

С.Г. Шагарова ¹, С.В. Смирнова ¹, Л.В. Зенкина ²**ОСОБЕННОСТИ ИММУНОРЕАКТИВНОСТИ И МЕТАБОЛИЗМА ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПАТОГЕНЕЗА БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ**¹ НИИ медицинских Севера СО РАМН (Красноярск)² Сибирский клинический центр ФМБА (Красноярск)

Цель данного исследования — выявить особенности иммунитета и метаболизма лимфоцитов в зависимости от клинко-патогенетического варианта бронхиальной астмы.

Независимо от клинко-патогенетического варианта бронхиальной астмой для больных характерно повышение содержания лейкоцитов и общих иммуноглобулинов классов G, E. В группе больных atopической бронхиальной астмой увеличена концентрация CD4⁺-лимфоцитов, а при астматической триаде повышено содержание HLA-DR⁺-клеток. Активация иммунной системы у больных бронхиальной астмой обеспечивается соответствующей перестройкой метаболизма лимфоцитов — основных эффекторов иммунитета: независимо от клинко-патогенетического варианта, снижена интенсивность реакций цикла трикарбоновых кислот за счет ключевого и вспомогательного ферментов при интенсификации малат-аспартатного шунта, что характеризует повышение уровня энергетических процессов. Кроме того при псевдоатопии в лимфоцитах крови больных цикл трикарбоновых кислот обеднен субстратно — снижено образование α-кетоглутарата из глутамата, а обратный синтез аминокислоты повышен, что характеризует активирование аминокислотного синтеза. Также в лимфоцитах крови больных астматической триадой уменьшена активность антиоксидантного фермента глутатионредуктазы.

Ключевые слова: бронхиальная астма, патогенез, иммунитет, метаболизм лимфоцитов

THE PECULIARITIES OF THE IMMUNOREACTIVITY AND BLOOD LYMPHOCYTES METABOLISM DEPENDING ON THE BRONCHIAL ASTHMA PATHOGENESISS.G. Shagarova ¹, S.V. Smirnova ¹, L.V. Zenkina ²¹ Research institute of medical problems of the North SB RAMS, Krasnoyarsk² Siberian Clinical Center of Federal Medicobiological Agency, Krasnoyarsk

The aim of the study was to found the peculiarities of immunity and lymphocytes metabolism depending on the clinico-pathogenetic variants of bronchial asthma.

It is found increased the leukocyte content and concentration of immunoglobulin classes G, E in both group atopic and. In the group of atopic asthma patients increased the CD4⁺-lymphocytes concentration and in asthmatic triad patients increased HLA-DR⁺-cells content. Activation of the immune system in patients with bronchial asthma is provided by appropriate adjustment of lymphocytes metabolism - the general effectors of immunity. It is reduced the intensity of the reactions of the citric acid cycle through the key and auxiliary enzymes for the intensification of malate-aspartate shunt, which characterizes the increase in energy processes in lymphocyte of patients with atopic and pseudoatopic bronchial asthma. In addition, the citric acid cycle is substrate deficiency-reduced the α-ketoglutarate formation of glutamic acid, and the reverse synthesis of amino acids increased, which characterizes the amino acid synthesis activation in blood lymphocytes of pseudoatopic patients. Also in the blood lymphocytes of asthmatic triad patients reduced activity of antioxidant enzyme glutathione reductase.

Key world: bronchial asthma, pathogenesis, immunity, lymphocyte metabolism

Бронхиальная астма (БА) — весьма распространенное заболевание, до 10 % населения отдельных стран страдают этим заболеванием, среди хронической патологии она является одной из самых частых [10, 13]. Одной из причин низкой эффективности лечения является недостаточная дифференциальная диагностика заболевания, ведь наряду с истинной аллергической формой — atopической БА (АБА), встречаются и псевдоаллергическая форма — астматическая триада (АТ). В основе развития АТ, в отличие от АБА, лежит неиммунный механизм запуска — нарушение метаболизма арахидоновой кислоты вследствие чего запускается каскад аллергических медиаторов. Следовательно, клиническая картина, развившаяся при истинной аллергической и псевдоаллергической реакциях, будет сходной в результате единых механизмов патохимической и патофизиологической стадий аллергии, т.е. будет наблюдаться характерное хроническое воспаление

дыхательных путей [3, 6, 9, 11]. Таким образом, различия особенностей иммунореактивности при различных клинко-патогенетических вариантах БА, прежде всего, состоят в степени участия иммунной системы в патогенезе.

