

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ У ДЕТЕЙ

Проф. В. Г. Чернуский, проф. Н. Н. Попов, доц. О. Л. Говаленкова, доц. А. В. Летяго,
доц. В. Л. Кашина-Ярмак, Т. В. Евдокимова

Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина

В иммуногенезе бронхиальной астмы (БА) у детей все больше внимания исследователи уделяют цитокинам сенсibilизированных Т-лимфоцитов — фактору некроза опухоли — α (ФНО- α), интерлейкину 4 (ИЛ-4) и интерлейкину 1b (ИЛ-1b). Гиперпродукция данных цитокинов в организме детей, больных БА, по физиологическим механизмам должна регулироваться самой иммунной системой, ее гуморальным звеном через контроль антителами провоспалительных цитокинов. Изучался уровень провоспалительных цитокинов ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-1b в сыворотке крови и их иммунологический контроль антителами при различных клинических формах и степенях тяжести течения БА. При БА у детей в периоде обострения имеет место повышение уровня провоспалительных цитокинов в сыворотке крови, нарастающих от легкого к тяжелому течению заболевания. Иммунная система у детей, больных БА, осуществляет контроль антителами провоспалительных цитокинов, достоверность которого определяется при среднетяжелом и тяжелом течении БА, что подтверждает их участие в патогенезе данного заболевания. Исследования являются перспективными и имеют важное практическое значение для разработки новых подходов к лечению этой патологии и уточнения механизмов действия применяемых фармакологических препаратов.

Ключевые слова: бронхиальная астма, дети, провоспалительные цитокины, антитела.

ІМУНОЛОГІЧНИЙ КОНТРОЛЬ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ У РАЗІ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ В ДІТЕЙ

Проф. В. Г. Чернуський, проф. М. М. Попов,
доц. О. Л. Говаленкова, доц. Г. В. Летяго,
доц. В. Л. Кашина-Ярмак, Т. В. Євдокимова

В імуногенезі бронхіальної астми (БА) в дітей все більше уваги дослідники приділяють цитокинам сенсibilізованих Т-лімфоцитів — фактору некрозу пухлини — α (ФНП- α), інтерлейкіну 4 (ІЛ-4) й інтерлейкіну 1b (ІЛ-1b). Гіперпродукція даних цитокинів в організмі хворих на БА дітей, згідно з фізіологічними механізмами, повинна регулюватися самою імунною системою, її гуморальною ланкою через контроль антитілами прозапальних цитокинів. Вивчався рівень прозапальних цитокинів ФНП- α , ІЛ-4, ІЛ-1b у сироватці крові та їх імунологічний контроль антитілами за різних клінічних форм і ступенів тяжкості перебігу БА. У разі БА в дітей у періоді загострення має місце підвищення рівня прозапальних цитокинів у сироватці крові, що наростають від легкого до тяжкого перебігу захворювання. Імунна система в дітей, хворих на БА, здійснює контроль антитілами прозапальних цитокинів, достовірність якого визначається при середньотяжкому та тяжкому перебігу БА, що підтверджує їх участь у патогенезі цього захворювання. Дослідження є перспективними і мають важливе практичне значення для розробки нових підходів до лікування цієї патології та уточнення механізмів дії застосовуваних фармакологічних препаратів.

Ключові слова: бронхіальна астма, діти, прозапальні цитокини, антитіла.

