

ПАТОГЕНЕЗ, ДИАГНОСТИКА И ИММУНОТЕРАПИЯ ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

ИММУНОДЕФИЦИТЫ

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК МЕТОДОМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОФЛЮОРИМЕТРИИ ПРИ ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ У ДЕТЕЙ

**Агафонова Е. В., Велижинская Т.А.,
Ситкина К.В., Крайнова Н.В.**

*Казанский государственный медицинский
университет;
Республиканская клиническая больница № 2, Россия*

Новые возможности в оптимизации диагностики иммунопатологических состояний открывает метод проточной цитофлюориметрии (МПЦ) с использованием двух и трехпараметрического анализа, позволяющий максимально корректно определять популяции и субпопуляции иммунокомпетентных клеток, выделять типы лимфоцитов в пределах определенных популяций, дифференцированно оценивать активацию иммунокомпетентных клеток.

Цель работы – оценка нарушений иммунологической реактивности с использованием МПЦ при иммунопатологических состояниях (ИПС) у детей. Исследования проводились при ИПС, ассоциированных с инфекционным (хронические гастродуодениты, ассоциированные с *Helicobacter pylori*, хронические холецистохолангиты (N=44), хронические пиелонефриты (n=15) и атопическим – атопический дерматит (А/Д, n=45) синдромами. Выделялась группа детей с ИПС, осложненными вторичной иммунологической недостаточностью (ВИН). ВИН (индуцированная) формировалась на фоне длительного течения инфекционного/атопического синдромов и клинически проявлялась: кандидозной инфекцией (кожи или висцеральной), пиодермией, синдромом повышенной частоты респираторно-вирусных инфекций, полиорганностью инфекционного синдрома. Иммунофенотипирование проводилось с использованием МКАТ «Becton Dickinson» (USA) на проточном цитофлюориметре «FacsCalibur», оснащенном двумя лазерами, с применением двух и трехпараметрического анализа. Использовались реагенты «Multitest» «Simulset» «IMK Plus Kit». Определялись популяции и субпопуляции ИКК – CD3⁺CD19⁻ Т-лимфоциты, CD3⁺CD4⁺ – истинные Т-хелперы, CD3⁺CD19⁺ В-лимфоциты, CD16/56⁺CD3⁻ NK клетки, без учета Т-лимфоцитов с экспрессией CD16, CD3⁺CD8⁺ – цитотоксические Т-лимфоциты, CD3⁺CD8⁺ – NK-подобные клетки, CD3⁺CD19⁺ – В1 (минорная популяция В лимфоцитов), CD3⁺CD16/56⁻NKT клетки, CD3⁺CD4⁺CD8⁺, CD4⁺CD8⁺ – незрелые Т-лимфоциты (минорные популяции). Определялась экспрессия маркеров активации – CD95, CD25⁺, HLADR⁺, CD69⁺ – выделялись маркеры «ранней» и «поздней», «негативной» и «позитивной» активации.

У детей с ВИН во всех группах отмечено достоверное снижение содержания CD3⁺CD19⁻ лимфоцитов – относительное в 45,7%, абсолютное в 55,8% – на фоне лейко-

и лимфопении и CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов (относительное в 65%, абсолютное в 48,6%). В 12,5% у детей с ИПС отмечен повышенный уровень CD3⁺CD4⁺ (> 45%), преимущественно при неосложненных формах ИПС. В 27,5% в циркуляции присутствовали клетки коэкспрессирующие CD4⁺CD8⁺ антигены (двойные позитивные, CD4⁺CD8⁺), преимущественно при формировании ВИН (соответственно при неосложненных формах в 5,6%). В 12,8% отмечено присутствие в циркуляции CD3⁺CD4⁺CD8⁻ (двойные негативные) в группе осложненных форм ИПС. При тяжелом течении А/Д с формированием осложненных форм (пиодермия, кандидозная инфекция) в 22,6% в циркуляции присутствовали CD3⁺CD4⁺CD8⁻. Содержание В лимфоцитов (CD19⁺CD3⁻) было повышено в 22,5% (как относительные, так и абсолютные значения). В 45,5% отмечено повышение содержания CD5⁺CD19⁺ (В1), в основном при формировании дисиммуноглобулинемий с моноклональной активацией IgM. Повышение содержания CD3⁺CD16/56⁺ отмечено в 40% при ИПС, в 60,5% при ИПС, осложненных ВИН. В 29% отмечено повышение популяции NKT лимфоцитов (CD3⁺CD16/56⁺). Повышение содержания CD3⁺CD8⁺ отмечено у 45% детей, преимущественно при неосложненных формах, при осложненных формах преимущественно повышалась субпопуляция CD8⁺CD3⁻ (NK-подобные), что, по-видимому, является одной из причин неполноценных цитотоксических механизмов при формировании ВИН у детей. У детей с кандидозом отмечена повышенная экспрессия CD95⁺ (32,8%), что подтверждает повышенную готовность ИКК клеток к апоптозу. Таким образом, по нашему мнению, использование метода проточной цитофлюориметрии открывает новые возможности диагностики ВИН у детей.

