурбидиметрическим методом на фотометре 5010 (Германия) с помощью наборов «Haptoglobin» и «Ceruloplasmin» производства «Sprinreact», Испания. Уровень цитокинов IL-2, 4, 6, 10 и IFN- γ , (пг/мл) определялся методом иммуноферментного анализа с помощью тест-систем Bender MedSystems (Австрия).

Статистическая обработка данных проведена с использованием пакетов программ «Excel» и «Statistica». Нормальность распределения количественных признаков проверяли с помощью показателей эксцесса и асимметрии. Представление количественных переменных проводили с помощью средних значений (М) и стандартной ошибки среднего (m). При нормальном распределении для сравнения двух независимых выборок использовался параметрический t-критерий Стьюдента, при отклонении распределения от нормального использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Критический уровень значимости (p) для отклонения нулевой гипотезы принимали равным 0,05. При сравнении более 2-х групп по t-критерию Стьюдента применялась поправка Бонферрони для множественных рядов.

Результаты и обсуждение. При попадании в организм угольно-породная и кремнийсодержащая пыль поглощается альвеолярными макрофагами, перерабатывающими антиген для «представления» его Т-лимфоцитам и их активации, инициируя запуск иммунного ответа [8,9].

В ходе дифференцировки Т0-клеток образуются субпопуляции лимфоцитов, выполняющие определенную роль в развитии иммунных реакций: Т-хелперы, участвующие в формировании цитотоксических Т-лимфоцитов; Т-супрессоры, контролирующие силу иммунного ответа и естественные киллеры. Результатом взаимодействия активированных Т-лимфоцитов с В-лимфоцитами является пролиферация и дифференциация последних в плазматические клетки, продуцирующие антитела [10].

Для оценки состояния иммунной системы у больных АС было изучено относительное и абсолютное количество CD3+, CD4+, CD8+, CD20+, CD16+. Анализ показателей выявил статистически значимое повышение относительного и абсолютного количества В-лимфоцитов (CD20+) по сравнению с данными группы сравнения (табл. 1). Несмотря на увеличение CD20+, у 25% шахтеров с АС отмечалось снижение концентрации сывороточного IgG относительно группы сравнения, свидетельствующее о нарушении бласттрансформации В-лимфоцитов в ходе их созревания и неспособности дифференцироваться в дальнейшем в плазматические клетки.

Аналогичные данные были получены на экспериментальной модели АС. На ранних сроках эксперимента отмечалась активация гуморального звена иммунитета в виде повышения уровня всех классов иммуноглобулинов. Длительное воздействие УПП (9-12 недель) на организм животных характеризовалось значимым снижением IgA и IgG (табл. 2).

Таблица 1 / Table 1

Иммунный статус и маркеры воспаления у шахтеров с антракосиликозом**Immune status and markers of inflammation in miners with anthracosilicosis**

Показатель	Группа сравнения (n=89)	Шахтеры с антракосиликозом (n=115)
Лимфоциты, абс.	2,26±0,01	2,27±0,07
CD3+, %	64,22±1,05	63,21±1,06
CD3+, абс., ×10 ⁹ /л	1,45±0,06	1,41±0,04
CD4+, %	35,76±0,94	37,52±0,90
CD4+, абс., ×10 ⁹ /л	0,78±0,04	0,83±0,03
CD8+, %	23,82±0,88	23,39±0,69
CD8+, абс., ×10 ⁹ /л	0,52±0,03	0,53±0,02
CD16+, %	16,93±0,73	14,23±0,64*
CD16+, абс., ×10 ⁹ /л	0,37±0,02	0,31±0,01*
CD20+, %	9,15±0,51	12,04±0,61*
CD20+, абс., ×10 ⁹ /л	0,19±0,01	0,28±0,02*
IRI	1,62±0,06	1,78±0,07
ФАН с латексом, %	66,28±1,09	64,99±1,01
IgA, г/л	3,08±0,14	2,77±0,11
IgM, г/л	1,09±0,04	1,14±0,07
IgG, г/л	12,49±0,27	11,53±0,13*
ЦИК, у.е.	21,14±1,72	33,86±2,44*
TNF-α, пкг/мл	43,39±10,47	125,67±24,87*
IL-1β, пкг/мл	74,70±22,83	226,86±74,82
IL-2, пкг/мл	115,32±29,02	400,54±40,83*
IL-4, пкг/мл	19,18±10,71	161,94±49,39*
IL-6, пкг/мл	3,56±1,08	16,76±5,15*
Гаптоглобин, мг/дл	98,06±3,63	122,15±3,84*
С-реактивный белок, мг/дл	1,65±0,44	2,78±0,31*

