

# СОСТОЯНИЕ СИСТЕМНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ РЕСПУБЛИКИ ХАКАСИИ

Андрейчикова Е.А.<sup>1</sup>, Сенникова Ю.А.<sup>1</sup>, Козлов В.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> НГМУ, г. Новосибирск

<sup>2</sup> ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск

**Резюме.** Изучались субпопуляционная структура иммунокомпетентных клеток периферической крови, сывороточные концентрации IgA, IgM, IgG, IgE и IL-4 и IL-10 у больных аллергической бронхиальной астмой, проживающих в Республике Хакасии. У больных аллергической бронхиальной астмой хакасов в сравнении со здоровыми выявлены снижение CD8<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup> субпопуляций лимфоцитов периферической крови, увеличение содержания CD4<sup>+</sup>, CD22<sup>+</sup> лимфоцитов и иммуноглобулинов основных классов IgA, IgM, IgG, IgE в сыворотке крови. Также обнаружено, что лица хакаской этнической принадлежности, страдающие бронхиальной астмой, в сравнении с больными европеоидами характеризуются повышением содержания CD3<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> лимфоцитов периферической крови и IgA и IgE в сыворотке крови. Было установлено, что сывороточный уровень IL-4 у хакасов с бронхиальной астмой значительно повышен в отличие от здоровых и больных астмой европеоидов. С другой стороны, сравнение концентрации IL-10 показало, что сывороточный уровень цитокина был выше у европеоидов с бронхиальной астмой в отличие от хакасов, больных бронхиальной астмой.

**Ключевые слова:** аллергическая астма, IL-4, IL-10, субпопуляционная структура иммунокомпетентных клеток, сывороточные иммуноглобулины.

Andreychikova E.A., Sennikova J.A., Kozlov V.A.

## THE CONDITION OF SYSTEMIC IMMUNITY IN PATIENTS WITH ALLERGIC ASTHMA LIVING IN REPUBLIC OF HAKASIA

**Abstract.** The subpopulation structure of immunocompetent cells of peripheral blood, concentration of IgA, IgM, IgG, IgE and serum levels of IL-4 and IL-10 for the patients was studied. Reduced contents of CD8<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup> lymphocytes and increased contents of CD4<sup>+</sup>, CD22<sup>+</sup> lymphocytes, serum levels of IgA, IgM, IgG, IgE are revealed in Hkakass with asthma compared to healthy Hkakass. It was also revealed in Hkakass with asthma that contents of CD3<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> lymphocytes, serum concentration of IgA, IgE increased compared to Caucasoids with asthma. The serum level of cytokines IL-4 were found to be considerably increased in Hkakass with asthma compared to healthy Hkakass and to Caucasoids with asthma. On the other hand, the comparison of concentration of IL-10 showed that serum level was higher in Caucasoids with asthma than Hkakass with asthma. (*Med. Immunol.*, vol. 11, N 2-3, pp 273-278)

## Введение

Бронхиальная астма (БА) широко распространена в различных популяциях и частота встречае-

мости этого заболевания варьирует от 1 до 18% в различных этнических группах и странах [11]. В патогенезе БА важное значение имеют нарушения как системного, так и местного иммунитета [3, 4], но вместе с тем в различных этнических группах могут иметь место особенности иммунопатогенеза, которые представляют как теоретический, так и практический интерес. Имеющиеся данные о значительной иммунологической гетерогенности и цитокиновой диссоциации

### Адрес для переписки:

Андрейчикова Елена Анатольевна,  
655012, г. Абакан, пр. Ленина, д. 23.  
Тел.: (39022) 76-000.  
Факс: 383-2227028.  
E-mail: elenandr@yandex.ru

