

КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

© Белоглазов В.А., Попенко Ю.О.

УДК: 616-092:612.017.1:616-002:616.15-07

ДИСБАЛАНС МУКОЗАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ СРЕДНЕТЯЖЕЛОЙ И ТЯЖЕЛОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ*

Белоглазов В.А., Попенко Ю.О.

ГУ «Крымский Государственный Медицинский Университет имени С.И. Георгиевского», г. Симферополь

Відомо, що мукозальний імунітет це перша лінія захисту організму від чужорідних антигенів. Метою нашого дослідження було визначення стану мукозального імунітету у хворих середньо тяжкою і тяжкою персистою бронхіальною астмою, на фоні застосування базисної терапії. Було обстежено 109 пацієнтів (жінок- 63/57, 8%; чоловіків -46/42, 2%), що знаходяться на амбулаторному лікуванні. Всі хворі були поділені на дві групи: 1 група - хворі з середньо тяжкою бронхіальною астмою 68 чол. (62,4 %), згідно з опитувальником АСQ середній бал - $3,00 \pm 0,14$, ОФВ1 - $67,01 \pm 2,10$ %; 2 група - хворі з тяжкою бронхіальною астмою 41 чол. (37,6 %), згідно з опитувальником АСQ середній бал - $4,06 \pm 0,12$, ОФВ1 - $34,45 \pm 1,50$ %. У результаті дослідження було виявлено, що в 1 та 2 групах достовірно зростали рівні sIg A і анти- ET - sIgA у порівнянні з нормою ($p < 0,01$), між групових відмінностей за даними показниками не визначалося. Виявлені зміни мукозального гуморального імунітету відображають виражену антигенну стимуляцію імунної системи слизових оболонок на тлі функціональної неспроможності епітеліального бар'єру, що і дає змогу реалізувати феномен ендотоксинової агресії.

Ключові слова: імунітет, мукозальний антиендотоксинний, бронхіальна астма, секреторний Ig A.

Мукозальний імунітет это часть иммунной системы, представляющая собой слизистую оболочку, которая направлена на контакт с антигенами из внешней среды [5]. Данный иммунитет состоит из лимфоидной ткани, которая ассоциирована с слизистой оболочкой (MALT or mucosa-associated lymphoid tissue) и может быть разделена на несколько компонентов: «ассоциированная с кишечником лимфоидная ткань»(GALT), «ассоциированная с бронхами лимфоидная ткань»(BALT), «ассоциированная с носом лимфоидная ткань» (NALT), молочных и слюнных желез [5,4].

Антигенный материал доставляется в межфолликулярную Т-зависимую зону GALT. Здесь Th-клетки выделяют целый пакет цитокинов, среди них наиболее изучены эффекты трансформирующего фактора роста-β (transforming growth factor-β; TGF-β), который переключает В-клетки на продукцию IgA, а не, например, IgG или IgE. IgA-коммитированные (то есть взявшие на себя обязательство производить именно IgA) лимфоциты уходят из фолликула в мезентериальные лимфатические узлы, где превращаются в плазмобласты [2].

Известно, что sIgA обеспечивает местную защиту целостности и функционирования слизистой оболочки благодаря тому, что препятствует креплению микроорганизмов к этим тканям и их проникновению в эпителиальную выстилку. Также считается, что sIgA может непосредственно в клетках эпителия связывать патогенные микроорганизмы, а также связывать антигены в собственной пластинке слизистой оболочки и выводить их через слой эпителия на поверхность

слизистой оболочки, освобождая, таким образом, организм от локально формируемых иммунных комплексов и снижая вероятность их поступления в системное кровообращение [7,8].

Материалы и методы исследования

Целью нашего исследования было определение состояния мукозального иммунитета у больных среднетяжелой и тяжелой персистирующей бронхиальной астмой, на фоне применения базисной терапии.