Примечание: * — различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$.

Note: * — differences between groups are statistically significant at $p < 0.05$.

При оценке показателей субпопуляций Т-лимфоцитов (CD3+, CD4+, CD8+) не было выявлено значимых различий между пациентами с АС и лицами группы сравнения. С другой стороны, отмечено уменьшение относительного и абсолютного количества CD16+ (NK-клеток, или натуральных киллеров), что может быть связано со способностью угольных пылевых частиц, размерами менее 5 микрон, оказывать цитотоксическое действие на лимфоциты и угнетать клеточное звено иммунитета [11,12].

В связи с тем, что основной функцией натуральных киллеров является участие в противовирусном и противоопухолевом иммунитете, снижение их количества может способствовать развитию злокачественных новообразований у пациентов с АС и должно быть использовано в качестве прогностического критерия метастазирования и общей выживаемости пациентов [13,14].

Выявленное у шахтеров с АС уменьшение количества NK-клеток указывает на наличие иммунной недостаточности, поскольку, кроме прямого цитолитического действия на клетки-мишени, натуральные киллеры участвуют в регуляции иммунного ответа с помощью активации синтеза цитокинов, хемокинов и факторов роста [15].

Нарушение иммунной реактивности приводит к ослаблению местного противомикробного иммунитета органов дыхания и осложнению АС хроническим бронхитом, встречающимся в 12-50% случаев [6].

Исследования ряда авторов указывают на формирование ДН у пациентов с профессиональной пылевой патологией легких на фоне подавления фагоцитарной активности и гуморального иммунитета. При этом распространение инфекции, неконтролируемое иммунными механизмами, усиливает воспалительный процесс и гипоксические проявления, способствующие развитию вторичных иммунодефицитных состояний, опосредованных разбалансировкой различных звеньев иммунной системы и нарушениями ее регуляции [16].

Регуляция иммунного ответа осуществляется молекулами межклеточного взаимодействия — цитокинами, участвующими в дифференцировке клеток в направлении Th1/Th2 с преимущественным преобладанием клеточных или гуморальных реакций [17].

В данном исследовании выявлено статистически значимое повышение концентрации провоспалительных цитокинов (IL-2, IL-6 и TNF-α) у больных АС (табл. 1), указывающее на активное развитие в организме иммуновоспалительного процесса. Полученные в клинике результаты были подтверждены на поздних сроках экспериментального моделирования. К 6-й неделе воздействия УПП в крови животных наблюдалось нарушение баланса между Т-клетками, установившегося ранее и обеспечивающего до этого периода адекватную реакцию иммунной системы на поступающий антиген. Повышение секреции провоспалительного IL-2 на фоне ингибирования синтеза противовоспалительного IL-10 свидетельствовало об активном разворачивании воспалительного процесса (табл. 2). К 12-й неделе эксперимента, наряду с высоким содержанием IL-2, наблюдалось повышение уровня других медиаторов воспаления — IL-6 и IFN-γ, — указывающее на преобладание Th1 и переход заболевания в хроническую форму.

Аналогичные данные были получены китайскими учеными на экспериментальной модели силикоза у крыс, выявившими сдвиг иммунных реакций в сторону Th1 в виде увеличения концентрации IFN-γ и TNF-α [18].

