

## ОСОБЕННОСТИ ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ НА КРАТКОВРЕМЕННОЕ ОБЩЕЕ ОХЛАЖДЕНИЕ У ПРАКТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ЖИТЕЛЕЙ Г. АРХАНГЕЛЬСКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЕЙ СОДЕРЖАНИЯ ХОЛЕСТЕРИНА В КРОВИ



© В.А. Штаборов\*, В.П. Патракеева, Р.С. Алесич

Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики им. Н.П. Лавёрова Уральского отделения Российской академии наук, Архангельск, Россия

**Обоснование.** В процессе адаптации к неблагоприятным условиям Арктики, в том числе к воздействию низких температур, происходят метаболические изменения. В арктических и северных районах у некоренного населения может сформироваться «северная дислипидемия», проявляющаяся в нарастании атерогенных фракций липидов в крови.

**Цель.** Выявить особенности иммунных реакций у практически здоровых лиц в ответ на кратковременное холодовое воздействие в зависимости от уровня общего холестерина в крови.

**Материалы и методы.** На базе лаборатории экологической иммунологии Института физиологии природных адаптаций ФИЦКИА УрО РАН проведено обследование 108 практически здоровых женщин, проживающих в г. Архангельске, в возрасте от 21 года до 50 лет. Забор крови производился из локтевой вены натощак утром до и сразу после общего охлаждения в течение 5 минут при температуре  $-25^{\circ}\text{C}$  в холодильной камере УШЗ-25Н (Ксирон холод, Россия). Комплекс иммунологического исследования включал изучение гемограммы венозной крови: количество тромбоцитов, эритроцитов, лейкоцитов, общее содержание гемоглобина в крови, лейкограммы, фенотипирование лимфоцитов, фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов крови, определение концентрации цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ . Исследование липидного профиля включало определение общего холестерина, глюкозы, триглицеридов, фосфолипидов. Физиологическим пределом содержания холестерина считали 5,2 ммоль/л. По результатам обследования были сформированы группы лиц по квартилям в зависимости от уровня общего холестерина периферической крови. Первую группу лиц (Q1=27 человек) составляли 25% обследуемых с минимальными уровнями общего холестерина, вторую группу (Q4=27 человек) — 25% с высокими уровнями в пределах физиологической нормы.

**Результаты.** Установлено, что в группе Q1 не было зарегистрировано ни одного случая дефицита гемоглобина, в то время как в группе Q4 регистрировали дефицит гемоглобина у 14,29% обследованных, а после кратковременного общего охлаждения — у 21,43%. Общее число тромбоцитов, а также показатель тромбокрит в группе Q4 был значительно выше ( $259,07 \times 10^3$  кл/мкл и 0,27% соответственно). Группа Q4 отличалась более высокими средними уровнями моноцитов в составе лейкоцитограммы ( $0,40 \pm 0,10 \times 10^9$  кл/л и  $6,26 \pm 1,43\%$  в сравнении с  $0,24 \pm 0,06 \times 10^9$  кл/л и  $4,46 \pm 1,40\%$ ,  $p < 0,05$ ). Выявлено, что чувствительными к кратковременному общему охлаждению относятся лица из группы Q1 с более высокими фоновыми уровнями лимфоцитов CD4+, CD71+ и у которых после посещения холодовой камеры происходит снижение содержания клеток CD4+, CD8+, CD25+, CD71+, CD56+ в 1,3–1,6 раза. Цитокиновый профиль в группе Q4 отличался более высокими уровнями IL-1 $\beta$  (7,13 пг/мл) и TNF- $\alpha$  (14,3 пг/мл). После кратковременного холодового стресса в группе Q1 отмечали двукратное увеличение TNF- $\alpha$  с 6,77 до 13,33 пг/мл, а в группе Q4 — резкое снижение IL-1 $\beta$  с 7,13 до 3,44 пг/мл.

**Заключение.** Иммунологический фон у обследуемых группы Q4 с уровнями холестерина, близкими к верхней границе нормы, находится в более напряженном состоянии за счет реакций со стороны моноцитов и лимфоцитов периферической крови, более высоких уровней провоспалительных цитокинов. Ответная реакция на кратковременное общее холодовое воздействие более выражена у лиц группы Q1 с минимальными уровнями холестерина. У 14,29% людей с уровнями холестерина, близкими к верхней границе нормы, регистрировали дефицит гемоглобина периферической крови, а после кратковременного холодового воздействия — у 21,34%.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** холестерин; холод; иммунитет.

## FEATURES OF IMMUNE REACTIONS TO SHORT-TERM GENERAL COOLING IN PRACTICALLY HEALTHY RESIDENTS OF ARKHANGELSK, DEPENDING ON THE LEVELS OF CHOLESTEROL IN THE BLOOD

© Vyacheslav A. Shtaborov\*, Veronika P. Patrakeeva, Ruslan S. Alesich

Federal Research Center for the Integrated Study of the Arctic named after N.P. Laverov of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Arkhangelsk, Russia

\*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.

**AIM:** to identify the features of immune reactions in practically healthy individuals in response to short-term cold exposure, depending on the level of total cholesterol in the blood.

**MATERIALS AND METHODS:** On the basis of the Laboratory of Ecological Immunology of the Institute of Physiology of Natural Adaptations of the Federal Research Center for Integrated Arctic Studies named after Academician N.P. Laverov of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 108 practically healthy women living in Arkhangelsk aged 21 to 50 years were examined. Blood was taken from the ulnar vein on an empty stomach in the morning before and immediately after general cooling for 5 minutes at a temperature of  $-25^{\circ}\text{C}$ . The complex of immunological studies included the study of venous blood hemograms: the number of platelets, erythrocytes, leukocytes, total hemoglobin in the blood, leukograms, phagocytic activity of neutrophils and blood monocytes, determination of cytokines IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ . The study of the lipid profile included the determination of total cholesterol, glucose, triglycerides, phospholipids.