Активный воспалительный процесс при БА, сопровождающийся спектром биологически активных веществ, отражается и на обладающих богатым рецепторным аппаратом лимфоцитах периферической крови. В результате такого воздействия на лимфоциты, изменяется уровень их функциональных возможностей. Вместе с тем, реализация регуляторных воздействий и формирование ответных реакций происходит именно на уровне метаболической системы клеток [8].

Таким образом, наряду с изучением состояния иммунитета, исследование метаболических параметров лимфоцитов крови позволит полнее охарактеризовать особенности иммунопатогенеза АБА и АТ.

В связи с этим, цель работы — выявить особенности иммунитета и метаболизма лимфоцитов в зависимости от клинко-патогенетического варианта БА.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены пациенты в возрасте от 18 до 60 лет, страдающие бронхиальной астмой средней степени тяжести в период обострения. Выделены следующие группы: АБА ($n = 27$), АТ ($n = 26$) и группа контроля ($n = 100$). Перед проведением исследования у всех было получено информированное согласие.

Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови исследовали методом флуоресцентной микроскопии с использованием моноклональных антител к поверхностным рецепторам CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, HLA-DR. Рассчитывали индекс дифференцировки (соотношение $CD4^+/CD8^+$). Концентрацию общих иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG) сыворотки крови определяли методом радиальной иммунодиффузии по G. Mancini (1965) с помощью стандартных антииммуноглобулиновых сывороток, IgE — иммуноферментным методом. Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) в сыворотке крови оценивали турбидиметрическим методом.

Определение активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах проводили биoluminesцентными методами [7]. Определяли активность следующих ферментов: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), НАД- и НАДН-зависимой лактатдегидрогеназы (ЛДГ), НАД- и НАДН-зависимой малатдегидрогеназы (МДГ и НАДНМДГ), малик-фермента (НАДФМДГ), НАДФ- и НАДФН-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДФГДГ и НАДФНГДГ), НАД- и НАДН-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДГДГ и НАДНГДГ), НАД- и НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы (НАДИЦДГ и НАДФИЦДГ) и глутатионредуктазы (ГР). Активность дегидрогеназ выражали в ферментативных единицах на 10^4 клеток ($1Е = 1$ мкмоль/мин) [1].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ «Statistica 6.0» (StatSoft, USA). Нормальность распределений проверялась методом Колмогорова-Смирнова. Данные представлены в виде медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей ($Q1 - Q3$). Статистическую значимость различий независимых групп оценивали с помощью критериев Краскела — Уоллиса (H) и Манна — Уитни (U) с поправкой Бонферрони. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В группах больных АБА и АТ выявлены как общие изменения состояния иммунитета и метаболизма лимфоцитов, так и специфические для каждого клинко-патогенетического варианта заболевания.

Общими изменениями в обеих группах больных АБА и АТ относительно контроля являются

повышение концентрации лейкоцитов, а также со стороны гуморального иммунитета — содержание общих IgG и IgE (табл. 1 и 2). Причем концентрация IgG выше в группе больных АТ по сравнению с атопиками, а уровень IgE у больных АБА значительно превышает показатель группы псевдоаллергии. Также необходимо подчеркнуть, что, несмотря на увеличенное содержание в сыворотке у больных АТ реактина IgE, его медиана не превышает верхней границы референсного диапазона.

Также выявлены специфические особенности иммунореактивности у больных в зависимости от клинко-патогенетического варианта БА. Так у больных атопиков повышено содержание общих лимфоцитов за счет Т-фракции, которое в свою очередь, определяется Т-хелперной субпопуляцией и снижена концентрация общего IgM (табл. 1 и 2). Снижение количества иммуноглобулинов этого типа, по-видимому, является компенсаторным в условиях превалирования переключения В-лимфоцитов на синтез реактинов. В группе больных АТ характерной особенностью является только повышение абсолютной концентрации HLA-DR⁺-клеток (табл. 1).