IMMUNOLOGICAL CONTROL OF INFLAMMATORY CYTOKINES IN CHILDREN WITH ASTHMA

V. G. Chernusky, N. N. Popov,
O. L. Govalenkova, A. V. Letyago,
V. L. Kashina-Yarmak, T. V. Evdokimova

In immunogenesis asthma in children are increasingly paying attention to the researchers cytokines sensitized T lymphocyte — tumor necrosis factor — α (TNF- α), interleukin 4 (IL-4) and interleukin 1b (IL-1b). Hyperproduction these cytokines in the body of children with asthma, according to the physiological mechanisms should be regulated by the immune system itself, its humoral antibodies through the control of pro-inflammatory cytokines. To study the level of pro-inflammatory cytokines TNF- α , IL-4, IL-1b serum and immunological control antibodies in different clinical forms and degrees of severity of asthma. In asthma in children in the period of aggravation is an increase in the level of proinflammatory cytokines in the blood serum, rising from mild to severe disease. The immune system in children with asthma, exercise control antibody anti-inflammatory cytokines, the accuracy of which is defined by moderate and severe asthma, confirming their participation in the pathogenesis of this disease. Studies are promising and have great practical significance for the development of new approaches to the treatment of this disease and clarify the mechanisms of action of the pharmacological agents.

Keywords: bronchial asthma, children, proinflammatory cytokines, antibodies.

Бронхиальна астма (БА) — это хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, при котором имеют место обратимая обструкция и гиперреактивность бронхов в ответ на различные стимулы — иммунологические, нейрогенные, физические, химические. Большинство исследователей относит БА к аллергическим заболеваниям, в основе которых лежат иммунологические механизмы [1, 2, 3]. До сих пор их роль остается предметом изучения. Простая реакция «антиген — антитело» не отражает всех сложных формирований ответа иммунной системы на различные антигены (экзогенные и эндогенные) при различных клинических формах БА у детей. Иммунный ответ у данного контингента детей проявляется развитием клеточных и гуморальных реакций, однако это деление не совсем правомочно, поскольку иммунный ответ — это единый процесс, включающий различные эффекторные клетки, которые, в зависимости от вида антигена, продуцируют цитокины и хемоаттрактанты с бронхоконстрикторными свойствами. В клеточных реакциях принимают участие и постоянно взаимодействуют различные виды сенсibilизированных к различным антигенам клеток — как циркулирующих в крови и лимфе (лимфоциты, нейтрофилы, моноциты, эозинофилы, базофилы, тромбоциты и др.), так и фиксированных (эндоцелициты, эпителиоциты, фибробласты и др.). Степень их участия определяется видом антигена (инфекционным, неинфекционным — «секвестрированными» антигенами бронхолегочной системы, возникающими при прогрессировании хронического продуктивного воспаления в бронхолегочной системе при БА). Взаимодействие этих клеток обеспечивается разнообразными гуморальными факторами (цитокинами, иммуноглобулинами, системой комплемента, молекулами адгезии селектинов Р, L, E, интегринов, медиаторами, гормонами, эндорфинами и др.), которые являются не только продуктами секреции данных клеток, но и при их гиперпродукции способны оказывать цитотоксическое воздействие на клеточно-тканевые структуры бронхолегочной системы у детей, больных БА [4, 5, 6]. В последнее время все больше внимания

исследователи уделяют цитокинам сенсibilизированных Т-лимфоцитов — фактору некроза опухоли- α (ФНО- α), интерлейкину 4 (ИЛ-4) и интерлейкину 1b (ИЛ-1b) в патогенезе БА у детей. Повышение их уровня зарегистрировано у всех детей, больных БА, и коррелирует с тяжестью заболевания [6, 8, 10]. Гиперпродукция данных цитокинов в организме детей, больных БА, по физиологическим механизмам должна регулироваться самой иммунологической системой, ее гуморальным звеном через антительный контроль провоспалительных цитокинов сенсibilизированных Т-лимфоцитов.

Цель работы — изучить уровень провоспалительных цитокинов ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-1b в сыворотке крови и их иммунологический контроль антителами при разных клинических формах и степенях тяжести течения БА у детей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 228 детей, больных БА в периоде обострения, в возрасте от 5 до 14 лет, средний возраст — $(11,6 \pm 1,5)$ лет. Все дети обследовались в пульмонологическом отделении ГУ «Детская дорожная клиническая больница» (г. Харьков). На проведение исследований было получено согласие родителей. Диагноз заболевания устанавливали согласно классификации, принятой съездом педиатров и утвержденной Приказом МЗ Украины № 868 от 08.10.2013 г. с неаллергической формой БА. Обследовано 82 (36,0 %) ребенка, больных аллергической (атопической) — 76 (33,3 %) и смешанной — 70 (30,7 %) формами БА. Контрольную группу составили 25 здоровых детей в возрасте от 7 до 14 лет.

