

УДК 615.38:612.11 – 07]:612.017.1

## ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС ДОНОРОВ КРОВИ И ЕЁ КОМПОНЕНТОВ

Зайцева Г.А., Вершинина О.А., Матрохина О.И.,  
Сенькина Е.А., Карпова М.В.

*ФГУ «Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА России», Киров,  
e-mail: ip-gem@medstat.kirov.ru*

Исследован уровень провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-18, ФНО- $\alpha$ , ИНФ- $\alpha$ ) в сыворотке крови доноров с использованием метода иммуноферментного анализа. Определены средние значения показателей и диапазон их колебаний. Установлена частота выявления показателей, превышающих верхнюю границу нормы, указанной в инструкциях производителей соответствующих реагентов. Данные, полученные при обследовании практически здоровых жителей региона, могут быть использованы в качестве референтных при интерпретации результатов аналогичных анализов у больных.

**Ключевые слова:** провоспалительные цитокины, сыворотка крови, доноры первичные и активные

Цитокины относятся к группе регуляторных пептидов, осуществляющих формирование и регуляцию защитных реакций организма. Они участвуют во всех этапах иммунного ответа, обеспечивая межклеточные взаимодействия. Биологический эффект цитокинов универсален при действии различных патогенных факторов. Для оценки цитокинового статуса индивида исследуют спонтанную и индуцированную продукцию цитокинов клетками крови, а также их уровень в сыворотке или плазме, который отражает текущее состояние иммунной системы. В настоящее время определение цитокинов достаточно широко используется в клинической практике, поскольку их количественные характеристики и соотношения между собой, как правило, отражают динамику патологического процесса, коррелируют с активностью заболевания и позволяют судить об эффективности проводимого лечения. Однако при этом необходимо четко знать «референтные» уровни цитокинов, свойственные здоровым людям. Эти показатели могут выходить за пределы значений, которые указываются в инструкциях производителей наборов реагентов, предназначенных для количественного определе-

ния цитокинов в биологических жидкостях человека и культуральных средах. Кроме того, как справедливо отмечается в некоторых работах, опубликованные данные о количественном содержании цитокинов в сыворотке и плазме крови как здоровых, так и больных людей очень противоречивы, что может быть обусловлено среди других причин использованием исследователями наборов разных фирм [9].

Среди многочисленного семейства цитокинов выделяют цитокины с провоспалительным действием. При контакте иммунокомпетентных клеток с бактериальными, вирусными, паразитарными и другими агентами, вызывающими воспаление, провоспалительные цитокины активируют гранулоциты, макрофаги, эндотелиальные клетки, способствуют развитию широкого спектра других биологических эффектов. Иначе говоря, они играют важную роль в развитии как врожденного, так и приобретенного иммунитета против различных инфекционных агентов. Следовательно, исследование провоспалительных цитокинов может дать весьма полезную информацию при диагностике и мониторинге инфекционно-воспалительных заболева-

ний. Это дало основание предположить возможность использования определения концентрации некоторых провоспалительных цитокинов при оценке качества донорской крови [8]. Удалось установить связь концентрации интерлейкина 1 $\beta$  (ИЛ-1 $\beta$ ) с наличием у доноров антител к вирусу гепатита С, однако было сделано заключение о преждевременности использования ИЛ-1 $\beta$  как суррогатного маркера качества донорской крови. Между тем необходимо иметь в виду, что повышенное содержание провоспалительных цитокинов в гемокomпонентах может быть причиной фебрильных посттрансфузионных реакций у реципиентов.

Цель настоящей работы заключалась в определении уровня некоторых провоспалительных цитокинов у доноров для установления их нормативных значений у практически здорового населения региона и выявления возможной связи с медицинскими отводами от донаций.

