

О.С. Тютинина¹, С.В. Смирнова¹, М.В. Смольникова¹, Н.А. Ильенкова²

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ КОНТРОЛЯ НАД ЗАБОЛЕВАНИЕМ У ДЕТЕЙ

¹ НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН (Красноярск)

² Государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (Красноярск)

Формирование определенного фенотипа атопической бронхиальной астмы связано с взаимодействием факторов внешней среды и особенностями эндогенной конституции. Проведен анализ особенностей иммунологического статуса, цитокиновой регуляции межклеточных взаимодействий в совокупности с факторами внешней среды. Выявлены предикторы неконтролируемого течения атопической бронхиальной астмы у детей.

Ключевые слова: дети, бронхиальная астма, цитокиновая регуляция, иммунитет

CLINICAL IMMUNOLOGICAL PECULIARITIES OF ATOPIC BRONCHIAL ASTHMA DEPENDING FROM THE LEVEL OF CONTROL OVER THE DISEASE IN CHILDREN

O.S. Tyutina¹, S.V. Smirnova¹, M.V. Smolnikova¹, N.A. Ilyenkova²

¹ Research Institute of Medical Problems of the North SB RAMS, Krasnoyarsk

² Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk

The formation of definite phenotype in atopic bronchial asthma is associated with interaction between environment factors and peculiarities of endogenous constitution. We have carried out the analysis of peculiarities of immunological status, cytokine regulation of cellular interactions collectively with environment factors. We have revealed the predictors of non-controllable course of atopic bronchial asthma in children.

Key words: children, bronchial asthma, cytokine regulation, immunity

Бронхиальная астма (БА) является тяжелым хроническим заболеванием дыхательных путей и представляет собой серьезную проблему для здравоохранения во всех странах мира. БА поражает людей всех возрастов, может носить тяжелый характер и подчас приводит к летальному исходу [3]. Для БА любой степени тяжести целью терапии является достижение контроля над болезнью. Термин контроль над заболеванием подразумевает не только исчезновение клинических проявлений, но и уменьшение уровней лабораторных маркеров воспаления и патофизиологических признаков [1, 2]. Факторы, влияющие на уровень контроля над течением атопической бронхиальной астмы (АБА) можно условно подразделить на внутренние, прежде всего особенности патогенетических механизмов, происходящих на клеточном и молекулярно-генетическом уровнях и внешние — контакты с причинно-значимыми аллергенами, объем терапии, стрессы и др. [4]. Выявление предикторов неконтролируемого течения бронхиальной астмы крайне важно для своевременного установления должного диспансерного наблюдения над больным, выбора объема терапии, предотвращения осложнений.

Цель исследования: изучить клинико-anamnestические признаки, особенности показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета, системный цитокиновый профиль у детей с атопической бронхиальной астмой в зависимости от уровня контроля над заболеванием. Выявить клинико-anamnestические, лабораторные предикторы неконтролируемого течения болезни.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами изучения являлись дети, с ранее установленным диагнозом: тяжелая/среднетяжелая атопическая бронхиальная астма с различным уровнем контроля над заболеванием (n = 100). Контрольную группу составили практически здоровые дети (n = 20) сопоставимые по полу и возрасту (табл. 1). Диагноз, степень тяжести, уровень контроля над заболеванием устанавливались в соответствии с рекомендациями, изложенными в докладе рабочей группы GINA (Global Initiative for Asthma, updated 2007) [3]. Перед включением больного ребенка в исследование проводилось начальное общеклиническое обследование, включающее оценку выраженности клинических симптомов заболевания за последние 3 месяца. Для комплексного изучения уровня контроля над заболеванием дети вместе с родителями отвечали на вопросы теста по контролю над астмой (АСТ). Результат теста в группе контролируемого течения составил 22,45 ± 2,6 балла, в группе неконтролируемого течения заболевания 14,81 ± 3,05 балла (p < 0,001).

Функциональные методы исследования включали в себя определение показателей функции внешнего дыхания — спирометрия, пикфлоуметрический тест на обратимость бронхиальной обструкции. Лабораторное исследование состояло из специфического аллергологического обследования (сбор аллергологического анамнеза, кожные тесты, определение уровня общего и специфического IgE), иммунологических методов исследования (оценка показателей клеточного и гуморального

Таблица 1

Половозрастной состав исследуемых групп

Наименование группы	Кол-во (n)	Пол		Возраст, годы Me (Q ₂₅ -Q ₇₅)
		мальчики	девочки	
Контролируемое течение АБА (группа 1)	50	38	12	12,5 (6–17)
Неконтролируемое течение АБА (группа 2)	50	34	16	13,1 (6–17)
Контрольная группа (группа 3)	20	11	9	14,8 (10–16)

звеньев иммунитета, концентрации цитокинов в сыворотке крови).

