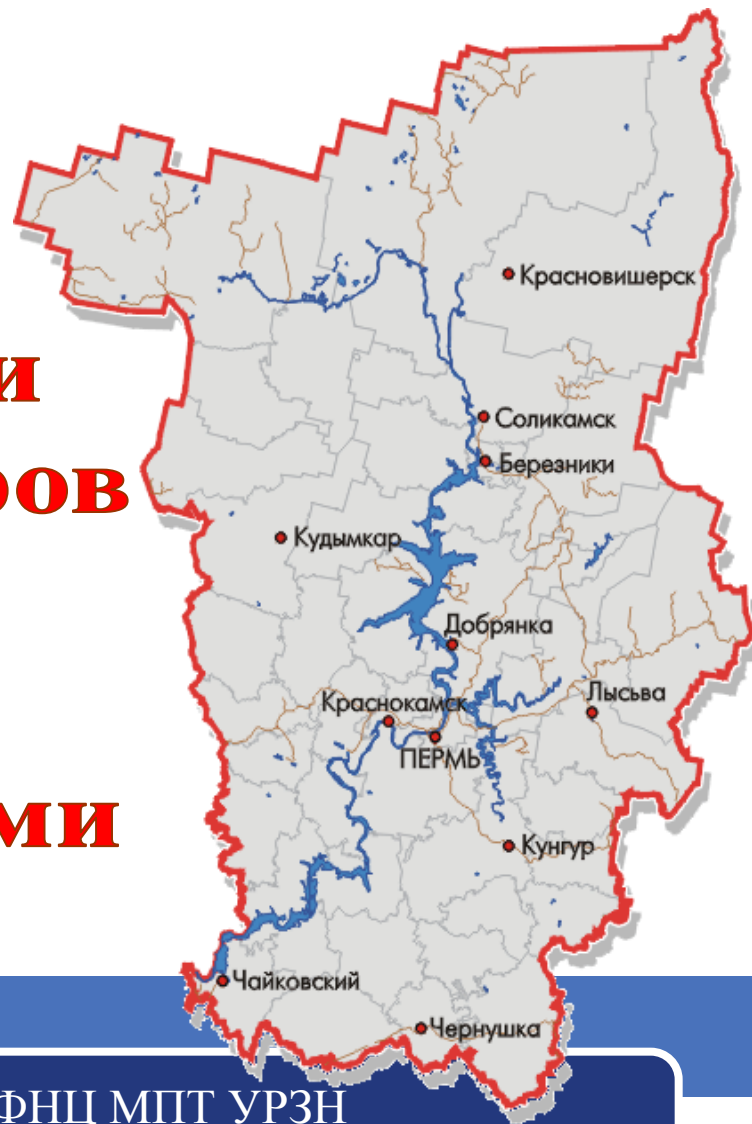




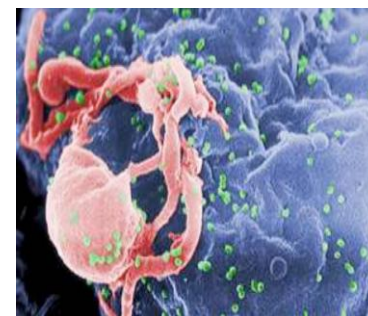
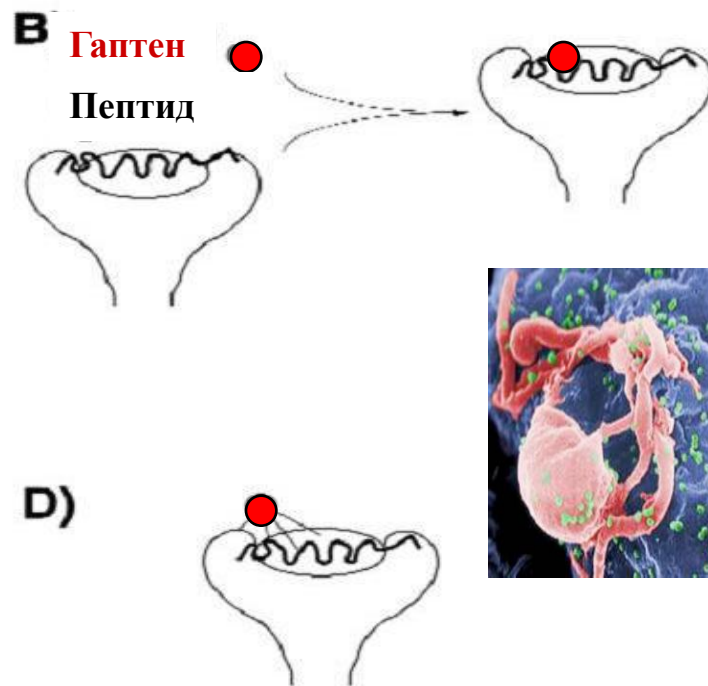
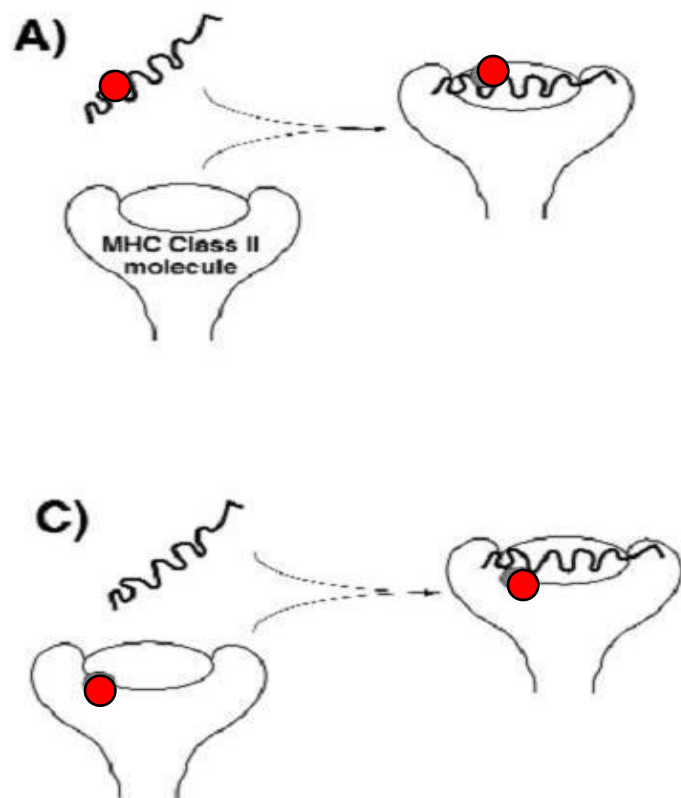
# Оценка иммунных и генетических маркеров у детей в условиях внешнесредовой экспозиции металлами



Лаборатория иммуногенетики ФБУН ФНЦ МПТ УРЗН  
Кривцов Александр Владимирович



