

АКТУАЛЬНОСТЬ НЕИНВАЗИВНЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ ИММУННОГО СТАТУСА ЧЕЛОВЕКА

Н.В. Плитман
ЮУрГУ, г. Челябинск

Изучение закономерностей функционирования системы иммунитета, механизмов ее нарушения и разработка корригирующих подходов относятся к приоритетным направлениям фундаментальной и практической медицины. Критериями оценки иммунного статуса является неинвазивная среда (слюна), что не противоречит Хельсинскому соглашению проведения бескровных исследований. В статье представлены результаты иммунного статуса студентов с различной двигательной активностью. Полученные данные несут новую информацию об изменении иммунологической резистентности обучающихся.

Ключевые слова: иммунная система, иммунный статус, слюна.

Иммунная система как одна из ключевых интегральных и регуляторных систем человеческого организма находится в последние годы в сфере интересов специалистов самых различных областей медицины и смежных специальностей. Внимание к изменениям в системе иммунитета, которые в настоящее время переросли в глобальную медико-социальную проблему, обусловлено, несомненно, широким распространением этих нарушений. Известно, что уже с конца XX в. более трети всей патологии человека протекает в сочетании с клиническими признаками иммунной недостаточности, что определяет важность изучения механизмов развития иммунодефицитных состояний [11].

В настоящее время для определения иммунного статуса человека чаще всего используется кровь, которая содержит в качестве иммунного компонента сывороточные иммуноглобулины нескольких классов.

Возможно, в недалеком будущем для проведения различных анализов в качестве материала будет использоваться не кровь, а другая биологическая жидкость – слюна. Учеными было установлено, что в человеческой слюне содержится огромное количество белков. Вследствие этого в настоящее время исследователями различных стран ведется разработка диагностических тестов, основанных на исследовании образцов слюны. Очевидно, что процесс забора слюны гораздо проще, дешевле и безопаснее, чем забор традиционно используемой для большинства лабораторных анализов крови.

Исследование, проведенное группой ученых Орегонского университета, показало, что белки, содержащиеся в крови, содержатся также и в слюне человека. Использование слюны для проведения различных лабораторных тестов гораздо более предпочтительно по сравнению с использованием крови, особенно при проведении анализов у детей и людей пожилого возраста ("Journal of Proteome Research", публикуемый Американским химическим обществом) [12].

Бесспорно, слюна не может полностью заменить кровь в лабораторной диагностике, но в будущем она может быть успешно использована для диагностирования ряда заболеваний, особенно в случаях, когда ранняя постановка диагноза является критической для выживания пациента. Кроме того, сбор слюны для анализов может быть единственным практически осуществимым методом скрининга большого количества людей, населяющих развивающиеся страны.

Использование слюны для диагностических наборов является сравнительно новой, развивающейся технологией. В США уже утвержден метод тестирования на наличие ВИЧ-инфекции, основанный на использовании слюны. На очереди уже целый ряд различных методик, от тестов для подтверждения беременности до определения содержания в организме химических веществ, таких как алкоголь и наркотики. Кроме этого, в слюне содержатся специфические белки, которые могут указать на возникновение таких недугов, как рак органов пищеварительной системы, легких, груди, а также болезни Альцгеймера, Паркинсона и диабет. Ученые из Университета Техаса также озаботились вопросом установления диагноза исходя из состава слюны. Исследовав образцы, полученные от 30 пациенток с раком груди, специалисты обнаружили в их слюне 49 белков-маркеров, указывающих на наличие опухолей. В дальнейшем врачи планируют подключить к сотрудничеству стоматологов, которые смогут брать образцы слюны у пациентов [4, 5].

Одним из препятствий на пути развития этого перспективного направления является недостаток знаний о белках, содержащихся в человеческом организме. Исследователям еще предстоит большая работа по их изучению, особенно по изучению белков, являющихся биомаркерами различных заболеваний. Так как до сих пор в большинстве работ, направленных на изучение белков человеческого организма, в качестве исследуемого

материала использовались образцы определенных тканей и крови, о белках, содержащихся в слюне, известно совсем немного. Следовательно, очень важной задачей для ученых является изучение именно белкового состава слюнных [9, 13].

С помощью двухмерного электрофореза в геле и масс-спектрометрии удалось идентифицировать 28 белков, содержащихся в слюне. Из них 19 белков содержатся исключительно в слюне и оставшиеся 9 не только в слюне, но также и в сыворотке крови человека. Для определения других белков сыворотки, содержащихся в слюне в незначительных количествах, ученые использовали более чувствительные методы: двухмерную жидкостную хроматографию и высокочувствительную масс-спектрометрию. В образце слюны здорового некурящего мужчины они смогли идентифицировать 102 белка, 35 из них содержатся только в слюне и 67 – и в слюне, и в сыворотке. Позднее специалистам удалось создать полную карту слюны, в которой отражены 1166 протеинов, дающих представление о состоянии здоровья человека [7, 10, 12].