**RESULTS:** In the Q1 group, no cases of hemoglobin deficiency were recorded, while in the Q4 group, hemoglobin deficiency was recorded in 14.29% of the surveyed, and after a short-term general cooling — in 21.43%. The total number of platelets, as well as the thrombocrit index in the Q4 group was significantly higher ( $259.07 \times 10^3$  cells/ $\mu\text{l}$  and 0.27%, respectively). The Q4 group had higher average monocyte levels in the leukocytogram ( $0.40 \pm 0.10 \times 10^9$  cl/l and  $6.26 \pm 1.43\%$  compared with  $0.24 \pm 0.06 \times 10^9$  cl/l and  $4.46 \pm 1.40\%$ ,  $p < 0.05$ ). It was revealed that persons from the Q1 group with higher background levels of CD4+, CD71+ lymphocytes are sensitive to short-term general cooling and whose CD4+, CD8+, CD25+, CD71+, CD56+ cells decrease by 1.3–1.6 times after visiting the cold chamber. The cytokine profile in the Q4 group was characterized by higher levels of IL-1 $\beta$  (7.13 pg/ml) and TNF- $\alpha$  (14.3 pg/ml). After short-term cold stress, a twofold increase in TNF- $\alpha$  was observed in the Q1 group from 6.77 to 13.33 pg/ml, and in the Q4 group a sharp decrease in IL-1 $\beta$  from 7.13 to 3.44 pg/ml.

**CONCLUSION:** The immunological background in the Q4 group of subjects with cholesterol levels close to the upper limit of the norm is in a more tense state, due to reactions from monocytes and lymphocytes of peripheral blood, higher levels of proinflammatory cytokines. The response to short-term general cold exposure is more pronounced in individuals of the Q1 group with minimal cholesterol levels. In 14.29% of people with cholesterol levels close to the upper limit of the norm, peripheral blood hemoglobin deficiency was recorded, and after short-term cold exposure — in 21.34%.

**KEYWORDS:** cholesterol; cold temperature; immunity.

## ОБОСНОВАНИЕ

Холестерин биосинтезируется всеми клетками организма и преимущественно локализуется на клеточных мембранах, где взаимодействует с соседними липидами, регулируя жесткость, текучесть и проницаемость бислоя. Изменение текучести липидного матрикса плазматической мембраны за счет изменения содержания холестерина и фосфолипидов, изменения температуры тела существенно влияют на мембранные функции клеток. Кроме того, холестерин может связывать многочисленные трансмембранные белки, помогая поддерживать или изменять их конформацию. Холестерин также взаимодействует с многочисленными стероидными транспортными белками, которые облегчают транспортировку холестерина и регулируют его субклеточное распределение. Помимо биосинтеза, диета и последующее поглощение холестерина из крови играют ключевую роль в поддержании гомеостаза холестерина [1]. Гомеостаз холестерина жизненно важен для надлежащих клеточных и системных функций. Нарушенный баланс холестерина лежит в основе не только сердечно-сосудистых заболеваний, но и растущего числа других заболеваний, таких как нейродегенеративные заболевания и рак. Уровень холестерина в клетках отражает динамический баланс между биосинтезом, поглощением, экспортом и этерификацией — процессом, при котором холестерин превращается в нейтральные эфиры холестерина либо для хранения в липидных каплях, либо для секреции в качестве компонентов липопротеинов [2].

Высокий уровень холестерина в крови запускает доиммунные процессы макрофагального и моноцитарного фагоцитоза в тканях. Накопление липопротеинов в субэндотелиальном слое запускает сначала врожден-

ный иммунный ответ, в котором участвуют преимущественно моноциты и макрофаги, а затем адаптивный иммунный ответ. Эти воспалительные реакции часто становятся хроническими и могут привести к повреждению артерий и образованию тромбов. Механизмы иммунной реакции, связанные с клеточным холестерином, фенотипической пластичностью, метаболизмом и старением, играют ключевую роль в воздействии на эти реакции [3]. На начальных стадиях накопление липопротеинов усугубляет эндотелиальную дисфункцию, которая характеризуется экспрессией молекул адгезии и проницаемостью эндотелиального слоя. Эти изменения приводят к усилению адгезии, удержанию и миграции иммунных клеток в субэндотелиальное пространство [4].

Высокий уровень холестерина стимулирует синтез цитокинов макрофагами, снижение макрофагального фагоцитоза, экспрессию нуклеотидов для мобилизации нейтрофилов. Активация и пролиферация Т-клеток требуют холестерина для построения мембран и стимулирует дифференцировку клеток, их рост, экспрессию генов путем связывания с различными факторами транскрипции [4]. Высокие уровни холестерина ассоциированы с активизацией клеток CD8+, CD4+, CD17+, секрецией цитокинов Ил-2, Ил-6, Ил-8, Ил-10 и снижением активности естественных киллеров [5]. Во время развития поражения баланс различных подмножеств Т-клеток определяет образование обструктивных бляшек. Клетки Th1 и Th17 являются провоспалительными и проатерогенными, в то время как клетки Th2 секретируют противовоспалительные цитокины, а Treg-клетки подавляют активность CD4+ Th и цитотоксических CD8+ Т-клеток и способствуют противовоспалительному фенотипу макрофагов и разрешению воспаления [6].

Известно, что сердечно-сосудистые заболевания чаще обостряются зимой, чем летом. Зимы также связаны с более высокой частотой метаболического синдрома [7]. Зимой люди, независимо от пола, имеют более высокий уровень общего холестерина, ЛПНП, ЛПВП, глюкозы. Температура воздуха, атмосферное давление и относительная влажность оказывают более сильное влияние на изменение липидного профиля, чем фотопериодика [8].

