

**КОНЦЕПЦІЯ ДИАГНОСТИКИ ИММУННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НА ОСНОВЕ
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЗАЩИТНИХ БЕЛКОВ В СЕКРЕТАХ**

МЕЛЬНИКОВ О.Ф., ЗАБОЛОТНЫЙ Д.И., ШМАТКО В.И., БРЕДУН А.Ю.

ГУ «Інститут отоларингології им. проф. А.І. Коломийченко НАМН України»

Посвящается юбилею проф. Г.Н. Дранника

Большинство аллергических и инфекционно-воспалительных заболеваний связано с развитием патологических процессов в слизистой оболочке, которая, например, в области верхних дыхательных путей задерживает и элиминирует около 70% поступающего извне инертного и агрессивного антигенного материала (Д.И. Заболотный, О.Ф. Мельников, 1999). Значительная контактная поверхность всех слизистых оболочек 200-330 кв.м и более предполагает постоянную и основную агрессию со стороны макро и микромира и защиту от нее благодаря наличию механизмов резистентности специфического и неспецифического характера и специализированных структур (И.М. Беляков, 1997).

На протяжении последних десятилетий сложилось мнение, что основными гуморальными факторами защиты слизистых оболочек являются секреторные иммуноглобулины классов A и M и ряд белково-углеводных соединений – протеазы и антипротеазы слюны, лизоцим, лактоферрин, гликопротеиды слизи (С.З. Пискунов, 1993; В.П. Быкова, 1999; О.Ф. Мельников, Д.И. Заболотный, 2003; О.Ф. Мельников, К.Н. Веремеенко и соавт., 2006; Г.Н. Дранник, 2006; Lamm, 1998). Клеточные защитные ряды представлены прежде всего эпителиальными клетками, а их в слизистых в настоящее время насчитывают 5 разновидностей, мигрирующими Т-гамма-дельта лимфоцитами, макрофагами, тканевыми базофилами, M - и дендритными клетками. Вторая «линия обороны» может быть представлена сывороточными иммуноглобулинами, фагоцитирующими клетками, Т_h и NK-лимфоцитами (И.М. Беляков, 1997; Kato e.a., 1993; И.П. Кайдашев и соавт., 2001).

ІМУНОГЛОБУЛИНИ КАК ОСНОВНАЯ ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ КОМПОНЕНТА

Недостаточность образования антител, как основного специфического защитного фактора иммунитета, как правило, является следствием и интегральным выражением нарушения количественных и функциональных характеристик взаимодействия в процессах иммуногенеза клеток лимфоидного и нелимфоидного рядов, включая цитокиновую регуляцию (Dinarello, 1999). В связи с этим, определение уровня иммуноглобулинов различных классов и антител к отдельным антигенам в сыворотке крови, выявление ко-

личественных характеристик отдельных групп клеток часто является решающим фактором в установлении иммунодефицитного состояния (Г.Н. Дранник, 2006; Dobre, 1992).

Наиболее частым клиническим проявлением селективного иммунодефицита IgA или длительной гипоглобулинемии являются рецидивирующие инфекционно-воспалительные заболевания респираторного тракта и среднего уха – хронические риносинуиты, гнойные отиты, бронхиты, воспалительная патология лимфоидных структур глотки и зубодесневой системы (А.М. Борисова, 1998; Г.Н. Дранник, 2006; Cunningham-Rundles, 1989). Наряду с этим, в иммунологической характеристике ОВИН, больных с рецидивирующими воспалительными и аллергическими процессами верхних дыхательных путей определению секреторного IgA в слюне и других секретах верхних дыхательных путей отводится второстепенное значение. Нами (О.Ф. Мельников, Д.И. Заболотный, 2003) высказана гипотеза о возможности диагностики состояния иммунной недостаточности организма неинвазивным методом по определению иммуноглобулинов и других защитных белков в секретах организма прямо или косвенно, контактирующих с внешней средой.

