

ОЦЕНКА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Е.Г. Асирян¹, Н.Д. Титова², Я.В. Соболевская³

¹ УО «Витебский государственный медицинский университет», г. Витебск, Беларусь

² ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», г. Минск, Беларусь

³ УЗ «Витебский областной детский клинический центр» Областная клиническая детская больница, г. Витебск, Беларусь

Цель работы. Изучение показателей иммунного статуса детей с бронхиальной астмой в зависимости от продолжительности заболевания.

Материалы и методы. В обследование включено 110 детей с atopической бронхиальной астмой в возрасте от 6 до 18 лет. Первая группа включала 37 детей, продолжительность заболевания менее трех лет. Вторая группа состояла из 73 пациентов, наблюдавшихся по поводу бронхиальной астмы более трех лет. В ходе работы изучали уровень $CD3^+$, $CD4^+$, $CD4^+CD25^+$ Т-лимфоцитов, $CD19^+$, $CD19^+CD23^{++}$ В-лимфоцитов, $CD203c^+$, $CD203c^+CD63^+$, $CD203c^+IgE^+$ базофилов.

Результаты. В ходе исследования установлено, что абсолютный уровень $CD3^+$ Т-лимфоцитов и $CD19^+$ В-лимфоцитов у детей с длительностью заболевания более трех лет статистически значимо ниже ($p < 0,05$). Относительный и абсолютный уровень $CD19^+CD23^{++}$ В-лимфоцитов достоверно выше у детей с бронхиальной астмой в обеих группах, чем в контрольной группе ($p < 0,01$). Относительный уровень $CD203c^+CD63^+$ базофилов статистически значимо выше у детей с продолжительностью заболевания более трех лет ($p < 0,05$). Абсолютный уровень этого показателя, а также относительный и абсолютный уровень $CD203c^+IgE^+$ базофилов в обеих группах детей с бронхиальной астмой достоверно выше, чем у детей контрольной группы, не имеющих аллергических заболеваний ($p < 0,05$).

Заключение. Выявлены особенности иммунного статуса у детей с бронхиальной астмой в зависимости от продолжительности заболевания.

Ключевые слова: астма, дети, лимфоциты, базофилы.

Evaluation of immunological indicators in children with asthma in dependence on the duration of the disease

E.G. Asiryanyan¹, N.D. Titova², Ya.V. Sobolevskaya³

¹ Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus

² Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Belarus

³ «Vitebsk Regional Children's Clinical Center» Regional Clinical Children's Hospital, Vitebsk, Belarus

The purpose of the study is to study the indices of the immune status of children with bronchial asthma, depending on the duration of the disease.

Materials and methods. The examination included 110 children with atopical bronchial asthma aged 6 to 18 years. The first group included 37 children, the duration of the disease is less than three years. The second group consisted of 73 patients, observed for bronchial asthma for more than three years. In the course of the study, the levels of $CD3^+$, $CD4^+$, $CD4^+CD25^+$ T-lymphocytes, $CD19^+$, $CD19^+CD23^{++}$ B-lymphocytes, $CD203c^+$, $CD203c^+CD63^+$, $CD203c^+IgE^+$ basophils were studied.

Results. The study found that the absolute level of $CD3^+$ T-lymphocytes and $CD19^+$ B-lymphocytes in children with a disease duration of more than three years was statistically significantly lower ($p < 0.05$). The relative and absolute levels of $CD19^+CD23^{++}$ B-lymphocytes are significantly higher in children with bronchial asthma in both groups than in the control group ($p < 0.01$). The relative level of $CD203c^+CD63^+$ basophils is statistically significantly higher in children with a disease duration of more than three years ($p < 0.05$). The absolute level of this indicator, as well as the relative and absolute level of $CD203c^+IgE^+$ basophils in both groups of children with bronchial asthma is significantly higher than in the control group children who do not have allergic diseases ($p < 0.05$).

The conclusion. The features of the immune status in children with bronchial asthma are revealed depending on the duration of the disease.

Keywords: asthma, children, lymphocytes, basophils.

