

УДК: 616-056.3: 612.017.1+576.8

## Некоторые иммунологические аспекты патогенеза аллергических заболеваний дыхательных путей с бактериальной сенсibilизацией

Н.И. Баранова, Б.А. Молотиллов

ГОУ ДПО Пензенский институт усовершенствования врачей Росздрава, 440060, г. Пенза, ул. Стасова 8а, Россия

## Immune aspects of pathogenesis of allergic diseases with bacterial sensitization

N.I. Baranova, E.M. Kostina

### Аннотация

Был проведен углубленный анализ состояния показателей иммунной системы у 188 больных АЗДП с бактериальной сенсibilизацией и 40 здоровых лиц. Не было выявлено существенных сдвигов в количестве CD3+, CD4+, CD20+, CD8+ клеток. Однако было установлено, что у больных АЗДП наблюдается достоверное снижение содержания в периферической крови NK-клеток, CD95+ клеток, вместе с тем отмечено повышение CD25+ активированных лимфоцитов и абсолютного содержания CD8+ клеток, общего Ig E. В цитокиновой иммунорегуляции у больных АЗДП по сравнению со здоровыми людьми выявлено: повышение ИЛ-1 и ИЛ-4 и снижение IFN- $\gamma$ . Таким образом, проведенное исследование дает основание полагать, что АЗДП с бактериальной сенсibilизацией – иммунопатологический процесс с преобладанием Th 2-зависимого ответа.

### Ключевые слова

Иммунный статус, дыхательные пути, бактериальная сенсibilизация.

В настоящее время во всем мире отмечается интенсивный рост аллергических заболеваний, профилактика и лечение которых является одной из наиболее значимых медико-социальных проблем для здравоохранения. Особое место занимают аллергические заболевания дыхательных путей (АЗДП), при которых ведущую роль играют процессы сенсibilизации к аллергенам бактерий. К числу таких заболеваний, в первую очередь, относятся аллергический ринит (АР) и бронхиальная астма (БА),

### Summary

A profound analysis of immune system indices of 188 patients with ADRT (allergic diseases of respiratory tract with bacterial sensitization) and of 40 healthy people has been carried out. Essential shifts in the amount of CD3+, CD4+, CD20+, CD8+ cells havenot been found. However, it was determined that patients with ADRT have certain reduction of content of NK-cells, CD95+ cells in peripheral blood. Alongside with this we have found out the increase of CD25+ activated lymphocytes and absolute content of CD8+ cells, and general Ig E. At cytokine immunoregulation patients with ADRT in comparison with healthy people showed: increase of IL-1 and IL-4 and reduction of IFN- $\gamma$ . Thus, carried out study suggests that ADRT with bacterial sensitization is an immunologic process with predominance of TH-2 dependent response.

### Key words

Immune status, respiratory tract, bacterial sensitization

на долю которой приходится от 70 до 90% всех случаев БА у взрослых [1, 2]. Установлена тесная взаимосвязь между этими заболеваниями, а именно, доказано, что у пациентов с АР в 4 раза выше риск развития БА [3, 4]. По данным клиники Института иммунологии, сочетанное течение этих заболеваний выявляется у 87% больных. По данным других исследований, АР предшествует БА или развивается одновременно с ней у 59-85% пациентов всех возрастных групп [5, 6]. Таким образом, АР и БА рас-

смастривают как заболевания, имеющие общие патогенетические механизмы развития.

В соответствии с современными представлениями, продукция Ig E и Ig G антител при иммунном ответе определяется хелперными CD4+ лимфоцитами, которые в результате распознавания антигена (аллергена) могут дифференцироваться в Th1 или Th2 типа. Th1 опосредованный вариант ответа приводит к снижению продукции Ig E – антител, Th2 клетки участвуют в запуске и поддержании продукции Ig E – антител.

Кроме того, в последние годы появились работы, в которых доказывается связь воспаления дыхательных путей у больных БА с повышенной экспрессией активационных маркеров на клетках лимфоидного ряда [7, 8]. Истинный смысл этих изменений, а тем более их роль в патогенезе БА остаются до конца не выясненными, хотя решение этого вопроса позволит наметить новые пути к лечению больных АЗДП с бактериальной сенсibilизацией. Поэтому изучение наиболее тонких механизмов иммунного ответа, включая определение Ig E-антител, маркеров активации на лимфоцитах, цитокинового профиля, выявление их взаимосвязей, позволит наиболее полно раскрыть механизмы АЗДП с бактериальной сенсibilизацией и в дальнейшем разработать наиболее оптимальные подходы к проведению методов иммунотерапии у данной категории больных.