Целью настоящего сообщения был дальнейший анализ параметров местного и системного иммунитета для дальнейшего развития концепции диагностики иммунной недостаточности организма человека на основе определения защитных белков в пептидах секретах.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.

Материалом для анализа были иммuno-логические исследования у 1000 больных инфекционно-воспалительными заболеваниями верхних дыхательных путей в возрасте от 8 до 50 лет и 150 практически здоровых доноров, проведенные в ходе плановых работ Института отоларингологии им. проф. А.І. Коломийченко НАМН України. Среди 16 параметров, характеризующих состояние системного и местного иммунитета, для анализа были отобраны следующие:

- число T, В-лимфоцитов и NK в периферической крови ;
- уровень иммуноглобулинов сыворотки классов M, G, A, E;

- концентрация секреторной формы иммуноглобулина А в ротоглоточном секрете и слезной жидкости;
- концентрация лактоферрина в ротоглоточном секрете (РС) и сыворотке;
- концентрация интерлейкина-1 β в РС;
- концентрация интерлейкина-8 в РС;
- концентрация γ – интерферона в РС;
- уровень SLPI в РС.

Определение количественных характеристик трех основных популяций лимфоцитов было осуществлено преимущественно с использованием метода моноклональных антител (Сорбент, Москва) и люминесцентной микроскопической техники, выявляющих Т (CD3), В (CD20), NK (CD56) клетки среди смешаной популяции лимфоцитов крови (Л.В. Ковальчук, 2003). Иммуноглобулины сыворотки, слюны и слезной жидкости определяли с помощью ИФА (Вектор-Бест, Новосибирск и Укрмедсервис, Донецк). Для интегрального анализа использо-

вались данные руководств по нормальной и патофизиологии.

Статистическая обработка и анализ полученных результатов выполнялись с использованием непараметрических критериев и метода углового преобразования по Фишеру (С. Гланц, 2000).

РЕЗУЛЬТАТЫ

От 25 до 35% больных хроническими рецидивирующими заболеваниями верхних дыхательных путей имели отклонения в содержании всех трех типов лимфоцитов. Наиболее рельефным было снижение числа В-лимфоцитов менее 0,3 Т/л у тонзиллэктомированных больных с явлениями хронического атрофического фарингита. При этом относительное снижение основных типов лимфоцитов (T, B, NK) при различных патологических процессах среди обследованных больных было в пределах 20-40% для T-лимфоцитов, 30-45% для В и 5-17% для NK (рис.1)