#### Материал и методы исследования

Исследовали образцы сывороток крови доноров в возрасте от 18 до 59 лет, прошедших медицинское освидетельствование с соблюдением регламентированных требований [7] и допущенных к донациям. Концентрацию цитокинов определяли методом ИФА с использованием коммерческих наборов ЗАО «Вектор-Бест» в диапазоне концентраций: для ИЛ-1 $\beta$  5-250 пг/мл, ФНО- $\alpha$

0-250 пг/мл, ИЛ-6 5,6-300 пг/мл, ИЛ-18 0-1000 пг/мл, ИНФ- $\alpha$  0-500 пг/мл. Кровь для анализов брали в утренние часы (с 8 до 10 часов). Статистическую обработку результатов проводили с помощью компьютерной программы «Statistica».

#### Результаты и обсуждение

Уровень ИЛ-1 $\beta$ , который является ключевым провоспалительным цитокином, исследован у 107 доноров. Его содержание варьировалось от 0 до 78 пг/мл, при этом у 92,5% обследованных не превышало 11,0 пг/мл, указанных как верхний предел значений (0–11 пг/мл), определенных у здоровых людей производителями реагентов [2]. У 7,5% доноров концентрация ИЛ-1 $\beta$  составляла 12,5–78,0 пг/мл, то есть превышала пределы нормативных показателей. Средний уровень ИЛ-1 $\beta$  равнялся  $3,6 \pm 1,01$  пг/мл, что существенно выше приведенного в инструкции (1,6 пг/мл). У 55% доноров цитокин в крови не был выявлен.

Фактор некроза опухолей (ФНО- $\alpha$ ) – pleiotropic провоспалительный цитокин, по своей биологической активности близкий к ИЛ-1 $\beta$ , исследован у 274 человек. Как видно из данных, представленных в табл. 1, его уровень варьировал от 0 до 12 пг/мл, составив в среднем  $1,2 \pm 0,13$  пг/мл (в инструкции 0,5 пг/мл) [6] и превысив диапазон нормы у 7,4% доноров. У остальных обследованных он варьировал от 0 до 5,5 пг/мл.

Таблица 1

Уровни цитокинов в сыворотке крови в общей группе обследованных доноров

Цитокины	Число обследованных	Среднее значение, пг/мл	Диапазон, пг/мл	Частота повышенных значений, %
ИЛ-1 $\beta$	107	$3,6 \pm 1,01$	0–78	7,5
ФНО- $\alpha$	278	$1,2 \pm 0,13$	0–12	7,4
ИЛ-6	104	$4,7 \pm 0,84$	0–70	3,5
ИЛ-18	203	$267,1 \pm 14,63$	75–1000	7,2
ИНФ- $\alpha$	152	$4,8 \pm 0,96$	0–86	19,7

Примечание: к повышенным относили показатели, превышающие верхние значения у здоровых людей, указанные в инструкциях к соответствующим наборам реагентов.

Концентрация ИЛ-6, регулирующего острофазный ответ, воспаление и другие механизмы иммунного ответа, превысила верхнее значение у здоровых, указанное в инструкции (0–10 пг/мл;  $M = 2,0$  пг/мл) [3], у 3,5% из 104 обследованных нами доноров (предел колебаний от 0 до 20,0 пг/мл,  $M = 4,7 \pm 0,84$  пг/мл); соответственно у 96,5% его значения равнялись 0–10,0 пг/мл.

Интерлейкин-18, относящийся к семейству ИЛ-1, определили в 203 образцах сыворотки крови. Согласно инструкции по применению [4], его содержание у здоровых составляет:  $M = 370$  пг/мл; диапазон 104–650 пг/мл. Его повышенный уровень ( $> 650$  пг/мл) обнаружен нами у 7,2% доноров, среднее значение –  $267,1 \pm 14,63$ , у 93% – варьирует от 75 до 650 пг/мл.

Содержание еще одного провоспалительного цитокина, а именно, интерферона-альфа (ИНФ- $\alpha$ ), играющего ключевую роль в противовирусной защите организма,

оказалось повышенным ( $> 5$  пг/мл) у 19,7% из 152 обследованных доноров; оно колебалось в пределах 0–86 пг/мл, у 80,3% – в пределах 0–5 пг/мл, в среднем составив  $4,8 \pm 0,96$  пг/мл. Соответственно в инструкции по применению:  $M = 0$  пг/мл, диапазон колебаний 0–5 пг/мл [5].

