

УДК 546.45:612.112.9

## ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО ОТВЕТА У ЛИЦ, ПРОФЕССИОНАЛЬНО КОНТАКТИРУЮЩИХ С БЕРИЛЛИЕМ

К.И. Стосман, Л.В. Луковникова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУН ИТ ФМБА) России, 192019, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Проведено обследование 50 сотрудников предприятия, профессионально контактирующих с бериллием. У большинства работающих выявлено повышение в крови интерлейкина-8, интерферона- $\gamma$ , нарастание уровня иммуноглобулина класса Е и циркулирующих иммунных комплексов. Показано, что контакт с соединениями бериллия приводит к росту уровня интерферона- $\gamma$  только у женщин. У мужчин выявляются изменения в сторону увеличения концентрации общего иммуноглобулина Е и циркулирующих иммунных комплексов.

**Ключевые слова:** бериллий, иммунная система, интерлейкины, иммуноглобулин Е, циркулирующие иммунные комплексы.

**Введение.** В настоящее время бериллий и его сплавы, благодаря своим ценным физико-химическим свойствам широко применяются в промышленности. Несмотря на постоянное совершенствование технологического процесса, проведение санитарно-гигиенических мероприятий, направленных на улучшение условий труда, ограничивающих концентрации химических веществ в рабочих помещениях не выше допустимых, соединения бериллия характеризуются высокой повреждающей способностью, в том числе и на систему иммунитета. Даже при незначительной экспозиции гиперчувствительность к бериллию имеет место у 1-16% сотрудников производства [1]. Контакт с этим промышленным токсикантом может приводить к хроническому воспалению, повреждению тканей, к развитию гиперчувствительности замедленного типа, иммуносупрессии, сенсбилизации организма соединениями этого химического элемента [2,3,4]. В патогенезе отравлений бериллием значительную роль играют аутоиммунные процессы. В основе развития антиген специфических воспалительных реакций на бериллий лежит продукция иммунокомпетентными клетками цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-2, IL-10, INF- $\gamma$  и др.) [3,4,5]. Мишенями бериллия могут быть иммуноглобулиновые рецепторы В-лимфоцитов, центральные

и периферические органы иммуногенеза (костный мозг и селезенка) [6]. Существенной особенностью токсического действия соединений бериллия является отсутствие корреляции между дозой воздействующего вещества и возможным развитием заболевания.

*Цель настоящей работы* – выявить иммунологические изменения у лиц, профессионально контактирующих с бериллием.

**Материалы и методы исследования.** В ходе работы были обследованы 50 сотрудников предприятия, профессионально контактирующие с бериллием (30 мужчин и 20 женщин). В группу сравнения включены 21 человек данного предприятия (12 мужчин и 9 женщин), никогда не имевших непосредственного контакта с токсикантом. Количественное определение концентрации иммуноглобулина Е (IgE), интерлейкина-4 (IL-4), интерлейкина-8 (IL-8), интерферона- $\gamma$  (INF- $\gamma$ ) и фактора некроза опухолей- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов Monobind (США) и ООО «Цитокин» (Россия). Фракционный состав циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) оценивали методом селективной преципитации в полиэтиленгликоле (ПЭГ), используя 3,5%, 5% и 7% ПЭГ-6000. Учет результатов проводили на планшетном спек-

Стосман Кира Иосифовна (Stosman Kira Iosifovna), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник ФГБУН ИТ ФМБА России, 192019, г. Санкт-Петербург, labtox6@rambler.ru

Луковникова Любовь Владимировна (Lukovnikova Lubov Vladimirovna), доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник ФГБУН ИТ ФМБА России, 192019, г. Санкт-Петербург, lukovnikova@toxicology.ru

трофотометре Synergy2 (BioTek, США). Для обработки данных использовали пакет программ «Statistica 6.0». Отличия между выборками оценивали с помощью критериев Шапиро-Уилка и t-критерий Стьюдента.

**Результаты и обсуждение.** Исследования последних лет свидетельствуют о выявлении аллергических заболеваний у сотрудников предприятий, непосредственно связанных в своей профессиональной деятельности с бериллием или его соединениями. Этот химический элемент является гаптеном, который соединяясь с белками, становится полноценным аллергеном. Контакт с этим металлополлютантом может приводить к нарушению регуляции иммунитета, хроническому воспалению и повреждению тканей.