ВВЕДЕНИЕ

Бронхиальная астма (БА) является одним из самых распространенных хронических заболеваний органов дыхания во всем мире. Согласно имеющимся данным, около 235 млн человек страдает от этой патологии [1]. А к 2025 году, учитывая стремительно нарастающую урбанизацию, количество пациентов с БА может увеличиться еще на 100 млн [2]. Каждый год в мире от бронхиальной астмы умирает около 250 000 человек. В Российской Федерации отмечается высокая смертность от БА – 28,6 случаев на 100 000 населения [2–4].

Эта патология входит в десятку заболеваний, наиболее часто являющихся причиной инвалидности среди взрослых пациентов, поражающая от 1 до 18% населения в разных странах мира [5]. По данным Российской ассоциации аллергологов и клинических иммунологов, в настоящее время наблюдается неуклонная тенденция роста числа пациентов с бронхиальной астмой. Это способствует повышению интереса к проблемам детской аллергологии, увеличению количества исследований и публикаций по данной проблеме [6].

Бронхиальная астма (БА) является хроническим воспалительным заболеванием, при котором наблюдается обратимая обструкция бронхов, приводящая к приступам удушья. Данная симптоматика заболевания развивается вследствие гиперреактивности бронхов в ответ на действие аллергенов или неспецифических факторов [7, 8]. Морфологической основой гиперреактивности бронхиального дерева у пациентов с бронхиальной астмой является хроническое аллергическое воспаление, в котором участвует иммунная система [9]. В основе патогенеза бронхиальной астмы лежит нарушение функции иммунной системы, развивающееся вследствие недостаточности механизмов регуляции иммунного ответа.

В настоящее время в литературе представлено большое количество разнообразной информации о значении Т-лимфоцитов в патогенезе бронхиальной астмы, ряд научных данных применяется в практическом здравоохранении. Сохраняется представление о ведущей роли дисбаланса в системе Т-лимфоцитов с преобладанием Th2-хелперного ответа над Th1 в патогенезе бронхиальной астмы. У пациентов с аллергической бронхиальной астмой CD4⁺ клетки в основном

секретируют IL-4, IL-5, IL-9 и IL-13, которые имеют большое значение в прогрессировании этого заболевания. Эти интерлейкины способствуют росту, дифференцировке и привлечению эозинофилов, базофилов, тучных клеток, а также продукции В-лимфоцитами IgE [10, 11]. Т-лимфоциты и В-лимфоциты играют значительную роль в развитии аллергической бронхиальной астмы. В-лимфоциты были обнаружены вблизи крупных дыхательных путей через 24 часа после контакта с аллергеном. Можно сделать вывод, что В-лимфоциты могут спровоцировать астматический ответ без действия Т-лимфоцитов и без значительного участия IgE [12]. Изучение иммунного статуса у пациентов с бронхиальной астмой позволит расширить знания о патогенезе заболевания, что необходимо для выбора адекватной терапии и разработки мер профилактики и лечения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ходе нашей работы обследовано 110 детей с atopической бронхиальной астмой в возрасте от 6 до 18 лет. Диагноз заболевания подтвержден данными анамнеза, клинической картиной заболевания, результатами аллергологических и инструментальных исследований. В проведении терапии бронхиальной астмы использовали международные рекомендации обследования и лечения детей с бронхиальной астмой.

При обследовании детей изучали показатели иммунного статуса. При фенотипировании лимфоцитов устанавливали уровень клеток, несущих на своей поверхности CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺CD25⁺, CD19⁺, CD19⁺CD23⁺⁺ рецепторы. При изучении особенностей фенотипа базофилов определяли уровень клеток, несущих CD203c⁺, CD203c⁺CD63⁺, CD203c⁺IgE⁺ рецепторы.

Фенотипирование клеток проводили на точном цитометре Cytomics FC 500 (Beckman Coulter Inc., США). В ходе работы использовали моноклональные антитела производства ОДО «НИКП РЕСАН», Беларусь. Для лизиса эритроцитов использовали лизирующий раствор OptiLyse C.