Следовательно, для больных БА, независимо от клинко-патогенетического варианта, характерна общая активация иммунитета и повышенный синтез иммуноглобулинов. Очевидно, что у больных АБА увеличена концентрация реактинов IgE и IgG (за счет подкласса IgG₄), обеспечивающих атопический тип гиперчувствительности [4, 12]. Повышение концентрации CD4⁺-лимфоцитов, вероятно, за счет Т-хелперов 2-го типа, обеспечивает превалирование Th2-иммунного ответа, характерного для атопического механизма [2, 15]. В группе больных АТ повышение концентрации общих иммуноглобулинов, с одной стороны, может объясняться смешанными механизмами: наряду с нарушением метаболизма арахидоновой кислоты, возможна и выработка аллерген-специфических антител [9]. А с другой стороны высокий уровень IgG, возможно, отражает сопутствующую или присоединившуюся инфекцию на фоне воспаления бронхов. Для группы АТ также характерно повышение числа поздне-активированных Т-лимфоцитов, подтверждающих активирование иммунитета.

Активация клеток иммунной системы, в том числе и при воспалении у больных БА, обеспечивается их метаболизмом, характеристика изменений которого проведена с помощью оценки активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ. Обнаружены общие особенности метаболизма лимфоцитов крови относительно контроля в независимости от клинко-патогенетического варианта БА: снижение активности МДГ, НАДФИЦДГ при повышении — НАДНМДГ (табл. 3). Кроме этого найдены характерные особенности метаболизма лимфоцитов крови больных АТ: уменьшение активности НАДФГДГ, ГР и увеличение уровня НАДНГДГ (табл. 3).

Следовательно, в лимфоцитах больных БА обеих групп, независимо от клинко-патогенетического варианта, снижена интенсивность реакций цик-

ла трикарбоновых кислот за счет ключевого и вспомогательного ферментов. Причем, по-видимому, более подавлен конечный этап цикла (МДГ), так

как лимитирующий фермент (НАДИЦДГ) всего процесса не меняет активность, хотя некоторая заторможенность начального этапа отражается сни-

Таблица 1

Показатели клеточного иммунитета больных АБА и АТ (Me, C₂₅–C₇₅)

Показатели	Контроль (n = 100)		Больные БА			
			АБА (n = 27)		АТ (n = 26)	
	Me	C ₂₅ –C ₇₅	Me	C ₂₅ –C ₇₅	Me	C ₂₅ –C ₇₅
Лейкоциты (10 ⁹ /л)	5,50	4,80–6,90	6,50	5,030–8,30	6,72	5,15–9,25
			$p_1 = 0,014$		$p_1 = 0,020$	
Лимфоциты (%)	37,0	31,0–41,0	41,0	38,0–47,0	38,0	27,05–43,0
			$p_1 = 0,0041$			
Лимфоциты (10 ⁹ /л)	2,09	1,70–2,64	2,67	2,25–3,33	2,72	1,71–3,38
			$p_1 = 0,001$			
CD3 ⁺ (%)	67,0	59,0–72,0	67,0	61,0–71,0	63,0	54,5–72,5
CD3 ⁺ (10 ⁹ /л)	1,43	1,11–1,65	1,65	1,47–2,26	1,53	1,05–2,04
			$p_1 = 0,004$			
CD4 ⁺ (%)	38,0	34,0–40,0	39,0	32,0–44,0	32,0	30,0–41,5
CD4 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,82	0,61–1,00	0,98	0,80–1,27	0,75	0,61–1,23
			$p_1 = 0,009$			
CD8 ⁺ (%)	30,0	21,0–33,0	26,0	24,0–31,0	23,0	21,0–30,0
CD8 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,60	0,42–0,78	0,68	0,56–0,94	0,47	0,36–0,82
CD16 ⁺ (%)	16,5	12,0–22,0	17,0	14,0–22,0	20,0	13,0–27,0
CD16 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,38	0,26–0,51	0,43	0,27–0,77	0,43	0,32–0,78
CD19 ⁺ (%)	12,0	9,0–15,0	10,0	8,0–13,0	11,0	8,0–15,0
CD19 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,25	0,18–0,34	0,30	0,20–0,36	0,28	0,17–0,38
HLA-DR ⁺ (%)	18,0	14,0–21,0	18,0	15,0–21,0	20,0	16,0–31,0
HLA-DR ⁺ (10 ⁹ /л)	0,37	0,28–0,46	0,46	0,34–0,68	0,52	0,42–0,67
					$p_1 = 0,006$	
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,33	1,15–1,67	11,44	1,13–1,85	1,48	1,28–1,75

Примечание: здесь и далее: p_1 – различия с контрольной группой; p_2 – различия между группами больных АБА и АТ.

