

Н.И.Кубышева<sup>1</sup>, А.В.Максимова<sup>1</sup>, Л.Б.Постникова<sup>2</sup>, Е.В.Ермолаева<sup>1</sup>, Л.Г.Лазарева<sup>1</sup>,  
В.В.Новиков<sup>3</sup>, С.К.Соодаева<sup>4</sup>

## Участие растворимых антигенов адгезии и молекул гистосовместимости в развитии бронхиальной астмы у детей

1 – Детская клиническая больница № 27 "Айболит", г. Нижний Новгород;

2 – Военно-медицинский институт ФСБ РФ, г. Нижний Новгород;

3 – Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород;

4 – ФГУ НИИ пульмонологии Росздрава, г. Москва

*N.I.Kubisheva, A.V.Maksimova, L.B.Postnikova, E.V.Ermolaeva, L.G.Lazareva, V.V.Novikov, S.K.Soodaeva*

## Role of soluble adhesion antigens and histocompatibility molecules in development of childhood bronchial asthma

### Summary

We determined serum levels of soluble adhesion antigens CD50, CD54, soluble HLA class I molecules, HLA-DR, and relative number of antigen-positive blood mononuclears in asthmatic children. Increased concentrations of soluble CD54 and CD54 antigens and reduction in relative number of CD50+ and CD54+ mononuclear cells were revealed. In children with asthma, the level of serum soluble HLA-DR antigens and relative number of peripheral blood mononuclears were elevated. The worsening of asthma course was accompanied by the increase in CD50, CD54, HLA-DR serum levels. The inverse correlation between the serum levels of soluble CD54 and HLA-DR antigens and FEF<sub>50</sub> was revealed.

### Резюме

У детей с бронхиальной астмой (БА) определяли сывороточный уровень растворимых антигенов адгезии CD50, CD54, растворимых молекул HLA I класса и HLA-DR и относительное количество мононуклеарных клеток периферической крови, положительных по этим же антигенам. Отмечено увеличение сывороточного содержания растворимых CD50- и CD54-антигенов на фоне снижения относительного содержания CD50+ и CD54+ мононуклеарных клеток. У детей с БА обнаружено повышение сывороточного уровня растворимых антигенов HLA-DR и HLA-DR+ мононуклеарных клеток периферической крови. Утяжеление БА сопровождалось увеличением сывороточного уровня растворимых CD50-, CD54-антигенов и молекул HLA-DR. Выявлена отрицательная корреляционная связь между сывороточной концентрацией растворимых антигенов CD54 и HLA-DR и величиной коэффициента МОС<sub>50</sub>, отражающего проходимость средних бронхов, а также относительным содержанием HLA-DR+ мононуклеарных клеток крови и величиной коэффициента МОС<sub>75</sub>, отражающего степень проходимости крупных бронхов.

Ключевую роль в аллергическом воспалительном процессе при бронхиальной астме (БА) играют изменения функциональной деятельности иммунной системы, одним из проявлений которых является накопление активированных Т-лимфоцитов, эозинофилов и тучных клеток в слизистой оболочке бронхов. Результатом реализации начальных иммунных этапов атопического воспаления с участием молекул гистосовместимости является рекрутирование воспалительных клеток посредством взаимодействия антигенов адгезии. К ним относятся молекулы ICAM-1, ICAM-3, LFA-1, E-селектин, VCAM-1 и др. Повышение их мембранной экспрессии при воспалении инициирует миграцию клеток из кровеносного русла в шоковый орган для реализации эффекторных и регуляторных функций [1]. Исследования последних лет продемонстрировали, что антигены адгезии и молекулы главного комплекса гистосовместимости обнаруживаются как в мембрано-связанной форме на поверхности клеток, так и в растворимом виде в различных биологических жидкостях [2].

Растворимые формы (s-формы) дифференцировочных антигенов образуются за счет либо протео-

литического расщепления мембранных форм — шеддинга, кливеджа (от англ. *shed* — терять, *cleave* — срезать), либо альтернативного сплайсинга мРНК, приводящего к образованию транскрипта, соответствующего растворимой форме.

Растворимые формы мембранных белков клеток иммунной системы осуществляют чаще всего многофункциональное воздействие в организме человека. Это может быть блокада межклеточных мембранных взаимодействий и ограничение иммунного ответа либо трансигнализация, приводящая, в том числе, и к активации клетки.

В исследованиях различных лабораторий доказана несомненная прогностическая, мониторинговая и диагностическая значимость некоторых дифференцировочных антигенов, что может успешно использоваться при лечении и профилактике различного рода заболеваний [2, 3]. Однако сведения, касающиеся участия растворимых дифференцировочных антигенов в патогенезе БА, немногочисленны и противоречивы. Цель настоящей работы — определение сывороточного уровня растворимых форм антигенов адгезии CD50 (ICAM-3), CD54

(ICAM-1), молекул гистосовместимости I и II классов и относительного количества моноклеарных клеток периферической крови, положительных по этим же антигенам у больных БА разной тяжести течения.