Использование слюны в качестве биологического материала может быть очень удобным при мониторинге иммунитета спортсменов. У спортсменов высокой квалификации наблюдаются значительные метаболические и функциональные нарушения в различных звеньях иммунной системы, что можно рассматривать как синдром иммунной дисфункции. Указанные нарушения приводят к повышению восприимчивости организма спортсмена к инфекционным заболеваниям в периоды интенсивных тренировок и соревнований. Иммунологический мониторинг позволяет выявлять нарушения в иммунной системе, оценить их, что очень существенно, прогнозировать функциональное состояние спортсмена. В зависимости от результатов иммунологического исследования может проводиться коррекция нарушений иммунного статуса [6].

Контроль над иммунологическими показателями в процессе тренировочно-соревновательной деятельности может служить средством донологической диагностики патологических отклонений, что позволяет индивидуально прогнозировать возможность возникновения заболевания. И если использовать для этих исследований слюну, это позволит брать анализ, не прекращая тренировочного процесса, и не требует специально обученного для взятия крови персонала.

Анализ слюны могут показать карту протеинов человека и их взаимодействие. Протеины действуют как маркеры, которые показывают состояние болезни. Определение концентрации различных протеинов, в частности иммуноглобулинов, дает возможность диагностировать состояние здоровья.

Среди всех классов иммуноглобулинов в количественном отношении доминирует иммуноглобулин G (IgG). На его долю приходится около 75 % от общего количества иммуноглобулинов. Антитела класса IgG играют основополагающую роль в обеспечении длительного гуморального иммунитета при инфекционных заболеваниях. Дефицит IgG

ослабляет сопротивляемость к инфекциям. Синтез IgG и его уровень возрастают в ответ на хроническую или возвратную инфекцию или аутоиммунное заболевание (многие клинически важные аутоантитела относятся к классу IgG). Основной функцией IgG является образование комплекса «антиген-антитело». Они способствуют нейтрализации бактериальных экзотоксинов, фагоцитозу, фиксации комплемента, могут участвовать в аллергических реакциях. Антитела этого класса появляются через некоторое время после контакта с антигеном. Иммуноглобулины G имеют небольшой молекулярный вес и поэтому могут (единственные из всех иммуноглобулинов) проникать через плаценту от матери к плоду. Таким образом, обеспечивается пассивный иммунитет новорожденного ребенка к некоторым инфекционным заболеваниям, например, к кори. В крови у плода и у новорожденного содержатся только материнские IgG. Они исчезают очень рано, не позже 9 месяцев после рождения, когда начинается синтез собственных IgG [1, 2, 8].

Иммуноглобулины класса M (IgM) – класс иммуноглобулинов, преимущественно обеспечивающий первичный иммунный ответ. Они первыми появляются в кровяном русле при бактериемии, осуществляя антибактериальный иммунитет. Снижение их содержания свидетельствует о дефиците гуморального иммунитета. Увеличение концентрации наблюдается при остром инфекционном процессе различного генеза (вирусные, бактериальные, паразитарные, грибковые заболевания), острых вирусных гепатитах, аутоиммунных заболеваниях, системной красной волчанке, миеломной болезни, пиелонефрите. Содержание IgM снижается при хронической вирусной инфекции, заболеваниях, приводящих к истощению иммунной системы. IgM – эволюционно наиболее древний класс антител. Они синтезируются плазматическими клетками, составляют 5–10 % от общего количества иммуноглобулинов. Они циркулируют в крови в виде пентамеров, состоящих из 5 субъединиц мономерного IgM. Иммуноглобулины класса M называют макроглобулинами из-за высокой молекулярной массы; антитела этого класса мало проникают в ткани. Период их полураспада в крови составляет около 5 суток. При первичном иммунном ответе IgM наиболее эффективно связываются с комплементом (для запуска этого механизма достаточно связывания антигена всего лишь одной молекулой IgM), вызывают агглютинацию бактерий, нейтрализацию вирусов. Значительное повышение концентрации IgM в крови наблюдается при ряде инфекций, как у взрослых, так и у новорожденных. Они играют важную роль в активации фагоцитоза и элиминации возбудителя из кровяного русла. IgM вырабатываются уже у плода и участвуют в противоиной защите. В период внутриутробного развития IgM матери не проникают через плаценту в кровь ребенка из-за высокого молекулярного веса. Повышенное содержание IgM в пуповинной крови – диагностический критерий внутриутробной инфекции плода.

Иммуноглобулины А (IgA) – белки, обеспечивающие местный иммунитет. В организме человека они представлены в виде двух фракций: сывоточной, обеспечивающей местный иммунитет, и секреторной (содержащейся в молоке, секретах кишечного и респираторного тракта, слюне, слезной жидкости), создающих вместе с неспецифическими факторами иммунитета защиту слизистых оболочек от микроорганизмов и вирусов. Связываясь с микроорганизмами, IgA тормозят их присоединение к поверхности клеток. Снижение содержания IgA свидетельствует о недостаточности гуморального и местного иммунитета, наличии острой вирусной инфекции. Увеличение концентрации может свидетельствовать об острых и хронических инфекционных процессах (паразитарных, грибковых, бактериальных), заболеваниях печени, системной красной волчанке, миеломной болезни, моноклональной гаммапатии [11].