Адаптация к неблагоприятным условиям Арктики, в том числе к воздействию низких температур, требует метаболических изменений. В арктических и северных районах у некоренного населения может сформироваться «северная дислипидемия», проявляющаяся в нарастании атерогенных фракций липидов в крови [9].

Большое значение в повышении устойчивости организма человека к действию экстремальных климатогеографических факторов Севера придается адаптивным метаболическим перестройкам мембран клеток. Гомеовязкостная адаптация мембран к холоду и гипоксии сопровождается накоплением в них липидов и перестройкой фосфолипидов, делающих мембрану более стабильной [10]. С накоплением липидов в мембранах клеток связывают высокий уровень окислительно-восстановительных процессов липопротеинов у жителей Севера [11].

Одним из факторов, обеспечивающих особенности реагирования на холод, является исходный фоновый уровень иммунной системы [12].

Тем не менее научные данные об ответных реакциях на холодовой стресс со стороны иммунной системы остаются неоднозначными.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявить особенности иммунных реакций у практически здоровых лиц в ответ на кратковременное холодовое воздействие в зависимости от исходного содержания общего холестерина в крови.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Место и время проведения исследования

*Место проведения.* Лаборатория экологической иммунологии Института физиологии природных адаптаций ФИЦКИА УрО РАН.

*Время исследования.* Февраль 2023 г.

### Изучаемые популяции (одна или несколько)

*Популяция:* женщины в возрасте от 21 года до 50 лет.

*Критерии включения:* практически здоровые, не имеющие в период обследования острых и обострения хронических заболеваний.

*Критерии исключения:* уровень общего холестерина выше 5,2 ммоль/л, а также индекс массы тела (ИМТ)  $\geq 25$ .

### Способ формирования выборки из изучаемой популяции (или нескольких выборок из нескольких изучаемых популяций)

По результатам обследования были сформированы группы лиц по квартилям в зависимости от уровня общего холестерина периферической крови. Первую группу лиц (Q1=27 человек) составляли 25% обследуемых

с минимальными уровнями общего холестерина, вторую группу (Q4=27 человек) — 25% с самыми высокими.

**Дизайн исследования:** интервенционное сравнительное ретроспективное исследование.

### Описание медицинского вмешательства (для интервенционных исследований)

Забор крови производился из локтевой вены натощак утром до и сразу после общего охлаждения в повседневной бытовой одежде в течение 5 минут при температуре  $-25^{\circ}\text{C}$  в воздушной среде в холодильной камере УШЗ-25Н (Ксирон холод, Россия).

### Методы

Измеряли артериальное давление, вес, рост, индекс массы тела.

Исследование липидного профиля включало определение общего холестерина, глюкозы, триглицеридов, фосфолипидов, инсулина на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (Япония) реактивами фирмы «Вектор-Бест» (Россия).

Комплекс иммунологического исследования включал изучение гемограммы венозной крови, взятой утром натощак (количество тромбоцитов, эритроцитов, лейкоцитов, общее содержание гемоглобина в крови, лейкограммы) на автоматическом гематологическом анализаторе XS-500i (Sysmex, Япония); фагоцитарную активность нейтрофилов и моноцитов крови определяли по поглощению латексных частиц диаметром 0,9 мкм в мазках, окрашенных по методу Романовского-Гимзе. Цитокины IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-10 периферической крови определяли иммуноферментным методом на иммуноферментном анализаторе Multiskan FC (Thermo Scientific, США) реактивами фирмы «Вектор-Бест» (Россия).

Комплекс иммунологического обследования включал фенотипирование лимфоцитов с определением маркеров CD3 $^{+}$ , CD8 $^{+}$ , CD4 $^{+}$ , CD10 $^{+}$ , CD25 $^{+}$ , CD95 $^{+}$ , CD16 $^{+}$ , CD56 $^{+}$ , CD54 $^{+}$  методом проточной цитометрии на проточном цитометре Epics XL (Beckman Coulter, США). Гейтирование лимфоцитов проведено по CD45 $^{+}$ .

### Статистический анализ

Статистическую обработку с определением среднего арифметического и стандартной ошибки ( $M \pm m$ ) проводили с использованием пакета программы «Microsoft Excel». Корреляционный анализ проведен с помощью критерия Пирсона. Значимость различий оценивали с помощью t-критерия Стьюдента при проведении статистического анализа с применением пакета прикладных программ «Statistica».

### Этическая экспертиза

На проведение исследования получено разрешение этической комиссии Института физиологии природных адаптаций ФГБУН ФИЦКИА УрО РАН (протокол №8 от 30 марта 2022 г). Обследование проводилось с письменного согласия волонтеров врачом медицинской компании «Биолам» (г. Архангельск) с соблюдением норм и правил биомедицинской этики, утвержденных Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации об этических принципах проведения медицинских исследований.

**Таблица 1.** Клинические и биохимические показатели обследуемых**Table 1.** Clinical and biochemical parameters of the subjects

Показатели	Группа Q1	Группа Q4
Возраст, лет	26,57±1,81	30,57±1,69*
Систолическое АД, мм рт.ст.	120,71±2,97	118,39±2,85
Диастолическое АД, мм рт.ст.	75,86±1,94	74,39±1,56
Пульс, уд/мин	79,71±1,47	78,61±1,07
Вес, кг	61,29±1,59	61,86±1,69
Рост, см	164,93±1,04	167,5±1,46
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	22,47±0,95	21,96±0,96
Триглицериды, ммоль/л	1,50±0,09	1,80±0,16
Фосфолипиды, ммоль/л	2,85±0,24	2,60±0,09
Глюкоза, ммоль/л	5,25±0,88	5,52±0,79
Холестерин ммоль/л	3,12±0,10	5,16±0,06*

\* —  $p < 0,05$ .**РЕЗУЛЬТАТЫ**

Показатели фонового состояния клинических и биохимических показателей, кровяного давления в обеих группах обследуемых указаны в таблице 1.