СОДЕРЖАНИЕ СУБПОПУЛЯЦИЙ Т-ЛИМФОЦИТОВ У ДЕТЕЙ С ИММУНОДЕФИЦИТНЫМ СОСТОЯНИЕМ И АЛЛЕРГИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

Жукабаева С.С.

*Казахская государственная медицинская
академия, Астана, Казахстан*

Клинические наблюдения за детьми с аллергопатологией выявили их склонность к повторным вирусно-бактериальным инфекциям. Наслоение инфекции усугубляет течение аллергического процесса, создает условия для расширения спектра сенсибилизации, способствуя тем самым ранней хронизации аллергических заболеваний и инвалидизации больных [О.П. Гурина с соавт., 2003].

Нарушения иммунитета в виде изменений процессов дифференцировки иммунорегуляторных Т-лимфоцитов, гиперпродукции IgE, снижения выработки IgA определя-

ют иммунный профиль пациентов с атопией и, скорее всего, обусловлены генетическими факторами [Л.Ф. Чернецова с соавт., 1999]. В связи с изложенным представляется важным изучение иммунопатологических механизмов, имеющих место у детей с иммунодефицитами, тяжесть течения заболеваний у которых усугубляется наличием сопутствующей аллергической патологии.

Цель работы – изучить изменения Т-клеточного звена иммунитета у детей с иммунодефицитным состоянием и аллергическим синдромом разных возрастных групп.

Материал и методы. Оценка иммунного статуса проведена в трех возрастных группах детей с иммунодефицитным состоянием и аллергическим синдромом (хронический аллергический ринит в фазе обострения и бронхиальная астма смешанного типа): 1 группа – 32 ребенка в возрасте от 1 до 5 лет; 2 группа – 42 детей в возрасте 6-11 лет и 3 группа – 30 детей в возрасте 12-15 лет. Определяли общее содержание лейкоцитов и лимфоцитов периферической крови. Лимфоциты выделяли на градиенте плотности фиколл – верографин $\rho=1,077$ г/мл (Воуп А, 1968). Субпопуляционный анализ лимфоцитов изучали методом непрямой мембранной иммуофлюоресценции (Филатов А.В., 1992) по методике, модифицированной НИИ иммунологии Минздрава РФ с применением панели моноклональных антител к поверхностным антигенам лимфоцитов (НПО «Сорбент», Москва, РФ), позволяющим идентифицировать основные субпопуляции лимфоцитов периферической крови, как в процентном их соотношении, так и в пересчете на абсолютные показатели. Определяли зрелые лимфоциты ($CD3^+$), Т-хелперы ($CD4^+$), Т-клетки с цитотоксической и супрессорной активностью ($CD8^+$), регуляторный индекс (отношение $CD4^+/CD8^+$).

Результаты и обсуждение. Содержание общего числа лейкоцитов крови в группе детей в возрасте 1,7-5 лет было в пределах нормы ($8,29 \pm 1,59 \times 10^9$ /л, в контроле – $7,6 \pm 1,7 \times 10^9$ /л). Относительное ($39,41 \pm 8,76\%$, в контроле $54 \pm 8,2\%$) содержание лимфоцитов достоверно не различалось с нормой, но достоверные ($P < 0,001$) различия получены при сопоставлении абсолютного ($3,31 \pm 1,1 \times 10^9$ /л, в контроле $6,59 \pm 1,04 \times 10^9$ /л) количества лимфоцитов периферической крови.

