

УДК 616.248-053.5-092:612.017

**В.Г. Чернуский, Н.Н. Попов, А.Д. Морозова\*,  
О.Л. Говаленкова, О.А. Власенко**

## **ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЦИТОКИНЫ И ИХ РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ**

*Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина  
\*Харьковский национальный медицинский университет*

На достоверном фактическом материале изучена роль провоспалительных цитокинов ФНО- $\alpha$ , ИЛ-4, ИЛ-1 $\beta$  у 228 детей, больных БА, в возрасте от 5 до 14 лет в периоде обострения. Впервые показано, что иммунная система осуществляет антицитокиновый контроль провоспалительных цитокинов, нарастающий от легкого к тяжёлому течению заболевания. Это даёт возможность проводить иммунодиагностику и дифференциацию клинических форм и степени тяжести течения БА, а также разрабатывать новые подходы к её фармакотерапии.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, дети, цитокины, аутоантитела, сенсibilизированные Т-лимфоциты.

Бронхиальная 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 [1–3]. До сих пор их роль остаётся 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, так как 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 (лимфо-

циты, нейтрофилы, моноциты, эозинофилы, базофилы, тромбоциты и др.), так и фиксированных (эндоцелициты, эпителициты, фибробласты и др.). Степень их участия определяется видом антигена (инфекционным, неинфекционным – «секвестрированными» антигенами бронхолёгочной системы, возникающими при прогрессировании хронического продуктивного воспаления в бронхолёгочной системе при БА). Взаимодействие этих клеток обеспечивается разнообразными гуморальными факторами (цитокинами, иммуноглобулинами, системой комплемента, молекулами адгезии селектинов P, 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 бронхолёгочной системы у детей, больных БА [4–6]. В последнее время всё больше внимания исследователи уделяют цитокинам сенсibilизированных Т-лимфоцитов – фактору некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), интерлейкину 4 (ИЛ-4) и интерлейкину 1 $\beta$  (ИЛ-1 $\beta$ ) в патогенезе БА у детей. Повышение их уровня зарегистрировано у всех детей, больных БА, и коррелирует

© В.Г. Чернуский, Н.Н. Попов, А.Д. Морозова и др., 2012

с тяжестью заболевания [6–8]. Гиперпродукция данных цитокинов в организме детей, больных БА, по физиологическим механизмам должна регулироваться самой иммунологической системой, её гуморальным звеном через антительный контроль провоспалительных цитокинов сенсibilизированных Т-лимфоцитов.

Целью настоящей работы было изучить уровень «провоспалительных» цитокинов ФНО- $\alpha$ , ИЛ-4, ИЛ-1 $\beta$  и аутоантител к ним при разных клинических формах и степенях тяжести течения БА у детей.

**Материал 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. Диагноз заболевания устанавливали согласно классификации, принятой съездом педиатров и утверждённой Приказом МЗ Украины от 14.12.2009 г. № 04.01.12-8-1178. С неаллергической формой БА обследовано 82 (36,0 %) ребёнка, аллергической (атопической) – 76 (33,3 %) и смешанной – 70 (30,7 %). Контрольную группу составили 25 здоровых детей в возрасте от 7 до 14 лет.

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

хов и лёгочной ткани, по методу В.В. Квирикадзе, разработанному в ГИСК им. Тарасевича (г. Москва) [9].

**Результаты и их обсуждение.** Уровень цитокинов ФНО- $\alpha$ , ИЛ-4, ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови больных и здоровых детей приведен в табл. 1.

Как видно из данных табл. 1, уровень цитокинов в сыворотке крови у детей с тяжёлым течением БА достоверно отличается от такового в группе здоровых детей и детей с лёгким течением БА. Следует отметить отсутствие достоверных отличий уровня цитокинов ФНО- $\alpha$ , ИЛ-4, ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови у детей со среднетяжёлой и тяжёлой степенью БА. Это может быть связано с контролем иммунной системой повышенного уровня продукции данных провоспалительных цитокинов в организме детей со среднетяжёлым и тяжёлым течением БА, тогда как низкие уровни ФНО- $\alpha$ , ИЛ-4, ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови у детей с лёгким персистирующим течением БА свидетельствуют о неопределяющей роли данных цитокинов в патогенезе лёгкого персистирующего течения БА. ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  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 бронхолёгочной системе, микрососудистой гиперкоагуляции, гемодинамических нарушений при различных заболеваниях как инфекционной, так и неинфекционной природы. Кроме того, ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  участвуют в регуляции апоптоза (регулируемая гибель) клеточно-