Полученные клинично-экспериментальные данные согласуются с результатами других клинических исследований, обнаруживших повышенное содержание провоспалительных цитокинов у больных с пылевой патологией легких, свидетельствующее о высокой активности воспаления в легочной ткани [19].

Повышение уровня ЦИК у больных АС (табл. 1), свидетельствующее о высокой антигенной нагрузке, а также увеличение маркеров острой фазы воспаления — СРБ и Нр — подтверждало наличие сопутствующей инфекции и персистирующего воспаления. Белки острой фазы воспаления (БОФВ) синтезируются гепатоцитами печени в ответ на их стимуляцию цитокинами, попавшими в кровяное русло при несостоятельности местного иммунитета [20].

Аналогичная картина наблюдалась в организме экспериментальных животных уже на 3-й неделе вдыхания УПП. Статистически значимое полуторакратное повышение воспалительных белков — Нр и Ср — в сыворотке крови (рисунок) свидетельствовало об активном разворачивании воспалительного процесса на системном уровне.

Таблица 2

Уровень иммунологических показателей плазмы крови крыс в динамике развития антракосиликоза ($M \pm m$)
The level of immunological indicators of rat blood plasma in the dynamics of anthracosilicosis development ($M \pm m$)

Показатель	Группа животных	Продолжительность затравки угольно-породной пылью				
		1 неделя	3 недели	6 недель	9 недель	12 недель
IL-2, пг/мл	опытная	17,5±8,3	20,5±4,7	49,5±5,6**	20,4±2,8	35,3±4,2*
	контрольная	23,7±7,2	23,1±9,0	20,6±9,1	22,9±6,4	22,9±6,4
IL-4, пг/мл	опытная	4,4±1,6*	4,4±0,8*	2,84±0,3	3,3±0,2*	2,8±0,63
	контрольная	2,0±0,4	2,4±0,2	2,2±0,2	2,0±0,12	2,2±0,1
IL-6, пг/мл	опытная	3,0±0,5*	2,57±0,6*	2,91±0,5*	3,9±1,8	9,2±1,0**
	контрольная	5,6±0,75	5,2±0,23	5,5±0,23	4,2±1,2	4,3±1,24
IL-10, пг/мл	опытная	2,4±0,32	2,7±0,47	1,2±0,15*	3,1±0,9	2,3±0,6
	контрольная	2,6±0,47	2,2±0,42	2,24±0,5	2,0±0,38	2,3±0,4
IFN-γ, пг/мл	опытная	23,8±8,5	39,8±14,1*	23,4±1,1	16,2±4,57	29,2±4,6*
	контрольная	20,4±6,7	19,6±5,17	17,8±5,7	20,3±5,24	20,3±5,24
IgA, г/л	опытная	—	0,25±0,01*	0,07±0,002*	—	0,08±0,007**
	контрольная	—	0,12±0,01	0,12±0,01	—	0,12±0,01
IgG, г/л	опытная	—	3,0±0,09*	2,7±0,04	—	1,5±0,06*
	контрольная	—	2,4±0,06	2,4±0,06	—	2,4±0,06
IgM, г/л	опытная	—	0,45±0,01*	0,5±0,01*	—	0,3±0,03
	контрольная	—	0,36±0,01	0,36±0,01	—	0,36±0,01

Примечания: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ — значимые различия показателей по сравнению с контрольной группой животных.
 Notes: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ — significant differences in indicators compared to the control group of animals.

Таблица 3 / Table 3

Иммунный статус и маркеры воспаления у шахтеров с антракосиликозом при наличии и отсутствии дыхательной недостаточности

Immune status and markers of inflammation in miners with anthracosilicosis in the presence and absence of respiratory failure