Поставленная задача для достижения цели - изучения состояния местного общего (секреторный Ig A) и антиэндотоксинного (секреторный ант-ЭТ Ig A) иммунитета у данной категории больных. Было обследовано 109 пациентов (женщин- 63/57,8%; мужчин - 46/42,2%), находящихся на амбулаторном лечении основного заболевания в соответствии с приказом МОЗ Украины от 19.03.2007 №128, которые получали сальметерол 50-100 мкг/сут и флютиказон пропионат 500-1000 мкг/сут. Анализ уровня контроля у больных бронхиальной астмой осуществляли с помощью опросника АСQ Elizabeth Juniper (1999 г). АСQ состоит из 7 вопросов, которые больной заполняет, 5 из которых касаются выраженности наиболее важных симптомов (ночные симптомы/пробуждения, дневные симптомы астмы, ограничение ежедневной активности, одышка, хрипов), использования препаратов неотложной помощи и ОФВ1. Оценка выраженности симптомов происходит по визуально-аналоговой бальной шкале от 0 баллов (симптом отсутствует) до

* Цитування при атестації кадрів: Белоглазов В.А., Попенко Ю.О. Дисбаланс мукозального імунітету при среднетяжелой и тяжелой бронхиальной астме // Проблеми екології і медицини. – 2014. – Т. 18, № 1-2. – С. 13 –15.

6 баллов – максимально выраженный симптом. Верхней границей контролируемой астмы считали средний балл – 0,75, а средний балл от 0,75 до 1,5 – частично контролируемая астма, неконтролируемая астма – средний балл выше 1,5.

Все больные были разделены на две группы: 1 группа - больные с средне тяжелой бронхиальной астмой 68 чел. (62,4%), согласно опроснику ACQ средний балл - 3,00±0,14, ОФВ1 - 67,01±2,10%; 2 группа - больные с тяжелой бронхиальной астмой 41 чел. (37,6%), согласно опроснику ACQ средний балл - 4,06±0,12, ОФВ1-34,45±1,05%.

Секреторный антиэндотоксиновый иммуноглобулин А (анти-ЛПС-sIgA) и общий иммуноглобулин А в индуцированной мокроте определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа

(ТИФА) по протоколам, разработанным в лаборатории клинической иммунологии ЦНИЛ Крымского государственного медицинского университета им. С.И. Георгиевского. Все полученные результаты подвергнуты статистической обработке для непараметрических критериев с использованием программы «MedStat» (серийный №MS0011) ДНПП ТОВ «Альфа», г.Донецк.

Результаты и их обсуждения

Состояние мукозального иммунитета у больных БА оценивалось по уровню анти-ЭТ-sIgA и общего IgA в индуцированной мокроте данной категории больных.

Уровень общего секреторного IgA и анти-ЭТ-sIgA у больных БА представлен в таблице.

Таблица
Уровень общего секреторного IgA и анти-ЭТ-sIgA в индуцированной мокроте у больных БА

Группа	К-во исследований	среднее значение, Ме (I –III квартиль) мг/л Статистический показатель (p)	Среднее значение, Ме (I –III квартиль) ед.опт.пл
			Статистический показатель (p)
Норма	23	31,10 (15,00-41,80)	0,037 (0,030-0,053)
1 группа	68	66,75 (36,40-106,50) P<0,01	0,193 (0,141-0,297) P<0,01
2 группа	41	66,60 (37,75-109,55) P<0,01 P ₁ >0,05	0,195 (0,152-0,274) P<0,01 P ₁ >0,05

Примечание: P – достоверность различий с нормой

P₁ - достоверность различий между группами 1 и 2

Из представленной таблицы следует, что уровень общего sIgA достоверно повышался в исследуемых группах по сравнению с нормой (p<0,01), межгрупповых различий по данному показателю не определялось. С другой стороны, наблюдалось повышение уровня анти-ЭТ-sIgA в 1 и 2 группах больных БА, на уровне значимости p<0,01, по сравнению с нормой. При исследовании между 1 и 2 группами, данного показателя, различий не было выявлено.