# Возможные сценарии презентации металла-гаптена как аллергена (Templeton D.M., 2004)



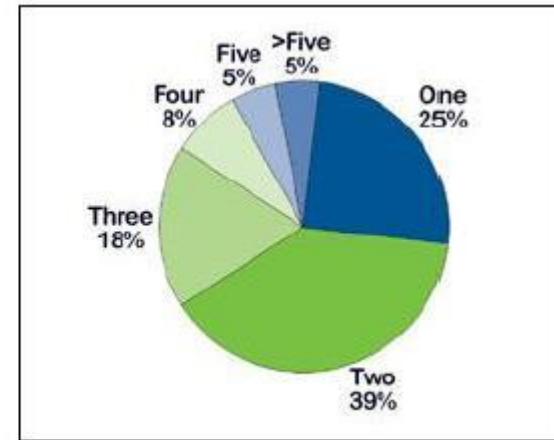
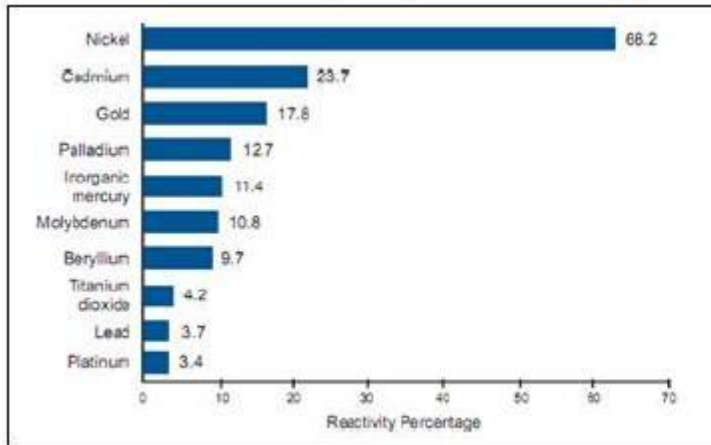
- A – гаптен, связанный с пептидом до ассоциации с HLA;
- B – пептид, ассоциированный с HLA до связывания с гаптеном;
- C – гаптен, связанный с HLA до презентации антигена HLA;
- D – гаптен, комплексно связанный с лигандом