Отмечалась низкая экспрессия $CD3^+$ – общего популяционного маркера Т-лимфоцитов, представляющего собой сигнальный комплекс, связанный с Т-клеточным рецептором: относительное количество существенно не отличалось от контроля ($44,29 \pm 5,57\%$, в контроле – $39,0 \pm 5,26\%$), но абсолютное ($1,445 \pm 0,490 \times 10^9$ /л, в контроле – $2,569 \pm 0,463 \times 10^9$ /л, при $P < 0,05$) количество было достоверно снижено. По мнению одних авторов, это является отражением дефекта Т-клеточного звена иммунитета [В.Т. Ивашкин и соавт., 2001], по мнению других – отражением мобилизации иммунной системы с преобладанием молодых, незрелых форм Т-лимфоцитов, еще не экспрессирующих $CD3$, но экспрессирующих клеточные рецепторы для комплекса антигенов МНС I класса ($CD8^+$) или антигенов МНС II класса ($CD4^+$) [G.R. Pape et al., 1999]. В пользу первого мнения свидетельствует одновременное снижение $CD4^+$ лимфоцитов.

Относительное содержание $CD4^+$ клеток (Т-хелперов) было примерно таким же ($37,29 \pm 3,34\%$), как в контроле ($38 \pm 3,15\%$), но их абсолютное содержание было в 2 раза ниже нормы ($0,1210 \pm 0,365 \times 10^9$ /л, в контроле – $0,2503 \pm 0,344 \times 10^9$ /л, при $P < 0,001$).

Относительное содержание $CD8^+$ клеток (Т-клетки с цитотоксической и супрессорной активностью) также не различалось с контролем ($26 \pm 2,7\%$, в контроле – $22 \pm 2,5\%$), но абсолютное ($0,852 \pm 0,288 \times 10^9$ /л, в контроле – $1,449 \pm 0,272 \times 10^9$ /л, при $P < 0,05$) было достоверно снижено.

Иммунорегуляторный индекс ($CD4^+/CD8^+$) у детей с иммунодефицитом и аллергическим синдромом был снижен ($1,42 \pm 0,31$, в контроле – $1,74 \pm 0,23$), но различия были не достоверными.

Содержание общего числа лейкоцитов крови в группе детей в возрасте 6-11 лет было в пределах нормы ($7,3 \pm 2,03 \times 10^9$ /л, в контроле – $7,6 \pm 1,69 \times 10^9$ /л). Относительное ($38,3 \pm 6,9\%$) и абсолютное ($2,7 \pm 0,58 \times 10^9$ /л) содержание лимфоцитов достоверно не различалось с нормой (в контроле $38 \pm 7,71\%$ и $2,84 \pm 0,73 \times 10^9$ /л).

Так же, как и в младшей возрастной группе, отмечалась низкая экспрессия $CD3^+$ – общего популяционного маркера Т-лимфоцитов: относительное количество было достоверно снижено ($44,2 \pm 6,6\%$, в контроле – $59,3 \pm 1,59\%$, $P < 0,001$), но абсолютное ($1236 \pm 334,8 \times 10^9$ /л, в контроле – $1167,1 \pm 128,5 \times 10^9$ /л) достоверно не различалось.

Отмечалась тенденция к снижению относительно ($35,1 \pm 5,9\%$, в контроле $43,3 \pm 1,9\%$) содержания $CD4^+$ клеток (Т-хелперов), хотя показатели абсолютного содержания превышали норму ($991,7 \pm 290,3 \times 10^9$ /л, в контроле – $528,7 \pm 46,9 \times 10^9$ /л, при $P > 0,05$), но различия были не достоверными. Сниженное относительное содержание $CD4^+$ клеток ($20-35\%$) выявлено у 60% детей с ИДС этой возрастной группы. Также установлена тенденция к снижению относительного ($24,64 \pm 5,2\%$, в контроле – $31,14 \pm 3,7\%$) содержания $CD8^+$ клеток при абсолютных показателях $699,6 \pm 250,3 \times 10^9$ /л, в контроле – $366,3 \pm 76,5 \times 10^9$ /л ($P > 0,05$). Снижение относительного содержания $CD8^+$ клеток до 15-26% установлено у 66,6% больных. В 3-х случаях отмечалось повышение относительного содержания $CD8^+$ клеток до 35%.

Различий в показателях иммунорегуляторного индекса ($CD4^+/CD8^+$) ($1,32 \pm 0,31$, в контроле – $1,4 \pm 0,23$) не выявлено.