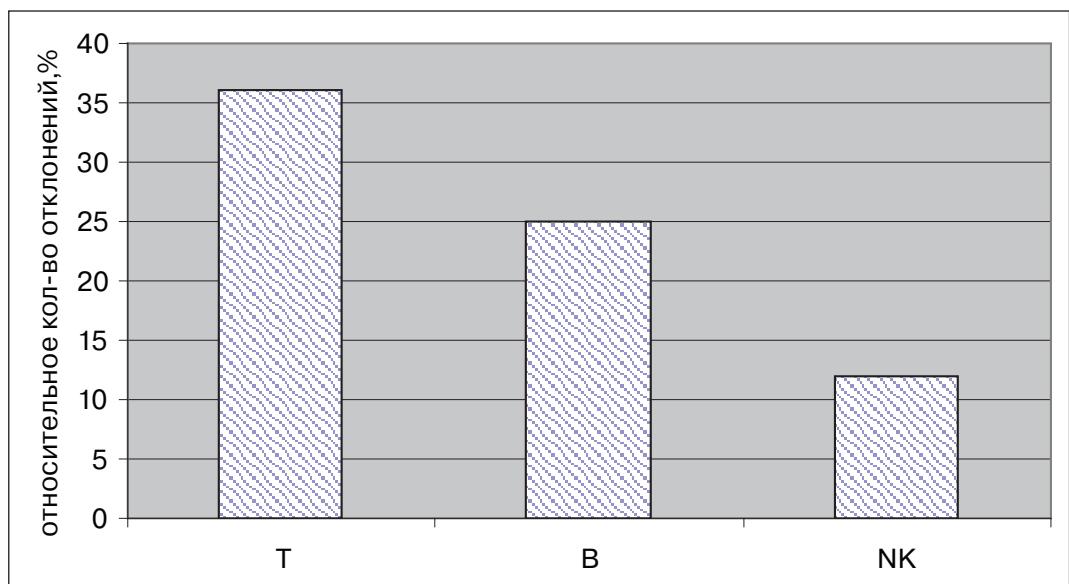


Рис. 1. Частотно-интегральная характеристика отклонений в содержании основных типов лимфоцитов у больных с инфекционно-воспалительной патологией верхних дыхательных путей.

При анализе уровня иммуноглобулинов в сыворотке крови учитывали отсутствие всех или одного из классов иммуноглобулинов, снижение суммарного количества Ig(M+G+A) < 7 г/л или секреторного иммуноглобулина А в ротоглоточном секрете ($IgA < 0,8$ мг/мл) и слезной жидкости менее чем 0,5 мг/мл.. Было установлено (табл.1), что агаммаглобулинемия при данных заболеваниях не была выявлена ни в одном случае, селективный дефицит IgA сыворотки обнаружен в одном случае у больных хроническим тонзиллитом на 110 человек и в одном при хроническом гнойном отите на 57 больных. Гипоиммуноглобулинемия выявлена от 8,9 до 17% при различных заболеваниях верхних дыхательных путей .

Наиболее рельефными и значимыми были отклонения в содержании секреторной формы иммуноглобулина А как в слюне, так и слезной жидкости – практически при всех заболеваниях отмечено снижение этого белка более чем на 50%.

Колебания в содержании лактоферрина в ротоглоточном секрете, по всей вероятности, связаны с остройтой процесса – содержание этого белка было повышенным при обострениях воспалительных процессов и более низким, чем в контроле при ремиссии. Содержание провоспалительного цитокина ИЛ-1 β также было повышенным в ротоглоточном секрете при обострениях процесса (табл. 2).

Таблица 1

Относительное число (%) выявления случаев агаммаглобулинемии, селективного дефицита IgA, сывороточной гипоглобулинемии и пониженного уровня секреторного иммуноглобулина A у больных с хроническими заболеваниями верхних дыхательных путей

Заболевание	Агаммагло- булинемия	Селективный иммунодефицит IgA	Гипоглобулинемия	Снижение IgA, слюна/слеза
Тонзиллит	0	0,9	13,6*	55,2 * / 44,8*
Аденоидит	0	0	11,3*	67,5* / 62,1*
Синуиты	0	0	17,1*	64,5* / -
Отиты	0	1,7	14,0*	59,3* / 32,5*
Фарингит	0	0	8,9*	68,8* / 55,5*
Пародонтит	0	0	15,8*	75,5* / 35,6*
Контроль	0	0	0	2,5 / 5,0

Таблица 2

Содержание лактоферрина и интерлейкина-1 β в ротоглоточном секрете в норме, обострении воспалительного процесса и при клинической ремиссии

Клинические группы	Лактоферрин, пг/мл	Интерлейкин-1 β , пг/мл
Контрольная	500,5 +- 70,2	9,7 +- 2,4
ХТ (обострение)	940,0 +- 106,6*	85,1+- 16,2*
ХТ (ремиссия)	322,6+- 50,6	29,8+-7,3*
ХРС (обострение)	1020,0+-66,6*	77,6+-11,2*
ХРС (ремиссия)	240,5+-33,8*	22,1+-6,6

ХТ- хронический тонзиллит; ХРС – хронический риносинуит.

* - достоверно по отношению к показателям в контрольной группе.