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 $\pm$ m) пг/мл

Степень тяжести БА	ФНО- $\alpha$	ИЛ-4	ИЛ-1 $\beta$
Лёгкая (n=35)	61,3 $\pm$ 12,4 E <sub>x</sub> =0,28	73,4 $\pm$ 13,2* E <sub>x</sub> =0,18	56,9 $\pm$ 7,6 E <sub>x</sub> =0,23
Среднетяжёлая (n=39)	196,5 $\pm$ 25,3*# E <sub>x</sub> =0,31	178,6 $\pm$ 19,7*# E <sub>x</sub> =0,35	169,4 $\pm$ 14,6*# E <sub>x</sub> =0,19
Тяжёлая (n=32)	208,8 $\pm$ 21,2*# E <sub>x</sub> =0,23	184,7 $\pm$ 23,5*# E <sub>x</sub> =0,41	173,5 $\pm$ 22,3*# E <sub>x</sub> =0,25
Здоровые дети (n=25)	23,6 $\pm$ 3,7	26,4 $\pm$ 2,8	34,2 $\pm$ 3,4

Примечания: 1. p<0,05; \* по сравнению со здоровыми детьми; # с лёгким течением БА.  
2. E<sub>x</sub> – показатель нормальности распределения выборки (E<sub>x</sub>=0).

тканевых структур бронхолегочной системы при БА у детей. В целом ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  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- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  и неоптерином в отношении образования оксида азота и развития апоптоза клеточно-тканевых структур бронхолегочной системы при БА у детей. ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  усиливают образование метаболического предшественника неоптерина – тетрагидробиоптерина, который принимает участие в образовании оксида азота. В свою очередь, неоптерин стимулирует экспрессию гена NOS<sub>2</sub> и синтез оксида азота в сосудистых клетках альвеолярной ткани лёгкого посредством активации фактора транскрипции NF-kB, стимулирует образование ФНО- $\alpha$  моноцитами и сосудистыми гладкомышечными клетками. Кроме того, неоптерин, как и ФНО- $\alpha$  и ИЛ-4, обладает способностью индуцировать клеточный апоптоз [8, 10]. ИЛ-4 продуцируется активированными Т-клетками (Т<sub>х</sub>-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 типичным в ходе развития аллергических реакций при БА у детей. Повышенная продукция ИЛ-4 мононуклеарами и сенсibilизированными Т-лим-

фоцитами 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. По 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- $\alpha$ , ИЛ-4, ИЛ-1 $\beta$  сенсibilизированных Т-лимфоцитов в развитии БА у детей учитывали, что любой стрессовый агент в условиях антигенности, авидности и аффинности должен попадать под иммунологический контроль организма. С учётом этого проведено иммунологическое исследование 228 детей, больных БА, и 25 здоровых.

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 и 3). Количественное определение аутоантител к ФНО- $\alpha$ , ИЛ-4,

Таблица 2. Количество аутоантител к ФНО- $\alpha$ , ИЛ-4 и ИЛ-1 $\beta$  в крови детей с различными клиническими формами БА в периоде обострения

Клиническая форма БА	Количество аутоантител, (X $\pm$ Sx) усл. ед.		
	ФНО- $\alpha$	ИЛ-4	ИЛ-1 $\beta$
Неаллергическая (n=82)	0,269 $\pm$ 0,018* E <sub>x</sub> =0,16	0,169 $\pm$ 0,014* E <sub>x</sub> =0,22	0,235 $\pm$ 0,028* E <sub>x</sub> =0,19
Смешанная (n=70)	0,275 $\pm$ 0,024* E <sub>x</sub> =0,14	0,285 $\pm$ 0,032*# E <sub>x</sub> =0,19	0,283 $\pm$ 0,042 E <sub>x</sub> =0,22
Атопическая (n=76)	0,187 $\pm$ 0,032* E <sub>x</sub> =0,34	0,381 $\pm$ 0,043*# E <sub>x</sub> =0,28	0,170 $\pm$ 0,017 E <sub>x</sub> =0,25
Здоровые дети (n=25)	0,042 $\pm$ 0,008	0,033 $\pm$ 0,006	0,029 $\pm$ 0,004

Примечания: 1. Q<sub>0</sub> – показатель иммунных антител, усл. ед.; Q<sub>0</sub> =0,0004–0,1236 – отрицательная реакция; Q<sub>0</sub> =0,1634–0,6411 – положительная; Q<sub>0</sub> =0,1237–0,1633 – слабо положительная; Q<sub>0</sub> =0,6412–1,4248 – резко положительная реакция.

2. p<0,05; \* по сравнению со здоровыми детьми; # с другими клиническими формами БА.