Общими критериями включения детей больных АБА являлись:

1. Возраст 7–18 лет.
2. Ранее установленный диагноз atopическая бронхиальная астма, среднетяжелое/тяжелое течение.
3. Отсутствие ОРВИ, других острых заболеваний на момент исследования.
4. Комбинированная базисная терапия в среднетерапевтических/высоких дозах в течение последних 3 месяцев.

Критерии включения в контрольную группу (практически здоровые дети):

1. Возраст 7–18 лет.
2. Отсутствие аллергических заболеваний (бронхиальная астма, atopический дерматит, аллергический ринит, полиноз, лекарственная и пищевая аллергия) в личном и семейном анамнезе.
3. Отсутствие острых заболеваний на момент исследования.
4. Уровень общего IgE менее 100 МЕ/мл

По результатам клинического обследования сформированы 2 группы – с контролируемым течением АБА (n = 50) и с неконтролируемым течением болезни (n = 50). Средний возраст детей в выборке составил 12,1 ± 3,92 года, группы были сопоставимы по полу и возрасту. Средний стаж болезни в 1-й группе составил 10,9 ± 1,1 года, а во 2-й группе составил 11,8 ± 4,28 года.

После включения в группу, согласно разработанным критериям, выполнялось исследование показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета, определение системной концентрации цитокинов. Материалом для исследования служила периферическая кровь, взятая утром натощак из локтевой вены. Определение показателей клеточного звена иммунитета проводилось методом флюоресцентной микроскопии с использованием моноклональных антител к поверхностным рецепторам (cluster of differentiation) – CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺. Также обязательно проводился развернутый анализ крови с подсчетом лейкоцитарной формулы, определением абсолютного числа клеток.

Концентрация цитокинов в сыворотке крови, определение гуморального звена иммунитета (IgA, IgM, IgG, IgE) определялась путем твердофазного иммуноферментного анализа с помощью

тест-систем ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск. Метод твердофазного ИФА основан на принципе «сендвича». Специфическими реагентами являются антитела к интерлейкинам, иммуноглобулинам человека, сорбированные на поверхности лунок полистирольного планшета, конъюгат поликлональных антител к интерлейкинам с биотином.

Статистическая обработка материала проводилась с использованием прикладных программ «Statistica 8.0», достоверность различий уровней цитокинов в сыворотке крови определялась по непараметрическому критерию Манна – Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке бытовых условий выявлено, что 32 % детей в группе неконтролируемого течения АБА проживали в частных домах с печным отоплением, в 34 % случаев отмечено наличие избыточной сырости в доме, присутствие плесени. Эти показатели в группе контролируемого течения болезни были ниже и составили 26 и 28 % соответственно (p < 0,01). Пассивному курению подвержены 56 % детей в группе неконтролируемого течения болезни и 48 % детей в случае частично контролируемого течения (p < 0,05).

При анализе социального статуса семей выявлено, что 46 % детей 2-й группы живут в неполных семьях (воспитываются матерью, отцом, опекуном), этот показатель в 1 группе составил 26 % (p < 0,01).

Проведена оценка наличия коморбидных заболеваний. У всех больных группы с отсутствием контроля над заболеванием отмечалось наличие персистирующего круглогодичного аллергического ринита, в 76 % – atopического дерматита, в 16 % – сезонного риноконъюнктивита, в 4 % – эпизоды крапивницы. В группе контролируемого течения АБА выявлено наличие в 96 % случаев – персистирующего аллергического ринита, в 32 % – сезонного риноконъюнктивита, в 12 % случаев – эпизодов острой крапивницы.

Отягощенный аллергологический анамнез по восходящей линии отмечен у всех детей первой группы обследуемых – в 100 % случаев родственники страдают аллергическими заболеваниями. При этом в 78 % отмечалось заболевание бронхиальной астмой, в 25 % случаев – atopическим дерматитом, в 50 % – аллергическим ринитом, в

36 % – сезонным риноконъюнктивитом, в 20 % отмечались сочетанные проявления аллергии. Во 2 группе больных отягощенный аллергологический анамнез определен в 94 %. Выявлено наличие следующих аллергических заболеваний у родственников: в 46 % – бронхиальная астма, в 16 % – атопический дерматит, в 16 % – сезонный риноконъюнктивит.