Существенное значение имели средние значения иммуноглобулинов класса A-мономерной (сывороточной) и димерной (секреторной) форм, а также IgG, который считается провоспалительным фактором, поскольку в комплексе с антигеном способен фиксировать компоненты комплемента и вызывать деструкцию тканей. При хронических процессах и наличии системной недостаточности иммунитета, как правило, имеет место снижение уровня секреторного IgA, повышение

уровня мономерного IgA, а также IgG. В условиях нормы в секретах ротоглотки и слезе концентрации IgA и IgG не превышают 0,2 г/л, тогда как при рецидивирующих хронических воспалительных процессах верхних дыхательных путей эти показатели увеличиваются в несколько раз. В качестве иллюстрации на рисунке 2 приведено соотношение содержания различных иммуноглобулинов в ротоглоточном секрете больных хроническим тонзиллитом и у практически здоровых лиц.

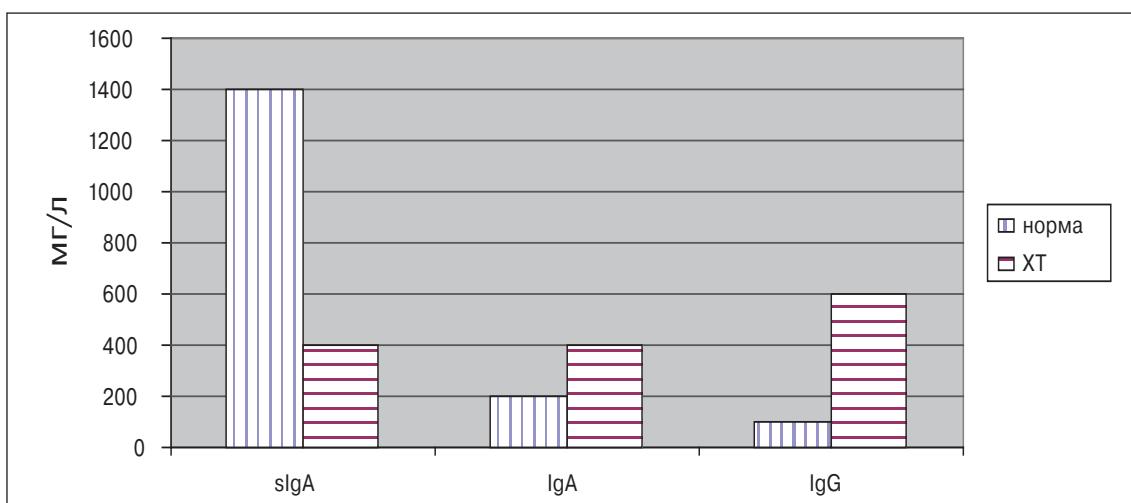


Рис. 2. Соотношение различных классов иммуноглобулинов в ротоглоточном секрете у здоровых людей и у больных хроническим тонзиллитом.

Проведенные исследования по определению клеточных и гуморальных факторов иммунитета местного и системного иммунитета свидетельствуют о том, что в оценке состояния иммунологической недостаточности, связанной с дефицитом антителообразования, возможно, в том числе и ОВИН, снижение содержания секреторных иммуноглобулинов A в ротоглоточном секрете и слезной жидкости следует рассматривать как проявление определенного дефекта в дифференцировке В-лимфоцитов в индуктивных зонах, прежде всего в структурах лимфоглоточного кольца. По данным Brandtzaeg (1996), содержание В-IgA-дифференцирующихся лимфоцитов в ткани небных миндалин при хроническом тонзиллите снижается более, чем в 2,5 раза по сравнению с нормой. При рецидивирующих отитах, ринофарингитах и синуитах по данным ряда авторов в лимфаденоидной ткани кольца Пирогова-Вальдейера также снижен уровень секреторных иммуноглобулинов и В-лимфоцитов, дифференцирующихся в направлении их синтеза, в слюне соответственно уровень секреторной формы иммуноглобулина A (В.П. Быкова и соавт., 2000; О.Ф. Мельников и соавт., 2002; Zanin e.a., 1994).