Показатель	Группа сравнения (n=89)	Шахтеры без ДН (n=37)	Шахтеры с ДН (n=78)
Лимфоциты, абс.	2,26±0,01	2,33±0,09	2,24±0,09
CD3+, %	64,2±1,05	61,02±2,12	64,25±1,18
CD3+ (абс.)×10 ⁹ /л	1,45±0,06	1,39±0,06	1,41±0,06
CD4+ (%)	35,76±0,94	38,02±1,59	37,29±1,10
CD4+ (абс.)×10 ⁹ /л	0,78±0,04	0,87±0,05	0,81±0,04
CD8+ (%)	23,82±0,88	23,16±1,37	23,51±0,81
CD8+ (абс.)×10 ⁹ /л	0,52±0,03	0,54±0,04	0,52±0,03
CD16+ (%)	16,93±0,73	15,09±1,08	13,83±0,79*
CD16+ (абс.)×10 ⁹ /л	0,37±0,02	0,37±0,04	0,28±0,02*#
CD20+ (%)	9,15±0,51	12,41±1,22*	11,86±0,69*
CD20+ (абс.)×10 ⁹ /л	0,19±0,01	0,29±0,04*	0,27±0,02*
IRI	1,62±0,06	1,85±0,12	1,76±0,09
ФАН с латексом, %	66,28±1,609	63,94±1,83	65,48±1,19
IgA, г/л	3,08±0,14	2,82±0,18	2,74±0,14
IgM, г/л	1,09±0,04	1,18±0,12	1,02±0,04
IgG, г/л	12,49±0,27	12,38±0,39	11,12±0,21*#
ЦИК, у.е.	21,14±1,72	31,12±3,31*	35,94±2,12*
TNF-α, пкг/мл	43,39±10,47	122,39±35,15*	136,71±24,99*
IL-1β, пкг/мл	74,70±22,83	193,8±46,69*	234,11±35,11*
IL-2, пкг/мл	115,32±29,02	315,39±24,24*	431,42±31,23* #
IL-4, пкг/мл	19,18±10,71	388,33±79,72*	40,67±16,85#
IL-6, пкг/мл	3,56±1,08	16,17±6,19*	17,08±6,68*
Гаптоглобин, мг/дл	98,06±3,63	113,65±6,37	126,21±3,44*
С-реактивный белок, мг/л	1,66±0,44	2,60±0,31	3,15±0,72*

Примечания: * — $p < 0,05$ — статистически значимые различия с группой сравнения; # — $p < 0,05$ — статистически значимые различия показателей между группами шахтеров с антракосиликозом в сочетании с дыхательной недостаточностью и без дыхательной недостаточности.

Notes: * — $p < 0,05$ — statistically significant differences with the comparison group; # — $p < 0,05$ — statistically significant differences in indicators between groups of miners with anthracosilicosis in combination with respiratory failure and without respiratory failure.

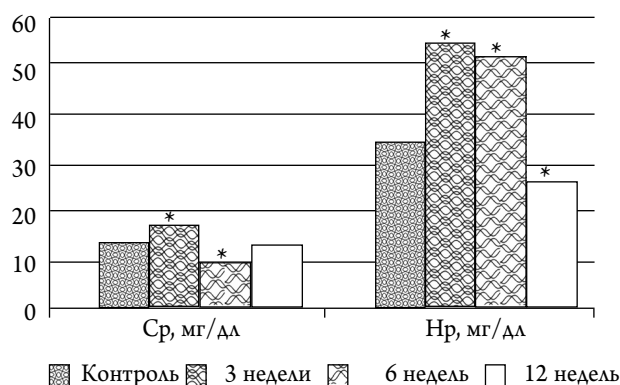


Рисунок. Изменение концентрации воспалительных белков (церулоплазмينا и гаптоглобина) в крови крыс в динамике воздействия угольно-породной пыли.

Figure. Changes in the concentration of inflammatory proteins (ceruloplasmin and haptoglobin) in the blood of rats in the dynamics of exposure to coal-rock dust.

Примечание: * — при $p < 0,05$ — значимые различия по сравнению с контрольной группой животных.

Note: * — at $p < 0.05$ -significant differences compared to the control group of animals.