при БА [7, 12] могут быть связаны с отличиями в обследуемых популяциях. Известно, что нарушения функции иммунной системы вследствие недостаточности механизмов регуляции иммунного ответа являются основой патогенеза БА, приводят к тяжелому течению, развитию осложнений, ранней инвалидизации [9]. Согласно современным представлениям, ключевую роль в иммунном ответе при БА играют хелперные Т-лимфоциты (Th). Под воздействием определенного спектра цитокинов может формироваться один из двух вариантов Th-лимфоцитов: Th1, которые продуцируют IL-2 и IFN $\gamma$ , являющийся мощным активатором макрофагов, и поэтому занимают центральное место в клеточном иммунном ответе, и Th2, продуцирующие цитокины IL-4, IL-5, IL-13, ответственные за формирование гуморального иммунного ответа. Вариант иммунного ответа зависит как от генетически обусловленных особенностей иммунологических реакций организма (у лиц с атопией имеется генетически обусловленная поляризация дифференцировки Th0 по пути Th2), так и от характера антигена. IL-4 часто называют критическим цитокином аллергического воспаления [10]. Именно IL-4, продуцируемый Th2-лимфоцитами, на начальных стадиях развития аллергического воспаления связывается со своим рецептором на поверхности В-клеток, играет ключевую роль в переключении В-клетками с синтеза IgG на IgE. Именно IgE играет центральную роль при атопии, являясь основным иммунологическим маркером сенсибилизации [8, 12]. IL-10 также продуцируется Th2-клетками, способен подавлять продукцию IL-2 и IFN $\gamma$  Т-лимфоцитами и способствует пролиферации и дифференцировке В-лимфоцитов посредством активации Th2-типа, в то же время у этого медиатора есть выраженные иммуносупрессивные эффекты через индукцию Treg1-клеток. Поэтому его роль при аллергических заболеваниях представляется неоднозначной и требует дальнейшего изучения [1].

Целью исследования явилось изучение особенностей системного иммунитета и сероточных концентраций цитокинов IL-4 и IL-10 у больных БА коренного и пришлого населения Республики Хакасии.

## Материалы и методы

Дизайн исследования «случай-контроль». Исследование проводилось в ГУЗ «Хакасская республиканская больница им. Г.Я. Ремишевской» г. Абакана и ГУ НИИ Клинической иммунологии СО РАМН (г. Новосибирск). Работа основана на

результатах обследования больных бронхиальной астмой в возрасте от 15 до 75 лет различной этнической принадлежности, постоянно проживающих на территории Республики Хакасии. Коренными жителями считали хакасов (46 человек), пришлыми – европеоидов (33 человека), лиц всех других национальностей, из которых русские составили 97,3%. В качестве контроля в работе использовалась выборка практически здоровых лиц, представленная жителями различных районов Республики Хакасии, хакасов (20 человек) и европеоидов (24 человека). В контрольной группе европеоидов определяли только содержание цитокинов (IL-4 и IL-10) в сыворотке крови. Все входящие в группу контроля являлись неродственными индивидами. Средний возраст европеоидов был равен 39,98 года, хакасов – 38,19 года. Средний возраст у больных хакасов и пришлых не различался, они сравнивались между собой без стандартизации по возрасту. Результаты клинического осмотра регистрировались в стандартных анкетах, позволяющих фиксировать социальный статус, жалобы, генеалогическое исследование, анамнез и результаты объективного осмотра. Оценка аллергологического статуса проводилась по данным анамнеза, наличию атопических заболеваний, тестам кожных аллергических проб и уровню общего IgE сыворотки крови. Скарификационные кожные тесты с бытовыми, эпидермальными, пыльцевыми грибковыми аллергенами были проведены в соответствии с методическими указаниями. Изучение вентиляционной функции внешнего дыхания (ФВД) проведена с использованием спирографа фирмы Shiller (Германия).

Иммунологическое обследование включало определение субпопуляций лимфоцитов методом проточной цитофлуориметрии с помощью моноклональных антител фирмы «Orto Diagnostig» (США). Определяли субпопуляции Т-клеток, несущие поверхностные антигены CD3<sup>+</sup> (зрелые Т-клетки), CD4<sup>+</sup> (Т-хелперы), CD8<sup>+</sup> (цитотоксические Т-лимфоциты), рассчитывали иммунорегуляторный индекс (ИРИ) – соотношение CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>. Концентрацию иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG) сыворотки крови определяли методом радиальной иммунодиффузии по G. Mancini с помощью стандартных антииммуноглобулиновых сывороток. Содержание общего IgE сыворотки крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью стандартного набора реагентов «Вектор-Бест», Новосибирск. Результаты выражали в международных единицах на миллилитр (МЕ/мл), за норму принимали концентрацию не более 100 МЕ/мл.

Содержание цитокинов IL-4 и IL-10 в сыворотке крови определяли с помощью меченых моноклональных и поликлональных антител («R&D Systems», США) методом электрохемилюминесценции с использованием прибора «Origen Analyzer» фирмы IGEN (США) и реагентов, приготовленных согласно протоколам [2]. Статистический анализ проводился с помощью пакета программ «Statistica for Windows 5.0» и компьютерной программы MegaStat Microsoft Excel. Данные представлены в виде  $X \pm SE$ , где  $X$  – среднее арифметическое,  $SE$  – ошибка среднего, с использованием непараметрических критериев Вилкоксона, Манна–Уитни.