## Материалы и методы

Были обследованы 117 детей с БА в возрасте 7–14 лет, наблюдавшихся в аллергологическом центре детской городской клинической больницы № 27 "Айболит" г. Нижнего Новгорода. Иммунологические исследования проводились в периоде обострения заболевания. Контрольную группу составили 16 здоровых детей соответствующего возраста.

Диагноз БА был установлен согласно существующим стандартам, предусмотренным "Глобальной стратегией лечения и профилактики бронхиальной астмы" (пересмотр 2002 г.) [1] на основании данных анамнеза, клинической симптоматики, результатов аллергологического тестирования, иммунологического обследования и динамической оценки функции внешнего дыхания (ФВД).

По степени тяжести среди исследуемых детей выделено 3 группы. В 1-ю группу ( $n = 17$ ) вошли дети с БА легкого персистирующего течения, во 2-ю ( $n = 64$ ) — больные БА среднетяжелого течения, в 3-ю ( $n = 36$ ) — дети с БА тяжелой степени. Среди них у 12 пациентов имелось сочетание БА и атопического дерматита, у 72 — БА и аллергического ринита.

При оценке аллергологического статуса методом *prick*-теста у 52 пациентов была выявлена сенсibilизация бытовыми аллергенами, 12 — пыльцевая аллергия, у 53 — поливалентная сенсibilизация бытовыми, пищевыми или пыльцевыми аллергенами.

Комплексное обследование включало: клиническое динамическое наблюдение; изучение клинических анализов крови, мокроты, цитологии носового секрета; рентгенологическое исследование органов грудной клетки и придаточных пазух носа (по клиническим показаниям); оценку параметров ФВД посредством компьютерной спирометрии; аллергологическое тестирование (*prick*-тест). По его результатам всем детям назначалась терапия, направленная на купирование бронхообструкции с учетом ее степени тяжести: небулайзерные ингаляции растворов ипратропия бромид / фенотерола, амброксола гидрохлорида в возрастных дозах, небулайзерные ингаляции будесонида.

Оценку параметров ФВД проводили методом компьютерной спирометрии на приборе "Виталогр-альфа" (Англия). Сывороточное содержание растворимых антигенов ICAM-1 (sCD54), ICAM-3 (sCD50), растворимых молекул HLA I класса (sHLA-I) и HLA-DR (sHLA-DR) определяли иммуноферментным методом с использованием моноклональных антител серии ИКО и поликлональных антител, направленных против антигенов моноклеарных клеток периферической крови человека. Иммунофе-

нотипирование моноклеарных клеток периферической крови проводили методом непрямой иммунофлуоресценции посредством моноклональных антител. Относительное содержание антиген-положительных клеток учитывали с помощью люминесцентного микроскопа *Leitz*.

Статистическую обработку результатов выполняли с применением критериев Крускала–Уоллиса и Данна, коэффициента ранговой корреляции Спирмена, используя компьютерную программу *Biostat*.

## Результаты и обсуждение

По результатам исследования нами было установлено, что нарастание степени тяжести БА у детей ассоциировано с увеличением сывороточной концентрации sCD50- и sCD54-антигенов адгезии и со снижением относительного количества CD50- и CD54-положительных клеток периферической крови. Эти значения достоверно отличались от аналогичных параметров здоровых детей ( $p < 0,05$ ).

Известно, что молекулы адгезии обеспечивают контакт между клетками, поддерживают целостность тканей, миграцию лейкоцитов, взаимодействие клеток в процессе иммунных реакций. В инициации иммунного ответа и в формировании иммунологического синапса между лимфоцитами и антиген-презентирующими клетками важная роль отводится антигену CD50 (ICAM-3). В растворимой форме CD50 антиген, связываясь с такими лигандами, как LFA-1 и DC-SIGN, на поверхности антиген-презентирующих клеток, может тормозить процессы запуска иммунного ответа. При этом после первичного контакта LFA-1 с молекулой ICAM-3 вследствие более высокой аффинности начинает доминировать связывание LFA-1 с антигеном ICAM-1. В свою очередь, растворимые молекулы ICAM-1 способны модулировать адгезию лейкоцитов на эндотелии сосудов и межклеточные взаимодействия [4].