Средний возраст обследуемых лиц в группе Q4 был выше (30,57±1,69 в сравнении с 26,57±1,81 года). Это же подтверждается достоверной корреляционной взаимосвязью  $r=0,275$ ,  $p<0,05$ .

Вес, рост, ИМТ, показатели артериального давления и ЧСС обследуемых обеих групп не имели достоверных различий.

В группе лиц Q1 средний уровень глюкозы превышал верхнюю границу нормы у 15,38% обследуемых и в среднем составил 5,25±0,88 ммоль/л. В группе Q4 у 21,43% участников уровни глюкозы в периферической крови превосходили пределы нормы.

Средний уровень триглицеридов периферической крови у 61,54% лиц в группе Q4 превышал верхнюю границу нормы и составил 1,80±0,16 ммоль/л. В группе Q1 лишь у 23,08% уровень триглицеридов был выше референсных значений.

В таблице 2 представлены гематологические показатели периферической крови у лиц обеих исследуемых групп.

В группе лиц с минимальными уровнями общего холестерина не было зарегистрировано ни одного случая дефицита гемоглобина, в то время как у обследованных с более высокими уровнями холестерина чаще регистрировали дефицит гемоглобина в 14,29% случаев, а после кратковременного общего охлаждения — в 21,43%.

Общее число тромбоцитов, а также показатель тромбокрита в группе Q4 был значительно выше (259,07×10<sup>3</sup> кл/мкл и 0,27% соответственно).

**Таблица 2.** Гематологические показатели периферической крови исследуемых групп**Table 2.** Hematological parameters of peripheral blood of the studied groups

Гематологические показатели	Группа Q1, М±m	Группа Q4, М±m
Эритроциты, 10 <sup>6</sup> кл/мкл	4,61±0,47	4,47±0,39
Гемоглобин, г/л	136,43±1,41	133,57±1,07
Частота регистрации дефицита гемоглобина <120, %	0	14,29
Гематокрит, %	39,76±0,41	39,83±0,30
Объем эритроцита, fL	86,49±0,86	89,41±1,08
Объем гемоглобина в эритроцитах, пг	29,69±0,37	29,92±0,48
Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах, г/л	343,21±1,44	334,79±0,93
Тромбоциты, 10 <sup>3</sup> кл/мкл	169,5±0,95	259,07±1,20*
Расчетная ширина распределения эритроцитов по объему, стандартное отклонение, fL	39,65±0,61	41,71±0,54
Расчетная ширина распределения эритроцитов по объему, коэффициент вариации, %	12,86±0,08	13,15±0,08
Расчетная ширина распределения тромбоцитов, fL	15,69±0,44	13,88±0,51
Объем тромбоцитов, fL	11,57±0,06	10,82±0,06
Коэффициент крупных тромбоцитов, %	38,38±0,28	32,09±0,64
Тромбокрит, %	0,20±0,01	0,27±0,01*

\* —  $p < 0,05$ .



**Таблица 3.** Лейкоцитарные параметры периферической крови  
**Table 3.** Leukocyte parameters of peripheral blood

Показатели	Группа Q1	Группа Q4
Лейкоциты, $\times 10^9$ кл/л	5,94 $\pm$ 0,78	5,83 $\pm$ 0,48
Нейтрофилы, кл/л	2,71 $\pm$ 0,66	3,03 $\pm$ 0,42
Нейтрофилы, %	45,56 $\pm$ 1,22	51,24 $\pm$ 3,52
Палочкоядерные нейтрофилы, $\times 10^9$ кл/л	0,29 $\pm$ 0,08	0,21 $\pm$ 0,04
Палочкоядерные нейтрофилы, %	4,93 $\pm$ 1,34	5,07 $\pm$ 1,17
Сегментоядерные нейтрофилы, $\times 10^9$ кл/л	2,42 $\pm$ 0,64	2,83 $\pm$ 0,40
Сегментоядерные нейтрофилы, %	40,64 $\pm$ 2,33	46,18 $\pm$ 2,64
Лимфоциты, $\times 10^9$ кл/л	2,86 $\pm$ 0,49*	2,25 $\pm$ 0,22
Лимфоциты, %	47,64 $\pm$ 1,84*	39,11 $\pm$ 0,94
Моноциты, $\times 10^9$ кл/л	0,24 $\pm$ 0,06	0,40 $\pm$ 0,10*
Моноциты, %	4,46 $\pm$ 0,40	6,26 $\pm$ 0,43*
Эозинофилы, $\times 10^9$ кл/л	0,12 $\pm$ 0,04	0,13 $\pm$ 0,05
Эозинофилы, %	2,11 $\pm$ 0,72	2,28 $\pm$ 0,08
Базофилы, $\times 10^9$ кл/л	0,03 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,02
Базофилы, %	0,46 $\pm$ 0,05	0,52 $\pm$ 0,02
% активнофагоцитирующих нейтрофилов	71,54 $\pm$ 1,20	76,21 $\pm$ 1,12
Интенсивность фагоцитоза нейтрофилов, л.ч./кл	8,19 $\pm$ 1,09	6,08 $\pm$ 1,25
% активнофагоцитирующих моноцитов	48,33 $\pm$ 1,42	52,2 $\pm$ 2,11
Интенсивность фагоцитоза моноцитов, л.ч./кл	5,33 $\pm$ 0,58	7,4 $\pm$ 0,44*

\* —  $p < 0,05$ .

Лейкоцитарные показатели периферической крови исследуемых представлены в таблице 3.

Средние уровни лейкоцитов периферической крови, в том числе нейтрофильных гранулоцитов, у обследуемых обеих групп не имели достоверных различий.