Таблица 2

Показатели гуморального иммунитета больных АБА и АТ (Me, C₂₅–C₇₅)

Показатели	Контроль (n = 100)		Больные БА			
			АБА (n = 27)		АТ (n = 26)	
	Me	C ₂₅ –C ₇₅	Me	C ₂₅ –C ₇₅	Me	C ₂₅ –C ₇₅
Ig A, г/л	1,46	1,04–2,36	1,42	0,61–3,57	1,21	0,83–2,83
Ig M, г/л	1,46	0,99–1,58	0,90	0,64–1,33	0,99	0,79–1,40
			$p_1 = 0,003$			
Ig G, г/л	5,79	4,94–8,60	11,64	8,67–13,00	19,34	12,19–25,63
			$p_1 = 0,002$		$p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,017$	
IgE, ME	17,41	5,76–42,37	319,36	170,00–580,00	54,5	33,0–170,0
			$p_1 < 0,001$		$p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,004$	
ЦИК, о.е.	5,0	3,0–6,0	6,0	5,0–9,0	5,0	4,0–12,0

Таблица 3

Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови больных АБА и АТ (Me, C₂₅–C₇₅)

Показатели	Контроль (n = 100)		Больные БА			
			АБА (n = 27)		АТ (n = 26)	
	Me	C ₂₅ –C ₇₅	Me	C ₂₅ –C ₇₅	Me	C ₂₅ –C ₇₅
Г6ФДГ	3,84	0,47–16,00	12,26	2,30–25,22	3,40	0,85–17,19
Г3ФДГ	0,32	0,01–2,71	0,01	0,01–4,57	0,01	0,01–0,19
ЛДГ	29,50	2,36–122,40	16,26	5,80–51,99	8,38	2,89–39,00
МДГ	25,00	8,46–65,90	0,01	0,01–13,44	0,01	0,01–1,80
НАДФМДГ	6,15	0,02–41,50	5,09	2,27–11,19	4,55	2,30–13,83
НАДФГДГ	0,05	0,01–2,46	0,01	0,01–0,60	0,01	0,01–0,68
НАДГДГ	1,76	0,01–30,59	2,81	0,01–10,54	0,01	0,01–1,15
НАДИЦДГ	5,36	0,09–44,22	19,78	0,20–57,00	0,01	0,01–17,60
НАДФИЦДГ	18,22	4,40–75,96	1,58	0,06–10,87	1,05	0,19–3,51
НАДНЛДГ	8,25	0,01–47,91	15,46	0,01–146,57	47,22	0,01–186,96
НАДНМДГ	31,98	0,43–102,88	152,13	34,32–399,65	235,92	96,16–379,03
ГР	13,08	3,80–54,22	9,81	0,01–30,49	1,25	0,01–24,31
НАДНГДГ	8,10	0,01–42,83	38,06	0,01–117,18	118,18	25,01–174,47
НАДФНГДГ	50,09	10,53–113,06	48,45	10,48–83,41	44,94	44,60–70,96

жением активности вспомогательного фермента (НАДФИЦДГ). В тоже время в лимфоцитах больных БА более активен малат-аспартатный шунт, активность ключевого фермента (НАДНМДГ) которого повышена, что отражает активный обмен коферментами между компартментами и, следовательно, характеризует повышение интенсивности энергетических процессов [14].

При этом в лимфоцитах больных АТ цикл трикарбоновых кислот еще и обеднен субстратно — снижено образование α -кетоглутарата из глутамата, а обратный синтез аминокислоты повышен, что характеризует активирование аминокислотного и, соответственно, белкового синтеза [1]. Также при псевдоатопии в лимфоцитах крови уменьшение активности антиоксидантного фермента ГР отражает как снижение антиоксидантного потенциала, так и пролиферативной способности клеток [5].

Необходимо отметить, что в группе больных АТ по сравнению с АБА в лимфоцитах активирован малат-аспартатный шунт, отражающий более интенсивный окислительно-восстановительный обмен.

