



С.Т. Валиева¹, А.И. Гасанов¹, И.В. Киреев², А.А. Маликова¹

ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМНОГО И ЛОКАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

¹Азербайджанский государственный институт усовершенствования врачей им. А. Алиева, г. Баку, Азербайджан,

²Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина

Ключові слова: системний і локальний імунітет, бронхіальна астма, діти, апоптоз.

Ключевые слова: системный и локальный иммунитет, бронхиальная астма, дети, апоптоз.

Key words: systemic and local immunity, asthma, children, apoptosis.

Мета дослідження полягала у вивченні особливостей локальних факторів імунітету у змішаній слині дітей з бронхіальною астмою. Під спостереженням перебували 103 дитини, з них 83 особи з досліджуваною патологією і 20 практично здорових дітей віком від 3 до 15 років. Порівняльний аналіз показників гуморального та клітинного імунітету в крові та слині виявив найбільш значущі позитивні зв'язки між показниками СД3 і СД8 ($\rho=+0,54$ і $\rho=+0,59$; $p<0,001$); рівнем IgE ($\rho=+0,87$; $p<0,001$); між показниками сироваткового і секреторного IgA ($\rho=+0,31$; $p<0,001$). У групі пацієнтів з бронхіальною астмою ($46,0\pm 21,8$, $p<0,01$) і при поєднанні бронхіальної астми та АД ($32,6\pm 18,6$, $p<0,0001$) відзначено достовірне зниження рівня CD95-маркера апоптозу лімфоцитів у сироватці крові, в порівнянні з контролем ($59,8\pm 9,6$). Виявлено негативну кореляційну залежність ($\rho=-0,8$) між концентраціями CD95-маркера апоптозу та IgE, що може свідчити про участь системи апоптозу в регуляції продукції загального IgE.

Целью исследования было изучение особенностей локальных факторов иммунитета в смешанной слюне детей с бронхиальной астмой. Под наблюдением находились 103 ребенка, из них 83 – с исследуемой патологией и 20 практически здоровых детей в возрасте от 3 до 15 лет. Сравнительный анализ показателей гуморального и клеточного иммунитета в крови и слюне выявил наиболее значимые положительные связи между показателями СД3 и СД8 ($\rho=+0,54$ и $\rho=+0,59$; $p<0,001$); уровнем IgE ($\rho=+0,87$; $p<0,001$); между показателями сывороточного и секреторного IgA ($\rho=+0,31$; $p<0,001$). В группе пациентов с бронхиальной астмой ($46,0\pm 21,8$, $p<0,01$) и при сочетании бронхиальной астмы и АД ($32,6\pm 18,6$, $p<0,0001$) наблюдается достоверное снижение уровня CD95-маркера апоптоза лимфоцитов в сыворотке крови, по сравнению с контролем ($59,8\pm 9,6$). Обнаружена отрицательная корреляционная зависимость ($\rho=-0,8$) между концентрациями CD95-маркера апоптоза и IgE, что может свидетельствовать об участии системы апоптоза в регуляции продукции общего IgE.

The aim of research was to study the peculiarities of local factors of immunity in mixed saliva in children with bronchial asthma. There were 103 children under our supervision, 83 children of whom were with bronchial asthma and 20 healthy children in age from 3 to 15 years. Comparative analysis of humoral and cellular immunity in the blood and saliva revealed the most significant positive association between CD3 and CD8 ($\rho=+0,54$ and $\rho=+0,59$; $p<0,001$), and the level of IgE ($\rho=+0,87$; $p<0,001$); between serum and secretory IgA ($\rho=+0,31$; $p<0,001$). In the group of patients with BA ($46,0\pm 21,8$, $p<0,01$) and the combination of BA and BP ($32,6\pm 18,6$, $p<0,0001$) a significant reduction of CD 95-marker of lymphocytes apoptosis in the blood serum compared to controls ($59,8\pm 9,6$) was observed. In this case, a negative correlation ($\rho=-0,8$) has been found between concentrations of CD95 - marker of apoptosis, and IgE, which may indicate involvement of apoptosis in the regulation of production of total IgE.