#### *Цель исследования*

Изучение роли иммунных механизмов в патогенезе АЗДП с бактериальной сенсibilизацией для оценки механизмов патогенеза.

#### **Материалы и методы**

При выполнении данной работы было проведено обследование 188 больных АЗДП с бактериальной сенсibilизацией. Из них у 154 больных (81,9%) было сочетанное течение АР и БА. В качестве контрольной группы обследовано 40 практически здоровых лиц в возрасте от 18 до 56 лет, сопоставимых по полу и возрасту с группой больных. Диагноз БА и АР устанавливался на этапе предварительного обследования на основании клинических проявлений болезни, анамнестических данных, а также результатов аллерго-иммунологического обследования, которое включало сбор аллергоанамнеза, постановку внутрикожных проб с бактериальными аллергенами. Для постановки кожных проб использовали нативные бактериальные аллергены золотистого

стафилококка и нейссерии перфлава (Институт иммунологии МЗ России, г. Москва).

Микробиологическое обследование включало посевы биологического материала (мокрота, смывы из зева, со слизистой носоглотки) на наличие бактериальной микрофлоры.

Имунофенотипирование популяций и субпопуляций Т и В лимфоцитов проводили методом непрямой мембранной иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител серии ИКО производства ООО «Сорбент» (г. Москва). На поверхности лимфоцитов выделялись следующие дифференцировочные антигены: CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, активационные маркеры: HLA-DR, CD25, CD95 – рецептор, опосредующий сигнал к началу апоптоза и CD71.

Функциональное состояние Т-лимфоцитов оценивали при помощи РБТЛ по методу N.K.Ling и соавт. (1965). Кислородзависимый механизм килинга оценивали при помощи НСТ-теста, который заключался в подсчете нейтрофилов, восстановивших краситель в виде отложений диформазана. Результат выражали в %. Уровень цитокинов определяли методом твердофазного ИФА.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 6,0 на персональном компьютере. Достоверность параметрических исследований определялась по критерию Стьюдента. Достоверность различий корреляционного анализа проводили методом Спирмена [9, 10].

#### **Результаты и обсуждение**

Важность иммунологических механизмов в развитии АЗДП была показана нами в ранее опубликованных работах [11, 12]. Поэтому оценка показателей иммунного статуса больных АЗДП, обусловленных бактериальной сенсibilизацией, имело принципиальное значение для оценки механизмов патогенеза.

Теоретическими предпосылками для изучения особенностей состояния иммунной системы больных с АЗДП явились следующие:

- 1) развитие любого хронического воспалительного процесса обусловлено дисбалансом в показателях иммунной системы;
- 2) различные иммунопатогенетические механизмы аллергических заболеваний определяют характер и развитие болезни.

Результаты иммунологического обследования больных АЗДП представлено в таблицах 1, 2. Оценка полученных результатов проводилась в целом по группе.

**Таблица 1**  
**Показатели состояния клеточного звена иммунной системы у больных АЗДП**

Показатель	Здоровые		Больные АЗДП	
	Абсолют. число – 10 <sup>9</sup> /л	Относит. число (%)	Абсолют. число – 10 <sup>9</sup> /л	Относит. число(%)
CD3+ - кл.	1,10±0,03	65,0±0,60	1,10±0,10	63,0±1,10
CD4+ -кл.	0,76±0,05	45,00,90	0,80±0,09	45,0±1,0
CD8+ -кл.	0,28±0,04	27,00,70	0,46±0,05*	25,0±1,40
CD20+ -кл.	0,40±0,02	19,00,60	0,38±0,04	20,0±0,80
CD16+ -кл.	0,30±0,02	17,00,80	0,28±0,04	12,0±0,70*
(СД4/CD8)		1,6±0,30		1,8±0,20
CD25+ -кл., %		5,0±0,03		10,7±1,90*
CD71+ - кл., %		3,5±0,08		2,8±0,09
CD95+ - кл., %		42,5±1,0		17,4±3,50*
HLA-DR+ - кл., %		19,2±1,0		35,1±0,60*
НСТ спонт. (%)		8,2±0,59		6,0±0,38
стимул. (%)		64,7±0,70		56,0±0,50
РБТЛ с ФГА (%)		64,0±1,40		58,0±1,10
с Соп. А (%)		29,0±0,80		31,0±0,90

Примечание :\* – различие с контролем статистически значимо (p < 0,05)