# Способы оценки реакций гиперчувствительности

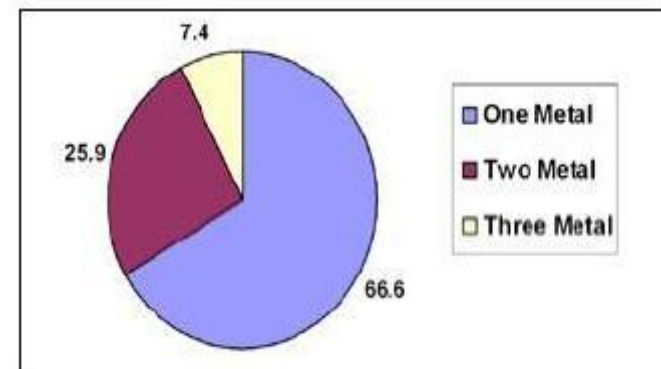
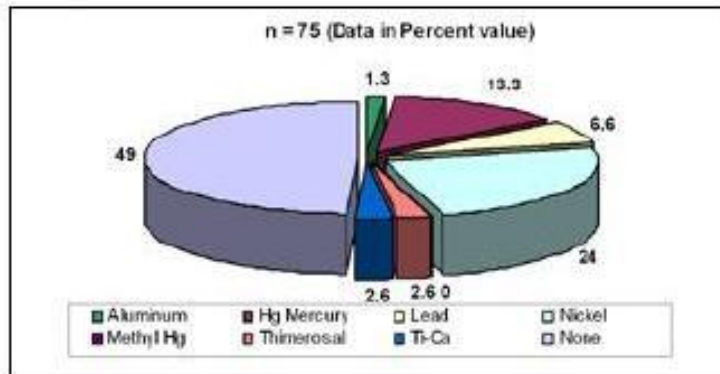
- ❖ Анафилактические реакции – выявление специфического **иммуноглобулина E**, CAST – продукция лейкотриенов
- ❖ Цитотоксические реакции – выявление специфических **иммуноглобулинов G**, активность комплемента
- ❖ Имунокомплексные реакции – выявление циркулирующих иммунных комплексов
- ❖ ГЗТ – выявление стимулированных цитокинов, выделяемых клетками памяти (MELISA)

# Сенсибилизация к металлам-гаптенам у американцев (Khare P.D., 2010) по MELISA

❖ Пациенты, имеющие клинические проявления гиперчувствительности



❖ Пациенты, не имеющие клинических проявлений гиперчувствительности (асимптомные пациенты)