Известно, что в основе патогенеза бронхиальной астмы (БА) важное значение имеют иммунологические механизмы [2,3,7]. В отличие от системных изменений, исследованию которых посвящено много работ, особенностям местного иммунитета при БА уделяется гораздо меньше внимания исследователей [3,4]. В то же время, патогенетически значимые отклонения происходят именно на топическом уровне.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить особенности локальных факторов иммунитета в смешанной слюне детей с БА и сравнить с аналогичными системными показателями.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под нашим наблюдением находились 103 ребенка, из них 83 – с БА и 20 практически здоровых детей в возрасте от 3 до 15 лет. Исследования проводились в периоде ремиссии заболеваний на базе кафедры педиатрии АзГИУВ им. А. Алиева, детских городских поликлиник №2, 5, 6, 10, 13 г. Баку и медицинского центра «Евромед» в период с 2006 по 2009 г.

Для исследования показателей иммунной системы использована кровь и слюна, взятые натощак, не ранее чем через 1 месяц после окончания любого инфекционного процесса или ревакцинации. В крови и слюне определены следующие показатели: уровни иммуноглобулинов (sIgA, IgE, IgG, IgM), ЦИК, зрелые (CD3+) Т-лимфоциты, хелперные (CD4+), супрессорные Т-лимфоциты (цитотоксические CD 8+), количество В-клеток (CD 19+), NK-лимфоциты (CD56+), активированные лимфоциты – апоптоз клеток (CD95+). Использовали методику, прилагаемую к данной панели моноклональных антител. Микроскопию проводили на микроскопе фирмы «Люам РІ». Определение уровня IgE в смешанной слюне проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью набора «Е-ИФА-Бест стрип» на аппарате Bio Screen MS-500.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для изучения интенсивности иммунных реакций у детей проанализированы показатели клеточного и гуморального иммунитета для каждой группы. В таблице 1 приведены



Таблица 1

Показатели Т-клеточного звена иммунного статуса периферической крови больных БА

Показатели (%)	БА (n=83)	Здоровые дети (n=20)
CD3	55±9,4*	62,5±5,1
CD4	38±7,97*	42,5±9,3
CD8	28,6±8,96	30,75±8,0
CD4/ CD8	1,32±0,38	1,38±0,13
CD56	24,5±9,29*	19,33±8,02

Примечание: * – $p < 0,05$.

данные анализа показателей Т-клеточного звена иммунного статуса детей с БА в сравнении с группой контроля. При анализе показателей иммунного статуса больных БА установлены изменения в фенотипе Т-клеток относительно группы здоровых детей.

Так, общее число Т-лимфоцитов (CD3) значительно снижено ($55 \pm 9,4$; $p < 0,05$) в группе больных, что отражает дефицит Т-клеточных механизмов защиты, осуществляющими иммунологический надзор за антигенным гомеостазом в организме.

Подсчет относительного числа Т-хелперов (CD4) показал также ($38 \pm 7,97$; $p < 0,05$) снижение данной субпопуляции Т-лимфоцитов детей с БА. Анализ уровня Т-супрессоров (CD8) выявил тенденцию к их незначительному снижению ($28,6 \pm 8,96$; $p > 0,05$) хотя разница оказалась не достоверной.

Количество недифференцированных «нулевых» лимфоцитов (CD56) у детей с БА превышало аналогичные значения в группе контроля ($24,5 \pm 9,29$ против $19,33 \pm 8,02$; $p < 0,05$). Повышение данного показателя свидетельствует о напряженности противовирусного иммунитета у детей с БА.

При исследовании гуморальных факторов иммунного статуса у детей с БА выявлены некоторые отклонения, по сравнению с контрольной группой (табл. 2).

Таблица 2

Показатели гуморального звена иммунитета и ЦИК периферической крови детей с БА

Показатели (%)	БА (n=83)	Здоровые дети (n=20)
CD19	26,33±7,09	24,3±6,7
IgA(g/l)	1,91 ±1,11*	1,4±0,25
IgM(g/l)	0,97±0,1	1,27±1,48
IgG(g/l)	10,2±1,06	13,2±1,07
IgE(g/l)	369,64±180,5*	35,2±5,6
ЦИК	66,6±16,8*	41,25±16,8

Примечание: * – $p < 0,05$.

Как видно из таблицы, количество В-лимфоцитов (CD19) у больных несколько превышало соответствующий показатель в контроле ($26,33 \pm 7,09$ против $24,3 \pm 6,7$; $p > 0,05$).