Таким образом, при среднетяжелой и тяжелой бронхиальной астме показатели, характеризующие мукозальный гуморальный общий и антиэндотоксиновый иммунитет повышены, в то время как по данным литературы при легком течении БА на фоне sIgA не выходящего за пределы диапазона нормы, было обнаружено снижение анти-ЭТ-sIgA [3]. Высокий уровень sIgA рассматривается как отражение интенсивного антигенного стимула на слизистую оболочку и высокого уровня гуморального антительного ответа. Так повышенный уровень общего sIgA был выявлен у больных неспецифическим язвенным колитом (НЯК), а у больных с болезнью Крона (БК) – повышенный уровень анти-ЭТ-sIgA [6]. Является ли компенсаторная консолидация мукозального барьера физиологически адекватной? Судя по тому, что и при НЯК и при БК регистрируется повышение транслокации ЭТ во внутренние среды организма, данная консолидация

мукозального барьера функционально не способна предотвратить эндотоксиновую агрессию. Несостоятельность мукозального антиэндотоксинального иммунитета может быть связана как с самой молекулой анти-ЭТ-sIgA (низкая аффинность к ЭТ), так и с нарушением слизистого барьера на уровне межэпителиальных соединений, в результате чего

ENGLISH VERSION: IMBALANCE OF MUCOSAL IMMUNITY AT MODERATE AND SEVERE BRONCHIAL ASTHMA*

Beloglazov V.A., Popenko Yu.O.

State Institution "Crimean State Medical University Named After S.I. Georgievsky"

It is known that mucosal immunity is the first line of defense against foreign antigens. The objective of our study was to determine the state of mucosal immunity in patients with moderate and severe persistent bronchial asthma during background therapy. We examined 109 patients (63/57.8% of females; 46/42.2% of males) receiving outpatient treatment. All patients were divided into two groups: Group 1 – patients with moderate bronchial asthma (68 subjects with average score of 3,0±0,14 according to ACQ, FEV1-67,01±2,10%; Group 2 – patients with severe bronchial asthma (41 subject with average score of 4,06±0,12 according to ACQ, FEV1- 34,45±1,50%). The levels of total sIgA and anti-ET-sIgA were significantly increased in the study groups as compared to the normal value (p<0.01); no differences in this parameter among the groups were detected. Revealed changes of the mucosal humoral immunity reflect expressed antigenic stimulation of the mucosal immune system at the background of functional incompetence of the epithelial barrier which implements the phenomenon of endotoxin aggression

Key words: immunity, mucosal anti-endotoxin, bronchial asthma, secretory Ig A.

Mucosal immunity is a part of immune system represented by a mucous membrane which is aimed at the contact with antigens from the environment [1]. This kind of immunity consists of lymphoid tissue which is associated with mucosa (MALT or mucosa-associated lymphoid tissue) and may be divided into several components: gut-associated lymphoid tissue (GALT), bronchus-associated lymphoid tissue (BALT), nasal-associated lymphoid tissue (NALT), lymphoid tissue of mammary and salivary glands [1, 2].

Antigenic material is delivered to the interfollicular T cell-dependent zone of GALT. Here, Th-cells secrete the whole package of cytokines: effects of transforming growth factor- β (TGF- β), which switches B-cells to produce IgA, for example instead of IgG or IgE, are the most studied. IgA-committed (i.e. obliged to produce exactly IgA) lymphocytes move away from the follicle into the mesenteric lymph nodes where they transform into plasmablasts [5].

It is known that sIgA provides local protection of integrity and functioning of the mucosa by preventing attachment of microorganisms to these tissues and their penetration into the epithelial lining. It is also believed that sIgA can bind pathogenic microorganisms directly into the epithelial cells and also can bind antigens in the lamina propria of mucosa, as well as move them through the epithelial layer to the mucosal surface, thus releasing the organism from locally formed immune complexes and reducing the likelihood of their entry into systemic circulation [3,4].