Содержание общего числа лейкоцитов крови в группе детей в возрасте 12-15 лет было в пределах нормы ($7,3 \pm 2,0 \times 10^9$ /л, в контроле – $7,6 \pm 1,7 \times 10^9$ /л). Относительное ($38,3 \pm 6,9\%$, в контроле $38,0 \pm 7,7\%$) и абсолютное ($2,7 \pm 0,58 \times 10^9$ /л, в контроле $2,8 \pm 0,7 \times 10^9$ /л) количество лимфоцитов периферической крови лимфоцитов достоверно не различалось с нормой.

Отмечалась низкая экспрессия $CD3^+$ относительное количество было достоверно снижено ($44,8 \pm 3,18\%$, в контроле – $59,3 \pm 1,59\%$, $P < 0,001$), но абсолютное ($1177,5 \pm 136,8 \times 10^9$ /л, в контроле – $1167,1 \pm 128,5 \times 10^9$ /л) достоверно не различалось.

Установлена тенденция снижения относительного ($34,4 \pm 3,0\%$, в контроле $43,3 \pm 1,9\%$) содержания $CD4^+$ клеток (Т-хелперов), абсолютное – $864,1 \pm 252,2 \times 10^9$ /л, в контроле – $528,7 \pm 46,9 \times 10^9$ /л ($P > 0,05$). Сниженное относительное содержание $CD4^+$ клеток ($24-36\%$) выявлено у 63,3% больных, лишь у 1 больного отмечалось повышение $CD4^+$ клеток до 50%.

Относительное содержание $CD8^+$ клеток (Т-клетки с цитотоксической активностью) также не различалось с контролем ($24,4 \pm 3,1\%$, в контроле – $31,14 \pm 3,7\%$), но абсолютное ($671,8 \pm 141,7 \times 10^9$ /л, в контроле – $366,3 \pm 76,5 \times 10^9$ /л, при $P < 0,05$) было достоверно сниже-

но. Снижение относительного содержания $CD8^+$ клеток до 13-25% установлено у 43,3% больных. В 3-х случаях отмечалось повышение относительного содержания $CD8^+$ клеток.

Различий в показателях иммунорегуляторного индекса ($CD4^+/CD8^+$) у детей этой возрастной группы не выявлено ($1,32 \pm 0,31$, в контроле – $1,4 \pm 0,23$).

Таким образом, в младшей возрастной группе детей с иммунодефицитным состоянием и аллергическим синдромом отмечается достоверное снижение зрелых Т-лимфоцитов, Т-хелперов, Т-клеток с цитотоксической и супрессорной активностью. У детей в возрасте 6-11 лет установлено достоверное снижение зрелых Т-лимфоцитов и тенденция к снижению Т-хелперов, Т-клеток с цитотоксической активностью. У детей пубертатного возраста (12-15 лет) выявлено достоверное снижение зрелых Т-лимфоцитов и Т-клеток с цитотоксической активностью.

Выявленные различия показателей иммунного статуса свидетельствуют о том, что одной из причин частого рецидивирования заболеваний верхних дыхательных путей у детей, имеющих сопутствующую аллергическую патологию, служит нарушение иммунологических механизмов регуляции иммунного ответа с вовлечением клеток $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$. Более выраженное снижение показателей клеточного иммунитета в группе детей в возрасте 1-5 лет объясняет высокую заболеваемость детей младшего возраста рецидивирующими респираторными и другими инфекциями.

ИЗМЕНЕНИЯ ИММУННОГО СТАТУСА У ДЕТЕЙ СО ВТОРИЧНЫМ ИММУНОДЕФИЦИТОМ И АЛЛЕРГИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Жукабаева С.С.

Казахская государственная медицинская академия, Астана, Казахстан

Клинические проявления вторичных иммунодефицитов чрезвычайно разнообразны и проявляются четырьмя основными синдромами: инфекционным, аллергическим, аутоиммунным и иммунопролиферативным. Аллергический синдром – это иммунопатологическое состояние как патогенетическая основа клинических проявлений аллергических заболеваний. Нарушения иммунитета в виде изменений процессов дифференцировки иммунорегуляторных Т-лимфоцитов, гиперпродукции IgE, снижения выработки IgA определяют иммунный профиль пациентов с атопией и, скорее всего, обусловлены генетическими факторами [Л.Ф. Чернецова и др., 1999]. Клиническими проявлениями аллергического синдрома являются аллергические заболевания.