Важное значение в оценке гуморального иммунитета имеет соотношение популяций в общем пуле В-лимфоцитов. У обследуемых детей установлена дисиммуноглобулинемия: снижение IgM и IgG, повышение IgA.

Уровень IgA сыворотки крови больных составил $1,91 \pm 1,11$ г/л против $1,4 \pm 0,25$ у здоровых детей ($p > 0,05$). Показатели IgM ($0,97 \pm 0,1$ против $1,27 \pm 1,48$) и IgG ($10,2 \pm 1,06$

против $13,2 \pm 1,07$) у больных и здоровых детей соответственно, хотя и имели тенденцию к снижению, но были не достоверны. Такое повышение содержания IgA на фоне сниженных показателей Т-звена иммунитета, вероятно, является компенсаторным, отражая поликлональную активацию В-системы иммунитета.

У больных БА также отмечалось возрастание количества ЦИК ($66,6 \pm 16,8$ против $41,25 \pm 16,8$; $p < 0,05$).

Типичной для детей с БА была тенденция к снижению показателей Т-клеточного звена иммунитета за счет угнетения показателей: CD3 – у 71% детей с БА; CD4 – у 64%; CD8 – у 34% детей; CD56 – у 56%; CD95 – у 69% больных. Снижение количества Т-лимфоцитов и их субпопуляций характеризовало недостаточность клеточного звена иммунитета и уменьшение резистентности организма к вирусной инфекции. В-лимфоциты (CD19) у 37% детей с БА имели тенденцию к повышению.

Корреляционный анализ между уровнем CD95 и лимфоцитами периферической крови (CD3, CD4, CD8, CD19, CD56) приведен в таблице 3.

Таблица 3

Коэффициент корреляции между уровнем CD95-маркером апоптоза и лимфоцитами периферической крови детей с БА

Показатель	CD95
CD3	0,3
CD4	0,12
CD8	0,26
CD19	- 0,09
CD56	0,46

Корреляционный анализ выявил слабые корреляционные зависимости между лимфоцитами крови и уровнем CD95 маркера апоптоза детей БА, что может быть связано как с присоединением сенсибилизации к пищевым, бытовым и эпидермальным аллергенам, так и с включением разных механизмов апоптоза. Полученный факт подтверждает существующее мнение об отсутствии единых механизмов запуска апоптоза при развитии заболеваний разных нозологических групп [1].

Для изучения интенсивности иммунных реакций на местном уровне все дети с БА разделены на 2 группы: I – с уровнем IgE > 100 IU/ml; II – с уровнем IgE < 100 IU/ml. Проанализированы показатели клеточного и гуморального иммунитета для каждой группы.

В таблицах 4 и 5 отражены показатели клеточного и гуморального иммунитета в периферической крови и слюне детей с БА.

Как видно из табл. 4, все показатели Т-клеточного иммунитета характеризовались положительной зависимостью; наиболее значимые положительные связи обнаружены между показателями CD3 и CD8 ($\rho = +0,54$ и $\rho = +0,59$; $p < 0,001$).

При исследовании гуморального иммунитета в крови и слюне показатели В-клеток (CD19) имели отрицательную корреляцию (-0,31). При сравнении показателей иммуноглобулинов обнаружены разной силы положительные

Таблица 4

Показатели клеточного иммунитета в периферической крови и слюне детей с БА

Показатели	В крови (n=83)	В слюне (n=83)	Уровень корреляции
CD3	55±9,4	3,63±0,74	+0,54
CD4	38±7,97	2,63±1,18	+0,33
CD8	28,6±8,96	2,0±1,06	+0,59
CD4/CD8	1,32±0,38	1,31±0,23	—
CD56	24,5±9,29	2,0±1,19	+0,36

Таблица 5

Показатели гуморального иммунитета и ЦИК в периферической крови и слюне детей с БА

Показатели	В крови (n=83)	В слюне (n=83)	Уровень корреляции
CD19	26,33±7,09	1,75±0,7	-0,31
IgA(g/l)	1,91 ±1,11	0,39±0,2	+0,31
IgM(g/l)	0,97±0,1	1,49±0,83	+0,06
IgG(g/l)	10,2±1,06	2,3±0,48	+0,25
IgE(g/l)	369,64±180,5	1,05±0,4	+0,87
ЦИК (ед. опт. пл.)	66,6±16,8	11,64±9,6	-0,42

