

СТАН КЛІТИННОГО І ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЗАХИСТУ В ДІТЕЙ З АТОПІЧНИМ ДЕРМАТИТОМ

СТАН КЛІТИННОГО І ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЗАХИСТУ В ДІТЕЙ З АТОПІЧНИМ ДЕРМАТИТОМ – В статті представлено результати дослідження клітинного і гуморального імунітету, перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи захисту в 154 дітей віком від 1-го місяця до 12 років з atopічним дерматитом. Встановлено, що у дітей, хворих на atopічний дерматит, тривалий алергичний процес викликає значні порушення клітинної та гуморальної ланок імунітету, виражену активацію вільнорадикального окиснення ліпідів та відносний дефіцит антиоксидантів, а також зростання рівнів циркулюючих імунних комплексів та криоглобулінів.

СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЗАЩИТЫ У ДЕТЕЙ С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ – В статье представлены результаты исследования клеточного и гуморального иммунитета, перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы защиты у 154 детей в возрасте от 1-го месяца до 12 лет с atopіческим дерматитом. Установлено, что у детей, больных atopіческим дерматитом, длительный аллергический процесс вызывает значительные нарушения клеточного и гуморального звеньев иммунитета, выраженную активацию свободнорадикального окисления липидов и относительный дефицит антиоксидантов, а также рост уровней циркулирующих иммунных комплексов и криоглобулинов.

CELLULAR AND HUMORAL IMMUNITY STATE AND ANTIOXIDANT SYSTEM OF DEFENCE IN CHILDREN WITH ATOPIC DERMATITIS - The article presented the results of the study of cellular and humoral immunity, lipid peroxidation and antioxidant system of defence in 154 children aged 1 month - 12 years with atopіc dermatitis. It was found that long allergic process in children with atopіc dermatitis induce significant violations of cellular and humoral immunity, express of activation of free radical-induced lipid oxidation, relative deficiency of antioxidants, increase levels of circulating immune complexes and cryoglobulin.

Ключові слова: atopічний дерматит, діти, клітинний і гуморальний імунітет, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантна система захисту.

Ключевые слова: atopіческий дерматит, дети, клеточный и гуморальный иммунитет, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система защиты.

Key words: atopіc dermatitis, children, cellular and humoral immunity, lipid peroxidation, antioxidant defence system.

ВСТУП Протягом останнього десятиріччя кількість хворих на алергію у світі подвоїлася, в Україні вона виявляється майже в кожній четвертій дитини [2, 24, 29]. Алергичні захворювання у дітей займають перше місце в структурі всіх неінфекційних захворювань, а в структурі алергичних захворювань у дітей atopічний дерматит (АД) виявляється у 50–70 % всіх хворих [1, 6]. Результати епідеміологічних досліджень свідчать про високу поширеність АД в дітей економічно розвинутих країн, де це захворювання діагностується в 10–20 % від всього дитячого населення. Захворювання відносять до генетично детермінованого – з аномальною спрямованістю імунної відповіді на алерге-

ни навколишнього середовища та ендогенні алергени, у тому числі аутоалергени з полігенними формами успадкування. Провідними чинниками ризику розвитку АД, на думку науковців, є ендогенні (спадковість, atopія, гіперреактивність шкіри), а екзогенні сприяють маніфестації хвороби [13, 19, 28]. У хворих на АД виявлено генетично зумовлену дисфункцію імунної системи, переважно Т-хелперів і антигенпрезентуючих клітин. Це проявляється гіперчутливістю шкіри до ряду антигенних стимулів, зменшенням резистентності шкірного бар'єра до патогенної та умовно-патогенної флори [21, 25]. Основною патогенетичною ланкою розвитку atopії вважаються ІgЕ-залежні реакції, які виникають на тлі генетично запрограмованої готовності організму до гіперпродукції ІgЕ і звільнення біологічно активних речовин у відповідь на контакт із розповсюдженими екзоалергенами, а також особливостей функціонування рецепторного апарату клітин і атипичної шкірної реактивності [4, 5, 8, 22]. Дослідження останніх років встановили, що шкіра є не тільки органом-мішенню, але і бере активну участь у розвитку atopії. Доведено ключову роль лімфоїдної тканини, асоційованої зі шкірою, в ініціації імунної відповіді при АД [14, 27, 31].