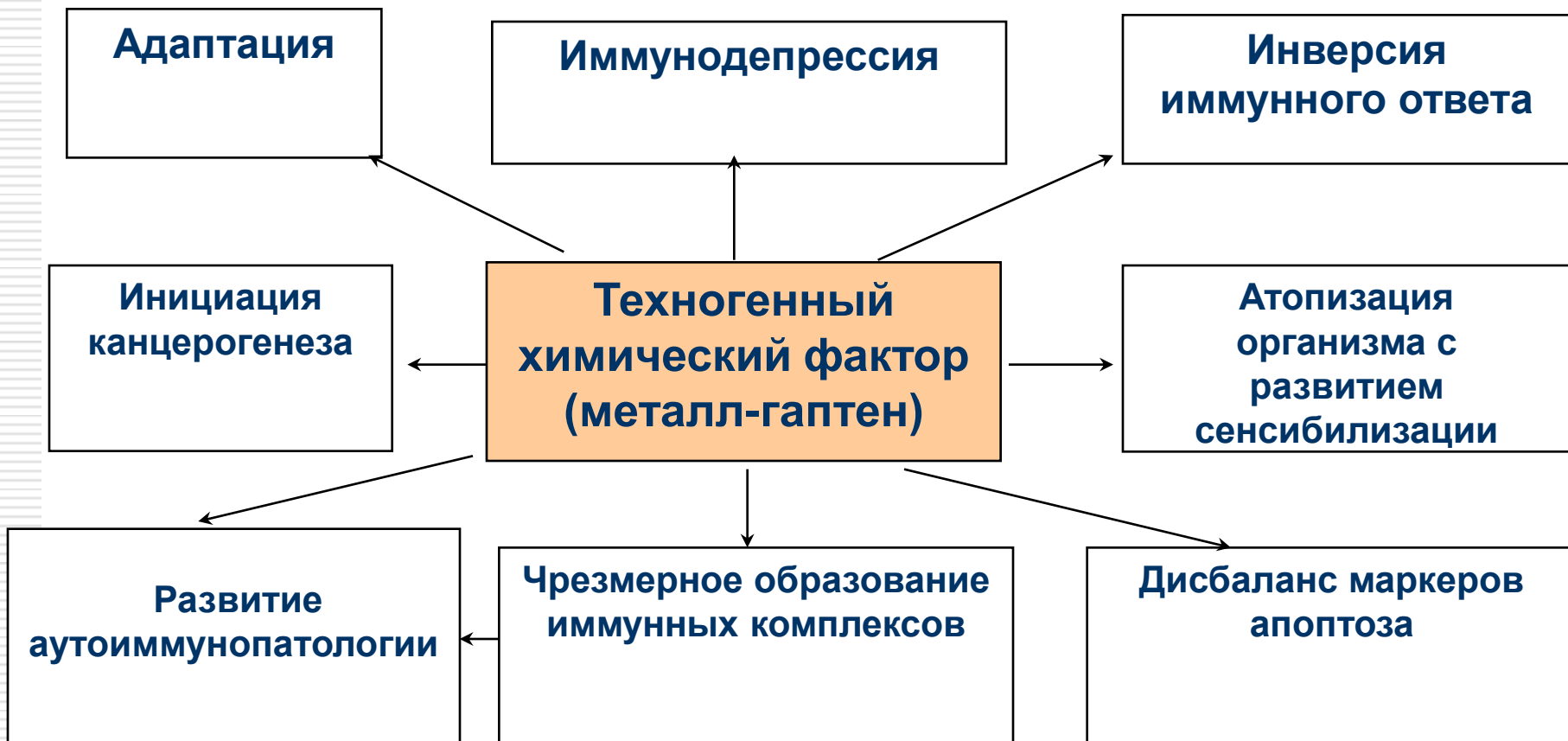
Ч А С Т О Т А Ч У В С Т В И Т Е Л Ь Н О С Т И

Р А С П Р О С Т Р А Н Е Н Н О С Т Ъ

## Актуальность проблемы

- ❖ Всё большее количество детей подвергается воздействию техногенных факторов внешней среды;
- ❖ Системы детоксикации функционируют в зависимости от генетических особенностей ответственных ферментов;
- ❖ Уровень иммунного ответа может характеризовать как степень воздействия гаптена, так и работу систем детоксикации;
- ❖ Необходимо выявление групп риска по напряженности иммунного ответа и генетическим особенностям среди детей с неблагополучных территорий

# Результат взаимодействия токсиканта и системы иммунологического гомеостаза



## Цель и задачи исследования

- ❖ Цель – анализ изменения иммунологических и генетических маркеров у детей в условиях контаминации биосред металлами.
- 1. Оценить уровень воздействия токсиканта на детей по его содержанию в биосредах;
- 2. Исследовать иммунологические показатели, характеризующих воздействие токсикантов;
- 3. Определить генетический полиморфизм генов детоксикации;
- 4. Корреляционный анализ между уровнем контаминантной нагрузки и иммунологическими показателями, характеризующ. возд. гаптена



**Вероятность  
возникновения  
экологически  
детерминированных  
заболеваний у  
детского населения  
Пермского края  
(выбор групп  
исследования)**



# Дизайн исследования

## Имуноферментные исследования

Исследование маркеров пролиферации (КЭА, СА 72-4, СА 19-9, пепсиногены)

**1000** определений

## Химические методы

Определение металлов методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой

**200** определений

## Методы математической статистики

**2000** единиц информации

## Методы и объем исследований

## Иммунологические методы

Определение спец. Ig G и Ig E, лейкотриенов

**160** единиц информации

## Методы математического моделирования

Корреляционный анализ

**1200** единиц информации

## Методы молекулярно-биологические (ПЦР)

Генетический полиморфизм (СУР, СРОХ)