Количественный уровень цитокинов (ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-1b) в сыворотке крови больных детей определяли иммуноферментным методом с помощью стандартных тест-систем «Протеиновый контур» (г. Санкт-Петербург). Уровень аутоантител к цитокинам ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-1b определяли в реакции фотометрического определения аутоантител в сыворотке крови к цитокинам Т-лимфоцитов, предварительно инкубированных с липополисахаридными антигенами трахеи, бронхов и легочной

ткани, по методу В. В. Квирикадзе, разработанному в ГИСК им. Тарасевича (г. Москва) [7].

Полученные данные статистически обрабатывали методом вариационного ряда по t-критерию Стьюдента при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучен уровень цитокинов ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-1b в сыворотке крови больных и здоровых детей (табл. 1).

Уровень цитокинов в сыворотке крови у детей с тяжелым течением БА достоверно отличается от такового в группе здоровых детей и детей с легким течением БА (табл. 1). Следует отметить отсутствие достоверных отличий уровня цитокинов ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-1b в сыворотке крови у детей со среднетяжелой и тяжелой степенью БА. Это может быть связано с контролем иммунной системой повышенного уровня продукции данных провоспалительных цитокинов в организме детей со среднетяжелым и тяжелым течением БА, тогда как низкие уровни ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-1b в сыворотке крови у детей с легким персистирующим течением БА свидетельствуют о неопределяющей роли данных цитокинов в патогенезе легкого персистирующего течения БА. ФНО- α и ИЛ-1b в норме играют фундаментальную физиологическую роль в иммунорегуляции, но в некоторых случаях способны оказывать патологическое действие, принимая участие в развитии и прогрессировании хронического аллергического воспаления в бронхолегочной системе, микрососудистой

гиперкоагуляции, гемодинамических нарушений при различных заболеваниях как инфекционной, так и неинфекционной природы.

Кроме того, ФНО- α и ИЛ-1b участвуют в регуляции апоптоза (регулируемая гибель) клеточно-тканевых структур бронхолегочной системы при БА у детей. В целом, ФНО- α и ИЛ-1b проявляют многочисленные системные и локальные эффекты, многие из которых могут играть важную роль в патогенезе БА у детей. Несомненный интерес представляют данные о тесной связи между ФНО- α , ИЛ-1b и неоптерином в отношении образования оксида азота и развития апоптоза клеточно-тканевых структур бронхолегочной системы при БА у детей. ФНО- α и ИЛ-1b усиливают образование метаболического предшественника неоптерина — тетрагидробиоптерина, который принимает участие в образовании оксида азота. В свою очередь, неоптерин стимулирует экспрессию гена NOS2 и синтез оксида азота в сосудистых клетках альвеолярной ткани легкого посредством активации фактора транскрипции KNF-kB, стимулирует образование ФНО- α моноцитами и сосудистыми гладкомышечными клетками. Кроме того, неоптерин, как и ФНО- α и ИЛ-4, обладает способностью индуцировать клеточный апоптоз [7, 8]. ИЛ-4 продуцируется активированными Т-клетками (T_H -тип 2) и является необходимым компонентом для продукции IgE. Он — своего рода фактор роста для Т-клеток. Следует также отметить, что ИЛ-4 повышает адгезивность эндотелия для разного рода клеток, что является

Таблица 1

Уровень цитокинов в сыворотке крови у детей, больных БА, в зависимости от тяжести течения заболевания в периоде обострения и у здоровых лиц ($M \pm t$), пг/мл