Для обработки полученных данных использовали стандартный пакет прикладных программ «Statistica 6.0». Критерий Шапиро-Уилка использовали для характеристики вида распреде-

ления количественного признака. Для описания признака, распределение которого отличается от нормального, использовали медиану и интерквартильный интервал. Для анализа различий в двух независимых группах по количественному признаку применяли критерий Манна-Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Пациенты с бронхиальной астмой, включенные в исследование, были разделены на две группы. Первая группа (I) включала 37 детей, продолжительность заболевания менее трех лет. Вторая группа (II) состояла из 73 пациентов, наблюдавшихся по поводу бронхиальной астмы более трех лет. Контрольную группу составили 30 здоровых пациентов обоих полов 6–18 лет, не имеющих аллергических реакций и заболеваний в анамнезе. Пациенты поступали для плановых оперативных вмешательств (врожденная сухожильно-мышечная косолапость и др.). Дети, включенные

($p_{I-II} < 0,05$). Уровень этого показателя в контрольной группе статистически значимо не отличался от показателей первой и второй групп ($p > 0,05$). Абсолютное содержание лимфоцитов достоверно выше у детей с меньшей продолжительностью болезни, т.е. у детей первой группы ($p_{I-II} < 0,05$). Относительный уровень лимфоцитов не имел достоверных отличий между двумя группами детей с бронхиальной астмой, а также статистически значимо не отличался от показателя контрольной группы ($p > 0,05$). При определении количества Т-лимфоцитов, несущих CD3⁺ рецептор, выявлены статистически значимые отличия в абсолютных показателях, с повышенным количеством клеток в первой группе ($p_{I-II} < 0,05$). Относительный уровень CD3⁺ лимфоцитов достоверно не отличался в обследуемых группах ($p > 0,05$). Относительное содержание CD4⁺ лимфоцитов статистически значимо выше во второй группе в сравнении с показателем первой группы ($p_{I-II} < 0,05$), абсолютные данные не

Таблица 1. Группы детей, включенных в обследование (Me [25%; 75%])

Показатели	I группа (n=37)	II группа (n=73)	Контрольная группа (n=30)
Возраст (годы)	7,00 [6,00; 10,00]	12,00 [10,00; 15,00]	10,00 [6,00; 12,00]

Примечание: n – количество пациентов в группе.

в обследование, были сопоставимы по возрасту ($p > 0,05$) (таблица 1).

Иммунологические показатели первой группы имели ряд отличий от детей второй группы. При сравнении с контрольной группой были выявлены также некоторые особенности. Уровень лейкоцитов в первой группе статистически значимо выше в сравнении со второй группой

имели достоверных отличий между детьми с бронхиальной астмой. Уровень лимфоцитов, несущих CD4⁺ рецептор, в контрольной группе статистически значимо не отличался от уровня первой и второй группы ($p > 0,05$). Уровень Т-регуляторных CD4⁺CD25⁺ лимфоцитов не имел достоверных отличий между группами как в относительных, так и в абсолютных значениях

Сведения об авторах:

Асирян Елена Геннадьевна – к.м.н., доцент кафедры педиатрии, кандидат медицинских наук, УО «Витебский государственный медицинский университет», г. Витебск, пр-т Фрунзе, д. 27, Беларусь, e-mail: elena.asiryu@mail.ru.

Титова Надежда Дмитриевна – д.м.н., доцент кафедры поликлинической педиатрии ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», г. Минск, ул. П. Бровки, д. 3, к. 3, Беларусь, e-mail: nadytitova@mail.ru.

Соболевская Янина Викторовна – врач-педиатр, УЗ «Витебский областной детский клинический центр» Областная клиническая детская больница, г. Витебск, ул. Шрадера, д. 7, Беларусь, e-mail: minifree@gmail.com.