Особливості перебігу та результат будь-якого запального процесу, в тому числі й АД, пов'язані зі станом цитоплазматичних мембран. Одним з факторів, що порушує мембранні структури різних тканин та органів, є інтенсифікація процесів ПОЛ. Вільнорадикальне окиснення ненасичених жирних кислот має пряме відношення як до нормальної життєдіяльності клітин, так і до виникнення, перебігу, наслідків багатьох патологічних станів [10, 11].

Тому метою нашого дослідження було вивчити стан клітинного і гуморального імунітету, перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи захисту в дітей з atopічним дерматитом.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Обстежено 154 дитини, хворі на atopічний дерматит: 51 дитина (33 %) – у віці від 1 місяця до 3-х років і 103 пацієнти (67 %) – у віці від 4 до 12 років, з них 83 (53 %) – хлопчиків, 71 (47 %) – дівчаток. Ступінь тяжкості перебігу захворювання оцінювали за шкалою SCORAD (Scoring of atopіc dermatitis) [20, 30]. Діагноз встановлювали відповідно до наказу МОЗ України № 767 від 27.12.2005, додаток № 5 “Протокол діагностики та лікування дітей з atopічним дерматитом”.

Дослідження клітинного імунітету здійснювали методом проточної цитофлюориметрії. Метод ґрунтується на взаємодії моноклональних антитіл (МКАт), мічених флюоресцентною міткою, з поверхневими антигенами лімфоцитів [18].

Вміст В-лімфоцитів визначали за допомогою МКАт CD₂₂ та CD₇₂ виробництва ОНЦ Російської АМН.

Рівні імуноглобулінів класів А, М, G в сироватці крові визначали за методом радіальної імунодифузії за G. Мансіні та співавт. [26]. Циркулюючі імунні комплекси виявляли методом преципітації в 3,75 % розчині поліетиленгліколю з наступним фотометричним визначенням щільності преципітату за методикою Ю. А. Гриневич і А. Н. Алферова [6, 27]. Для визначення рівня IgE застосовували метод з використанням анти-IgE сироватки в реакції споживання комплексу за загальноприйнятою методикою за В. В. Желтвая та В. М. Чекотило [12].

Визначення рівнів кріоглобулінів у сироватці крові проводилось при температурі 4° С та 37° С для з'ясування особливостей їх змін у дітей з різними формами atopічного дерматиту [3, 23].

Про стан переокисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та системи антиоксидантного захисту судили за вмістом малонового діальдегіду (МДА) [16], сульфгідрильних груп (Sh-груп) [17], супероксиддисмутази (СОД) в еритроцитах [17] та активності каталази (КТ) [9, 10]. З метою всебічного аналізу закономірностей перебігу АД визначали рівень церулоплазміну в крові за Равінім [15].

Для контролю орієнтувались на параметри клітинної та гуморальної ланок імунної системи, переокисного окиснення ліпідів та ендотоксикозу в групі 30 здорових дітей віком від 0 до 12 років, які обстежувались в лікувально-діагностичному центрі та міжкафедральній науково-клінічній лабораторії ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського".

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Результати дослідження особливостей імунної системи у хворих на atopічний дерматит показали значні зміни з боку клітинного і гуморального імунітету. Так, встановлено зменшення в обох вікових групах певних підтипів Т-лімфоцитів. Кількість в крові CD₃ Т-лімфоцитів як у відносних, так і в абсолютних цифрах у хворих дітей віком від 1 місяця до 3 років мала тенденцію до зменшення відносно відповідної у здорових дітей (p≥0,05), а у віці від 4 до 12 років була в 1,62 раза меншою (p<0,001). Кількість CD₄ Т-лімфоцитів у хворих та здорових дітей достовірно не відрізнялась (p>0,05). Кількість цитотоксичних супре-

сорних CD₈ Т-лімфоцитів у дітей обох вікових груп була достовірно меншою від такої у здорових дітей, відповідно в 2,30 (p<0,001) та 2,15 раза (p<0,001). При цьому співвідношення CD₄/CD₈ збільшувалось у дітей першої вікової групи в 1,92 раза (p<0,001), а в пацієнтів другої вікової групи – в 1,88 раза (p<0,001).

У дітей, хворих на АД, виявлено достовірне зменшення пре-В-лімфоцитів CD₂₂: в групі від 1 місяця до 3 років – в 1,63 раза (p<0,001), в групі дітей від 4 до 12 років – в 1,68 раза (p<0,001). Кількість CD₇₂-клітин у хворих на АД, порівняно з такою у здорових дітей, достовірно зростала в обох вікових групах, відповідно в 1,35 (p<0,01) та 1,59 (p<0,001) раза.