Уменьшение относительного содержания моноклеарных клеток CD50+ и CD54+ в периферической крови у обследованных нами больных с БА, вероятно, связано с миграцией этих клеток в шоковый орган для участия в воспалительном процессе. В свою очередь, обнаруженные высокие сывороточные концентрации растворимых антигенов ICAM-1 и ICAM-3 могут быть результатом рестриктивного механизма, направленного на торможение избыточной миграции воспалительных клеток в шоковый орган и купирование таким образом воспалительного процесса. С другой стороны, увеличение сывороточного содержания растворимых молекул адгезии может являться неблагоприятным фактором с точки зрения разрешения воспаления, поскольку блокируется возможность клеток-эффекторов реализовать свои функции во флогогенном очаге. Следствием этого может быть нарушение реализации воспалительного процесса, которое приводит к хронизации и утяжелению течения заболевания.

Если предположить, что антигены sCD54 и sCD50 в условиях аллергического воспаления при астме являются свидетелями активации клеток и действуют провоспалительно, то возрастание их сывороточного уровня при утяжелении БА может отражать тяжесть течения воспалительного процесса. Кроме того, известно, что торможение взаимодействия ICAM-1 с антигеном LFA-1 приводит к преимущественной дифференцировке Т-лимфоцитов в направлении Т-хелперов 2-го типа, характерного для атопии [5]. Можно допустить, что повышенные концентрации сывороточных антигенов CD50 и CD54 также способны вызвать смещение равновесия субпопуляций Т-лимфоцитов в сторону Т-хелперов 2-го типа.

В настоящее время известно, что система HLA обеспечивает реализацию и регуляцию иммунного ответа за счет не только мембранных белков гистосовместимости, но и их растворимых форм, способных вызывать апоптоз или анергию Т-лимфоцитов и натуральных киллеров [6, 7]. Исследование характера изменения концентрации sHLA-I и относительного содержания HLA-I+-моноклеарных клеток крови не выявило их достоверных изменений при БА у детей. Вероятно, это связано с тем, что молекулы HLA I класса не играют значимой роли в реализации аллергического воспаления при БА. Вследствие этого содержание молекул HLA I класса в крови больных БА не отражает состояние реактивности иммунной системы при астме.

Как видно из таблицы, существенные различия в сывороточном уровне sHLA-DR антигенов и HLA-DR+ моноклеарных клеток крови были обнаружены нами между детьми, больными астмой, и здоровыми ( $p < 0,05$ ).

Мембранные молекулы HLA-DR принимают непосредственное участие в презентации антигенов, в том числе и аллергенов Т-хелперам. Увеличение относительного количества моноклеарных клеток HLA-DR+ при атопии ассоциируется с активацией моноцитов, В-лимфоцитов, а также Т-лимфоцитов (CD4+-, CD8+-клеток), экспрессирующих этот рецептор [8, 9].

Известно, что атопическое воспаление опосредуется гиперреактивным ответом иммунной системы на аллерген и сопровождается выраженной активацией ряда воспалительных клеток. Полученные нами результаты увеличения содержания моноклеарных клеток HLA-DR+ соответствуют данному положению. В то же время установленное нами повышение сывороточной концентрации молекул sHLA-DR, возможно, связано с ограничением избыточной активации клеток-участниц воспаления, что обеспечивает ингибирование аллергической реакции. Известно, что растворимые молекулы HLA II класса способны блокировать функциональную активность Т-хелперов, связываясь с CD4-рецептором на лимфоцитах. Следствием является торможение стимуляции моноцитов / макрофагов и В-лимфоцитов, осуществляемое при реализации иммунного ответа с участием Т-хелперов [3].

Для оценки связи между патофункциональными проявлениями БА и уровнем экспрессии молекул адгезии и главного комплекса гистосовместимости был проведен анализ корреляционных взаимоотношений между содержанием тестированных растворимых антигенов, антиген-положительных клеток и величиной коэффициента МОС (максимальная объемная скорость выдоха). Как известно, МОС является одним из показателей ФВД и регистрирует

**Таблица**  
*Сывороточное содержание растворимых молекул адгезии, гистосовместимости и относительного количества моноклеарных лейкоцитов ICAM+, HLA+ у детей с БА*