Materials and methods of the study

Objective of our study was to determine the state of mucosal immunity in patients with moderate and severe persistent bronchial asthma during background therapy.

In order to achieve the objective, assigned task was to study the state of local, general (secretory Ig A) and anti-endotoxin (secretory anti-ET IgA) immunity in this category of patients. We examined 109 patients (63/57.8% of females; 46/42.2% of males) receiving outpatient treatment of the underlying disease in accordance with the order of the

Ministry of Health of Ukraine dated March 19, 2007 No. 128, who received salmeterol at a dose of 50-100 μ g/day and fluticasone propionate at a dose of 500-1000 μ g/day. The level of control over the patients with bronchial asthma was analyzed using Asthma Control Questionnaire (ACQ) designed by Elizabeth Juniper (1999). ACQ consists of 7 questions filled out by the patient: 5 of them relate to the severity of the most important symptoms (nocturnal/awakening symptoms, daytime asthma symptoms, limitation of daily activity, shortness of breath, wheezing), the use of emergency drugs and FEV1. Severity of symptoms was evaluated using a visual analogue scale with score ranging from 0 points (no symptom) to 6 points (maximally expressed symptom). The average score of 0.75 was considered the upper limit of controlled asthma; the average score ranging from 0.75 to 1.5 was considered as partially controlled and 1.5 or higher average score – as uncontrolled asthma.

All patients were divided into two groups: Group 1 – patients with moderate bronchial asthma (68 subjects (62,4%), with average score of 3,00±0,14 according to ACQ, FEV1-67,01±2,10%; Group 2 – patients with severe bronchial asthma (41 subject 37,6%), with average score of 4,06±0,12 according to ACQ, FEV1-34,45±1,50%.

Secretory anti-endotoxin immunoglobulin A (anti-LPS-sIgA) and total immunoglobulin A in induced sputum were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) according to the protocols developed in the Clinical Immunology Lab of the Central Research Laboratory of Crimean State Medical University named after S.I. Georgievsky. All obtained results were statistically processed using nonparametric criteria via the program «MedStat» (serial number MS0011) DNPP TOV "Alpha", Donetsk.

Results and their discussion

The state of mucosal immunity in BA patients was assessed by the level of anti-ET-sIgA and total IgA in the induced sputum of this category of patients.

The level of total secretory IgA and anti-ET-sIgA in BA patients is presented in the table.

Table
The level of total secretory IgA and anti-ET-sIgA in the induced sputum of BA patients<0>

Group	Number of studies	Mean value, Me (quartile I-III)	Mean value, Me (quartile I-III)
		mg/L	optical density unit
		Statistic parameter (p)	Statistic parameter (p)

* To cite this English version: Beloglazov V.A., Popenko Yu.O. Imbalance of mucosal immunity at moderate and severe bronchial asthma / Problemy ekologii ta medytsyny. - 2014. - Vol 18, № 1-2. - P. 15 -16.

Normal value	23	31.10 (15.00-41.8)	0.037 (0.030-0.053)
Group 1<0}	68	66.75 (36.4-106.5) <0.01	0.193 (0.141-0.297) P<0.01
Group 2	41	66.60 (37.75-109.55) P<0.01 P1 >0.05	0.195 (0.152-0.274) P<0.01 P1 >0.05

Note: P – significance of differences from the normal value
P1 - significance of differences between Groups 1 and 2 <0}

The table above demonstrates that the level of total sIgA was significantly increased in the study groups as compared to the normal value ($p<0.01$); no differences in this parameter among the groups were detected. On the other hand, the level of anti-ET-sIgA in Groups 1 and 2 of BA patients was elevated ($p<0.01$) as compared to the normal value. No differences in this parameter were revealed during the study between Groups 1 and 2.<0}