Степень тяжести БА	ФНО- α	ИЛ-4	ИЛ-1b
Легкая (n=35)	61,3 \pm 12,4	73,4 \pm 13,2*	56,9 \pm 7,6
	$E_x=0,28$	$E_x=0,18$	$E_x=0,23$
Среднетяжелая (n=39)	196,5 \pm 25,3*#	178,6 \pm 19,7*#	169,4 \pm 14,6*#
	$E_x=0,31$	$E_x=0,35$	$E_x=0,19$
Тяжелая (n=32)	208,8 \pm 21,2*#	184,7 \pm 23,5*#	173,5 \pm 22,3*#
	$E_x=0,23$	$E_x=0,41$	$E_x=0,25$
Здоровые дети (n=25)	23,6 \pm 3,7	26,4 \pm 2,8	34,2 \pm 3,4

Примечание: $p < 0,05$; * — по сравнению со здоровыми детьми; # — с легким течением БА; E_x — показатель нормальности распределения выборки ($E_x = 0$).

типичным в ходе развития аллергических реакций при БА у детей. Повышенная продукция ИЛ-4 мононуклеарами и сенсibilизированными Т-лимфоцитами детей, больных БА, коррелирует с повышением цАМФ-диэстеразной активности. Соответственно, ингибитор фосфодиэстеразы достоверно повышает продукцию ИЛ-4 в культуре мононуклеаров и Т-лимфоцитов детей, больных БА, параллельно повышению внутриклеточного уровня цАМФ. Согласно данным наших исследований, содержание ИЛ-4 в крови детей, больных БА, коррелирует с периодом обострения и длительностью заболевания. Повышенная способность продуцировать ИЛ-4 сенсibilизированными Т-лимфоцитами у данного контингента детей связана с наследственно обусловленным дефицитом CD8-супрессоров, что способствует повышению и пролонгированию продукции IgE у детей с БА.

При обосновании иммунопатологической роли цитокинов ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-1b в развитии БА у детей учитывали, что любой

стрессовый агент в условиях антигенности, avidности и аффинности должен попадать под иммунологический контроль организма. Учитывая это, проведено иммунологическое исследование 228 больных БА и 25 здоровых детей.

Результаты изучения аутоиммунного статуса показали, что, независимо от клинической формы, БА у детей закономерно сопровождается аутоиммунными реакциями, направленными на ингибирование продукции цитокинов Т-лимфоцитов (табл. 2). Количественное определение аутоантител к ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-1b в сыворотке крови у детей, больных БА, показало увеличение количества аутоантител от легкого к тяжелому течению БА, что указывает на непосредственное участие ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-1b в патогенезе БА и их контроль со стороны иммунологической системы организма.

Участие ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-1b в развитии и прогрессировании БА у детей имеет важное

Таблица 2

Данные количественного определения аутоантител к ФНО- α , ИЛ-4 и ИЛ-1b в крови детей в зависимости от степени тяжести течения БА в периоде обострения

Клиническая форма БА	Степень течения БА	Количество больных	Количество аутоантител в крови, ($X \pm S_x$) у. е.		
			ФНО- α	ИЛ-4	ИЛ-1b
Неаллергическая (n=82)	Легкая	28	0,125 \pm 0,017* E _x =0,23	0,092 \pm 0,004* E _x =0,28	0,106 \pm 0,012* E _x =0,26
	Среднетяжелая	30	0,246 \pm 0,023*# E _x =0,18	0,162 \pm 0,032** E _x =0,15	0,224 \pm 0,028*# E _x =0,19
	Тяжелая	24	0,438 \pm 0,044** E _x =0,20	0,253 \pm 0,038** E _x =0,25	0,367 \pm 0,034 E _x =0,23
Смешанная (n=70)	Легкая	24	0,159 \pm 0,024* E _x =0,17	0,160 \pm 0,019*# E _x =0,14	0,112 \pm 0,014* E _x =0,18
	Среднетяжелая	22	0,285 \pm 0,036*# E _x =0,24	0,298 \pm 0,028** E _x =0,19	0,274 \pm 0,048*# E _x =0,27
	Тяжелая	24	0,382 \pm 0,047*# E _x =0,28	0,396 \pm 0,052** E _x =0,36	0,425 \pm 0,046*# E _x =0,33
Атопическая (n=76)	Легкая	30	0,102 \pm 0,012* E _x =0,22	0,172 \pm 0,027* E _x =0,17	0,095 \pm 0,012* E _x =0,23
	Среднетяжелая	24	0,194 \pm 0,025*# E _x =0,18	0,384 \pm 0,062** E _x =0,16	0,142 \pm 0,023* E _x =0,14
	Тяжелая	22	0,267 \pm 0,048*# E _x =0,33	0,586 \pm 0,073** E _x =0,29	0,284 \pm 0,032*# E _x =0,28
Здоровые дети (n=25)			0,042 \pm 0,008	0,033 \pm 0,006	0,029 \pm 0,004