Таблица 2. Фенотипирование лимфоцитов у детей с бронхиальной астмой в зависимости от продолжительности заболевания (Me [25%; 75%])

Показатель, единицы измерения	Me [25%; 75%]			Достоверность различий между группами
	I группа (n=37)	II группа (n=73)	Контрольная группа (n=30)	
Лейкоциты, $\times 10^9$	7,50 [6,80–9,70]	7,10 [6,20–7,90]	7,05 [6,50–7,80]	$p_{I-II} < 0,05$
Лимфоциты, %	42,00 [37,00–50,00]	42,00 [34,00–49,00]	39,00 [34,00–44,00]	—
Лимфоциты, $\times 10^9$	3,29 [2,73–3,89]	2,75 [2,10–3,47]	2,68 [2,52–3,22]	$p_{I-II} < 0,05$
CD3 ⁺ , %	74,70 [72,00–77,20]	75,60 [70,40–77,50]	70,65 [68,70–72,60]	$p_{I-K} < 0,01$ $p_{II-K} < 0,01$
CD3 ⁺ , кл/мл	2,54 [2,04–3,08]	2,00 [1,69–2,59]	1,94 [1,80–2,29]	$p_{I-K} < 0,05$ $p_{I-II} < 0,05$
CD4 ⁺ , %	39,40 [36,20–41,90]	41,80 [38,10–46,40]	42,95 [39,80–44,60]	$p_{I-II} < 0,05$
CD4 ⁺ , кл/мл	1,34 [0,99–1,71]	1,11 [0,92–1,50]	1,17 [1,00–1,23]	—
CD4 ⁺ CD25 ⁺ , %	0,90 [0,30–1,65]	0,72 [0,50–1,70]	0,55 [0,30–0,80]	—
CD4 ⁺ CD25 ⁺ , кл/мкл	25,65 [14,85–46,92]	21,60 [10,50–54,61]	17,09 [10,49–19,74]	—
CD19 ⁺ , %	14,40 [13,10–15,70]	14,10 [12,20–16,10]	13,50 [11,40–14,60]	—
CD19 ⁺ , кл/мкл	470,21 [399,94–680,39]	382,42 [301,04–528,84]	372,56 [286,82–435,25]	$p_{I-K} < 0,05$ $p_{I-II} < 0,05$
CD19 ⁺ CD23 ⁺⁺ , %	21,5 [5,93–35,60]	19,10 [8,00–48,30]	3,45 [2,10–4,20]	$p_{I-K} < 0,01$ $p_{II-K} < 0,001$
CD19 ⁺ CD23 ⁺⁺ , кл/мкл	98,27 [38,81–165,03]	77,33 [35,22–182,44]	10,83 [8,37–15,50]	$p_{I-K} < 0,001$ $p_{II-K} < 0,001$

Примечание: n – количество детей в группе.

($p > 0,05$). Статистически значимо более высокий уровень абсолютного количества CD19⁺ лимфоцитов наблюдался у детей первой группы в сравнении со второй группой ($p_{I-II} < 0,05$), а также с уровнем этого показателя в контрольной группе ($p_{I-K} < 0,05$). Достоверных отличий при определении лимфоцитов, несущих CD19⁺CD23⁺⁺ рецептор, между группами детей с бронхиальной астмой установлено не было, в то же время как первая, так и вторая группа имели достоверно более высокий относительный уровень этих клеток в

сравнении с контрольной группой ($p_{I-K} < 0,01$; $p_{II-K} < 0,001$). Абсолютный уровень CD19⁺CD23⁺⁺ лимфоцитов в обеих группах достоверно превышал показатель детей контрольной группы ($p_{I-K} < 0,001$; $p_{II-K} < 0,001$) (таблица 2).