При разделении пациентов основной группы по наличию или отсутствию осложнений, у лиц с ДН была выявлена более активная форма иммунного воспаления (табл. 3). Шахтеры с АС в сочетании с ДН имели более высокий уровень цитокинов (IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF- α) и БОФВ по сравнению с больными без ДН и группой сравнения. Так, концентрация провоспалительных цитокинов: IL-1 β и IL-2 у шахтеров с ДН превышала аналогичные показатели в 3 и 3,7 раза соответственно.

Кроме того, у лиц с ДН отмечалось еще большее снижение уровня IgG и абсолютного количества CD16+ относительно группы сравнения и пациентов без ДН, что, вероятно, обусловлено нарушением функции иммунокомпетентных клеток на фоне гипоксии. Выявлена особенность в содержании противовоспалительного IL-4, концентрация которого у пациентов основной группы без ДН в 20 раз превысила показатели группы сравнения и примерно в 10 раз аналогичные показатели в группе лиц с ДН. Являясь ведущей молекулой межклеточных взаимодействий, IL-4 ингибирует активацию макрофагов, блокирует спонтанную и индуцированную продукцию провоспалительных цитокинов, замедляя процессы фибрирования в бронхолегочной системе, что, вероятно, препятствует формированию ДН у шахтеров с АС.

Схожая картина была получена на экспериментальной модели. На ранних сроках вдыхания УПП (1-3 недели) в крови крыс наблюдалось двукратное повышение уровня IL-4, способствующее замедлению макрофагального воспаления (табл. 2).

Таким образом, клинко-экспериментальное изучение механизмов формирования АС свидетельствует об активации срочной адаптации и поддержании компенсаторно-приспособительных реакций организма в ранний период угольно-породного воздействия. При увеличении времени контакта с антигеном наблюдается дисбаланс регуляторных механизмов, в результате которого реакции местного иммунитета становятся неэффективными и иммунный ответ приобретает генерализованную форму.

Выводы:

1. В клинко-экспериментальных исследованиях показано, что хроническая форма антракосиликоза характеризуется

перенапряжением защитных механизмов гуморального звена иммунитета и развитием иммунного дисбаланса на фоне хронического воспаления.

2. Формирование антракосиликоза сопровождается интенсивным развитием иммуновоспалительного процесса (повышение концентрации цитокинов и БОФВ), степень выраженности которого нарастает при присоединении инфекции и осложнении заболевания дыхательной недостаточностью.

3. Уменьшение относительного и абсолютного количества CD16+ может являться маркером предрасположенности развития злокачественных опухолей у больных антракосиликозом, осложненным дыхательной недостаточностью.

4. Повышение у шахтеров с антракосиликозом концентрации противовоспалительного IL-4 является защитным механизмом, способствующим длительной компенсации функционального состояния легочной ткани и препятствующим формированию дыхательной недостаточности за счет снижения активности макрофагального воспаления и замедления процессов фибрирования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бухтияров И.В., Головова Н.П., Хелковский-Сергеев Н.А. Проблемы сохранения здоровья работников угольной промышленности: новые вызовы и новые решения. *Мед. труда и пром. экол.* 2017; (12): 1-6.
- Измеров Н.Ф. Роль профпатологии в системе медицины труда. *Мед. труда и пром. экол.* 2008; (11): 1-4.
- Артемова А.В., Баскова Н.В., Бурмистрова Т.Б., Бурыкина Е.А., Бухтияров И.В., Бушманов А.Ю. и др. Федеральные клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике пневмокониозов. *Мед. труда и пром. экол.* 2016; (1): 36-49.
- Ковалев Е.В., Конченко А.В., Рыжков Ю.В., Лох Е.Е. Профессиональная заболеваемость в Ростовской области и меры по ее профилактике. *Главный врач.* 2018; (1): 10-1.
- Чеботарев А.Г. Прогнозирование условий труда и профессиональной заболеваемости у работников горнорудных предприятий. *Горн. пром-сть.* 2016; (3): 54-7.
- Кузьмина А.П., Цидильковская Э.С., Измеров Н.Ф., Артемова А.В. Иммунологические аспекты формирования профессиональных заболеваний органов дыхания. В кн.: *Профессиональные заболевания органов дыхания: национальное руководство.* М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015.
- Шпагина Л.А., Котова О.С., Сараскина Л.Е., Ермакова М.А. Особенности клеточно-молекулярных механизмов профессиональной хронической обструктивной болезни легких. *Сиб. мед. обозрение.* 2018; (2): 37-45.
- Costa A., Sarmento B., Seabra V. Targeted Drug Delivery Systems for Lung Macrophages. *Curr. Drug. Targets.* 2015; 16(14): 1565-81.
- Хаитов М.Р., Ильина Н.И., Лусс Л.В., Бабахин А.А. Мукозальный иммунитет респираторного тракта и его роль при профессиональных патологиях. *Мед. экстрем. ситуаций.* 2017; 61(3): 8-24.
- Hawlich H., Belkaid Y., Baelder R., Hildeman D., Gerard C., Köhl J. CSa negatively regulates toll-like receptor 4-induced immune responses. *Immunity.* 2005; 22(4): 415-26.
- Павловская Н.А., Рушкевич О.П. Биомаркеры для ранней диагностики последствий воздействия угольной пыли на организм шахтеров. *Мед. труда и пром. экол.* 2012; (9): 36-42.
- Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. *Иммунология.* М.: Мир; 2000.
- Златник Е.Ю., Бахтин А.В., Новикова И.А., Шульгина О.Г., Триандофилиди Е.И. Показатели клеточного иммунитета