Цель работы – провести сравнительный анализ изменений иммунного статуса у детей с иммунодефицитом и аллергическим синдромом: аллергическим ринитом и бронхиальной астмой, т.е. в зависимости от нозологии аллергического синдрома.

Материал и методы исследования. Иммунологическое исследование проведено в двух группах больных: 1-я группа – 49 детям с хроническим аллергическим ринитом в фазе обострения; 2-я группа – 53 детей с бронхиальной астмой. Средний возраст составил в 1-й группе $10,1 \pm 1,7$ года, во 2-ой – $9,4 \pm 2,3$ года. Для оценки иммунного статуса забор крови производился в количестве 7 мл (5 мл с гепарином и 2 мл без антикоагулянта). Определяли общее содержание лейкоцитов и лимфо-

цитов периферической крови. Лимфоциты выделяли на градиенте плотности фиколл – верографин $\rho = 1,077$ г/мл (Boym A, 1968). Субпопуляционный анализ лимфоцитов проводили методом непрямой мембранной иммунофлюоресценции (Филатов А.В., 1992) по методике, модифицированной НИИ иммунологии Минздрава РФ с применением панели моноклональных антител к поверхностным антигенам лимфоцитов (НПО «Сорбент», Москва, РФ), позволяющим идентифицировать основные субпопуляции лимфоцитов периферической крови как в процентном их соотношении, так и в пересчете на абсолютные показатели. Определяли зрелые лимфоциты $CD3^+$, Т- $CD4^+$, Т- $CD8^+$, $CD11^+$, $CD95^+$ (Fas, APO-1), натуральные киллеры $CD16^+$, $CD20^+$ (В-лимфоциты) и регуляторный индекс (отношение $CD4^+/CD8^+$).

Определение концентрации сывороточных иммуноглобулинов проводилось методом радиальной иммунодиффузии в геле по Mancini G (1965) с использованием набора антисывороток НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова (Москва). Функция фагоцитарной системы оценивалась в реакции фагоцитоза с латексом и в НСТ-тесте по методу Park B.N. (1968) в спонтанном и по Park B.N (1970) в стимулированном вариантах. В качестве неспецифического стимулятора использовали ЛПС *E. coli*.

Иммунограммы выполнены в лаборатории иммунологии и иммунодиагностики Научного центра гигиены и эпидемиологии Республики Казахстан.

Результат и обсуждение. Содержание общего числа лейкоцитов крови у детей в обеих группах было в пределах нормы ($7,3 \pm 2,03 \times 10^9$ /л и $7,2 \pm 1,8 \times 10^9$ /л). Относительное ($38,3 \pm 6,9\%$) и абсолютное ($2,7 \pm 0,58 \times 10^9$ /л) содержание лимфоцитов достоверно не различались ($38,3 \pm 6,4\%$ и $2,75 \pm 0,77 \times 10^9$ /л).

Достоверных различий относительного ($45,7 \pm 2,9\%$ и $42,1 \pm 8,37\%$, $P > 0,05$) и абсолютного ($1179,5 \pm 135,14 \times 10^6$ /л и $1101 \pm 345,74 \times 10^6$ /л, $P > 0,05$) содержания зрелых Т-лимфоцитов ($CD3^+$) не выявлено. Содержание Т-хелперов ($CD4^+$) также достоверно не различалось (относительное содержание $36,4 \pm 2,79\%$ и $33,63 \pm 6,1\%$, $P > 0,05$, абсолютное $918,27 \pm 112,1 \times 10^6$ /л и $887,7 \pm 273,5 \times 10^6$ /л, $P > 0,05$).

Относительное ($25,3 \pm 2,86\%$ и $23,84\%$, $P > 0,05$) и абсолютное ($676,47 \times 10^6$ /л, $679,5 \pm 224,7 \times 10^6$ /л, $P > 0,05$) содержание Т-супрессоров ($CD8^+$) у детей с аллергическим ринитом и бронхиальной астмой достоверно не различалось.

Количество $CD16^+$ клеток (NK и К-клетки) не различалось как по относительному ($22,4 \pm 3,17\%$ и $22,2 \pm 5,7\%$), так и по абсолютному ($601 \pm 123 \times 10^6$ /л и $602,9 \pm 230,4 \times 10^6$ /л), содержанию.