Уровень базофилов, несущих на своей поверхности CD203c⁺ рецептор, не имел достоверных отличий у детей обследуемых групп, т.е. в группах детей с бронхиальной астмой и пациентов контрольной группы этот показатель находился в пределах референсных значений, (3,00–6,00

кл/мкл). Относительное содержание базофилов, имеющих на своей поверхности CD203c⁺CD63⁺ рецептор, статистически значимо выше у детей с более продолжительным стажем заболевания, более трех лет ($p_{I-II} < 0,05$), однако абсолютные значения этого показателя не имели достоверных отличий между группами ($p > 0,05$). Как абсолютное, так и относительное количество

стрировал, что абсолютный уровень CD3⁺ Т-лимфоцитов и CD19⁺ В-лимфоцитов у детей с длительностью заболевания более трех лет статистически значимо ниже ($p < 0,05$). Известно, что бронхиальная астма является хроническим заболеванием органов дыхания. При длительном течении заболевания наблюдается утяжеление течения, снижение противовирусной и противо-

Таблица 3. Фенотипирование базофилов у детей с бронхиальной астмой в зависимости от продолжительности заболевания (Me [25%; 75%])

Показатель, единицы измерения	Me [25%; 75%]			Достоверность отличий между группами
	I группа (n=37)	II группа (n=73)	Контрольная группа (n=30)	
CD203c ⁺ , кл/мкл	4,00 [3,00–10,00]	3,00 [3,00–6,00]	3,00 [2,00–4,00]	—
CD203c ⁺ CD63 ⁺ , %	56,30 [30,30–67,40]	69,40 [41,90–87,50]	14,20 [12,90–15,80]	$p_{I-II} < 0,05$ $p_{I-K} < 0,0001$ $p_{II-K} < 0,0001$
CD203c ⁺ CD63 ⁺ , кл/мкл	2,19 [0,90–4,83]	2,24 [1,30–4,77]	0,45 [0,43–0,55]	$p_{I-K} < 0,0001$ $p_{II-K} < 0,0001$
CD203c ⁺ IgE ⁺ , %	39,30 [32,10–47,70]	31,30 [19,10–45,70]	20,35 [17,50–24,00]	$p_{I-K} < 0,01$ $p_{II-K} < 0,05$
CD203c ⁺ IgE ⁺ , кл/мкл	1,76 [0,79–4,72]	1,20 [0,63–2,04]	0,63 [0,48–0,89]	$p_{I-K} < 0,01$ $p_{II-K} < 0,01$

Примечание: n – количество детей в группе.

CD203c⁺CD63⁺ базофилов у детей контрольной группы достоверно ниже, чем у детей обеих групп с бронхиальной астмой ($p < 0,05$). Достоверных отличий в уровне клеток, несущих CD203c⁺IgE⁺ рецептор, между группами детей с бронхиальной астмой установлено не было ($p < 0,05$). Относительный и абсолютный уровень этого показателя в контрольной группе статистически значимо ниже, чем у детей первой и второй групп ($p_{I-K} < 0,05$) (таблица 3).

Т- и В-лимфоциты играют значительную роль в развитии аллергической бронхиальной астмы. Сравнительный анализ иммунологических показателей у детей с данной патологией продемон-

бактериальной защиты. Снижение абсолютного количества Т-лимфоцитов свидетельствует о недостаточности клеточного иммунитета, а именно о недостаточности клеточно-эффektorного звена иммунитета.

В то же время следует отметить, что у детей с бронхиальной астмой в обеих группах как относительный, так и абсолютный уровень CD19⁺CD23⁺⁺ В-лимфоцитов достоверно выше, чем в контрольной группе ($p < 0,01$). Известно, что CD23 (FcεRII-рецептор) является мембранным гликопротеином, представляет низкоаффинный рецептор для IgE. Гиперпродукция IgE наблюдается при атопической бронхиальной астме, что и

обуславливает повышение уровня В-лимфоцитов, несущих CD19⁺CD23⁺⁺ рецептор [13].

Исследования, проведенные в последние годы, позволили получить новые данные о роли базофилов в иммунной защите и показали значение этой популяции клеток в патогенезе аллергических заболеваний. Дегрануляция базофилов сопровождается появлением активационных молекул – CD203c и CD63 [14–16]. При изучении фенотипа базофилов установлено, что относительный уровень CD203c⁺CD63⁺ базофилов статистически значимо выше у детей с продолжительностью заболевания более трех лет ($p < 0,05$). Абсолютный уровень этого показателя, а также относительный и абсолютный уровень CD203c⁺IgE⁺ базофилов в обеих группах детей с бронхиальной астмой достоверно выше, чем у детей контрольной группы, не имеющих аллергических заболеваний ($p < 0,05$).