Thus, parameters characterizing mucosal humoral general and anti-endotoxin immunity were increased in moderate and severe bronchial asthma; meanwhile, the decrease of anti-ET-sIgA was detected according to the literature data in mild BA with sIgA not exceeding the normal range [6]. High level of sIgA is considered as a reflection of intense antigenic stimulus of mucosa and a high level of humoral antibody response. Thus, elevated level of total sIgA was detected in patients with non-specific ulcerative colitis (NUC), and elevated level of anti-ET-sIgA was observed in patients with Crohn's disease (CD) [7]. Is compensatory consolidation of mucosal barrier physiologically adequate? Judging by the fact that both in NUC and CD elevated translocation of ET into the internal environment of the body are registered, this consolidation of mucosal barrier functionally cannot prevent endotoxin aggression. Incompetence of mucosal anti-endotoxin immunity may be associated both with the molecule of anti-ET-sIgA itself (low affinity to ET) and with violation of the mucosal barrier at the level of interepithelial junctions, resulting in dramatically increased intestinal permeability to various xenobiotics, including ET. Moreover, anti-endotoxin aggression in severe asthma may be associated with increased shunt blood flow (bypassing the liver through the portocaval anastomoses) due to activation of the sympathetic nervous system and the use of significant doses of β_2 -sympathomimetic drugs [8]. Anyway, both in severe BA, in NUC and CD, activation of mucosal humoral immunity on mucous membranes requires prescription of a powerful anti-inflammatory and suppressive (from a perspective of influence on the immune response) therapy modulating effects of

proinflammatory mediators and factors, among which ET plays a potentially important role.

1. In groups of patients with severe and moderate persistent BA the level of secretory anti-ET-IgA in the induced sputum is 5.3 times ($p<0.01$) higher than the value of this parameter in the group of healthy donors. No intergroup differences of this parameter were revealed.<0}

2. In BA patients from clinical groups 1 and 2 the level of secretory IgA is 2.2 times ($p<0.01$) higher than the value of this parameter in the group of healthy donors.

3. Revealed changes of the mucosal humoral immunity reflect expressed antigenic stimulation of the mucosal immune system at the background of functional incompetence of the epithelial barrier which implements the phenomenon of endotoxin aggression.

References:

1. Mucosal immune system: A brief review/ N. Aguilera Montilla, M. Pérez Blas, M. López Santalla, J.M. Martín Villa// *Inmunología*.-2004.-Vol.23.- P. 207-216.
2. Mucosal immune system// M.Ya. Pluzhnikov, M.Ya. Levin, N.V. Panova, P.G. Nazarov, G.V. Lavrenova// *Vrachebnie Vedomosti*.-2005.-No.4(34).-pp. 41-43.
3. *Mucosal Immunology*.- A.Khoruts.- Minnesota, 2008.- 32 p.
4. Michel O. Role of lipopolysaccharide (LPS) in asthma and other pulmonary conditions // *J. Endotoxin Res.* – 2003.-Vol. 9.-P. 293-300.
5. Bizunkov A.V. Whether it is possible to control mucosal immunity in the airways//*Clinical immunology. Allergy. Infectology*.-2013.-No.1-pp. 17-26.
6. Znamenskaya L.K. Anti-endotoxin immunity in patients with bronchial asthma during specific immune therapy: Thesis of Candidate of Medical Sciences / Crimean State Medical University Named After S.I. Georgievsky.-Simferopol 2011.- 15 p.
7. Carol G. Mucosal and systemic antibody responses to the lipopolysaccharide of *Escherichia coli* O157 in health and disease / G.Carol, Kristen McCallum, Lan R. Poxton// *Med. Microbiol.* – 2001.- Vol.50.- P. 345-354.
8. Intestinal endotoxin as multifunctional factor of adaptation and pathogenesis of general adaptation syndrome./ I.A. Anikhovskaya, O.N. Oparina, M.M. Yakovleva, M.Yu. Yakovlev// *Human Physiology*.-2006.-V.32 No.2- pp. 87-91.

Матеріал надійшов до редакції 05.03.2014