Лишь у 4,5% обследованных выявлено повышение двух видов определявшихся цитокинов, из них ИНФ- $\alpha$  и ИЛ-18 – у 2,7%, ИНФ- $\alpha$  и ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6, ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$  у 0,6% доноров для каждого сочетания.

Провели сравнение результатов исследования цитокинов у первичных доноров и активных доноров с числом донаций гемоконпонентов от 40 до 266 (табл. 2). Средний возраст первичных доноров составил 30,6 лет, активных – 45,2. Следует отметить, что сыворотки исследовались с одними и теми же наборами реагентов, в одной и той же постановке анализа.

**Таблица 2**

Уровни цитокинов в сыворотке крови первичных и активных доноров

Цитокины	Первичные доноры				Активные доноры			
	Число обследованных	$M \pm m$ , (пг/мл)	Диапазон (пг/мл)	Частота повышения, %	Число обследованных	$M \pm m$ , (пг/мл)	Диапазон (пг/мл)	Частота повышения, %
ИЛ-1 $\beta$	46	$7,5 \pm 2,23^{**}$	0–78	17,4 <sup>**</sup>	61	$0,6 \pm 0,18^{**}$	0–7	0,0 <sup>**</sup>
ФНО- $\alpha$	122	$0,8 \pm 0,18^*$	0–12	4,0	156	$1,4 \pm 0,19^*$	0–8,4	9,6
ИЛ-6	18	$12,5 \pm 4,02^{**}$	0–70	47,4 <sup>**</sup>	86	$3,1 \pm 0,41^{**}$	0–10	3,5 <sup>**</sup>
ИЛ-18	86	$416,2 \pm 26,01^{**}$	110–1000	17,1 <sup>**</sup>	117	$157,4 \pm 6,18^{**}$	75–320	0,0 <sup>**</sup>
ИНФ- $\alpha$	114	$5,4 \pm 1,17$	0–86	21,1	38	$2,8 \pm 1,53$	0–51	13,2

Примечание: различия достоверны при \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ .

Как видно из представленных данных, средние значения концентрации цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-18 и частота их повышения у первичных доноров существенно превышали таковые показатели у активных доноров, за исключением уровня ИНФ- $\alpha$ , который оказался практически одинаковым у тех и других ( $p > 0,05$ ). Это может

служить косвенным подтверждением существующего мнения о том, что первичные доноры относятся к группе повышенного риска в отношении наличия у них какой-либо патологии, в том числе воспалительного генеза, по сравнению с активными донорами, проходящими регулярное медицинское обследование перед донацией [1]. Высокая

частота выявления повышенной концентрации в сыворотке крови ИЛ-6 среди первичных доноров, возможно, объясняется влиянием психоэмоционального стресса на первую донацию у этих лиц. Среднее значение ФНО- $\alpha$  у активных доноров несколько выше в сравнении с первичными.

При анализе причин медицинских отводов во время последующих визитов в донорский пункт установили, что у 2 человек с повышенным содержанием ИНФ- $\alpha$  выявлен HbsAg и повышение активности АЛТ, у 1 – диагностирован вирусный гепатит С; 3 донора с повышенной концентрацией ФНО- $\alpha$  отведены вследствие увеличения уровня билирубина; язвенная болезнь желудка диагностирована у 2 человек с повышенным содержанием ИЛ-6 и ИЛ-18; сифилис – у мужчины с повышением уровня ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6, HbsAg обнаружен у донора с высокой концентрацией в сыворотке ИЛ-18. Однако достоверной корреляции между частотой медицинских отводов и увеличением уровня исследованных цитокинов установить не удалось. Тем не менее следует признать оправданным мнение некоторых авторов о целесообразности исследования уровня провоспалительных цитокинов, в частности, у доноров с выявленным лейкоцитозом [10].

### Выводы

Определены уровни провоспалительных цитокинов, свойственные большинству обследованных здоровых людей – жителей региона.