Відомо, що реакінові IgE-залежні механізми визнані домінуючими у розвитку atopічного дерматиту. Результати проведених досліджень підтвердили даний висновок. Так, рівень загального IgE в сироватці крові хворих дітей раннього віку був вищим від цих показників у здорових дітей в 12,3 раза (p<0,001), а в дітей дошкільного та молодшого шкільного віку – в 7,0 раза (p<0,001) від показників здорових дітей цього ж віку. При поглибленому вивченні змін рівнів IgE в сироватці крові було встановлено пряму кореляційну залежність між зростанням цих показників і тяжкістю перебігу захворювання (r=0,69).

Спостерігалися суттєві зміни з боку В-лімфоцитарної ланки імунітету (табл. 1).

Встановлено достовірне зростання (p<0,001) рівнів імуноглобулінів всіх типів у сироватці крові хворих дітей. Так, рівень імуноглобуліну G збільшувался в обох вікових групах, відповідно в 1,53 (p<0,001) та 1,45 (p<0,001) раза, імуноглобуліну А – в 2,10 (p<0,001) та 1,67 (p<0,001) раза, імуноглобуліну М – в 3,8 (p<0,001) та 2,4 (p<0,001) раза.

Кількість циркулюючих в крові імунних комплексів (ІК) у дітей обох вікових груп зростала, відповідно в 4,3 (p<0,001) та 4,7 (p<0,001) раза.

Визначення рівня кріоглобулінів дозволяє встановити активність запального процесу. Вони вважаються маркерами запалення та дестабілізації білкового обміну, а також діагностичним критерієм формування atopії [3, 7]. При визначенні вмісту кріоглобулінів у крові дітей враховували різницю між вмістом КГ при температурах 4°С (КГ1) та 37°С (КГ2). Результати об-

Таблиця 1. Показники клітинного та гуморального імунітету в дітей, хворих на АД

Показник	Контингент			
	здорові діти, n		діти, хворі на АД	
	1 місяць–3 роки (n = 10)	4–12 років (n=20)	1 місяць–3 роки (n=51)	4–12 років (n=103)
CD ₃ , %	70,1±5,6	67,3±4,2	55,6±2,7	42,3±2,8*
CD ₄ , %	42,2±2,4	43,1±2,5	49,8±2,1	46,6±1,9
CD ₈ , %	21,3±1,2	19,8±1,0	9,2±0,6*	9,3±0,4*
CD ₄ /CD ₈	1,8±0,1	1,8±0,1	3,5±0,2*	3,4±0,2*
CD ₂₂ , %	15,2±0,7	16,3±0,9	9,3±0,5*	9,7±0,4*
CD ₇₂ , %	9,6±0,5	9,1±0,4	12,3±0,4*	14,5±0,5*
Ig G, г/л	8,3±0,3	10,2±0,5	12,7±0,4*	14,8±0,4*
Ig A, г/л	0,9±0,1	1,5±0,1	1,9±0,1*	2,5±0,1*
Ig M, г/л	0,9±0,1	1,2±0,1	3,4±0,1*	2,9±0,1*
Ig E, МО/л	23,3±1,1	54,6±2,3	284,6±6,7*	379,1±9,9*
ІК, од. опт. щільн.	55,6±2,5	61,4±3,3	236,4±7,9*	289,7±7,9*
КГ, од. опт. щільн.	0,51±0,05	10,42±1,22	160,92±7,76*	136,74±7,4*

Примітка. * – достовірність різниці відносно відповідного показника у здорових дітей.

стеження дітей з АД встановили, що середні значення даного показника у дітей раннього віку зросли в 313 ($p < 0,001$) разів, у дітей дошкільного та молодшого шкільного віку – в 13 ($p < 0,001$) разів. Поглиблений аналіз отриманих результатів дозволив встановити, що найвищі показники реальних рівнів криоглобулінів у тяжких клінічних випадках становили ($146,54 \pm 38,45$) ум. од., при середньотяжкому перебігу – ($82,34 \pm 7,53$) ум. од. Встановлена закономірність дозволяє дане дослідження вважати високоспецифічним тестом.

Дослідження вільнорадикального окиснення ліпідів у хворих дітей показало значне підвищення показників цього процесу порівняно із здоровими дітьми

(табл. 2). Встановлено, що зміни показників, які характеризують ПОЛ та систему АОЗ, не суттєво відрізнялися між собою у обох вікових групах, тому під час їх оцінки поділ хворих дітей на вікові групи не проводився.