Учитывая тот факт, что сывороточные иммуноглобулины имеют период полураспада от 2,5 до 28 дней (Jeske, Capra, 1987), а секреторные выводятся в связанном виде из зон активного взаимодействия в течение суток (Lamm, 1998), то можно полагать, что количественная «задействованность» лимфодных и нелимфоидных клеток, участвующих в продукции секреторных иммуноглобулинов, значительно превосходит таковую при продукции сывороточных. Элементарный анализ показывает, что количество секретов, омывающих и защищающих поверхность всех слизистых оболочек человека приближается к 10 л в сутки и практически ежедневно требует смены иммуноглобулинового состава, в основном секреторного IgA, тогда как сыворотка крови, имеющая объемную характеристику в 2-3 л, содержит медленно обновляющийся иммуноглобулиновый компонент с длительным периодом полураспада. Это дает основания полагать, что количество необходимого секреторного иммуноглобулина A в здоровом организме значительно превосходит этот показатель для всех классов сывороточных иммуноглобулинов, ориентировочный расчет на содержание белка в секретах и сыворотке представлен в таблице 3.

Соотношение количества секреторных и сывороточных иммуноглобулинов в течение месяца у здорового человека

Сыворотка крови	Секреты слизистых оболочек и желез
Общий объем: 2,5 - 3 л Иммуноглобулины классов : M,G,A,E,D ~ 40 г 45% в сосудистом русле Время полураспада – 5-70 суток	Общий объем: ~ 10 л в сутки Секреторные иммуноглобулины: A (90%), M, D ~ 12 г Содержатся в секретах Время выведения – 1-1,5 суток
Необходимое количество в месяц – 40 – 50 г	Необходимость в месяц – 250-300 г

Таким образом, в оценке состояния иммунитета при инфекционно-воспалительной патологии дыхательных путей, связанных с инфекционно-аллергическими воспалительными процессами в слизистой оболочке, определение уровня секреторных иммуноглобулинов в слюне, слезной жидкости или ротоглоточном секрете является важнейшим компонентом как в характеристике, так и диагностике иммунодефицитных состояний, включая ОВИН. Исследования уровня sIgA, а при необходимости лактоферрина и цитокинов с разнонаправленным характером влияния при патологических процессах на слизистой дыхательных путей является более простым, безопасным, экономичным и информативным тестом, нежели выявление количественных характеристик иммунокомпетентных клеток и уровня иммуноглобулинов различных классов в крови.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Концепция. Основу концепции составляет гипотеза о том, что для организма человека наиболее важным моментом является сохранение равновесного состояния слизистых оболочек с макромиром и микроорганизмами и для этого требуется больше продукции «локальных» защитных белков, чем сывороточных. Из многих известных гуморальных механизмов защиты слизистых оболочек наиболее эффективными на сегодня признаны иммуноглобулины (антитела) класса A, прежде всего полимерные формы и отклонение (как правило снижение) в концентрации их основных форм, а также изменения в соотношении между представителями отдельных классов иммуноглобулинов и других защитных белков и пептидов, например, лактоферрина, интерферонов, могут быть основанием для диагностики различной степени иммунной недостаточности организма в целом .