Примечание: Q_ф — показатель иммунных антител, у. е.; Q_ф=0,0004–0,1236 — отрицательная реакция; Q_ф=0,1634–0,6411 — положительная; Q_ф=0,1237–0,1633 — слабо положительная; Q_ф=0,6412–1,4248 — резко положительная реакция; p<0,05; * — по сравнению со здоровыми детьми; # — с другими клиническими формами БА; E_x — показатель нормальности распределения выборки (E_x=0).

практическое значение для разработки новых подходов к лечению этой патологии и уточнения механизмов действия уже применяемых фармакологических препаратов. Не вызывает сомнения, что дальнейшие исследования патогенетического значения ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-1 β в развитии БА у детей имеют первостепенное значение для совершенствования методов лечения данной патологии.

ВЫВОДЫ

1. При бронхиальной астме у детей в периоде обострения повышаются уровни провоспалительных цитокинов ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-1 β

в сыворотке крови, нарастающие от легкого к тяжелому течению заболевания.

2. Иммунная система у детей, больных БА, осуществляет антительный контроль провоспалительных цитокинов, достоверность которого определяется при среднетяжелом и тяжелом течении бронхиальной астмы, что подтверждает их участие в патогенезе данного заболевания.

3. Выявленные патогенетические нарушения при бронхиальной астме у детей дают возможность в перспективе разработать новые фармакологические подходы к ингибции провоспалительных цитокинов у данного контингента детей.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Апоптоз в иммунологических процессах / Н. И. Сепиашвили, М. Г. Шубич, Н. В. Колесникова [и др.] // Аллергология и иммунология. — 2000. — Т. 1, № 1. — С. 15–23.
2. Бережная Н. М. Нарушение различных уровней иммунологической регуляции при атопической бронхиальной астме / Н. М. Бережная, С. А. Котова, О. Б. Белова // Астма. — 2002. — Т. 3, № 2. — С. 99–106.
3. Бронхиальная астма. Глобальная стратегия. Совместный доклад Национального института сердца, легких, крови (США) и ВОЗ // Пульмонология (приложение). — 1996. — № 3. — 165 с.
4. Ветра Я. Я. Цитокины / Я. Я. Ветра, Л. В. Иванова, И. Э. Крейле // Гематология и трансфузиология. — 2000. — № 4. — С. 45–48.
5. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергия / Г. Н. Дранник. — Москва : Мед. информ. агентство, 2003. — 603 с.
6. Казначеев К. С. Механизмы развития цитокининдуцированного апоптоза / К. С. Казначеев // Гематология и трансфузиология. — 1999. — № 1. — С. 40–43.
7. Количественное определение антител в крови : метод. рекомендации МЗ СССР, ГИСК им. Л. В. Тарасевича / сост. В. В. Квирикадзе [и др.]. — Москва : Медицина, 1984. — С. 1–9.
8. Bradding P. Human mast cell cytokines / P. Bradding // Clin. Exp. Allergy. — 1996. — Vol. 26. — P. 13–19.
9. Szeffler S. J. Advances in pediatric asthma in 2009 : gaining control of childhood asthma / S. J. Szeffler // J. Allergy Clin. Immunol. — 2010. — Vol. 1. — P. 69–78.
10. Zhaug M. Tumor necrosis factor / M. Zhaug, K. J. Tracey // The cytokine handbook, 3rd ed. — New York : Academic press, 1998. — P. 515–548.