Как видно из таблицы 1, все общепринятые параметры, отражающие состояние нейтрофильного фагоцитоза по данным НСТ-теста, функционального состояния Т-лимфоцитов по данным РБТЛ с ФГА и Соп А, а также относительного содержания в периферической крови различных субпопуляций лимфоцитов, кроме CD16+, CD25+, CD95+, у больных АЗДП статистически мало различались с аналогичными показателями здоровых людей. Однако частотный анализ различных видов изменений изучаемых показателей продемонстрировал выраженную иммунопатогенетическую гетерогенность изучаемых показателей. Существенное снижение относительного количества CD3+ клеток наблюдалось у 13% больных, CD4+ клеток – у 14%, CD8+ клеток у 15% больных, CD20+ клеток – у 18% больных. У 34% обследованных пациентов отмечалось повышение соотношения (СД4/CD8), что свидетельствовало о нарушении взаимодействия субпопуляций Т-лимфоцитов, участвующих в регуляции ответа иммунной системы на бактериальную инфекцию у больных АЗДП с бактериальной сенсibilизацией. Особое внимание обращало на себя снижение количества НК-клеток у больных по сравнению с группой здоровых (p<0,05). Этот факт свидетельствовал о напряжении защитной функ-

ции натуральных киллеров на фоне бактериальной инфекции. Однако при анализе абсолютного количества CD8+ -клеток было получено повышение данного показателя у больных по сравнению с контрольным показателем (p<0,05), что можно объяснить проявлением компенсаторных механизмов и увеличением количества Т-киллеров.

Несравненно большую информацию для установления отличительных признаков состояния иммунной системы при АЗДП по сравнению со здоровыми людьми дали тесты углубленной оценки маркеров активации на лимфоцитах. Данные, приведенные в таблице 1, свидетельствуют о выраженных нарушениях активационных маркеров у больных АЗДП. Так, изучение экспрессии раннего маркера активации CD25+ (рецептор к ИЛ-2) показало повышение этого показателя у больных АЗДП по сравнению с группой здоровых людей (p<0,05). Этот факт можно объяснить следующим образом: Т-лимфоциты с фенотипом CD4+CD25+ являются отдельной субпопуляцией Т-лимфоцитов, которая, обладая иммуносупрессивным действием, сдерживает аутоиммунную агрессию. Выявленное повышение уровня CD25+ - клеток может свидетельствовать о невозможности развития аутоиммунного воспаления в слизистой органов дыхания

у больных АЗДП с бактериальной сенсибилизацией. При анализе позднего маркера активации CD71+ (рецептор к трансферрину), который зависит от функционирования CD25+ рецептора, мы не нашли достоверных отличий в группе больных АЗДП по сравнению со здоровыми людьми. Интересные данные были получены при анализе экспрессии CD95+ (рецептор, опосредующий сигнал к началу апоптоза). Так, у большинства больных (79%) наблюдалось снижение относительного количества лимфоцитов, экспрессирующих этот рецептор по сравнению с группой здоровых лиц ( $p < 0,05$ ). Этот факт свидетельствовал о снижении потенциала лимфоцитов к апоптозу на фоне бактериальной инфекции у больных АЗДП в отличие от показателей здоровых лиц.

Анализ относительного количества HLA-DR+ -клеток, отражающих состояние презентации антигена Т-лимфоцитами, показал повышение данного параметра ( $p < 0,05$ ). Повышенная экспрессия антигенов HLA-DR+ на мембранах иммунокомпетентных клеток у пациентов АЗДП свидетельствует о наличии единого наследственного фактора риска для развития болезней органов дыхания, основой патогенеза которых является воспаление, индуцированное бактериальной инфекцией.

Показатели состояния гуморального звена иммунной системы (табл. 2) у больных АЗДП были изменены неравнозначно. В частности, на фоне выраженного увеличения уровней Ig A, Ig E ( $p < 0,05$ ), содержание остальных классов иммуноглобулинов (Ig M, Ig G) оста-

валось в среднем без изменений. Этот факт свидетельствовал о воспалительном процессе в дыхательных путях. Однако, принимая во внимание значительную величину дисперсии для показателя общего Ig E, был проведен дополнительный анализ данных в изучаемой группе больных АЗДП. Оказалось, что у большинства (73,8%) пациентов уровень Ig E был повышен ( $p < 0,05$ ). В 26,2% случаев содержание Ig E в сыворотке крови было нормальным, что подтверждает участие различных механизмов в развитии АЗДП с бактериальной сенсибилизацией.