Показатели	Группа контроля (n = 16)	Группа с БА (I + II + III степени тяжести)	1-я группа (БА I степени тяжести)	2-я группа (БА II степени тяжести)	3-я группа (БА III степени тяжести)
CD50+, %	57,6 ± 4,3	39,9 ± 2,6; $p_1 \leq 0,05$	42,1 ± 7,6	36,2 ± 2,8; $p_1 \leq 0,05$	46,9 ± 4,7
sCD50, U/ml	236,0 ± 33,4	488,1 ± 97,4; $p_1 \leq 0,05$	242,7 ± 79,3	472,0 ± 65,7; $p_1 \leq 0,05$	725,9 ± 210,9
CD54+, %	46,2 ± 5,6	24,6 ± 2,0; $p_1 \leq 0,05$	40,5 ± 4,0	27,4 ± 2,3; $p_1 \leq 0,05; p_2 \leq 0,05$	18,0 ± 3,3; $p_1 \leq 0,05; p_2 \leq 0,05; p_3 \leq 0,05$
sCD54, U/ml	39,1 ± 5,6 $p_1 \leq 0,05$	77,2 ± 12,5;	32,4 ± 6,3	76,6 ± 11,9; $p_1 \leq 0,05$	117,1 ± 26,5; $p_1 \leq 0,05; p_2 \leq 0,05$
HLA I+, %	74,6 ± 8,9	57,5 ± 3,7	58,4 ± 7,3	55,0 ± 5,1	61,3 ± 4,4
sHLA I, U/ml	921,5 ± 221,0	763,8 ± 172,6	1 334,2 ± 712,3	671,6 ± 132,2	537,5 ± 62,1
HLA DR+, %	22,7 ± 2,9	36,4 ± 2,5; $p_1 \leq 0,05$	38,7 ± 6,9; $p_1 \leq 0,05$	32,4 ± 2,3; $p_1 \leq 0,05$	41,3 ± 4,1; $p_1 \leq 0,05; p_2 \leq 0,05$
sHLA DR, U/ml	99,5 ± 12,5	290,1 ± 47,6; $p_1 \leq 0,05$	116,2 ± 36,4	302,0 ± 45,2; $p_1 \leq 0,05$	425,9 ± 77,1; $p_1 \leq 0,05; p_2 \leq 0,05$

Примечание:  $p_1$  — различия достоверны по сравнению с группой контроля;  $p_2$  — различия достоверны по сравнению с 1-й группой;  $p_3$  — различия достоверны по сравнению со 2-й группой.

степень проходимости крупных (МОС<sub>25</sub>), средних (МОС<sub>50</sub>) и мелких (МОС<sub>75</sub>) бронхов [10]. В результате было выявлено, что увеличение сывороточной концентрации sICAM-1 антигена у детей, больных БА, связано со снижением проходимости средних бронхов ( $r = -0,71$ ;  $p < 0,05$ ). Увеличение уровня HLA-DR-положительных клеток и растворимых HLA-DR антигенов связано с усилением обструкции средних и мелких бронхов ( $r = -0,67$ ;  $p < 0,05$ ;  $r = -0,73$ ;  $p < 0,05$  соответственно).

В связи с этим сывороточное содержание растворимых антигенов sICAM-1, sHLA-DR и содержание HLA-DR-положительных клеток крови могут быть использованы в качестве комплекса дополнительных показателей тяжести БА и выраженности бронхообструкции у детей.

## Литература

1. Чучалин А.Г. (ред.). Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы. М.: Изд-во "Атмосфера"; 2002.
2. Федосеев Г.Б. (ред.). Бронхиальная астма. СПб.: Мед. информ. агентство; 1996.
3. Poehlau D., Kiltz U., Rieks M. et al. Therapeutic immunoadsorption increases the level of circulating soluble HLA molecules. *Vox. Sang.* 2000; 78 (2): 119–121.
4. Carrasco Y.R., Fleire S.J., Cameron T. et al. LFA-1/ICAM-1 interaction lowers the threshold of B cell activation by facilitating B cell adhesion and synapse formation. *Immunity* 2004; 20 (5): 589–599.
5. Jenks S.A., Miller J. Inhibition of IL-4 responses after T cell priming in the context of LFA-1 co-stimulation is not reversed by re-stimulation in the presence of CD28 co-stimulation. *J. Immunol.* 2000; 164: 72–78.
6. Contini P., Ghio M., Poggi A. et al. Soluble HLA-A,-B,-C and -G molecules induce apoptosis in T and NK CD8+ cells and inhibit cytotoxic T cell activity through CD8 ligation. *Eur. J. Immunol.* 2003; 33 (1): 125–134.
7. Spaggiari G.M., Contini P., Dondero A. et al. Soluble HLA class I induces NK cell apoptosis upon the engagement of killer-activating HLA class I receptors through FasL-Fas interaction. *Blood* 2002; 100 (12): 4098–4107.
8. Новиков В.В. Растворимые формы дифференцированных антигенов гемопоэтических клеток. *Гематология и трансфузиология* 1996; 6: 40–43.
9. Mauri-Hellweg D., Bettens F., Mauri D. Activation of drug-specific CD4+ and CD8+ T cells in individuals allergic to sulfonamides, phenytoin, and carbamazepine // *The Journal of Immunology* 1995; 155 (1): 462–472.
10. Баранов В.Л., Куренкова И.Г., Казанцев В.А. Исследование функции внешнего дыхания. СПб.: Элби-СПб; 2002.

Поступила 16.12.05

© Коллектив авторов, 2007

УДК 616.248-053.2-07:616.24-092