## Результаты и обсуждение

Результаты изучения иммунологических показателей больных БА и здоровых лиц представлены в таблице 1. При сравнении иммунологических показателей у больных БА и здоровых лиц хакасской этнической принадлежности выявлены следующие различия. Соотношение субпопуляций Т-лимфоцитов у хакасов, больных БА, в отличие от здоровых изменено в сторону увеличения содержания CD4<sup>+</sup> клеток-хелперов и снижения CD8<sup>+</sup> клеток, что, соответственно, приводит к увеличению ИРИ. У больных БА хакасов, в отличие от здоровых, отмечен дефицит НК-клеток (CD56<sup>+</sup>). Известно, что НК-клетки оказывают важную роль в регуляции воспалительного процесса и являются главными защитниками организма от микроорганизмов на стадии раннего ответа [5]. Дефицит НК-клеток может приводить к развитию острых респираторных инфекций, которые, как известно, индуцируют обострение воспалительного процесса у больных БА. Содержание В-лимфоцитов (CD22<sup>+</sup>) выше у больных БА хакасов в отличие от здоровых. Причем более выраженное повышение В-лимфоцитов отмечено у больных с тяжелым течением заболевания. Отмечено изменение содержания иммуноглобулинов в сыворотке крови у больных БА хакасов: достоверно увеличено содержание IgA, IgM и IgG, а концентрация IgE у больных БА значительно превышала значения в контрольной группе. Таким образом, изменения, выявленные у больных БА хакасов, соответствуют современным представлениям о том, что при БА наблюдается избыточная активация В-лимфоцитов и развитие IgE-опосредованных реакций. Сравнительный анализ иммунологических показателей у больных БА европеоидов и хакасов выявил следующие изменения. Содержание CD3<sup>+</sup>Т-лимфоцитов было ниже в группе больных БА европеоидов в отличие от

хакасов с БА. У последних этот показатель также существенно ниже, чем у здоровых (различия между группами не достигают достоверных значений). Количество CD8<sup>+</sup>Т-лимфоцитов у больных БА европеоидов также ниже в отличие от лиц хакасской этнической принадлежности с БА, а у последних снижено в отличие от здоровых. Известно, что уменьшение количества лимфоцитов является одним из проявлений иммунореактивности. Это происходит как реализация естественной биологической программы апоптоза и ее интенсификации, так и в результате непосредственного воздействия повреждающего фактора, приводящего, как правило, к гибели клеток. Реализация этих механизмов приводит к изменению количества клеток, обеспечивающих иммунореактивность, и прежде всего субпопуляций Т-лимфоцитов. Показатели гуморального иммунитета – концентрация IgA и IgE в сыворотке крови у больных БА хакасов – регистрировались достоверно выше в отличие от больных БА европеоидов. Анализируемые группы больных различаются между собой по содержанию отдельных субпопуляций лимфоцитов ПК, иммуноглобулинов различных классов. Вместе с тем отмечаются и общие закономерности в изменениях иммунологических показателей у больных БА хакасов и европеоидов. Значительное увеличение показателей концентрации IgE в сыворотке крови отмечается и у больных БА хакасов, и у европеоидов. Сывороточный уровень цитокинов IL-4 и IL-10 представлен в таблице 2. Исследование цитокинового профиля в сыворотке крови хакасов, больных БА, выявило повышение среднего уровня IL-4 в отличие от группы контроля и группы европеоидов с БА. У европеоидов, больных БА, наблюдается тенденция к увеличению концентрации IL-4, хотя достоверных различий со здоровыми не отмечалось. Средний уровень IL-10 у больных БА европеоидов превышал значения у хакасов с БА. Отмечается достоверное увеличение IL-10 в группе хакасов с БА в отличие от группы контроля. Также значительное увеличение уровня IL-10 в сыворотке крови отмечалось в группе европеоидов с БА в отличие от группы здоровых. Можно заключить, что у больных БА хакасов выявлены типичные для атопических заболеваний изменения в содержании цитокинов IL-4 и IL-10, согласующиеся с повышенной концентрацией IgE. Вместе с тем у больных хакасской этнической принадлежности выявлены некоторые особенности в содержании критических цитокинов аллергического воспаления в отличие от больных БА европеоидов. Уровень исследуемых цитокинов в зависимости