и уровне циркулирующих опухолевых клеток у больных раком легкого. *Мед. иммунол.* 2017; 19(S): 229.

14. Ruggeri L., Aversa F., Martelli M.F., Velardi A. Allogeneic hematopoietic transplantation and natural killer cell recognition of missing self. *Immunol.* 2006; 214: 202-18. DOI: 10.1111/j. 1600-065X. 2006.00455.x

15. Абакушина Е.В., Кузьмина Е.Г., Коваленко Е.И. Основные свойства и функции НК-клеток человека. *Иммунология.* 2012; 33(4): 220-4.

16. Пиктушанская Т.Е. Особенности формирования и течения пневмокониоза у шахтеров Восточного Донбасса в современных условиях. *Мед. труда и пром. экол.* 2014; (2): 10-4.

17. Забродский П.Ф., Мандыч В.Г. *Иммунотоксикология ксенобиотиков.* Саратов: СВИБХБ; 2007.

18. Bao L., Liu S., Li J., Wang J., Zhang H., Hou J. et al. Dynamic changes of Th1/Th2 cytokines in lung tissue of experimental silicotic rat. *Wei Sheng Yan Jiu.* 2016; 45(4): 553-86.

19. Андриенко Л.А., Песков С.А., Дорн О.Ю. Роль оценки цитокинового профиля в рискметрии профессиональных заболеваний легких у рабочих пылеопасных профессий. *Мед. иммунол.* 2015; 17(S): 439.

20. Takei N., Suzuki M., Makita H., Konno S., Shimizu K., Kimura H. et al. Serum alpha-1 antitrypsin levels and the clinical course of chronic obstructive pulmonary disease. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2019; 14: 2885-93. DOI: 10.2147/COPD. S225365

REFERENCES

1. Bukhtiyarov I.V., Golovkova N.P., Khelkovskiy-Sergeyev N.A. Problems of maintaining the health of coal workers: new challenges and new solutions. *Med. труда i prom. ekol.* 2017; (12): 1-6 (in Russian).

2. Izmerov N.F. The role of occupational pathology in the system of occupational medicine. *Med. труда i prom. ekol.* 2008; (11): 1-4 (in Russian).

3. Artemova L.V., Baskova N.V., Burmistrova T.B., Buryakina E.A., Bukhtiyarov I.V., Bushmanov A.Yu. et al. Federal clinical guidelines for the diagnosis, treatment and prevention of pneumoconiosis. *Med. труда i prom. ekol.* 2016; (1): 36-49 (in Russian).