У части доноров крови и её компонентов уровень провоспалительных цитокинов в сыворотке крови отличается от референтных величин, приводимых в инструкциях к наборам реагентов.

Повышенные значения провоспалительных цитокинов существенно чаще выявляются у первичных доноров; их определение целесообразно включать в комплекс углубленного обследования доноров с времен-

ными медицинскими отводами (повышение уровня АЛТ, билирубина, сомнительные результаты тестов на гемотрансмиссивные инфекции).

### Список литературы

1. Дашкова Н.Г. Обеспечение инфекционной безопасности гемотрансфузий // Вестник службы крови России. – 2006. – №3. – С. 12–16.
2. Инструкция по применению набора реагентов для иммуноферментного определения концентрации человеческого интерлейкина-1 бета // ЗАО «Вектор-Бест». – Новосибирск, 15.10.08. – 23 с.
3. Инструкция по применению набора реагентов для количественного определения человеческого интерлейкина-6 (ИЛ-6) в биологических жидкостях человека и культуральных средах // ЗАО «Вектор-Бест». – Новосибирск, 20.05.08. – 23 с.
4. Инструкция по применению набора реагентов для иммуноферментного определения концентрации человеческого интерлейкина-18 (ИЛ-18) // ЗАО «Вектор-Бест». – Новосибирск, 30.09.08. – 24 с.
5. Инструкция по применению набора реагентов для количественного определения человеческого альфа-интерферона в биологических жидкостях человека и культуральных средах // ЗАО «Вектор-Бест». – Новосибирск, 30.05.08. – 22 с.
6. Инструкция по применению набора реагентов для иммуноферментного определения концентрации фактора некроза опухолей-альфа // ЗАО «Вектор-Бест». – Новосибирск, 30.09.08. – 22 с.
7. Приказ МЗ РФ №364 от 14.09.2001 г. «Об утверждении порядка медицинского обследования донора крови и ее компонентов» (в ред. Приказов МЗСР РФ №175н от 16.04.2008 г. и №261н от 06.06.2008 г.).
8. Терских В.А. Возможности оптимизации использования иммунологических тестов в оценке качества донорской крови: автореф. дис. канд. мед. наук. – Челябинск, 2003. – 20 с.
9. Тугуз А.Р. Исследование соотношений основных цитокинов в крови онкологических больных и здоровых доноров // Иммунология. – 2003. – №3. – С. 184–185.
10. Razavi N.L. Proinflammatory cytokines in response to insulin-induced hypoglycemic stress in healthy subjects // Metabolism. – 2009. – Vol. 58, №4. – P. 443–448.

---

**Рецензенты:**

Бубнова Л.Н., д.м.н., профессор, руководитель лаборатории иммуногематологии ФГУ РНИИ ГТ ФМБА России, Санкт-Петербург;

Петров Борис Алексеевич, д.м.н., профессор, зав. кафедрой общественного здоровья и

здравоохранения с курсами истории медицины и медицинской информатики, ГОУ ВПО «Кировская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному здравоохранению и социальному развитию», Киров.

## **CYTOKINE STATUS OF THE DONORS OF BLOOD AND ITS COMPONENTS**

**Zaitseva G. A., Vershinia O.A., Matrokhina O. I., Senkina E. A., Karpova M.V.**  
*FGI «Kirov Institute of Hematology and Blood Transfusion FMBA of Russia», Kirov,  
e-mail: ip-gem@medstat.kirov.ru*

The level of anti-inflammatory cytokines is investigated (Interleukin-1 $\beta$ , Interleukin-6, Interleukin-18, TNF- $\alpha$ , Interferon- $\alpha$ ) in the donors' blood serum with the help of enzyme immunodetection method. Average indices and the range of there variations are determined. The frequency of indices exceeding the upper limit of the norm shown in the specifications of corresponding reagent suppliers is defined. Data obtained while examining practically healthy citizens of the region can be used as referent when interpreting results of similar analysis of the sick.

**Keywords: anti-inflammatory cytokines, blood serum, primary and active donors**