Анализ результатов ранее проведенного нами обследования сотрудников, непосредственно имеющих профессиональный контакт с бериллием, показал, что у более половины работающих (62%) выявляются нарушения со стороны иммунной системы: увеличение концентрации в крови интерлейкина-8, интерферона- $\gamma$  и общего иммуноглобулина Е [7]. У части обследованных одновременно изменялись оба или все три перечисленных показателя. Обнаруженные нарушения гуморальных факторов иммунитета можно оценить как умеренные, а у некоторых лиц – как сильно выраженные. Полученные в нашем исследовании данные согласовались с рядом работ [8,9,10]. В некоторых статьях сообщается об увеличе-

нии уровня фактора некроза опухолей- $\alpha$  в крови людей, подвергшихся хроническому воздействию бериллия [4,5]. В тоже время, выявленное в нашем исследовании отсутствие изменений концентрации TNF- $\alpha$ , согласуется с экспериментами *in vitro*, проведенными на линии клеток THP-1 [8]. Эти данные указывают на то, что альвеолярные макрофаги могут иметь некоторый уровень толерантности к бериллию, чем может быть объяснен факт отсутствия изменения концентрации одного из основных провоспалительных цитокинов. Уровень интерлейкина-4 у всех сотрудников предприятия регистрировался в пределах физиологической нормы. Проведенное в нашем исследовании определение в крови концентрации ЦИК выявило ее повышение (табл. 1).

Важную роль в развитии сенсibilизации к промышленным аллергенам играет нарушение цитокиновой регуляции, при этом изменяется динамика и взаимосвязь про- и противовоспалительных цитокинов. Повышенное содержание IL-8 наблюдалось почти у 50% обследованных, что позволяет заключить о наличии иммуно-воспалительного процесса в организме, который может быть причиной повреждения тканей. Увеличение уровня IL-8 может быть связано с системными изменениями, происходящими в организме, как при развитии воспалительной реакции, так и в связи с нарушением регуляторно-транспортных схем, контролирующих синтез цитокинов по типу обратной связи.

Таблица 1

**Уровень иммуноглобулина Е, цитокинов и циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови обследованного персонала предприятия ( $M \pm m$ )**

Исследуемые показатели	Группа сравнения, n=21	Контактирующие с бериллием, n=50
IgE, МЕ/мл	96,12 $\pm$ 14,61	418,50 $\pm$ 61,66*
INF- $\gamma$ , пг/мл	15,90 $\pm$ 4,20	131,22 $\pm$ 18,21*
IL-8, пг/мл	25,18 $\pm$ 8,70	89,63 $\pm$ 6,74*
IL-4, пг/мл	2,32 $\pm$ 0,38	2,94 $\pm$ 0,23
TNF- $\alpha$ , пг/мл	0,09 $\pm$ 0,08	0,15 $\pm$ 0,10
ЦИК, крупные, ус.ед	14,5 $\pm$ 5,1	24,9 $\pm$ 6,4*
ЦИК, средние, ус.ед	59,5 $\pm$ 7,8	87,4 $\pm$ 8,1*
ЦИК, мелкие, ус.ед	124,5 $\pm$ 19,1	166,3 $\pm$ 12,5