Сопоставление количества клеток, экспрессирующих рецепторы адгезии $CD11b^+$, достоверно не различалось: относительное содержание $CD11b^+$ клеток составило $9,0 \pm 0,33\%$ и $12,71 \pm 5,2\%$, абсолютное $295 \pm 11 \times 10^9$ /л и $385,01 \pm 160,1 \times 10^9$ /л, соответственно.

Содержание $CD25^+$ клеток, экспрессирующих рецептор к IL-2, также достоверно не различалось: процентное содержание ($11,63 \pm 1,72\%$ и $10,64 \pm 2,08\%$) и абсолютное ($330 \pm 101 \times 10^6$ /л и $346,9 \pm 117,1 \times 10^6$ /л).

У детей с бронхиальной астмой в сравнении с детьми с аллергическим ринитом отмечалось повышение в 2 раза относительного ($4,67 \pm 1,1\%$ и $9,46 \pm 3,8\%$) и абсолютного ($154,6 \pm 36 \times 10^6$ /л и $319,9 \pm 162,0 \times 10^6$ /л) содержания клеток, экспрессирующих Fas молекулы ($CD95^+$), т.е. готовых к апоптозу.

Относительное ($22,1 \pm 2,26\%$ и $18,6 \pm 5,8\%$) и абсолютное ($555,94 \pm 2,54 \times 10^6/\text{л}$ и $513,7 \pm 211,2 \times 10^6/\text{л}$) количество В-клеток в сравниваемых группах не различались. Достоверных различий в содержании иммуноглобулинов также не выявлено: уровень IgA – $1,4 \pm 0,96$ г/л и $2,65 \pm 1,25$ г/л, IgM – $1,4 \pm 0,4$ г/л и $1,26 \pm 0,56$ г/л, IgG – $20,1 \pm 8,3$ г/л и $14,24 \pm 4,4$ г/л.

Показатели фагоцитоза и кислородзависимого киллинга нейтрофилов в спонтанном и индуцированном липополисахаридом *E. coli* вариантах не отличались: спонтанный НСТ-тест $20,8 \pm 3,7\%$ и $24,1 \pm 5,38\%$, индуцированный $41,3 \pm 8,2\%$ и $42,49 \pm 8,5\%$, спонтанный фагоцитоз лактекса $18,7 \pm 4,3\%$ и $19,3 \pm 8,4\%$, индуцированный $39,5 \pm 6,31\%$ и $38,1 \pm 13,2\%$.

Продукция факторов MIF лимфоцитами в ответ на инкубацию с ФГА не отличались от контроля ($0,66 \pm 0,17$, в контроле $0,48 \pm 0,06$). Достоверных различий в содержании циркулирующих иммунных комплексов также не выявлено ($40,58 \pm 20,07$, в контроле $37,8 \pm 17,6$).

Таким образом, у больных с иммунодефицитным состоянием и аллергическим синдромом, проявляющимся бронхиальной астмой и аллергическим ринитом наблюдаются практически одинаковые изменения иммунного статуса, различия наблюдаются лишь в содержании клеток, экспрессирующих Fas молекулы ($CD95^+$), т.е. готовых к апоптозу.

ИММУНОКОРРЕГИРУЮЩАЯ ТЕРАПИЯ ФУКОИДАНОМ ПРИ ВТОРИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТАХ

Незговорев Д.В., Корниенко Е.Б., Щеголева Л.С., Добродеева Л.К.

Институт физиологии природных адаптаций УрО РАН, Архангельск, Россия

Введение. Получен эффект применения сульфатированного полисахарида ламинарии – фукоидана в комплексном лечении вторичных иммунодефицитов.

Цель. Изучить влияние препарата водорослевого происхождения на состояние иммунной системы человека на Севере.

Задачи. Выявить влияние препарата на активность фагоцитоза, содержание фенотипов лимфоцитов, содержание циркулирующих иммунных комплексов, цитокинов и иммуноглобулинов.

Материалы и методы. Обследовано 60 человек в возрасте 25-40 лет до и после курса иммунокоррекции фукоиданом, людей с синдромом хронической усталости. Фенотипирование лимфоцитов проводили моноклональными антителами в непрямои иммунопероксидазной реакции, содержание цитокинов и сывороточных Ig определяли в ИФА, ЦИК – в реакции флокуляции с ПЭГ 3,5%.