Виявлено зростання рівнів МДА, як кінцевого продукту перекисного окиснення ліпідів, у дітей з АД в 3,36 раза ($p < 0,001$). Активність СОД у хворих дітей зменшувалась в 1,65 раза ($p < 0,001$), а церулоплазмину зростала в 2,73 раза ($p < 0,001$). Активність каталази у хворих дітей зростала в 3,5 раза ($p < 0,001$). Співвідношення МДА/СОД у дітей, хворих на АД, зростало в 5,75 раза ($p < 0,001$).

Таблиця 2. Показники перекисного окиснення ліпідів та системи антиоксидантного захисту в дітей з atopічним дерматитом

Досліджуваний показник у сироватці крові	Здорові діти (n=30)	Діти, хворі на АД (n=132)
МДА, мкмоль/л	2,80±0,09	9,34±0,51*
СОД, ум. од./1 мл ер.	68,02±1,33	41,04±1,64*
ЦП, мг/л	198,60±2,31	540,1±12,6*
SH-групи, 10 ⁻⁹ моль/л	60,51±1,13	75,2±3,1
Каталаза, %	17,48±2,87	61,2±4,1*
МДА/СОД	0,04±0,01	0,23±0,01*
ЦП/СОД	2,9±0,2	13,2±0,5*

Примітка. * – достовірність різниці відносно відповідного показника у здорових дітей.

Дослідження взаємозв'язків між відносною кількістю Т-лімфоцитів та вмістом МДА в сироватці крові хворих дітей виявило певні особливості. Так, значне зростання рівнів МДА в сироватці крові хворих дітей супроводжувалося суттєвими порушеннями обох ланок імунологічного статусу у вигляді зменшення CD₃⁺, CD₈⁺, CD₂₂⁺-клітин, збільшення кількості CD₇₂⁺-клітин. Активація перекисного окиснення ліпідів поєднувалася також із зростанням рівнів імуноглобулінів G, A, M, E, в 4,5 раза зростав вміст циркулюючих імунних комплексів.

ВИСНОВКИ 1. У дітей, хворих на АД, тривалий алергічний процес, який супроводжується запальними змінами, частими загостреннями, викликає значні порушення клітинної та гуморальної ланок імунітету, зростанням рівнів циркулюючих імунних комплексів та криоглобулінів.

2. Зміни з боку клітинного і гуморального імунітету супроводжуються значною активацією вільнорадикального окиснення ліпідів та відносним дефіцитом антиоксидантів, що свідчить про пригнічення внутрішньоклітинної ланки антиоксидантної системи захисту.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Аллергология и иммунология / под ред. А. А. Баранова и Р. М. Хаитова. – Москва, 2008. – С. 10–74.
2. Беш Л. В. Атопічний дерматит // Л. В. Беш // Здоровье ребенка. – 2012. – № 2 (37). – С. 8–15.
3. Вермель А. Е. Криоглобулины и криоглобулинемия / А. Е. Вермель // Клиническая медицина. – 2000. – № 12. – С. 14–19.
4. Іщейкін К. Е. Вікові й статеві особливості вмісту Ig E, експресії CD-23 та алергізації організму дітей з atopічним дерматитом / К. Е. Іщейкін // Вісник проблем біології і медицини. – 2002. – Вип.7/8. – С. 13–16.
5. Караулов А. В. Клиническая иммунология и алерго-

гия / А. В. Караулов. – М. : Медицинское информационное агентство. – 2002. – 651 с.

6. Клинико-иммунологические подтипы atopического дерматита / Д. В. Курамшина, С. В. Сенников, Н. М. Старостина [и др.] // Аллергология и иммунология. – 2003. – Т. 4, № 1. – С. 33–36.

7. Клиническое значение смешанной криоглобулинемии / Л. В. Козловская, Н. Б. Гордовская, Е. Ю. Малышко [и др.] // Российский медицинский журнал. – 2003. – № 4. – С. 11–15.

8. Анализ алергоспецифических Ig E у больных atopическим дерматитом в Москве / Е. В. Матушевская, П. Г. Богуш, И. С. Попова, Е. Б. Радченко // Вестник дерматологии и венерологии. – 2003. – № 2. – С. 4–8.

9. Метод определения активности каталазы / М. А. Корюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

10. Минаева Н. В. Атопічний дерматит у дітей: діагностика, лечение, профилактика / Н. В. Минаева, И. П. Корюкина. – Пермь, 2007. – 32 с.