Примечание: \* –  $p \leq 0,05$  по отношению к группе сравнения

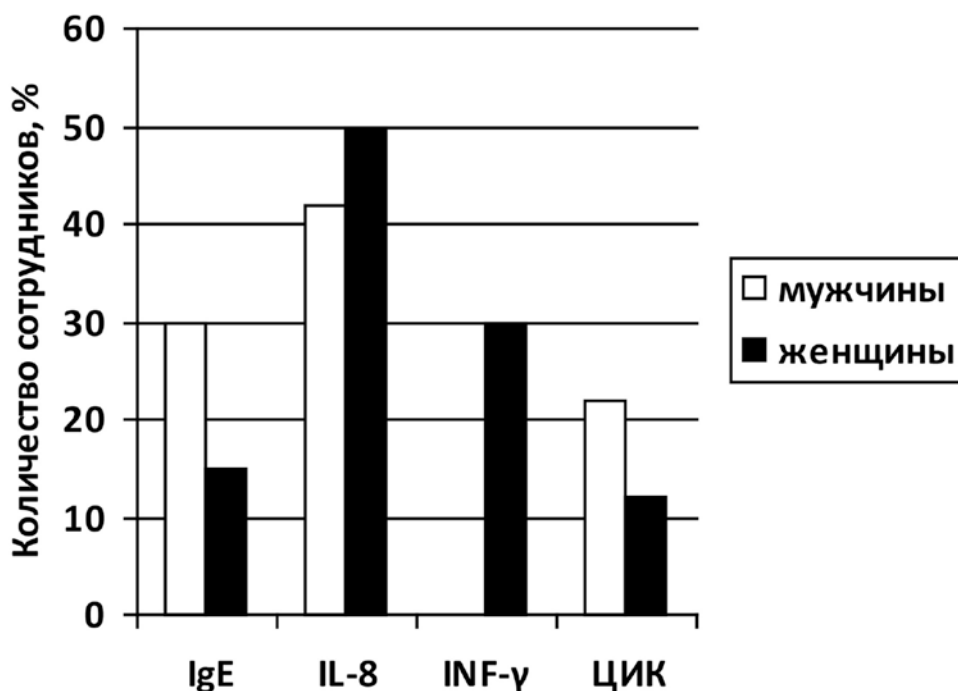
В последнее время интерфероны стали рассматривать не только как белки с противовирусной активностью, но и как важные регуляторы клеточной пролиферации, дифференцировки, жизнеспособности. Доказана их роль в развитии гиперчувствительности замедленного типа, аутоиммунных заболеваний [3,11]. Анализ крови сотрудников предприятия показал, что повышенный уровень сывороточного INF- $\gamma$  регистрировался только у 30% женщин. У мужчин значение концентрации данного цитокина находилось в пределах нормы (рис.).

Гиперпродукция общего IgE, лежащая в основе развития аллергической реакции немедленного типа, была выявлена у 26% сотрудников предприятия. Более высокий процент обследованных, имеющих повышенный уровень IgE, наблюдался среди мужчин. Так, рост иммуноглобулинов данного класса зарегистрирован у 30% мужчин и 15% женщин (рис.). Наблюдаемое увеличение продукции IgE может являться ранним диагностическим признаком развития аллергических заболеваний. В тоже время, необходимо отметить, что повышенная концентрация в крови этого короткоживущего иммуноглобулина может наблюдаться и при гельминтозах, гипер-IgE синдроме и др. У 30-45% больных аллергическими заболеваниями уровень общего IgE

не отличается от нормы, в то время как специфические антитела у них выявляются [12]. Концентрация иммуноглобулина этого класса может меняться у одного и того человека при исследовании ее в динамике. Несмотря на все выше сказанное, и исходя из общих знаний об алергизирующих свойствах бериллия, можно утверждать, что детектируемое нами увеличение уровня антител класса E является следствием воздействия этого промышленного токсиканта.

В процессе элиминации ксенобиотиков из организма важная роль принадлежит иммунным комплексам. Увеличение доли низкомолекулярных фракций является показателем развития воспалительных процессов и активности течения аутоиммунных заболеваний. При определении концентрации циркулирующих иммунных комплексов у 21% обследованных сотрудников, профессионально контактирующих с металлополиэтантом, было выявлено их увеличение, главным образом, за счет повышения крупных и средних молекул, содержание которых возросло примерно в 1,5 раза по отношению к соответствующему показателю у лиц из группы сравнения. Причем, более выраженные изменения наблюдались у мужчин (рис.).

Последствия взаимодействия ксенобиотиков с элементами иммунной системы организма ча-



**Рис.** Изменения иммунологических показателей у сотрудников предприятия, профессионально контактирующих с бериллием. По оси абсцисс X: иммунологические показатели: IgE, IL-8, INF- и ЦИК, по оси ординат Y: количество сотрудников, имеющих иммунологические показатели, отличные от нормальных значений (в процентах).

сто непредсказуемы и могут приводить к развитию различных патологических состояний. Аллергические реакции, которые могут развиваться у обследованного контингента, относятся к I (IgE-опосредованному) и к IV типу (клеточному) иммунных реакций. Повышение концентрации IgE связывают с повреждением эндотелия и нарушением агрегации тромбоцитов [13]. Повреждение эндотелия кровеносных сосудов также может быть вызвано фиксацией иммунных комплексов на мембране эндотелиоцитов [14]. Персистенция иммунных комплексов в кровяном русле оказывает ингибирующее действие на функциональную активность иммунокомпетентных клеток. Увеличение доли более патогенных низкомолекулярных фракций является одним из показателей развития воспалительных и аутоиммунных процессов. В случае неадекватного иммунного ответа или повреждения эффекторных систем концентрация в крови циркулирующих комплексов изменяется, что может приводить к нарушению элиминации токсикантов из организма.