Изучение параметров иммунного статуса показало особенности иммунореактивности в зависимости от уровня контроля над заболеванием (табл. 2). В группе с отсутствием контроля над заболеванием по сравнению с контрольной группой выявлено статистически значимое снижение общего количества лимфоцитов, зрелых Т-лимфоцитов, Т-лимфоцитов с фенотипом CD4⁺, снижение показателей иммунорегуляторного индекса (CD4⁺/CD8⁺). Однако уровень CD8⁺-лимфоцитов оказался достоверно выше.

Анализ гуморального звена иммунной системы показал достоверное снижение уровня IgA в обеих группах больных АБА в сравнении с практически здоровыми детьми. В группе неконтролируемого течения заболевания обнаружено достоверное увеличение концентрации IgG. Концентрация общего IgE статистически значимо выше в группе с отсутствием контроля над заболеванием (табл. 3).

Анализ цитокинового спектра выявил статистически значимое увеличение концентрации Th2- цитокинов (IL-4, IL-10) в группе отсутствия контроля над заболеванием в сравнении с группой контролируемого течения болезни. В обеих группах больных концентрация указанных цитокинов статистически достоверно выше, чем в контрольной группе. В группах детей, больных АБА, показано достоверное увеличение продукции цитокинов Th1-профиля (IL-2, TNFα) (табл. 4).

Таблица 2
Оценка параметров клеточного звена иммунной системы при АБА с различным уровнем контроля над заболеванием

Показатели	Контролируемое течение (n = 30)	Неконтролируемое течение (n = 32)	Здоровые (n = 20)	p
Лимфоциты, %	36,16 ± 11,6	30,4 ± 6,7	35,69 ± 5,186	$p_{1,2} = 0,023$ $p_{1,3} = 0,086$ $p_{2,3} = 0,032$ $p_{\text{межгр}} = 0,09$
CD3 ⁺ , %, Т-лимф	51,28 ± 29,4	59,3 ± 9,3	65,7 ± 8,207	$p_{1,2} = 0,056$ $p_{1,3} = 0,025$ $p_{2,3} = 0,028$ $p_{\text{межгр}} = 0,051$
CD3 ⁺ , кл/мкл	1467 ± 258,02	837,04 ± 3,85	1307 ± 605,3	$p_{1,2} = 0,014$ $p_{1,3} = 0,022$ $p_{2,3} = 0,0014$ $p_{\text{межгр}} = 0,0079$
CD4 ⁺ , %, Тх	20,6 ± 12,6	25,1 ± 0,03	37,3 ± 5,9	$p_{1,2} = 0,007$ $p_{1,3} = 0,0022$ $p_{2,3} = 0,00046$ $p_{\text{межгр}} = 0,003$
CD8 ⁺ , %, Тс	38,4 ± 9,7	36,1 ± 7,6	25,5 ± 4,9	$p_{1,2} = 0,038$ $p_{1,3} = 0,048$ $p_{2,3} = 0,00023$ $p_{\text{межгр}} = 0,006$
ИРИ, Тх/Тс	0,66 ± 0,24	0,75 ± 0,4	1,44 ± 0,34	$p_{1,2} = 0,087$ $p_{1,3} = 0,0006$ $p_{2,3} = 0,0046$ $p_{\text{межгр}} = 0,0001$

Таблица 3
Показатели гуморального звена иммунитета при АБА с различным уровнем контроля над заболеванием

Показатели	Контролируемое течение (n = 30)	Неконтролируемое течение (n = 32)	Здоровые (n = 20)	p
IgA (г/л)	1,39 ± 0,67	1,78 ± 0,99	1,98 ± 1,96	$p_{1,2} = 0,075$ $p_{1,3} = 0,48$ $p_{2,3} = 0,036$ $p_{\text{межгр}} = 0,04$
IgM (г/л)	1,18 ± 0,19	1,12 ± 0,2	1,27 ± 1,03	$p_{1,2} = 0,117$ $p_{1,3} = 0,42$ $p_{2,3} = 0,36$ $p_{\text{межгр}} = 0,12$
IgG (г/л)	14,22 ± 4,046	13,72 ± 5,1	11,57 ± 5,2	$p_{1,2} = 0,113$ $p_{1,3} = 0,06$ $p_{2,3} = 0,11$ $p_{\text{межгр}} = 0,062$
IgE (г/л)	227,95 ± 24,617	359,6 ± 31,2	71,56 ± 13,4	$p_{1,2} = 0,057$ $p_{1,3} < 0,001$ $p_{2,3} < 0,001$ $p_{\text{межгр}} = 0,032$