связи. Наиболее информативным показателем с высоким уровнем корреляции ($\rho=+0,87$; $p<0,001$) оказался IgE, что подтверждает целесообразность его определения в слюне детей с БА. Наши данные подтверждают общепризнанное мнение, что IgE обладает способностью быстрой фиксации на клетках слизистых оболочек, поэтому в свободном виде присутствует в плазме крови в ничтожных количествах [5,6]. Между показателями сывороточного и секреторного IgA обнаружена средней силы положительная связь ($\rho=+0,31$; $p<0,001$). Как известно [4], локальный синтез IgA обуславливает местный иммунитет, осуществляя тем самым защиту слизистых оболочек от патогенных микроорганизмов и потенциальных аллергенов. Содержание ЦИК в крови и слюне имело обратную зависимость средней силы ($\rho=-0,42$; $p<0,001$).

Состояние локального иммунного статуса оценивали также по результатам исследования клеточного и гуморального иммунитета индексной оценкой: CD3/CD19; CD3/CD4; CD3/CD8; CD4/CD8; IgG/CD19; IgA/CD19; IgE/CD19; IgG/IgA; IgA/IgM; IgG/IgM; IgE/IgG; IgG/ЦИК; IgA/ЦИК; IgM/ЦИК; IgE/ЦИК (табл. 6 и 7).

Таблица 6

Индексная оценка клеточного иммунитета в обследуемых группах детей с IgE- позитивным и IgE- негативным ответом

Группы больных	IgE>100 (n=63)	IgE<100 (n=20)
CD3/CD19	2,4	2,3
CD3/CD4	1,4	2,7
CD3/CD8	2,7	2,1
CD4/CD8	1,9	0,9
Сумма	8,4	8,0

Таблица 7

Индексная оценка гуморального иммунитета в обследуемых группах детей с IgE-позитивным и IgE-негативным ответом

Группы больных	IgE>100 (n=63)	IgE< 100 (n=20)
IgG/CD19	0,7	1,5
IgA/CD19	0,3	0,3
IgM/CD19	0,04	0,1
IgE/CD19	0,8	0,5
IgG/IgA	7,1	4,1
IgA/IgM	0,4	0,1
IgG/IgM	0	0,8
IgE/IgG	0,9	0,2
IgG/ ЦИК	0,2	0,2
IgA/ ЦИК	0,05	0,05
IgM/ ЦИК	0	0
IgE/ ЦИК	0,2	0,06
Сумма	10,7	7,9

Как видно из приведенных таблиц, в первой группе больных отмечено снижение локальных клеточных параметров (суммарная индексная оценка составляла 8,4) относительно гуморальных индексных показателей (суммарная индексная оценка – 10,7). Во второй группе больных такая разница не отмечена (индексная оценка клеточных факторов – 8,0, гуморальных – 7,9). Создается впечатление, что у больных второй группы не наблюдается дисбаланс между клеточными и гуморальными факторами иммунитета. У больных первой группы отмечается напряженность гуморальных иммунных реакций, что выражается высокой индексной оценкой – 10,7. Чтобы исключить влияние высоких значений IgE в группе больных с IgE-позитивным ответом из суммарной оценки исключили индексы, связанные с IgE. Полученные данные составили для первой группы 8,8, а для второй – 7,2, т. е. статистические данные отражали активность гуморальных реакций в первой группе детей.

При повышении в периферической крови уровня общего IgE происходило уменьшение уровня CD95-клеток. Во II группе пациентов установлено ($p<0,01$) снижение количества CD95 клеток и уровня экспрессии на них Fas-рецептора (31,9±3,2%) относительно детей I группы (57,7±8,42%). Возможно, это отражает процессы регуляции экспрессии Fas-рецептора со стороны цитокинов, продуцируемых Th2, что блокирует передачу сигналов апоптоза в клетки, в том числе и IgE-продуцирующие, и влечет за собой поддержание продукции IgE. Результаты корреляционного анализа лимфоцитов периферической крови (CD3, CD4, CD8, CD19, CD56) и CD95-маркера апоптоза у детей с БА, в зависимости от уровня общего IgE представлены в таблице 8.