Система цитохром Р-450-зависимых монооксигеназ, тесно связанная с иммунологическими механизмами в системе поддержания химического гомеостаза, вносит огромный вклад в детоксикацию ксенобиотиков. Универсальное свойство иммунной системы «узнавать» не только свои, но и чужие антигены можно рассматривать по аналогии с системой детоксикации ксенобиотиков ферментами монооксигеназной системы как эволюционно сложившийся механизм адаптации к действию химических веществ [15,16,17]. Ряд доказательств близости монооксигеназной и иммунной систем был получен в лабораториях И.Е. Ковалева и А.И. Арчакова. Разбалансировка системы цитохрома Р-450 печени, обычно выявляемая в динамике сенсибилизации организма и ингибирующее действие медиаторов аллергии и воспаления на активность и экспрессию изоформ цитохрома Р-450, свидетельствует о важной роли ферментной системы в процессе развития аллергической реакции [15]. Существует мнение, что

низкое содержание цитохрома Р-450 у морских свинок, связанное с усилением метаболизма липофильных глюкокортикоидов, выполняющих ключевую роль в осуществлении противоаллергической резистентности организма, обеспечивает повышенную анафилактическую чувствительность этих животных [18]. Одним из свойств цитокинов является способность изменять (как правило, угнетать) экспрессию и активность цитохром Р450-зависимых монооксигеназ печени и других тканей, - ключевой ферментной системы, участвующей в биотрансформации и детоксикации ксенобиотиков, к числу которых и принадлежит бериллий. Депримирующее воздействие на цитохром Р450-зависимые монооксигеназы установлено для интерферонов (IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$ ), фактора некроза опухолей- $\alpha$  и интерлейкинов (IL-1, IL-6, IL-11, IL-2) [19,20].

**Заключение.** Проведенное нами исследование показало, что у лиц, профессионально контактирующих с соединениями бериллия, наблюдается увеличение продукции интерлейкина-8, интерферона- $\gamma$  и общего иммуноглобулина Е, дисбаланс цитокинов в сторону провоспалительных, повышение уровня циркулирующих иммунных комплексов. Результаты мониторинга содержания в крови изученных иммунологических показателей позволили выявить ряд особенностей. У женщин, контактирующих в своей профессиональной деятельности с соединениями бериллия, наблюдали повышенный уровень интерферона- $\gamma$ . Более выраженные изменения в сторону увеличения концентрации общего иммуноглобулина Е и циркулирующих иммунных комплексов выявляли у мужчин. Концентрация в крови интерлейкина-8 практически одинаково повышалась как у мужчин, так и у женщин. Обнаруженные изменения со стороны показателей системы иммунитета у лиц, работающих с бериллием, требуют их дальнейшего изучения, наблюдения в динамике и могут быть использованы как биомаркеры эффекта при проведении периодических медицинских осмотров.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сивенков М. П. Клинические варианты течения бериллиоза и исходы в отдаленном периоде наблюдения. Автореферат диссертации кандидата медицинских наук. Москва; 2008.
2. Забродский П. Ф., Мандыч В. Г. Иммунотоксикология ксенобиотиков: Монография. СВИБХБ; 2007.
3. Toxicological profile for beryllium. U.S. Department of health and human services Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2002; 247.
4. Reinhild Klein, Michael Schwenk, Douglas M. Templeton. Cytokine profiles in human exposure to metals. Pure Appl. Chem. 2006; 78 (11): 2155-68.
5. Maier L.A., Sawyer R.T., Tinkle L.A. IL-4 fails to regulate in vitro beryllium-induced cytokines in berylliosis. Eur Respir J. 2001; 17: 403-408.
6. Газалиева М.А. Иммунные механизмы при воздействии соединений бериллия в эксперименте. Гигиена труда и медицинская экология. 2009;4 (25):42 - 51.
7. Луковникова Л.В., Стосман К.И., Крупкин А.Б., Иванова А.С. Биомаркеры экспозиции и эффекта бериллия. Medline.ru. 2015; 16: 728 - 36.
8. Ding J., Lin L, Hang W, Yan X. Beryllium uptake and related biological effects studied in THP-1 differentiated macrophages. Metallomics. 2009; 1(6): 471-476.
9. Gregory B. Pott, Brent E. Palmer, Andrew K. Sullivan, Lori Silveira, Lisa A. Maier, Lee S. Newman et al. Frequency of beryllium-specific, TH1-type cytokine-expressing CD4+ T cells in patients with beryllium-induced disease. J. of Allergy and Clinical Immunology. 2005; 115 (5): 1036-42.
10. Allison K. Martin, Douglas G. Mack, Michael T. Falta, Margaret M. Mroz, Lee S. Newman, Lisa A. Maier et al. Beryllium-specific CD4+ T cells in blood as a biomarker of disease progression. J. of Allergy and Clinical Immunology. 2011; 128 (5):1100-06.
11. Gao L. et al. Vitamin D receptor genetic polymorphism and tuberculosis: updated systematic review and meta-analysis. Int. J. Tuberc.Lung. Dis. 2010; 14(1): 15-23.
12. Титова Н.Д. Аллергия, атопия, IgE-антитела и концепция аллергенной сети. Иммунология, аллергология, инфектология. 2011; 4: 39-44.
13. Ковалева О.Н., Нижегородцева О.А. Эндотелийзависимая вазодилатация: молекулярные основы, физиологические эффекты, участие в патогенезе артериальной гипер-