Лейкоцитарная формула крови лиц группы Q1 отличалась более высоким содержанием лимфоцитов (2,86 $\pm$ 0,49 $\times 10^9$  кл/л и 47,64 $\pm$ 1,84% в сравнении с 2,25 $\pm$ 0,22 $\times 10^9$  кл/л и 39,11 $\pm$ 0,94% соответственно,  $p < 0,05$ ).

Группа Q4 отличалась более высокими средними уровнями моноцитов в составе лейкоцитограммы (0,40 $\pm$ 0,10 $\times 10^9$  кл/л и 6,26 $\pm$ 1,43% в сравнении с 0,24 $\pm$ 0,06 $\times 10^9$  кл/л и 4,46 $\pm$ 1,40%,  $p < 0,05$ ).

Процент активных фагоцитов — как нейтрофилов, так и моноцитов, — периферической крови у лиц из обеих групп практически не отличался. Но интенсивность фагоцитоза моноцитов периферической крови у обследуемых в группе Q4 была несколько выше (7,4 $\pm$ 0,44 л.ч./кл по сравнению с 5,33 $\pm$ 0,58 л.ч./кл,  $p < 0,05$ ).

После кратковременного общего охлаждения у лиц группы Q1 заметно увеличился средний уровень лейкоцитов (с 5,94 $\pm$ 0,78 до 6,69 $\pm$ 0,86 $\times 10^9$  кл/л) в основном за счет сегментоядерных нейтрофилов (с 2,42 $\pm$ 0,04 до 3,48 $\pm$ 0,07 $\times 10^9$  кл/л,  $p < 0,05$ ).

Результаты фенотипирования лимфоцитов до и после кратковременного общего охлаждения представлены в таблице 4.

Выявлено, что у лиц из группы Q1 более высокий уровень содержания Т-хелперов (0,68 $\pm$ 0,18 $\times 10^9$  кл/л) и Т-лимфоцитов с рецептором

к трансферрину (0,82 $\pm$ 0,29  $\times 10^9$  кл/л). После кратковременного общего охлаждения у обследованных лиц значительно снижается содержание Т-хелперов с 0,68 $\pm$ 0,18 до 0,42 $\pm$ 0,05 $\times 10^9$  кл/л (с 24,22 $\pm$ 3,50 до 16,77 $\pm$ 2,13%), цитотоксических Т-лимфоцитов (с 0,56 $\pm$ 0,09 до 0,35 $\pm$ 0,06 $\times 10^9$  кл/л), активированных Т-лимфоцитов с рецептором к трансферрину (с 0,82 $\pm$ 0,29 до 0,43 $\pm$ 0,05 $\times 10^9$  кл/л) и к Ил-2 (с 0,57 $\pm$ 0,09 до 0,35 $\pm$ 0,09 $\times 10^9$  кл/л). В группе Q4 статистически значимых изменений уровней Т-хелперов не происходит.

Уровни цитотоксических лимфоцитов с рецептором CD8+ в обеих группах сравнения находились в пределах физиологической нормы. Однако у лиц в группе Q1 цитотоксические лимфоциты составляли 19,91 $\pm$ 0,92%, а у лиц группы Q4 — 26,67 $\pm$ 1,00%. Установлена корреляционная взаимосвязь между содержанием лимфоцитов CD8+ и уровнями общего холестерина с коэффициентом  $r = 0,335$ ,  $p < 0,05$ .

Уровень лимфоцитов с молекулой межклеточной адгезии-1 CD54 у лиц группы исследуемых Q1 более чем в два раза ниже, чем у участников группы Q4 как в относительном (14,67 $\pm$ 3,21% против 30 $\pm$ 5,29%), так и в абсолютном (0,18 $\pm$ 0,03  $\times 10^9$  кл/л против 0,51 $\pm$ 0,03 $\times 10^9$  кл/л) выражениях,  $p < 0,05$ . Выявлены корреляционные взаимосвязи между уровнем общего холестерина периферической крови и относительным ( $r = 0,582$ ) и абсолютным ( $r = 0,648$ ) уровнями CD54 в составе лимфоцитограммы,  $p < 0,05$ .

Отмечали двукратное снижение процентного содержания натуральных киллеров CD56 в ответ на кратковременный холодовой стресс у обследуемых группы Q1 (с 16,75 $\pm$ 0,48 до 8,33 $\pm$ 0,29%).

**Таблица 4.** Уровни фенотипов лимфоцитов в группах сравнения до и после общего охлаждения**Table 4.** Levels of lymphocyte phenotypes in comparison groups before and after general cooling

Фенотипы лимфоцитов	Q1 до	Q1 после	Q4 до	Q4 после
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD19 <sup>-</sup> , кл/л	0,73±0,11	0,48±0,10	0,65±0,08	0,52±0,10
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD19 <sup>-</sup> , %	26,55±0,60	21,27±1,00	29,67±0,86	22,50±0,64
CD45+CD3+CD4 <sup>+</sup> , кл/л	0,68±0,18	0,42±0,05*	0,44±0,07	0,41±0,05
CD45+CD3+CD4 <sup>+</sup> , %	24,22±0,50	16,77±1,13*	25,00±1,18	19,00±1,39
CD45+CD3+CD8 <sup>+</sup> , кл/л	0,56±0,09	0,35±0,06*	0,57±0,08	0,42±0,10*
CD45+CD3+CD8 <sup>+</sup> , %	19,91±0,92	14,45±0,80	26,67±1,00	17,83±1,18
CD45+CD3+CD71 <sup>+</sup> , кл/л	0,82±0,29	0,43±0,05*	0,42±0,11*	0,43±0,08
CD45+CD3+CD71 <sup>+</sup> , %	28,58±0,58	16,79±0,73*	23,67±0,81	20,50±0,80
CD45+CD3+CD25 <sup>+</sup> , кл/л	0,57±0,09	0,35±0,09*	0,54±0,10	0,44±0,06
CD45+CD3+CD25 <sup>+</sup> , %	19,83±0,60	14,42±0,83*	24,00±0,83*	19,83±0,84
CD45+CD3+HLADR <sup>+</sup> , кл/л	0,52±0,11	0,36±0,08	0,59±0,13	0,48±0,08
CD45+CD3+HLADR <sup>+</sup> , %	18,83±0,65	15±0,90	25,83±0,40	21,00±0,63
CD45+CD3+CD54 <sup>+</sup> , кл/л	0,18±0,02*	0,14±0,03	0,51±0,02	0,41±0,03
CD45+CD3+CD54 <sup>+</sup> , %	14,67±0,19*	13,00±0,19	30±0,65*	24,33±0,76
CD45+CD3+CD56 <sup>+</sup> , кл/л	0,47±0,11	0,36±0,03*	0,50±0,10	0,36±0,05
CD45+CD3+CD56 <sup>+</sup> , %	16,75±0,48	8,33±0,29*	24,75±0,29*	21,00±0,18
CD45+CD3-CD19 кл/л	0,51±0,10	0,35±0,10	0,54±0,05	0,48±0,01
CD45+CD3-CD19 %	17,75±0,35	14,42±0,22	23,17±0,47	20,33±1,04