**500** единиц информации

146 детей из опытной группы

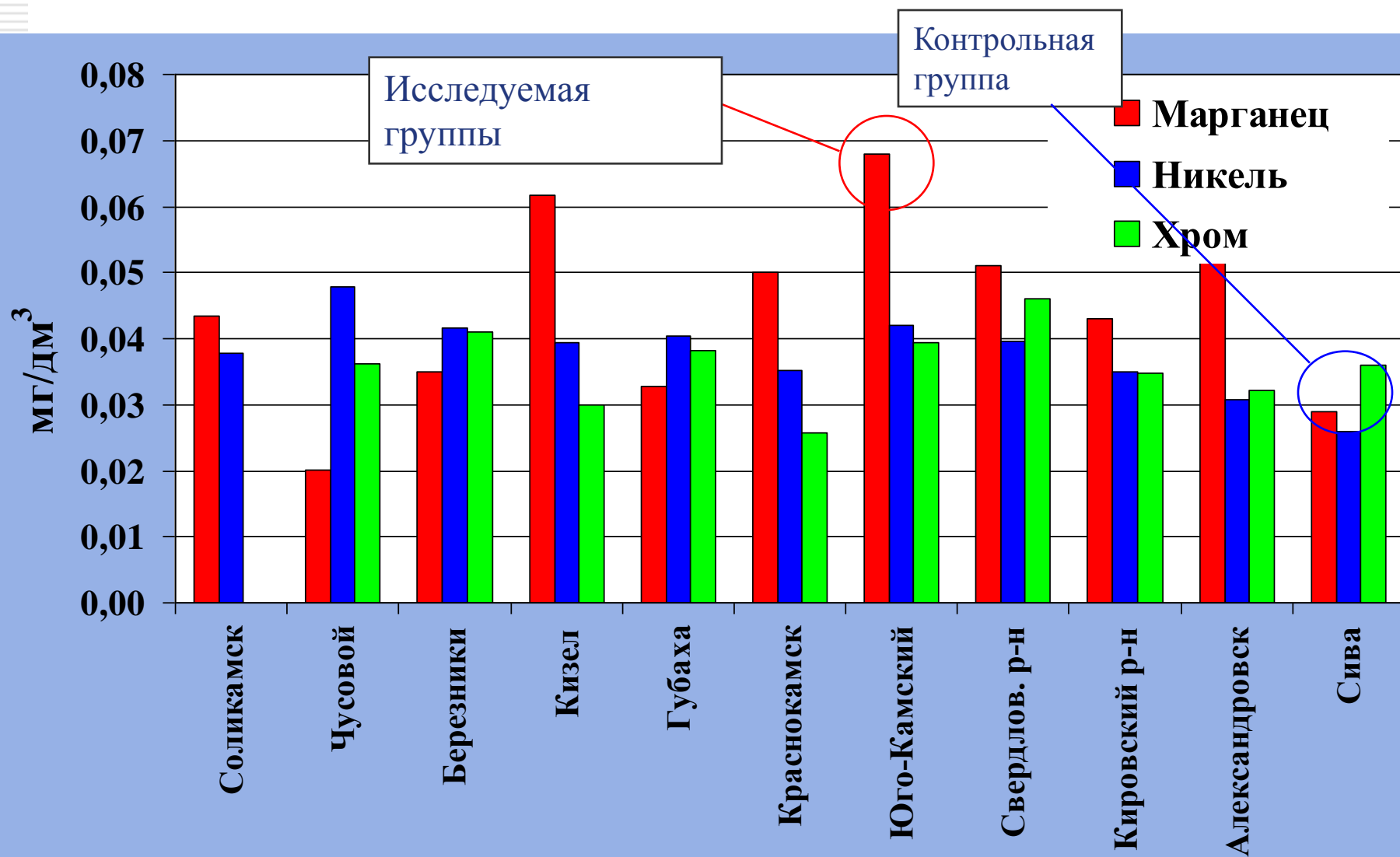
57 детей контрольной группы

## Содержание токсикантов в крови детей Пермского края

Показатели мг/дм <sup>3</sup>	Фоновый уровень	Контрольная группа M±m, n=57	Исследуемая группа M±m, n=146	Процент детей с повышенным уровнем, %
Никель	0,0050±0,0014	0,003±0,001	<b>0,011±0,001</b>	35,3
Хром	0,0194±0,0015	0,010±0,002	<b>0,026±0,002</b>	42,8
Марганец	0,0165±0,0014	0,011±0,001	<b>0,025±0,004</b>	32,1

Содержание тяжелых металлов в крови детей, проживающих в техногенно загрязненной зоне, **повышено** относительно контрольной группы, где содержание токсикантов находилось в пределах фонового уровня