тензии. Український кардіологічний журнал. 2001;6: 100-106.

- 14. Шляхто Е.В., Моисеева О.М., Лясникова Е.А.** и др. Реологические свойства крови и функция эндотелия у больных гипертонической болезнью. Кардиология. 2004; 4: 20-23.
- 15. Саркисов Д.С.** Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций. М.: Медицина; 19

- 16. Козлов В.А., Любимов Г.Ю., Вольский Н.Н.** Активность цитохром Р-450-зависимых монооксидаз и функции иммунокомпетентных клеток. Вестник АМН СССР. 1991; 12: 8-13.
- 17. Ковалев И.Е., Полевая О.Ю.** Антитела к физиологически активным соединениям. М.: Медицина; 1981.
- 18. Марокко И.Н., Сергеева С.А., Красных Л.М.** Индукторы моноокси-

- геназ и аллергическая реактивность немедленного типа. В кн.: Материалы республиканского симпозиума «Монооксигеназная система. Теоретические и прикладные аспекты» Ташкент, 1992: 85-7.
- 19. Сибиряк С.В.** Цитокины как регуляторы цитохром Р450-зависимых монооксигеназ. Теоретические и прикладные аспекты. Цитокины и воспаление. 2003; 2:12-21

- 20. Пасична Э.П., Донченко Г.В., Бурлака А.П., Недзвецкий В.С., Сидорик Е.П., Ганусевич И.И., Делеменчук Н.В.** Использование витаминов для коррекции функционального состояния цитохром р450-зависимых систем при экспериментальном аллергическом энцефаломиелите. Украинский биохимический журнал. 2013;5:137-48.