3. E<sub>x</sub> – показатель нормальности распределения выборки (E<sub>x</sub>=0).

Таблица 3. Данные количественного определения аутоантител к ФНО- $\alpha$ , ИЛ-4 и ИЛ-1 $\beta$  в крови детей в зависимости от степени тяжести течения БА в периоде обострения

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

Примечания: 1. Q<sub>φ</sub> – показатель иммунных антител, усл. ед.; Q<sub>φ</sub> = 0,0004–0,1236 – отрицательная реакция; Q<sub>φ</sub> = 0,1634–0,6411 – положительная; Q<sub>φ</sub> = 0,1237–0,1633 – слабо положительная; Q<sub>φ</sub> = 0,6412–1,4248 – резко положительная реакция.

2. p < 0,05; \* по сравнению со здоровыми детьми; # по сравнению с лёгким течением БА.

3. E<sub>x</sub> – показатель нормальности распределения выборки (E<sub>x</sub> = 0).

ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови у детей, больных БА, показало увеличение аутоантител от лёгкого к тяжёлому течению БА, что указывает на непосредственное участие ФНО- $\alpha$ , ИЛ-4, ИЛ-1 $\beta$  в патогенезе БА и их контроль со стороны иммунологической системы организма.

Таким образом, участие ФНО- $\alpha$ , ИЛ-4, ИЛ-1 $\beta$  в развитии и прогрессировании БА у детей имеет важное 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- $\alpha$ , ИЛ-4, ИЛ-1 $\beta$  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- $\alpha$ , ИЛ-4, ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови, нарастающих от лёгкого к тяжёлому течению заболевания.

2. Иммунная система у детей, больных бронхиальной астмой, осуществляет анти-тельный контроль провоспалительных цитокинов, достоверность которого определяется при среднетяжёлом и тяжёлом течении бронхиальной астмы.

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

### Список литературы

1. Бронхиальная астма. Глобальная стратегия. Совместный доклад Национального института сердца, легких, крови (США) и ВОЗ // Пульмонология (приложение). – 1996. – № 3. – 165 с.
2. Апоптоз в иммунологических процессах / Н. И. Сепиашвили, М. Г. Шубич, Н. В. Колесникова, Т. А. Славянская // Аллергология и иммунология. – 2000. – Т. 1, № 1. – С. 15–23.
3. *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.
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. – М : 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. *Zhaug M.* Tumor necrosis factor / M. Zhaug, K. J. Tracey // The cytokine handbook, 3rd ed. – N. Y. : Academic press, 1998. – P. 515–548.
8. *Bradding P.* Human most cell cytokines / P. Bradding // Clin. Exp. Allergy. – 1996. – Vol. 26. – P. 13–19.
9. Количественное определение антител в крови : метод. рекомендации МЗ СССР, ГИСК им. Л. В. Тарасевича / сост. В. В. Квирикадзе [ и др.]. – М., 1984. – С. 1–9.
10. *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.

***В.Г. Чернуський, М.М. Попов, Г.Д. Морозова, О.Л. Говаленкова, О.О. Власенко***

#### **ПРОЗАПАЛЬНІ ЦИТОКІНИ ТА ЇХ РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗІ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ У ДІТЕЙ**

На достовірному фактичному матеріалі вивчена роль прозапальних цитокінів ФНП- $\alpha$ , ІЛ-4, ІЛ-1 $\beta$  у 228 дітей, хворих на БА, віком від 5 до 14 років у періоді загострення. Вперше показано, що імунна система здійснює антицитокіновий контроль прозапальних цитокінів, який зростає від легкого до тяжкого перебігу захворювання. Це дає можливість проводити імунодіагностику і диференціацію клінічних форм і ступеня тяжкості перебігу БА, а також розробляти нові підходи до її фармакотерапії.

**Ключові слова:** бронхіальна астма, діти, цитокіни, аутоантитіла, сенсibiliзовані Т-лімфоцити.

***V.G. Chernusky, N.N. Popov, A.D. Morozova, O.L. Govalenkova, O.A. Vlasenko***

#### **PROINFLAMMATORY CYTOKINES AND THEIR ROLE IN THE PATHOGENESIS OF BRONCHIAL ASTHMA IN CHILDREN**

On reliable factual material there has been studied the role of proinflammatory cytokines TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-1 $\beta$  in 228 children with asthma aged 5 to 14 years in the period of exacerbation. It was shown that the immune system carries out control of anticytokine proinflammatory cytokines, increasing from mild to severe disease. This allows to perform immunoassay and the differentiation of clinical forms and severity of asthma, as well as the development of new approaches to its pharmacological treatment.

**Key words:** bronchial asthma, children, cytokines, autoantibodies, sensitized T-lymphocytes.

Поступила 15.02.12