Таблица 4

Концентрация цитокинов в сыворотке крови при АБА с различным уровнем контроля над заболеванием

Наименование группы	IL-2 (пг/мл) Me (Q ₂₅ -Q ₇₅)	IL-4 (пг/мл) Me (Q ₂₅ -Q ₇₅)	IL-10 (пг/мл) Me (Q ₂₅ -Q ₇₅)	TNFα (пг/мл) Me (Q ₂₅ -Q ₇₅)
Контролируемое течение БА (группа 1) (n = 32)	30,62 (4,4-156,3)	8,09 (0,98-51,0)	38,29 (9,35-186,7)	21,52 (5,29-66,5)
Неконтролируемое течение БА (группа 2) (n = 30)	26,28 (5,7-146,1)	9,23 (0,97-33)	41,16 (8,26-182)	39,40 (4,84-297,4)
Здоровые (n = 20)	5,2 (2,44-7,20)	2,45 (0,84-4,99)	15,89 (6,74-27,83)	6,63 (2,58-11,87)
<i>p</i>	<i>p</i> _{1,2} = 0,818 <i>p</i> _{1,2} < 0,001 <i>p</i> _{2,3} < 0,001	<i>p</i> _{1,2} = 0,005 <i>p</i> _{1,3} = 0,0019 <i>p</i> _{2,3} < 0,001	<i>p</i> _{1,2} = 0,428 <i>p</i> _{1,3} < 0,001 <i>p</i> _{2,3} < 0,001	<i>p</i> _{1,2} = 0,001 <i>p</i> _{1,3} < 0,001 <i>p</i> _{2,3} < 0,001

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Клинико-анамнестическими предикторами неконтролируемого течения тяжелого течения бронхиальной астмы могут быть: отягощенный аллергологический анамнез, неблагоприятные бытовые условия, пассивное курение.

Показатели иммунного статуса в группе с неконтролируемым течением АБА характеризуются дефицитом Т-лимфоцитов, снижением уровней клеток с фенотипом CD4⁺, уменьшением показателей CD4⁺/CD8⁺. Изменения значений гуморального звена связаны с дисиммуноглобулинемией за счет недостатка продукции IgA, и гиперпродукции IgG, IgE.

Выявлены изменения в уровнях системной концентрации цитокинов. Характер этих изменений позволяет предположить, что совместная активация как Th1-, так и Th2-лимфоцитов, что подтверждается высокими концентрациями проду-

цируемых цитокинов (TNFα, IL-4), может служить прогностическим признаком неконтролируемого течения атопической бронхиальной астмы у детей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баранов В.С., Иващенко Т.Э., Лаврова О.В., Федосеев Г.Б. Некоторые молекулярно-генетические аспекты этиопатогенеза атопической бронхиальной астмы // Мед. генетика. — 2008. — Т. 7, № 10. — С. 3—13.
2. Горячкина Л.А., Кашкина К.П. Клиническая аллергология и иммунология. — М.: Миклош, 2009. — 432 с.
3. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы (пересмотр 2007 г.) // Под ред. Чучалина А.Г. — М.: Издательский дом «Атмосфера», 2008. — 108 с.
4. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. — СПб.: Фолиант, 2008. — 552 с.

Сведения об авторах

Тютин Ольга Сергеевна – аспирант ФГБУ «НИИ медицинских проблем Севера» СО РАМН (тел.: 89130498351; e-mail: olya_tyutina@mail.ru)

Смирнова Светлана Витальевна – заместитель директора по научной работе ФГБУ «НИИ медицинских проблем Севера» СО РАМН, доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической иммунологии КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (660100, г. Красноярск, ул. Чкалова, д. 41, кв. 117; тел. раб.: 8 391 228 06 81; e-mail: svetvita@mail.ru)

Ильenkova Наталья Анатольевна – заведующий кафедрой детских болезней с курсом ПО ГОУ ВПО КрасГМУ имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава, доктор медицинских наук, профессор (г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1; тел. раб.: 8 391 220 04 62; e-mail: ilenkova1@mail.ru)

Смольникова Марина Викторовна – ведущий научный сотрудник ФГБУ «НИИ медицинских проблем Севера» СО РАМН, кандидат биологических наук (e-mail: smarinva@ya.ru)