\* —  $p < 0,05$ .**Таблица 5.** Концентрации цитокинов у лиц с минимальными и максимальными уровнями общего холестерина в сыворотке периферической крови до и после кратковременного общего охлаждения**Table 5.** Cytokine concentrations in individuals with minimum and maximum levels of total cholesterol in peripheral blood serum before and after short-term general cooling

	Q1 до	Q1 после	Q4 до	Q4 после
IL-1 $\beta$ , пг/мл	3,68±0,43	4,07±0,48	7,13±0,93*	3,44±0,07*
IL-6, пг/мл	4,62±0,26	5,36±0,45	4,76±0,27	4,54±0,34
TNF- $\alpha$ , пг/мл	6,77±0,90	13,33±0,28*	14,3±0,54*	12,13±0,85

\* —  $p < 0,05$ .

Уровни В-лимфоцитов с рецептором CD19<sup>+</sup> в условиях холодового воздействия у лиц обеих групп не изменяются.

Динамика изменений цитокинового профиля продемонстрирована в таблице 5.

Цитокиновый профиль в группе с максимальными уровнями содержания общего холестерина периферической крови отличался более высокими уровнями IL-1 $\beta$  (7,13 пг/мл) и TNF- $\alpha$  (14,3 пг/мл) по сравнению с группой с минимальными уровнями холестерина.

Необходимо отметить, что после кратковременного холодового стресса в группе Q1 отмечали двукратное увеличение TNF- $\alpha$  с 6,77 до 13,33 пг/мл, а в группе Q4 — резкое снижение IL-1 $\beta$  с 7,13 до 3,44 пг/мл.

## ОБСУЖДЕНИЕ

### Репрезентативность выборок

Выборка имеет ограничения по полу и возрасту обследуемых, а также по климатогеографическим условиям проживания.

### Сопоставление с другими публикациями

Установлено, что фоновые уровни общего холестерина в крови, близкие к верхней границе физиологической нормы, ассоциированы с более высокими уровнями моноцитов в циркуляции. Моноциты и макрофаги являются пулом клеток, состояние которых отражает даже минимальные гомеостатические отклонения, характерные для начальных стадий заболеваний, а их неадекватная реакция на стимулы может иметь самостоятельное значение в патогенезе как основного заболевания, так и его осложнений. Нарушение липидного обмена, повышенные уровни холестерина крови могут быть причиной увеличения содержания моноцитов в крови [13].

Отмеченные нами более высокие фоновые уровни провоспалительных цитокинов у лиц в группе Q4, сохраняющиеся после кратковременного холодового стресса, свидетельствуют об активизации превентивного воспаления. Повышенные уровни IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  усиливают рецепторный аппарат клеток, активируют не только местные, но и системные механизмы регуляции гемодинамики, свертывания крови и фибринолиза,

каллекриин-кининовую и простагландиную системы, систему комплемента и синтез острофазовых белков [14]. IL-1 $\beta$  способствует накоплению холестерина в стенках артерий. Транспорт молекул IL-1 $\beta$  в гладкомышечных клетках идет через те же каналы, что и транспорт молекул холестерина. В результате молекулы IL-1 $\beta$  временно «перекрывают» выход из клетки, заставляя холестерин накапливаться внутри, что приводит к повреждению тканей. Кроме того, IL-1 $\beta$  блокирует рецепторы к никотиновой кислоте (ниацин). Этот эффект важен в патогенезе атеросклероза, так как ниацин способствует выведению холестерина из гладкомышечных клеток артерий [15].

Высокий уровень холестерина в крови запускает доимунные процессы макрофагального и моноцитарного фагоцитоза в тканях. Системное воспаление любой этиологии сопровождается пролиферацией промоноцитов, последующим увеличением количественного пула моноцитов в периферической крови, а также рекрутированием их в атеросклеротические бляшки [16].

Более высокие фоновые концентрации тромбоцитов у лиц из группы Q4 с уровнями общего холестерина в крови, близкими к верхней границе референсных значений, могут являться одним из показателей нарушения метаболизма [17]. Метаболические нарушения связаны с активизацией воспаления, повреждений тканей, гипоксией и усилением лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии. Повышение CD54+ может быть связано с ростом адгезии лейкоцитов и тромбоцитов к эндотелию сосудов, что повышает риск развития атеросклеротических изменений и сердечно-сосудистых нарушений у лиц в группе Q4 [18].