Наиболее выраженными при АЗДП были нарушения в системе цитокиновой иммунорегуляции. Так, при низком уровне тестируемых Th1 лимфоцитов (ИЛ-2 и IFN- $\gamma$ ), показатели Th2 лимфоцитов (ИЛ-1, ИЛ-4) были достоверно повышены у больных АЗДП по сравнению с контрольными цифрами ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, проведенное исследование дает основание полагать, что АЗДП с бактериальной сенсибилизацией – иммунопатологический процесс с превалированием Th 2-зависимого ответа, отражением чего служит спектр изменений иммунного статуса больных:

- 1) снижение содержания в периферической крови NK клеток и экспрессии молекул апоптоза (CD95+), вместе с тем повышение CD25+ активированных лимфоцитов, абсолютного содержания CD8+ лимфоцитов и показателей общего IgE;
- 2) нарушение цитокиновой регуляции с повышением ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6 и снижением IFN- $\gamma$ .

**Таблица 2**  
**Результаты тестирования сывороточных факторов у больных АЗДП**

Показатели	Здоровые	Больные АЗДП
Ig G, г/л	10,30±0,50	10,200,40
Ig M, г/л	1,70±0,20	1,60±0,10
Ig A, г/л	1,80±0,10	2,80±0,60*
Ig E, МЕ/мл	44,70±3,20	123,80±21,60*
ИЛ-1, пг/мл	313,70±37,20	570,0±90,60*
ИЛ-2, Мед/мл	12,20±1,57	7,501,10
ИЛ-4, пг/мл	26,20±1,20	56,90±11,70*
ИЛ-6, МЕ/мл	31,20±5,40	39,403,30
IFN- $\gamma$ пг/мл	10,50±1,10	6,80±0,09*
ИЛ-12, пг/мл	11,20±1,80	10,50±1,50

Примечание :\* – различие с контролем статистически значимо ( $p < 0,05$ )

## Литература

1. Хаитов Р.М., Ильина Н.И. Аллергология. Клинические рекомендации. М.; 2006.
2. Oechling A. Бактериальная инфекция в этиологии бронхиальной астмы. Патолофизиол. и Экспер. терапия. 1999; 1: 6-11.
3. Crystal-Peters J, Neslusan C., Crown W.H. Treating allergic rhinitis in patients with comorbid asthma: the risk of asthma-related hospitalization and emergency department visit. *Allergy and Clin. Immunol.* 2002; 1: 57-62.
4. Minov J.B., Karadzinska-Bislumovska J., Ezova N. et al. Asthma and the upper airways. Paris: 22 Congress of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology, Allergy as a Global Problem (EAACI 2003). 2003: 114.
5. Вылегжанина Т.Г. Взаимосвязь аллергического ринита и бронхиальной астмы. *Consilium medicum*, 2001; 12: 36-42.
6. Лусс Л.В. Этиология, патогенез, проблемы диагностики и лечения аллергического ринита. *Русс. мед. журн.*, 2003; 11: 718-728.
7. Порядин Г.В., Салмаси Ж.М., Казимирский А.Н. Экспрессия поверхностных антигенов лимфоцитами больных латентной сенсibilизацией. Сб. тр. 5 конгресса «Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии». 2002; 269-280.
8. Gemon-Engesaeth V., Fagerhol M.K., Toda M. et al. Expression of activation markers and cytokine m. RNA by peripheral blood CD4 and CD8 T cells in atopic and nonatopic childhood asthma: effect of inhaled glucocorticoid therapy. *Pediatrics.* 2002, 2: 24.
9. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: МедиаСфера, 2002.
10. Юнкеров В.И., Григорьев С.Г. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований. СПб., 2002.
11. Баранова Н.И., Починина Н.К., Костина Е.М. Изучение маркеров активации на клетках под влиянием АСИТ бактериальными аллергенами у больных инфекционно-аллергическим ринитом. *Вестник оториноларингологии*, 2005; 6: 18-20.
12. Баранова Н.И., Молотилев Б.А., Костина Е.М. Изучение клинической и иммунологической эффективности при проведении различных видов иммунотерапии. *Российский аллергологический журнал*, 2007; 3: 30-34.

### Адрес авторов:

Баранова Надежда Ивановна – старший научный сотрудник ЦНИЛ, к.м.н. ГОУ ДПО ПИУВ Росздрава, г. Пенза.  
440060. г. Пенза, ул. Стасова, 8 А, ЦНИЛ Пензенский институт усовершенствования врачей; e-mail: giuv@sura.ru; тел.: 841-2 (43-43-57) (раб.); 841-2 (43-58-97) (приемная ректора- раб.); 841-2 (68-48-85) –дом.

Поступила 23.10.09 г.