Результаты. В ходе иммунокоррекции фукоиданом было обнаружено увеличение активных фагоцитов у $69,23\%$ обследуемых (с $34,06 \pm 11,52$ до $72,10 \pm 7,45\%$), содержание Т- лимфоцитов с $CD3^+$ и $CD5^+$ рецепторами у $57,14$ и $52,36\%$ (с $0,98 \pm 0,18$ и $1,06 \pm 0,15$ до $1,30 \pm 0,06$ и $1,53 \pm 0,13 \times 10^9$ кл/л; $p < 0,05$), Т-хелперов у $71,42\%$ (с $0,52 \pm 0,25$ до $1,66 \pm 0,21 \times 10^9$ кл/л; $p < 0,001$), активированных лимфоцитов с рецепторами к интерлейкину-2 ($CD25^+$) у $36,85\%$ (с $0,63 \pm 0,18$ до $0,84 \pm 0,07 \times 10^9$ кл/л; $p < 0,05$) и трансферину ($CD71^+$) у $55,24\%$ (с $0,58 \pm 0,13$ до $0,73 \pm 0,17 \times 10^9$ кл/л; $p < 0,05$), а также клеток с маркерами к апоптозу ($CD95^+$) у $49,44\%$ (с $0,86 \pm 0,01$ до $1,23 \pm 0,09 \times 10^9$ кл/л; $p < 0,01$), увеличение концентрации

иммуноглобулина А фиксируется у $61,53\%$ обследуемых (с $0,74 \pm 0,13$ до $1,31 \pm 0,05$ г/л; $p < 0,01$), увеличение концентрации IFN γ фиксировалось у $65,89\%$ (с $0,98 \pm 0,37$ до $1,76 \pm 0,64$ пг/мл; $p < 0,01$). Снижение концентрации под действием фукоидана наблюдали у $63,62\%$ обследуемых людей в отношении естественных киллеров (с $1,02 \pm 0,17$ до $0,79 \pm 0,15 \times 10^9$ кл/л; $p < 0,05$), лимфоцитов с рецепторами к главному комплексу гистосовместимости класса II у $46,87\%$ (с $0,82 \pm 0,15$ до $0,61 \pm 0,15 \times 10^9$ кл/л; $p < 0,05$), В – лимфоцитов у $72,91\%$ (с $0,72 \pm 0,11$ до $0,49 \pm 0,04 \times 10^9$ кл/л; $p < 0,05$). Повышенные концентрации раково-эмбрионального антигена снижаются у $74,12\%$ (с $2,30 \pm 0,07$ до $1,42 \pm 0,19$ нг/мл; $p < 0,01$), фактора некроза опухоли – α (с $0,71 \pm 0,09$ до $0,38 \pm 0,08$ нг/мл; $p < 0,01$) у $52,36\%$ обследованных людей. Применение данного препарата привело к нормализации уровня ЦИК в крови (с $1,86 \pm 0,95$ до $1,36 \pm 0,72$ г/л; $p < 0,05$) у $56,15\%$ лиц, выявлено также снижению содержания реактинов и IgM в крови (с $1,91 \pm 0,29$ и $100,32 \pm 0,08$ до $1,71 \pm 0,16$ г/л и $80,02 \pm 0,04$ ед/мл; $p < 0,05$) у $46,51$ и $73,95\%$ обследуемых.

Заключение. Иммуностимулирующая способность сульфатированного полисахарида ламинарии – фукоидана проявляется повышением фагоцитарной и переваривающей активности нейтрофилов, активации Т- клеточных рецепторов лимфоцитов ($CD3^+$ и $CD5^+$), Т-хелперов, активированных клеток ($CD25^+$ и $CD71^+$), увеличением содержания IgA и IFN γ . Выявлено также снижение содержания В- лимфоцитов, раково-эмбрионального антигена, фактора некроза опухоли- α , ЦИК, IgE и IgM.

РОЛЬ КОРРЕЛЯЦИОННЫХ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ В ОЦЕНКЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ИММУННОЙ И ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ ДЕТЕЙ С ТИМОМЕГАЛИЕЙ

Халматова Б.Т.