ТАБЛИЦА 1. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И ЗДОРОВЫХ ЛИЦ

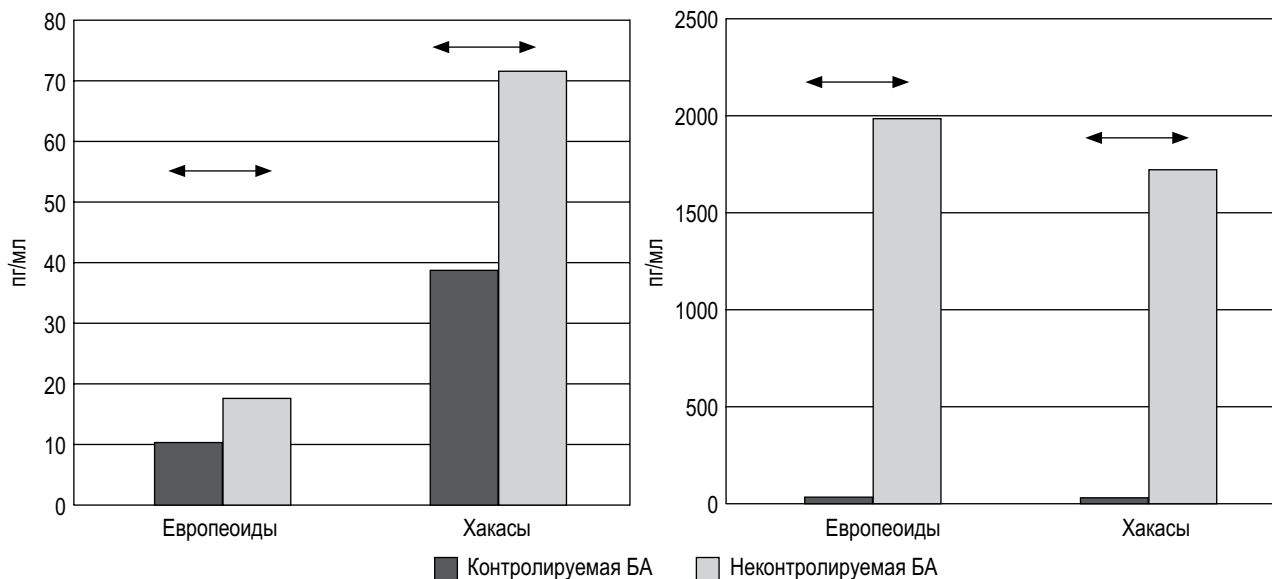
Показатели	Европеоиды		Хакасы	
	с БА (n = 25)	без БА (n = 31)	с БА (n = 32)	без БА (n = 20)
Лейкоциты, тыс./мкл.	5,55±0,83*		7,16±1,58**	6,65±0,25
<b>Лимфоциты</b>				
%	45,48±3,27		44,52±2,3	31,01±1,56
тыс./мкл.	1,967±0,02		1,925±0,04	1,621±0,052
<b>CD3+</b>				
%	64,8±1,75*		67,54±1,58	76,73±1,04
тыс./мкл.	1,132±0,056*		1,180±0,12	1,341±0,054
<b>CD4+</b>				
%	50,13±1,45		53,18±1,95**	42,0±1,41
тыс./мкл.	3,346±0,51		3,349±0,40	2,645±0,26
<b>CD8+</b>				
%	12,4±0,85*		15,72±1,5**	28,73±1,02
тыс./мкл.	1,748±0,05*		2,217±0,66**	2,641±0,321
<b>CD22+</b>				
%	13,13±0,45		14,18±0,77**	12,8±0,65
тыс./мкл.	0,182±0,002		0,197±0,01**	0,178±0,002
<b>CD56</b>				
%	9,2±0,56		8,86±0,84**	13,27±1,04
тыс./мкл.	0,184±0,01		0,177±0,003	0,265±0,02
ИРИ	3,62±0,31		3,36±0,42**	1,46±0,02
IgA, г/л	2,34±0,09*		2,85±0,16**	2,56±0,08
IgM, г/л	1,37±0,045		2,24±0,77**	1,65±0,05
IgG, г/л	13,45±0,52		15,55±0,58**	14,92±0,41
	<b>n = 33</b>	<b>n = 31</b>	<b>n = 46</b>	<b>n = 21</b>
IgE, ME/ml	311,70±56,84*		448,32±31,72**	75,50±12,61

**Примечание.** \* – достоверные различия между европеоидами с БА и хакасами с БА (p < 0,05); \*\* – различия между хакасами с БА и хакасами без БА (p < 0,05).

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ IL-4 И IL-10 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЕВРОПЕОИДОВ И ХАКАСОВ, БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ, И ЗДОРОВЫХ

Показатели	Европеоиды		Хакасы	
	с БА (n = 33)	без БА (n = 31)	с БА (n = 46)	без БА (n = 21)
IL-4	30,49±9,96*	24,63±7,34	60,78±14,65**	19,41±5,12
IL-10	1436,57±324,51**	40,94±12,72	1383,5±355,44**	63,55±14,23

**Примечание.** \* – достоверность различия между европеоидами с БА и хакасами с БА (p < 0,05); \*\* – различия между хакасами с БА и хакасами без БА (p < 0,05); \* – различия между европеоидами с БА и европеоидами без БА (p < 0,05).