11. Олійник Я. В. Порушення перекисного окиснення ліпідів та його корекція у дітей, хворих на atopічний дерматит / Я. В. Олійник // Вісник наукових досліджень. – 2007. – № 3. – С. 39–42.

12. Орехович В. Н. Современные методы в биохимии / В. Н. Орехович. – М., 1977. – 189 с.

13. Педиатрия. Клинические рекомендации / под ред. А. А. Баранова. – М. : "ГОЭТАР-Медиа", 2007. – С. 17–35.

14. Структурная организация мембран лимфоцитов у детей с atopическим дерматитом по данным флуоресцентного зондирования / В. И. Прохоренков, Е. И. Прахин, С. Ю. Терещенков [и др.] // Вестник дерматологии и венерологии. – 2002. – № 2. – С. 30–32.

15. Санина О. Л. Биологическая роль церулоплазмину и возможности его клинического применения / О. Л. Санина, Н. К. Бердинских // Вопр. мед. химии. – 1986. – № 5. – С. 7–17.

16. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Сталь-

- ная, Т. Г. Герашвили // Современные методы в биохимии. – М. : Медицина, 1987. – С. 66–68.
17. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, И. Сеней // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
18. Age-related standards for total lymphocyte, CD4+ and CD8+ T cell counts in children born in Europe / M. Bunders, M. Cortina-Borja, M. L Newell, European Collaborative Study // *Pediatr. Infect. Dis. J.* – 2005. – Vol. 24, № 7. – P. 595–600.
19. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in Childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys / M. J. Asher, S. Montefort, S. K. Weiland [et al.] // *Lancet.* – 2006. – Vol. 368. – P. 733–743.
20. Consensus Conference on Pediatric Atopic Dermatitis *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2003. – Vol. 49. – P. 1088–1095.
21. Consensus Report EAACI/AAAAI/PRACTALL Diagnosis and treatment of atopic dermatitis in children and adults. *J. Of Allergy and Clin. Immunol. And Allergy.* – 2006. – Vol. (61). – P. 969–987.
22. Cudovska B. Atopy patch in the diagnosis of food allergy in children with atopic eczema dermatitis syndrome / B. Cudovska, M. Kaczmarek // *Rocz. Akad. Med. Bialyst.* – 2005. – N 50. – P. 261–267.
23. International consensus Conference on Atopic Dermatitis II (ICCAD II): clinical update and current treatment strategies. / C. Ellis, T. Luger, D. Abeck [et al.] // *Br. J. Dermatol.* – 2003 May. – Suppl. 148. – Vol. 63. – P. 3–10.
24. Halken S. Prevention of allergic diseases in childhood: clinical and epidemiological aspects of primary and secondary allergy prevention / S. Halken // *Pediatric Allergy and Immunology.* – 2004. – Vol.15 (Suppl.16). – P. 4–5.
25. Upregulation of B₇₋₂, but not B₇₋₁, on B cells from patients with allergic asthma / M. Hofer, O. Jirapongsananuruk, A. Trumble, D. Leung // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 1998. – Vol. 101. – P. 96–102.
26. Impaired responses of peripheral blood mononuclear cells to staphylococcal superantigen in patients with severe atopic dermatitis: a role of T cell apoptosis / T. Yoshino, H. Asada, S. Sano, T. Nakamura // *J. Invest. Dermatol.* – 2000. – Vol. 2. – P. 281–288.
27. Novak N. Immune mechanisms leading to atopic dermatitis / N. Novak, T. Bieber, D.J.M. Leung // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2003. – Vol.112, № 6. – P. 128–139.
28. Osterballe M. The prevalence of food hypersensitivity in an unselected population of children and adults / M. Osterballe, T. K. Hansen, C. G. Mortz [et al.] // *Pediatric Allergy and Immunology.* – 2005. – Vol.16. – P. 567–573.
29. Prescott S. The Australasian Society of Clinical Immunology and Allergy position statement: Summary of allergy prevention in children / S. Prescott, M. Tang // *Medical Journal of Australia.* – 2005. – Vol.182. – P. 464–467.
30. Severity scoring of atopic dermatitis: SCORAD Index. Consensus report of the European Task Force on atopic dermatitis. – *Dermatology.* – 1993. – Vol. 186. – P. 23–31.
31. Spergel J. M. Atopic dermatitis and the atopic march / J. M. Spergel, A. S. S. Paller // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2003. – Vol.112, N 6 (suppl). – P. 118–127.

Отримано 06.09.13