Сывороточный IgA составляет 15–20 % всей фракции иммуноглобулинов, при этом 80 % молекул IgA представлено в мономерной форме. Секреторный IgA представлен в димерной форме в комплексе с секреторным компонентом, содержится в серозно-слизистых секретах (например в слюне, молозиве, молоке и т. д.) [13].

Как уже было сказано выше, иммуноглобулины можно искать не только в сыворотке крови человека, но и в другой биологической жидкости – слюне. В собственных исследованиях мы выявляли в слюне иммуноглобулины классов А, G, M у контрольной группы (лица, не подвергающиеся регулярным физическим нагрузкам) и группы, состоящей из физически активных лиц (студенты-спортсмены). Таким образом, мы сравнивали иммунный статус у двух экспериментальных групп. Полученные данные представлены в таблице.

**Концентрации иммуноглобулинов
в слюне у разных групп лиц**

Экспериментальные группы	Концентрация sIgA (г/л)	Концентрация IgG (г/л)	Концентрация Ig M (г/л)
Контрольная группа	0,346	0,025	0,038
Лица, занимающиеся физическими упражнениями	0,865	0,051	0,064
Норма	0,768 ± 0,275	0,042 ± 0,017	0,055 ± 0,011

В контрольной группе средние значения концентраций иммуноглобулинов оказались гораздо ниже нормы, что может говорить о низком иммунном статусе большинства обследованных лиц. Возможно, такие низкие концентрации иммуноглобулинов в слюне связаны с крайне неблагоприятной экологической обстановкой в нашем регионе и неправильным образом жизни студентов, что ведет

к снижению защитных сил иммунитета. Почти у всех обследованных лиц, занимающихся физическими упражнениями, интересующие нас показатели находились в норме. В итоге и средние значения концентраций иммуноглобулинов оказались в норме. Полученные данные говорят о положительном влиянии систематических физических упражнений на иммунный статус человека.

Таким образом, при проведении биологических исследований оказалось возможным и удобным использование неинвазивных методик для определения концентрации нужных нам величин.

В заключение можно сказать, что использование крови для анализов уже давно является хорошо отработанной общепринятой практикой, поэтому для того чтобы ввести анализы слюны в лабораторную практику наравне с анализами крови, понадобится еще некоторое время.

Литература

1. Быковская, Г.Н. Медицинская иммунология / Г.Н. Быковская, О.С. Слепова. – М.: АСТ, 2004. – 300 с.
2. Железнякова, Г.Ф. Медицинская иммунология / Г.Ф. Железнякова, О.В. Тихомирова. – М.: Лань, 2000. – 368 с.
3. Иммунология, иммунопатология и проблемы иммунотерапии в ринологии / под ред. Н.А. Арефьевой. – Уфа, 1997. – 120 с.
4. Караулов, А.В. Клиническая иммунология / А.В. Караулов. – СПб.: Спецлит, 1999. – 604 с.
5. Кукайн, Э.М. Способы обнаружения секреторного иммуноглобулина А в биологических жидкостях человека / Э.М. Кукайн, Л.Б. Хазенсон // ЖМЭИ. – 1978. – № 2. – С. 56–61.
6. Кукайн, Э.М. Основы иммунитета и занятия физическими упражнениями / Э.М. Кукайн, Л.Б. Хазенсон, А.Н. Рыбкин // ЖМЭИ. – 1977. – № 8. – С. 106–111.
7. Литвак, Г.И. Ваш иммунитет / Г.И. Литвак. – М.: Яуза, 1998. – 224 с.
8. Молекулярная биология клетки / Б. Альбертс, Д. Брей, Дж. Льюис и др. – М.: Мир, 1987. – Т. 5. – С. 231.
9. Назаров, П.Г. Воспаление: локальные и системные механизмы защиты слизистых оболочек / П.Г. Назаров // Новости оториноларингологической патологии. – 2001. – № 2 (26). – С. 39–41.
10. Оценка иммунного статуса человека / Р.В. Петров, Ю.М. Лопухин, А.Н. Чередеев и др. – М., 1984. – 36 с.
11. Оценка иммунного статуса человека: метод. рекомендации / сост. Р.В. Петров, Ю.М. Лопухин, А.Н. Чередеев. – М.: Изд-во МГУ, 1984. – 56 с.
12. Ройт, А. Иммунология / А. Ройт, Дж. Броstoff. – М.: Мир, 2000. – 592 с.
13. Фрейдлин, И.О. Цитокины в клинике / И.О. Фрейдлин // Современные проблемы аллергологии, клинической иммунологии и иммунофармакологии: сб. тр. РААКИ. – М., 1998. – С. 104–119.

Поступила в редакцию 15 января 2011 г.