## REFERENCES:

- 1. Sivenkov M. R.** Clinical variants of berylliosis and outcomes in the long-term follow-up. Dr. medic. sci. diss. Moscow: FGU FMBC im. A.I.Burnazjana Publ.; 2008 (in Russian).
- 2. Zbrodskij P. F., Mandych V. G.** Immunotoxicology of xenobiotics. Saratov: SMIBCHS; 2007 (in Russian).
- 3. Toxicological profile for beryllium.** U.S. Department of health and human services Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2002; 247 (in USA).
- 4. Klein R., Schwenk M., Templeton D.M.** Cytokine profiles in human exposure to metals. Pure Appl. Chem. 2006; 78 (11): 2155-68 (in USA).
- 5. Maier L.A., Sawyer R.T., Tinkle L.A.** IL-4 fails to regulate in vitro beryllium-induced cytokines in berylliosis. Eur Respir J. 2001; 17: 403-15 (in Europe).
- 6. Gazaliev A.M.A.** Immune mechanisms upon exposure to beryllium compounds in the experiment Gigiena truda i medicinskaja jekologija. 2009;4 (25):42 - 51 (in Russian).
- 7. Lukovnikova L.V., Stosman K.I., Krupkin A.B., Ivanova A.S.** Biomarkers of exposure and effect of beryllium. Medline.ru. 2015; 16: 728 - 36 (in Russian).
- 8. Ding J., Lin L, Hang W, Yan X.** Beryllium uptake and related biological effects studied in THP-1 differentiated macrophages. Metallomics. 2009; 1(6): 471-8 (in England).
- 9. Gregory B. Pott, Brent E. Palmer, Andrew K. Sullivan, Lori Silveira, Lisa A. Maier, Lee S. Newman et al.** Frequency of beryllium-specific, TH1-type cytokine-expressing CD4+ T cells in patients with beryllium-induced disease. J. of Allergy and Clinical Immunology. 2005; 115 (5): 1036-42 (in USA).
- 10. Allison K. Martin, Douglas G. Mack, Michael T. Falta, Margaret M. Mroz, Lee S. Newman, Lisa A. Maier et al.** Beryllium-specific CD4+ T cells in blood as a biomarker of disease progression. J. of Allergy and Clinical Immunology. 2011; 128 (5):1100-06 (in USA).
- 11. Gao L. et al.** Vitamin D receptor genetic polymorphism and tuberculosis: updated systematic review and meta-analysis. Int. J. Tuberc.Lung. Dis. 2010; 14(1): 15-23 (in France).
- 12. Titova N.D.** Allergy, atopy, IgE-allergen antibodies and the concept of allergenic network. Immunologija, allergologija, infektologija. 2011; 4: 39-47 (in Russian).
- 13. Kovaleva O.N., Nizhegorodceva O.A.** Endothelium-dependent vasodilation: the molecular basis of physiological effects in the pathogenesis of hypertension. Ukrainiskij kardiologicheskij zhurnal. 2001;6: 100-106 (in Ukrainian).
- 14. Shljahto E.V., Moiseeva O.M., Ljasnikova E.A. et al.** The rheological properties of blood and endothelial function in patients with hypertension. Kardiologija. 2004; 4: 20-23 (in Russian).
- 15. Sarkisov D.S.** Structural bases of adaptation and compensation of disturbed functions. Moscow: Medicine; 1987 (in Russian).
- 16. Kozlov V.A., Ljubimov G.Ju., Vol'skij N.N.** The activity of cytochrome P-450-dependent monoooksidasases and function of immune cells. Vestnik AMN SSSR. 1991; 12: 8-13 (in Russian).
- 17. Kovalev I.E., Polevaja O.Ju.** Antibodies to physiologically active compounds. M.: Medicina; 1981.
- 18. Marokko I.N., Sergeeva S. A., Krasnyh L.M.** Monoxygenase inducers and allergic immediate type. In: The national symposium "Monoxygenase system. Theoretical and applied aspects", Tashkent, 1992: 85-7 (in Uzbekistan).
- 19. Sibirjak S.V.** Cytokines as regulators of the cytochrome P450-dependent monoxygenases. Theoretical and applied aspects. Cytokini i vospalenie. 2003; 2: 12-21 (in Russian).
- 20. Pasichna Je.P., Donchenko G.V., Burlaka A.P., Nedzveckij V.S., Sidorik E.P., Ganusevich I.I., Delemenчук N.V.** The use of vitamins for the correction of the functional state of the cytochrome P450-dependent systems in experimental allergic encephalomyelitis. Ukrainiskij biokhimeskij zhurnal. 2013; 5: 137-48 (in Russian).

*K.I. Stosman, L.V. Lukovnikova*

## PARTICULARITIES OF THE IMMUNE RESPONSE IN PERSONS PROFESSIONALLY EXPOSED TO BERYLLIUM

«Institute of Toxicology» of Federal Medico-Biological Agency, 192019, St.-Petersburg, Russian Federation

An examination was performed of 50 employees at an enterprise where they were in professional contact with beryllium. In most workers, it was detected an increase of interleukine-8, interferon- $\gamma$ , growing level of immunoglobulin E and circulating immune complexes. It was shown that the contact with beryllium compounds leads to the interferon- $\gamma$  level growth only in women. In men, alterations are identified in the direction of increased concentrations of common immunoglobulin E and circulating immune complexes.

**Keywords:** beryllium, immune system, interleukins, immunoglobulin E, circulating immune complexes.

Материал поступил в редакцию 16.06.2016 г.