В ответ на острый холодовой стресс у лиц из группы Q1 с минимальными уровнями общего холестерина периферической крови выявлено снижение лимфоцитов с маркерами CD4+, CD8+, CD25+, CD71+, CD56+ в 1,3–1,6 раза. У лиц группы Q4 с концентрацией холестерина, близкой к физиологическим пределам, после общего кратковременного охлаждения уровни изучаемых фенотипов лимфоцитов не изменяются, за исключением снижения цитотоксических лимфоцитов с маркером CD8+.

В ранее проведенных нами исследованиях показано, что реакция иммунной системы может проявляться разнонаправленными изменениями уровня лимфоцитов периферической крови. Фоновый уровень иммунной системы является одним из факторов, обеспечивающих особенности ответной реакции на холодовой стресс. Миграция лимфоцитов происходит за счет активированных Т-лимфоцитов, способных к бласттрансформации и дифференцировке [12, 19].

### Ограничения исследования

Основным ограничением было небольшое количество обследуемых взрослых женщин, проживающих в г. Архангельске.

### Направления дальнейших исследований

Планируется продолжение исследований липидного профиля у практически здоровых лиц с целью установления механизмов адаптации к неблагоприятным условиям Арктики, а также сравнение данных с результатами обследования мужчин.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, иммунологический фон у обследуемых группы Q4 с уровнями холестерина, близкими к верхней границе нормы, находится в более напряженном состоянии за счет реакций со стороны моноцитов и лимфоцитов периферической крови, более высоких уровней провоспалительных цитокинов. Молекулы адгезии повышают эффективность клеточных контактов, в том числе реакцию со стороны тромбоцитов. У 14,29% участников с уровнями холестерина, близкими к верхней границе нормы, регистрировали дефицит гемоглобина периферической крови, а после кратковременного холодового воздействия — у 21,34%. Ответная иммунная реакция на кратковременное общее холодовое воздействие более выражена у лиц группы Q1 с минимальными уровнями холестерина и проявляется в снижении содержания клеток CD4+, CD8+, CD25+, CD71+, CD56+ в 1,3–1,6 раза.

### ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Источники финансирования.** Выполнено в рамках госзадания №122011300377-5.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.

**Участие авторов.** Штаборов В.А. — существенный вклад в концепцию и дизайн исследования, написание статьи; Патракеева В.П. — существенный вклад в концепцию и дизайн исследования, внесение в рукопись существенной правки с целью повышения научной ценности статьи; Алесич Р.С. — существенный вклад в получение, анализ данных и интерпретацию результатов, внесение в рукопись существенной правки с целью повышения научной ценности статьи.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Luo J, Jiang LY, Yang H, Song BL. Intracellular Cholesterol Transport by Sterol Transfer Proteins at Membrane Contact Sites. *Trends Biochem Sci.* 2019;44(3):273–292. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2018.10.001>
2. Luo J, Yang H, Song BL. Mechanisms and regulation of cholesterol homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020;21(4):225–245. doi: <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0190-7>
3. Tabas I, Lichtman AH. Monocyte-Macrophages and T Cells in Atherosclerosis. *Immunity.* 2017;47(4):621–634. doi: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.09.008>
4. Bäck M, Yurdagul A Jr, Tabas I, Öörni K, Kovanen PT. Inflammation and its resolution in atherosclerosis: mediators and therapeutic opportunities. *Nat Rev Cardiol.* 2019;16(7):389–406. doi: <https://doi.org/10.1038/s41569-019-0169-2>
5. Cai F, Jin S, Chen G. The Effect of Lipid Metabolism on CD4+ T Cells. Dobrzyn A, ed. *Mediators Inflamm.* 2021;2021:1–8. doi: <https://doi.org/10.1155/2021/6634532>
6. Hedrick CC. Lymphocytes in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015;35(2):253–257. doi: <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.305144>
7. Turner JB, Kumar A, Koch CA. The effects of indoor and outdoor temperature on metabolic rate and adipose tissue - the Mississippi perspective on the obesity epidemic. *Rev Endocr Metab Disord.* 2016;17(1):61–71. doi: <https://doi.org/10.1007/s11154-016-9358-z>