ВЫВОДЫ

1. Абсолютный уровень CD3⁺ Т-лимфоцитов и CD19⁺ В-лимфоцитов у детей с длительностью заболевания более трех лет статистически значимо ниже ($p < 0,05$). Относительный и абсолютный уровень CD19⁺CD23⁺⁺ В-лимфоцитов достоверно выше у детей с бронхиальной астмой в обеих группах, чем в контрольной группе ($p < 0,01$).
2. Относительный уровень CD203c⁺CD63⁺ базофилов статистически значимо выше у детей с продолжительностью заболевания более трех лет ($p < 0,05$). Абсолютный уровень этого показателя, а также относительный и абсолютный уровень CD203c⁺IgE⁺ базофилов в обеих группах детей с бронхиальной астмой достоверно выше, чем у детей контрольной группы, не имеющих аллергических заболеваний ($p < 0,05$).

ЛИТЕРАТУРА

1. *The Global Asthma Report 2011*. Paris, France: The International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. 2011. www.globalasthmareport.org. P. 73.
2. Нагаткин Д.А., Нагаткина О.В., Жестков А.В. Оценка контроля и степени тяжести бронхиальной астмы: современная парадигма // *Астма и аллергия*. 2014. № 4. С. 13–16.

3. Белевский А.С. Современная терапия бронхиальной астмы, шаг вперед // *Астма и аллергия*. 2013. № 1. С. 16–18.
4. Чучалин А.Г. Бронхиальная астма: новые перспективы в терапии // *Терапевтический архив*. 2012. Т. 84, № 3. С. 5–11.
5. *Pocket Guide for Asthma Management and Prevention (for Adults and Children than 5 Years) 2015 (update)*. The GINA reports are available on www.ginasthma.org. P. 28.
6. Пампура А.Н. Российский вестник перинатологии и педиатрии // *Проблемы и перспективы развития детской аллергологии*. 2015. № 1. С. 7–15.
7. Жерносек В.Ф., Дюбокова Т.П. Диагностика и лечение аллергических болезней у детей. Минск: РИВШ, 2013. 120 с.
8. *Airway Wall Expression of OX40/OX40L and Interleukin-4 in Asthma* / S. Siddiqui et al. // *Chest*. 2010. Vol. 137, № 4. P. 797–804.
9. Новикова В.И., Новиков П.Д., Титова. Гетерогенность аллергии при бронхиальной астме у детей // *Вестник ВГМУ*. 2014. Том 13, № 4. С. 110–116.
10. Смирнова О.В., Выхристенко Л.Р. Роль клеток системы иммунитета в патогенезе бронхиальной астмы // *Медицинские новости*. 2011. № 5. С. 18–19.
11. Singh A.K., Stock P., Akbari O. Role of PD L1 and PD L2 in allergic diseases and asthma // *Allergy*. 2011. № 66. P. 155–162.
12. *B-lymphocytes as key players in chemical-induced asthma* / De Vooght V. et al. // *PLoS One*. 2013. № 13. P. 8–12.
13. *Аллергические болезни* / Д.К. Новиков и др. Витебск: ВГМУ, 2012. 202 с.
14. *Basophils and allergic inflammation Glossary* / M.C. Siracusa et al. // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2013. Vol. 132. P. 789–801.
15. *EAACI taskforce position paper: evidence for autoimmune urticaria and proposal for defining diagnostic criteria* / G.N. Konstantinou et al. // *Allergy*. 2013. Vol. 68. P. 27–36.
16. Синельникова Н.А., Бычкова Н.В., Калинина Н.М. Особенности иммунного ответа и активации базофилов у детей с хронической крапивницей // *Медицинская иммунология*. 2015. Т. 17, № 1. С. 39–46. ■