Первый Ташкентский Государственный Медицинский институт, Ташкент, Узбекистан

Актуальность проблемы тимомегалии (ТМ) у детей обусловлена тем, что функциональные изменения гипофизарно-надпочечниковой системы могут привести к нарушению адаптационных возможностей у этого контингента детей и, как следствие этого, к частым респираторным инфекциям.

Целью нашего исследования было сопоставление данных иммунного статуса с концентрацией в крови кортизола и тироксина у детей с ТМ, переносящих острую бронхолегочную патологию.

С этой целью нами были определены показатели клеточного и гуморального иммунитета у 60 детей раннего возраста. У 50 детей рентгенологически и на ультразвуковом исследовании выявлено увеличение вилочковой железы. 10 детей без ТМ составили группу сравнения. Контрольную группу составили 10 «условно-здоровых» детей аналогичной возрастной группы. Субпопуляционный состав лимфоцитов в периферической крови определяли при помощи моноклональных антител к маркерам $CD3$, $CD4$, $CD8$, $CD16$, $CD20$, $CD25$, $CD38$, $CD95$. Определение концентрации IgA, IgM, IgG проводили методом радиальной иммунодиффузии (Manchini, 1969). Концентрацию кортизола и тироксина в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с помощью тест наборов «HUMAN ELISA» (фирма «HUMAN», Германия). Концентрацию того или иного гормона сопоставляли с величиной иммунологических показателей в том

же образце крови. 27 детям с ТМ после обследования проводилась иммунокоррекция препаратами Кипферон, суппозитории и Вобэнзим в течении 10 дней. Дети без ТМ получали традиционное лечение.

Статистическую обработку материала выполняли с использованием *t* критерия Стьюдента и корреляционного анализа. Результаты считали достоверными при $p < 0,05$.

Иммунологические и гормональные показатели детей с ТМ изучались в зависимости от нозологии. Для этого дети были разделены на 3 группы: дети с пневмонией ($n=28$); дети с острым обструктивным бронхитом (ООБ) ($n=16$); дети с простым бронхитом (ПБ) ($n=6$).

Фенотипический анализ лимфоцитов показал статистически значимое уменьшение относительного количества $CD3^+$ и $CD4^+$ у всех детей с ТМ, особенно выраженное у детей с ООБ ($p < 0,01$). У детей без ТМ было выявлено значительное увеличение количества $CD3^+$ -клеток ($p < 0,05$). Изучение состояния маркеров активации выявило его повышение у всех обследованных детей, но особенно выражены эти изменения у детей с ТМ при пневмонии ($p < 0,05$). Исследование гуморального звена иммунной системы установило снижение уровня IgA и IgM, особо выраженное у детей с ООБ. У детей без ТМ также выявлено снижение уровня основных иммуноглобулинов. Важным является тот факт, что у детей с ТМ даже после проведенной иммунокоррекции уровни IgA и IgM не достигают контрольных значений, тогда как у детей без ТМ организм восстанавливал уровень этих иммуноглобулинов без иммунокоррекции.

У детей с ПБ уровень кортизола был ниже, чем у детей с пневмонией ($p < 0,05$) и ООБ ($p > 0,05$). Данный факт указывает на то, что при тяжелом течении в процесс включаются не только иммунные, но и гормональные механизмы, обеспечивая выраженные глубокие изменения гомеостаза. Уровень тироксина у детей с ТМ лишь в 12% соответствовал контрольным значениям ($p < 0,05$). У остальных детей уровень тироксина был либо достоверно выше (24%), либо достоверно ниже (64%), чем в контроле.

Изучение корреляционных связей между гормонами и показателями иммунного статуса выявило, что сила корреляционных взаимосвязей зависит от нозологии. В разных группах состав корреляционных взаимосвязей был разным. Более устойчивые связи отмечены у детей с ТМ при ПБ, тогда как наименее устойчивые связи при пневмонии. При ООБ количество сильных положительных и сильных отрицательных взаимосвязей было одинаковым.

Применение у детей с ТМ Кипферона, суппозитории в сочетании с Вобэнзимом привело к улучшению иммунного статуса, повышению уровня кортизола и тироксина, а также к изменению направленности корреляционных взаимосвязей в сторону увеличения сильных положительных корреляций.

Таким образом, проведенные исследования показали, что при бронхолегочной патологии иммунный и гормональный статус детей с ТМ в зависимости от нозологии реагирует по-разному.