# СОДЕРЖАНИЕ ТОКСИКАНТОВ (ГАПТЕНОВ) В КРОВИ ДЕТЕЙ ПЕРМСКОГО КРАЯ



## Содержание лейкотриенов LT C4/D4/E4 и IgE общего в крови детей Пермского края

Показатель	Референтный интервал	Контрольная группа M±m	Исследуемая группа M±m
IgE общий, ME/мл	<50,0	61,0±11,7	147,2±27,9
Лейкотриены LTC4/D4/E4, пг/мл	40,0 -200,0	241,2±30,1	346,7±39,4

При повышенной нагрузке химическими соединениями содержание медиаторов аллергических реакций в исследуемой группе **выше**, чем в контрольной группе

## Содержание специфического IgE в крови детей Пермского края

Показатели, мг/дм <sup>3</sup>	Референтный интервал M±m	Контрольная группа M±m	Исследуемая группа M±m
IgE специфический к никелю	2,11±0,501	2,56±0,29	2,60 ±1,18
IgE специфический к марганцу	1,21±0,712	0,45±0,05	<b>1,14 ±0,48 *</b>
IgE специфический к хрому	1,01±0,192	1,14±0,17	<b>2,84 ±0,91 **</b>

Установлено **превышение** содержания IgE специфического к марганцу и хрому в сыворотке крови исследуемой группы как по отношению к референтной концентрации, так и в сравнении с группой контроля

## Содержание показателей пролиферации в крови детей Пермского края

Показатели	Референтный интервал	Контрольная группа % превышения реф. интервала	Исследуемая группа % превышения реф. интервала
Карциноэмбриональный антиген, нг/см <sup>3</sup>	0 - 2,9	3,99 %	4,27 %
СА 19-9, ед.см <sup>3</sup>	0 - 35	4,56 %	5,6 %
СА 72-4, ед.см <sup>3</sup>	0 - 6	4,49 %	4,97 %

**Не установлено достоверных отличий в уровнях и распространенности повышенных значений маркеров пролиферации в исследуемой группе по сравнению с группой контроля**

# Особенности генетического полиморфизма у детей

Ген	Генотипы	Группа сравнения (n=57)	Группа наблюдения (n=146)
CYP1A1 (цитохром P450)	AA	96%	88%
	GA	4%	<b>12%</b>
	GG	0%	0%
	Аллели		
	A	98%	94%
	G	2%	<b>6%</b>

Выявлено **повышение** распространенности минорного аллеля гена CYP1A1 (метаболизм первой фазы детоксикации) у детей в группе наблюдения по сравнению с контрольной группой.



# Корреляционные зависимости между контаминацией биосред токсикантами и иммунологическими показателями

Маркер экспозиции	Маркер эффекта	Направление изменения показателя	R2	p
Марганец [кровь]	IgE общий		0,247	<0,05
	IgE спец. марганец		0,184	<0,05
	КЭА (карц.-эмбрион. антиген)		0,092	0,008
	Пепсиноген II		0,215	<0,05
	СА 72-4		0,724	<0,05
Никель [кровь]	КЭА (карц.-эмбрион. антиген)		0,138	0,004
	Пепсиноген I		0,64	<0,05
	Пепсиноген II		0,135	<0,05
Хром [кровь]	IgE спец. хром	0,052	0,012	

**Повышаются** шансы возрастания уровня КЭА при повышении концентрации марганца и никеля в крови, **активация** пепсиногена II и **снижение** секреторного пепсиногенового индекса, что указывает на **гипотрофические** процессы в слизистой желудка.

# Выводы

- ❖ 1. При внешнем воздействии токсиканта-металла, выявляется высокий уровень заинтересованного гаптена в крови.
- ❖ 2. Зафиксирован повышенный уровень общей и специфической сенсibilизации к металлам у детей, постоянно потребляющих воду с повышенным содержанием металлов.
- ❖ 3. Выявлен патологический пролиферативный ответ на нарушение иммунных механизмов и систем детоксикации.
- ❖ 4. Выявлены особенности полиморфизма генов системы детоксикации у детей в опытной группе.
- ❖ 5. Пролиферативный ответ коррелирует с уровнем воздействия токсикантов на детей.
- ❖ 6. Таким образом, воздействие гаптена приводит к формированию патологического ответа, в особенности у детей с генетическими особенностями в генах системы детоксикации, а определение этих показателей позволяет выявить группу риска среди детей, подверженных воздействию токсиканта на территории.

**Спасибо за внимание**