ЛІТЕРАТУРА

1. Беляков И.М. Иммунная система слизистых// Иммунология. – 1997. – № 4. – С.7-13.
2. Борисова А.М. Проблемы иммунотерапии общей вариабельной иммунной недостаточности у взрослых // Intern. J. Immunorehabilitation. – 1998. – № 10. – С. 118-125.
3. Быкова В.П. Структурные основы мукозального иммунитета верхних дыхательных путей // Рос. ринология. – 1999. – № 1. – С. 5-11.
4. Быкова В.П., Антонова Н.А., Юнусов А.С., Архангельская И.Н. Клинико-морфологический анализ аденоидного вегетаций // Вестник оториноларингологии. – 2000. – №5. – С.9-12.
5. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. – Киев.: Полиграф-Плюс, 2006. – 480с.
6. Кайдашев И.П., Волошина Л.И., Карапанюк О.А. Шинкевич В.И. и др. Роль дендритных клеток в обеспечении локального иммунитета полости рта // Український стоматологічний альманах. – 2001. – № 5. – С.80-87.
7. Мельников О.Ф., Заболотный Д.И. Теоретические аспекты генеза и терапии хронического тонзиллита. – Киев.: Здоров'я. – 1999. – 145 с.
8. Мельников О.Ф., Заболотный Д.И. Диагностика иммунодефицитов при патологии слизистой оболочки на основе определения иммуноглобулинов в секретах. – Киев.: Институт отоларингологии им. проф. А.И. Коломийченко АМН Украины. – 2003. – 31с.
9. Мельников О.Ф., Веремеенко К.М., Тимченко С.В., Кизим О. І та інш. Імуно-біохімічна характеристика ротоглоткового секрету у хворих на запальні захворювання ЛОР-органів // Тез доп. 6-ой научово-практичної конференції, Київ 26-27 травня 2006 р. – Імунологія та алергологія. – 2006. – С.110.
10. Пискунов С.З. Физиология и патофизиология носа и околоносовых пазух // Рос. Ринология. – 1993. – № 1. – С. 19-39.
11. Brandtzaeg P. The B-cells Development in Tonsilar Lymphoid follicles // Acta Otolaryngol (Stockh). – 1996. – suppl. – 523. – P. 55-59.
12. Cunningham-Rundles C. Clinical and immunological analysis of 103 patients with common variable immunodeficiency //J.Clin.Immunol.– 1989. – № 10. – P. 22-23.
13. Dinarello C.A. IL-18: inducing proinflammatory cytokine and new member of the IL-1 family // Allerg.Clin.Immunol. – 1999. – b.103. – № 1. – P. 11-24.
14. Dobre V. The characteristics of bacterial respiratory infections in patients with humoral immunodeficiency // Pnumophiziologia. – 1992. – b.42, – №2-3. – P.143-146.
15. Glantz S. Медико-биологическая статистика. – 1999. – М.: Практика (пер. с анг.). – 460 с.
16. Jeske D.D., Capra D. Иммуноглобулины: строение и функции // в кн. Иммунология. – М.: Мир (пер. с англ..), 1987. – т.1. – С. 204-254.
17. Kato Y.,Kondo N.,Ozawa T.,Motoyoshi F.,Agata H. Kinetics of hypoglobulinemia in patient with common variable immunodeficiency // Acta Pediatr. – 1993. – b.82. – N 9. – P. 739-743.
18. Lamm M. How epithelial transport IgA antibodies related to host defense // Amer.J. Physiol. – 1998. – № 4. – P. 614-616.
19. Zanin C., Perrin Ph., Bene M., Perruchet A., Faure G. Antybody-producing cells in peripheral blood and tonsils after oral treatment of children with bacterial rybosomes // Intern. J. Immunopharmacol. – 1994. – vol.16. – № 7. – P.497-505.

РЕЗЮМЕ

КОНЦЕПЦІЯ ДІАГНОСТИКИ ІММУННОЇ НЕДОСТАТОЧНОСТІ НА ОСНОВЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЗАЩИТНИХ БЕЛКОВ В СЕКРЕТАХ

Мельников О.Ф., Заболотный Д.И.

ГУ «Інститут отоларингології
им. проф. А.І. Коломийченко» НАМН України, Київ

На основе анализа 1000 иммунограмм больных хроническими рецидивирующими воспалительными заболеваниями верхних дыхательных путей, 150 практически здоровых лиц группы сравнения, установили, что низкий уровень секреторного иммуноглобулина А в слюне и слезной жидкости встречается в несколько раз чаще, чем сывороточная гипоглобулинемия, селективный дефицит IgA, а также отклонения в количественных характеристиках Т и В – лимфоцитов в периферической крови и структурах лимфоглоточного кольца.

Постулируется, что оценка состояния степени иммунодефицита при инфекционно-воспалительной патологии верхних дыхательных путей обязательным и главным компонентом иммунодиагностического алгоритма должна включать определение уровня секреторных иммуноглобулинов, а также лактоферрина и интерферонов в секретах верхних дыхательных путей. Предполагается универсальность изменений содержания защитных белков во всех секретах организма человека при иммунной недостаточности.