8. Kuzmenko NV, Shchegolev BF. Dependence of Seasonal Dynamics in Healthy People's Circulating Lipids and Carbohydrates on Regional Climate: Meta-Analysis. *Indian J Clin Biochem.* 2022;37(4):381-398. doi: <https://doi.org/10.1007/s12291-022-01064-6>
9. Ветошкин А.С., Шуркевич Н.П., Гапон Л.И., и др. Повышенное артериальное давление и атеросклероз в условиях северной вахты // *Артериальная гипертензия.* — 2018. — Т. 24. — №5. — С. 548-555. [Vetoshkin AS, Shurkevich NP, Gapon LI, et al. Povyshennoe arterial'noe davlenie i ateroskleroz v usloviyakh severnoy vahty. *Arterial'naya gipertenzija.* 2018;24(5):548-555. (In Russ).] doi: <https://doi.org/10.18705/1607-419X2018-24-5-548-555>
10. Зайцева О.И., Терещенко В.П., Колодяжная Т.А., Дворяшина Е.М. Адаптивные вариации фосфолипидного состава мембран эритроцитов у детей различных регионов Сибири // *Сибирское медицинское обозрение.* — 2008. — Т. 51. — №3. — С. 18-21. [Zajceva OI, Tereshchenko VP, Kolodjazhnaja TA, Dvorjashina EM. Adaptivnye variacii fosfolipidnogogo sostava membran jertirocitov u detej razlichnyh regionov Sibiri. *Sibirskoe medicinskoe obozrenie.* 2008;51(3):18-21. (In Russ).]
11. Вахнина Н.А. Содержание продуктов свободно-радикального окисления в крови жителей Европейского Севера // *Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина.* — 2011. — Т. 9. — С. 182-185. [Vakhnina NA. Soderzhanie produktov svobodno-radikal'nogo okisleniya v krvi zhitelei Evropeiskogo Severa // *Vestnik Novosibirskogo gosudarstvennogo universiteta.* Seriya: Biologiya, klinicheskaya meditsina. 2011;9:182-185. (In Russ).]
12. Патракеева В.П., Самодова А.В. Влияние кратковременного общего охлаждения на миграцию, рециркуляцию и энергетический ресурс иммунокомпетентных клеток периферической крови человека // *Вестник уральской медицинской академической науки.* — 2017. — Т. 14. — №4. — С. 362–368. [Patrakeeva VP, Samodova AV. Vliyanie kratkovremennogo obshchego okhlazhdeniya na migratsiyu, retsirkulyatsiyu i energeticheskii resurs immunokompetentnykh kletok perifericheskoi krovi cheloveka. *Vestnik ural'skoi meditsinskoi akademicheskoi nauki.* 2017;14(4):362-368. (In Russ).] doi: <https://doi.org/10.22138/2500-0918-2017-14-4-362-368>
13. Chen J, Wu K, Cao W, Shao J, Huang M. Association between monocyte to high-density lipoprotein cholesterol ratio and multi-vessel coronary artery disease: a cross-sectional study. *Lipids Health Dis.* 2023;22(1):121. doi: <https://doi.org/10.1186/s12944-023-01897-x>
14. Самодова А.В., Добродеева Л.К. Соотношение содержания внеклеточного пула сигнальных молекул и активности межклеточных контактов крови в норме и патологии // *Клиническая медицина.* — 2022. — Т. 100. — №9–10. — С. 456-463. [Samodova AV, Dobrodeeva LK. The ratio of the content of the extracellular pool of signaling molecules and the activity of intercellular blood contacts in normal and pathological conditions. 2022;100(9-10):456-463 (In Russ).] doi: <https://doi.org/10.30629/0023-2149-2022-100-9-10-456-463>
15. Насонов Е.Л., Попкова Т.В. Роль интерлейкина 1 в развитии атеросклероза // *Научно-практическая ревматология.* — 2018. — Т. 56. — №54. — С. 28-34. [Nasonov EL, Popkova TV. The role of interleukin 1 in the development of atherosclerosis. Scientific and practical rheumatology. 2018;56(54):28-34]
16. Кжышковска Ю.Г., Грачев А.Н. Маркеры моноцитов и макрофагов для диагностики иммунопатологий. *Патогенез.* — 2012. — Т. 10. — №1. — С. 14-19. [Kzhishkovska JuG, Grachev AN. Monocyte and macrophage markers in immunopathology diagnostics. *Pathogenesis.* 2012;10(1):14-19 (in Russ).]
17. Коpec AK, Abrahams SR, Thornton S, et al. Thrombin promotes diet-induced obesity through fibrin-driven inflammation. *J Clin Invest.* 2017;127(8):3152-3166. doi: <https://doi.org/10.1172/JCI92744>
18. Магамедов И.Д., Пивоварова Л.П., Нохрин С.П., и др. Факторы воспаления, адгезивности и тромбоза при острой ишемии нижних конечностей и терапии дексаметазоном // *Российский иммунологический журнал.* — 2022. — Т. 25. — №3. — С. 251-258. [Magamedov ID, Pivovarova LP, Nokhrin SP, et al. Factors of inflammatory, adhesiveness and thrombosis in acute lower limb ischemia and dexamethasone therapy. 2022;25(3):251-258. (In Russ).] doi: <https://doi.org/10.46235/1028-7221-1117-FOI>
19. Губкина Л.В., Самодова А.В. Индивидуальные особенности ответа системы иммунитета человека на кратковременное пребывание в воздушной среде, охлажденной до -25°C // *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture.* — 2021. — Т. 13. — №4. — С. 159-174. [Gubkina LV, Samodova AV. Individual'nye osobennosti otveta sistemy immuniteta cheloveka na kratkovremennoe prebyvanie v vozduшной srede, okhlazhdennoy do -25°C. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture.* 2021;13(4):159-174. (In Russ).] doi: <https://doi.org/10.12731/2658-6649-2021-13-4-159-174>

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]:

**\*Штаборов Вячеслав Анатольевич**, к.б.н. [Vyacheslav A. Shtaborov, PhD in biology]; адрес: Россия, 163061, Архангельск, пр. Ломоносова, 249 [address: 249 Lomonosov Avenue, 163061 Arkhangelsk, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1142-4410>; ResearcherID: J-2050-2018; Scopus Author ID: 57192690034; eLibrary SPIN: 9519-4149; e-mail: [shtaborov@mail.ru](mailto:shtaborov@mail.ru)

**Патракеева Вероника Павловна**, к.б.н. [Veronika P. Patrakeeva, PhD in biology]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6219-5964>; ResearcherID: B-7958-2016; Scopus Author ID: 42962303300; eLibrary SPIN: 9573-1094; e-mail: [patrakeeva.veronika@yandex.ru](mailto:patrakeeva.veronika@yandex.ru)

**Алесич Руслан Сергеевич** [Ruslan S. Alesich]; e-mail: [ruslansteam29rus@mail.ru](mailto:ruslansteam29rus@mail.ru)

\*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.

## ЦИТИРОВАТЬ:

Штаборов В.А., Патракеева В.П., Алесич Р.С. Особенности иммунных реакций на кратковременное общее охлаждение у практически здоровых жителей Архангельска в зависимости от уровней холестерина в крови // *Ожирение и метаболизм.* — 2024. — Т. 21. — №2. — С. 99-106. doi: <https://doi.org/10.14341/omet13071>

## TO CITE THIS ARTICLE:

Shtaborov VA, Patrakeeva VP, Alesich RS. Features of immune reactions to short-term general cooling in practically healthy residents of Arkhangelsk, depending on cholesterol levels in the blood. *Obesity and metabolism.* 2024;21(2):99-106. doi: <https://doi.org/10.14341/omet13071>