**Рисунок 1. Сывороточные уровни IL-4 (А) и IL-10 (Б) при контролируемом ИГКС и неконтролируемом течении БА у европеоидов и хакасов**

**Примечание.** Стрелками обозначена достоверность различия между европеоидами с БА и хакасами с БА ( $p < 0,05$ ).

от течения на фоне лечения ингаляционными глюкокортикостероидами (ИГКС) проанализирован на рисунке 1. На фоне проводимой фармакотерапии сывороточные концентрации цитокинов IL-4 и IL-10 в группах больных коренной и пришлой национальности с контролируемым течением БА достоверно снижаются и достигают значений, не отличающихся от значений у здоровых доноров. Проводимая фармакотерапия обуславливает снижение уровня IL-4 и IL-10 в этих группах обследуемых.

Таким образом, у больных БА хакасов в отличие от здоровых выявлены изменения системного иммунитета: дисбаланс в содержании CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> субпопуляций лимфоцитов ПК, снижение CD56<sup>+</sup> клеток, увеличение содержания В-лимфоцитов (CD22<sup>+</sup>) и иммуноглобулинов основных классов (А, М, G, Е) в сыворотке крови. Лица хакасской этнической принадлежности, страдающие БА, в отличие от больных БА европеоидов характеризуются повышением содержания CD3<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> лимфоцитов ПК и концентрации иммуноглобулинов А и Е в сыворотке крови. Общей закономерностью в содержании цитокинов сыворотки крови у больных БА хакасов и европеоидов является повышение концентрации IL-10 в отличие от контроля, а различием — увеличение концентрации IL-4 и снижение IL-10 между больными БА хакасами и европеоидами. Сывороточные уровни IL-4 и IL-10 на фоне применения ИГКС у больных БА хакасов и европеоидов снижались до значений у здоровых лиц.

## Список литературы

1. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. — СПб.: Фолиант, 2008. — 552 с.
2. Крысов С.В., Курамшин Д.Х., Силков А.Н., Сенников С.В., Козлов В.А. Использование электрохемилюминесцентного метода для количественного определения цитокинов в различных средах // Клиническая лабораторная диагностика. — 2000. — № 12. — С. 39-43.
3. Стригин В.М., Колесников А.П. Клеточный иммунитет и уровень циклонуклеотидов в иммунорегуляторных клетках больных бронхиальной астмой и хроническим бронхитом // Терапевтический архив. — 1997. — № 1. — С. 72-75.
4. Чучалин А.Г. Бронхиальная астма. — М.: Агар. — 1997. — Т. 1. — 400 с.
5. Хайтов Р.М., Пинегин Б.В. Современные представления о защите организма от инфекции // Иммунология. — 2000. — № 1. — С. 61-65.
6. Barnes P.J. Cytokine modulators as novel therapies for asthma // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. — 2002. — Vol. 42. — С. 81-98.
7. Esnault S., Benbernou N., Lavaud F., Shin H.C., Potron G., Guenounou M. Differential spontaneous expression of mRNA for IL-4, IL-10, IL-13, IL-2 and IFN-gamma in peripheral blood mononuclear cells from atopic patients // J. Clin. Exp. Immunol. — 1996. — Vol. 103. — С. 111-118.
8. Deniz G., Akdiss M., Blaser K. Human natural cell subsets cytokine pattern and IgE regulation // Allergy. — 1999. — Vol. 54 (suppl. 57). — С. 840-851.
9. Durha S.D. Allergic inflammation cellular aspects // Ibid. (suppl. 56). — С. 18-20.

10. Hershey G.K., Friedrich M.F., Esswein L.A., Thomas M.L., Chatila T.A. The association of atopy with again of function mutation in the alpha subunit of the interleukin-4 receptor // New Engl. J. Med. – 1997. – Vol. 337. – С. 1720-1725.

11. Masoli M., Fabian D., Holt S., Beasley R. Global Initiative for Asthma (GINA) Program // Allergy. – 2007. – Vol. 62. – С. 213-215.

12. Oettgen H.C., Geha R.S. IgE in asthma and atopy: cellular and molecular connections // The J. Clin. Invest. – 1999. – Vol. 104. – С. 829-835.

*поступила в редакцию 03.11.2008*

*отправлена на доработку 28.11.2008*

*принята к печати 04.12.2008*