В отличие от I, во II группе больных выявлены положительные средние и сильные корреляционные связи между уровнем CD95 и лимфоцитами крови.

Выявленная отрицательная корреляционная зависимость в обеих группах больных между концентрациями CD95-маркера апоптоза и IgE может свидетельствовать об участии системы апоптоза в регуляции продукции общего IgE,



Таблица 8

Коэффициент корреляции лимфоцитов периферической крови и CD95-маркера апоптоза у детей с БА, в зависимости от уровня общего IgE

Показатель	CD95	
	IgE<100 МЕ/мл	IgE>100 МЕ/мл
CD 3	0,18	0,54
CD4	-0,2	0,76
CD8	-0,28	0,43
CD19	0,45	0,4
CD56	0,37	0,78
IgE	-0,64	-0,8

происходящего в результате большей продолжительности жизни образующих его клеток.

ВЫВОДЫ

Сравнительный анализ показателей гуморального и клеточного иммунитета в крови и слюне выявил наиболее значимые положительные связи между показателями CD3 и CD8 ($\rho=+0,54$ и $\rho=+0,59$; $p<0,001$); уровнем IgE ($\rho=+0,87$; $p<0,001$); между показателями сывороточного и секреторного IgA ($\rho=+0,31$; $p<0,001$); содержание ЦИК в крови и слюне имело обратную зависимость средней силы ($\rho=-0,42$; $p<0,001$). У детей с БА определение уровня IgE в секрете ротовой полости может быть использовано в качестве неинвазивного способа иммунологического обследования у детей различных возрастов.

В группе пациентов с БА ($46,0\pm 21,8$, $p<0,01$) и при сочетании БА и АД ($32,6\pm 18,6$, $p<0,0001$) наблюдается достоверное снижение уровня CD95-маркера апоптоза лимфоцитов в сыворотке крови, по сравнению с контролем ($59,8\pm 9,6$). При этом обнаружена отрицательная корреляционная зависимость ($\rho=-0,8$) между концентрациями CD95-маркера апоптоза и IgE, что может свидетельствовать об участии системы апоптоза в регуляции продукции общего IgE.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойчук С.В. Апоптоз лимфоцитов при atopической бронхиальной астме / Бойчук С.В., Мустафин И.Г., Фассахов Р.С., Мбаинаджи Л. // Пульмонология. – 2003. – №5. – С. 38–44.
2. Клиническая аллергология / Под ред. Р.М. Хаитова. – М.: МЕД рессинформ, 2002. – 624 с.
3. Ласиця О.Л. Аллергология дитячого віку / Ласиця О.Л., Ласиця Т.С., Недельська С.М. – К.: Книга плюс, 2004. – 367 с.
4. Kaditis A.G. Associations of tonsillar hypertrophy and snoring with history of wheezing in childhood / Kaditis A.G., Kalampouka E., Hatzinikolaou S. et al. // Pediatric Pulmonology. – 2010. – №45 (3). – P. 275–280.
5. Silvestri M. IgE in childhood asthma: relevance of demographic characteristics and polysensitisation / M. Silvestri, A. Pistorio, E. Battistini, G. A. Rossi. – Режим доступа: <http://adc.bmj.com/content/early/2010/07/22/adc.2009.163667.abstract>
6. Owen C.E. Immunoglobulin E: role in asthma and allergic disease: lessons from the clinic / Owen C.E. // Pharmacol Ther. – 2007. – №113. – P. 121–133.
7. Progress in Understanding Postnatal Immune Dysregulation in Allergic Disease // World Allergy Organization Journal. – 2010. – Vol. 3, Issue 4. – P. 162–166.

Сведения об авторах:

Валиева С., к. мед. н., ассистент кафедры педиатрии АзГИУВ им. А. Алиева.
 Гасанов А., д. мед. н., профессор, зав. кафедры педиатрии АзГИУВ им. А. Алиева.
 Киреев И.В., д. мед. н., профессор каф. фармакотерапии НФаУ.
 Маликова А., врач-педиатр детской поликлиники №6, АзГИУВ им. А. Алиева.

Адрес для переписки:

Киреев Игорь Владимирович. 61023, г. Харьков, ул. Сумская, 73, кв. 37.
 Тел.: (067) 718 43 90.
 E-mail: ivkireev@ukr.net