4. Kovalev E.V., Konchenko A.V., Ryzhkov Yu.V., Lokh E.E. Occupational morbidity in the Rostov region and measures for its prevention. *Glavnyy vrach.* 2018; (1): 10-1 (in Russian).

5. Chebotarev A.G. Predicting working conditions and occupational morbidity among mining workers. *Gornaya promyshlennost'.* 2016; (3): 54-7 (in Russian).

6. Kuzmina L.P., Tsidilkovskaya E.S., Izmerov N.F., Artemova L.V. Immunological aspects of the formation of occupational respi-

ratory diseases. In: *Occupational respiratory diseases: national guidelines.* Moscow: GEOTAR-Media; 2015 (in Russian).

7. Shpagina L.A., Kotova O.S., Saraskina L.E., Ermakova M.A. Features of the cellular-molecular mechanisms of occupational chronic obstructive pulmonary disease. *Sibirskoye meditsinskoye obozreniye.* 2018; (2): 37-45 (in Russian).

8. Costa A., Sarmiento B., Seabra V. Targeted Drug Delivery Systems for Lung Macrophages. *Curr. Drug. Targets.* 2015; 16(14): 1565-81.

9. Khaitov M.R., Il'ina N.I., Luss L.V., Babakhin A.A. Mucosal immunity of the respiratory tract and its role in occupational pathologies. *Meditsina ekstremal'nykh situatsiy.* 2017; 61(3): 8-24 (in Russian).

10. Hawlisch H., Belkaid Y., Baelder R., Hildeman D., Gerard C., Köhl J. C5a negatively regulates toll-like receptor 4-induced immune responses. *Immunity.* 2005; 22(4): 415-26.

11. Pavlovskaya N.A., Rushkevich O.P. Biomarkers for early diagnosis of the effects of coal dust on the body of miners. *Med. труда i prom. ekol.* 2012; (9): 36-42 (in Russian).

12. Royt A., Brostoff Dzh., Meyl D. *Immunology [Immunologiya].* Moscow: Mir; 2000 (in Russian).

13. Zlatnik E.Yu., Bakhtin A.V., Novikova I.A., Shul'gina O.G., Triandofilidi E.I. Indicators of cellular immunity and levels of circulating tumor cells in patients with lung cancer. *Meditsinskaya immunologiya.* 2017; 19(S): 229 (in Russian).

14. Ruggeri L., Aversa F., Martelli M.F., Velardi A. Allogeneic hematopoietic transplantation and natural killer cell recognition of missing self. *Immunol.* 2006; 214: 202-18. DOI: 10.1111/j. 1600-065X. 2006.00455.x

15. Abakushina E.V., Kuzmina E.G., Kovalenko E.I. The main properties and functions of human NK cells. *Immunologiya.* 2012; 33(4): 220-4 (in Russian).

16. Piktushanskaya T.E. Features of the formation and course of pneumoconiosis in miners of the East Donbass in modern conditions. *Med. труда i prom. ekol.* 2014; (2): 10-4 (in Russian).

17. Zabrodskiy P.F., Mandych V.G. *Immunotoxicology of xenobiotics.* Saratov: SVIBKHB; 2007 (in Russian).

18. Bao L., Liu S., Li J., Wang J., Zhang H., Hou J. et al. Dynamic changes of Th1/Th2 cytokines in lung tissue of experimental silicotic rat. *Wei Sheng Yan Jiu.* 2016; 45(4): 553-86.

19. Andrienko L.A., Peskov S.A., Dorn O.Yu. The role of assessing the cytokine profile in the risk management of occupational lung diseases in dust-hazardous occupations. *Meditsinskaya immunologiya.* 2015; 17(S): 439 (in Russian).

20. Takei N., Suzuki M., Makita H., Konno S., Shimizu K., Kimura H. et al. Serum alpha-1 antitrypsin levels and the clinical course of chronic obstructive pulmonary disease. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2019; 14: 2885-93. DOI: 10.2147/COPD. S225365.