Увеличенное образование энергии необходимо для активного аминокислотного и белкового синтеза биологически активных веществ лимфоцитами при псевдоатопии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у больных АБА увеличение концентрации реактивных иммуноглобулинов и CD4⁺-лимфоцитов, обеспечивающих atopический механизм гиперчувствительности, со стороны метаболизма лимфоцитов сопровождается интенсификацией энергетических процессов, однако при подавлении реакций цикла трикарбоновых кислот. При АТ активация иммунной системы, выражающаяся в повышении доли активированных Т-лимфоцитов, увеличении концентрации общих иммуноглобулинов классов G и E, сопровождается также интенсификацией окислительно-восстановительных процессов и аминокислотного обмена при подавлении цикла трикарбоновых кислот и глутатионового звена антиоксидантной защиты в лимфоцитах крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. — М.: Медицина, 1998. — 704 с.
2. Ильина Н.И. Эпидемия аллергии — в чем причины? // Рос. аллергол. журн. — 2004. — № 1. — С. 37–41.
3. Козлов В.А., Борисов А.Г., Смирнова С.В., Савченко А.А. Практические аспекты диагностики и лечения иммунных нарушений: рук. для врачей. — Новосибирск: Наука, 2009. — 274 с.
4. Конищева А.Ю., Самойликов П.А., Штерншис Ю.А., Гервазиева В.Б. Определение IgG-антител к тканевым антигенам у больных аллергическими заболеваниями // Аллергология и иммунология. — 2009. — Т. 10, № 1. — С. 17–22.
5. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Биологическая роль глутатиона // Успехи современной биологии. — 1990. — Т. 110, Вып. 4. — С. 20–23.
6. Пыцкий В.И. Некоторые дискуссионные проблемы аллергологии. II. Взгляд на бронхиальную астму и атопию // Рос. аллергол. журн. — 2006. — № 6. — С. 42–58.
7. Савченко А.А. Биolumинесцентное определение активности НАД- и НАДФ-зависимых глутаматдегидрогеназ лимфоцитов // Лаб. дело. — 1991. — № 11. — С. 22–25.
8. Савченко А.А., Смирнова С.В., Борисов А.Г. Содержание АТФ и активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах при иммунодефицит-ассоциированных заболеваниях у пришлых жителей Эвенкии // Бюл. СО РАМН. — 2010. — Т. 30, № 3. — С. 33–38.
9. Смирнова С.В. Аллергия и псевдоаллергия (к вопросам распространенности, этиологии, патогенеза, дифференциальной диагностики и терапии). — Красноярск: Гротеск, 1997. — 220 с.
10. Чучалин А.Г., Медников Б.Л., Белевский А.С. Бронхиальная астма: рук. для врачей России (Формулярная система) // Пульмонология. — 1999. — Прил. 99. — С. 3–32.
11. Buc M., Dzurilla M., Vrlík M., Bucova M. Immunopathogenesis of bronchial asthma // Arch. Immunol. Ther. Exp. — 2009. — Vol. 57, N 5. — P. 331–344.
12. Oxelius V.A. Immunoglobulin constant heavy G subclass chain genes in asthma and allergy // Immunol. Res. — 2008. — Vol. 40, N 2. — P. 179–191.
13. Ronchetti R., Jesenak M., Rennerova Z. Relationship between atopic asthma and the population prevalence rates for asthma or atopy in children: atopic and nonatopic asthma in epidemiology // Allergy Asthma Proc. — 2009. — Vol. 30, N 1. — P. 55–63.
14. Spriet L.L., Howlett R.A., Heigenhauser G.J. An enzymatic approach to lactate production in human skeletal muscle during exercise // Med. Sci. Sports Exerc. — 2000. — Vol. 32, N 4. — P. 756–763.
15. Vercelli D. Mechanisms of the hygiene hypothesis — molecular and otherwise // Curr. Opin. Immunol. — 2006. — Vol. 18, N 6. — P. 733–737.

Сведения об авторах

Шагарова Светлана Геннадьевна – ученый секретарь, доктор биологических наук 1ФГБУ «НИИМПС» СО РАМН, г. Красноярск (660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3г; тел.: (391) 2126040; e-mail: shagarovas@bk.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)

Зенкина Лариса Владиславовна – аллерголог-иммунолог ФГБУ Сибирский клинический центр ФМБА, г. Красноярск, кандидат медицинских наук