

айлантус и др.), инсектные (*D.pteronissinus*, *D.farinae*), эпидермальные (шерсть кошки, собаки и др.), пищевые (коровье молоко, яичный белок и др.).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Балаболкин И.И. Бронхиальная астма: современная концепция патогенеза и терапии. Intern. J. Immunorehabil. 1997; 118: 133.
2. Балаболкин И.И. Специфическая диагностика аллергических реакций и заболеваний у детей В кн.: Студеникин М.Я., Балаболкин И.И. (ред.) Аллергические болезни у детей. М.: Медицина; 1998. 107–121.
3. Гаджимирзаев Г.А. Ринобронхиальный синдром. Махачкала; 1998. 107–121.
4. Гаффарова М.А. Аллергические риносинуситы, сочетанные с бронхиальной астмой, и их особенности у коренных жителей низкогогорья Таджикистана. В кн.: Научные труды Европейского конгресса по астме, 9–12 сент. 2001. М.; 2001. 141.
5. Гургенидзе Г.В., Гамкрелидзе А.Г., Минеева М.М., Сулаквелидзе А.Т. Сравнительная оценка некоторых методов определения IgE при бронхиальной астме. Иммунология 1982; 2: 84–86.
6. Емельянов А.В., Федосеев Г.Б., Гончаров В.А. и др. Роль гистамина и серотонина в патогенезе бронхиальной астмы. В кн.: Материалы II Международного конгресса пульмонологов Центральной Азии. Алматы; 1996. 27 (85).
7. Коренченко С.В., Сухарев Е.А. Возможности преморбидной диагностики бронхиальной астмы у пациентов с аллергическим ринитом. Intern. J. Immunorehabil. 1997; 268: 170.
8. Малышева И.Е., Карташева Н.В. Результаты наблюдения больных бронхиальной астмой с детства: клинико-эпидемиологические аспекты. Аллергология 2000; 2: 3–9.
9. Национальная программа Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика. М.: Артинфо Паблшинг; 1997.
10. Резник И.Б. Генетические механизмы развития бронхиальной астмы. Аллергология 1998; 1: 8–12.
11. Стрельков Р.Б. Статистические таблицы для ускоренной количественной оценки фармакологического эффекта. Фармакол. и токсикол. 1986; 4: 100–104.
12. Хутыева С.Х. Астма и аллергический ринит. В кн.: Научные труды Европейского конгресса по астме, 9–12 сент. 2001. М.; 2001. 142.
13. Шамова А.Г., Маланичева Е.Г. Современные медико-социальные проблемы бронхиальной астмы у детей подросткового возраста. В кн.: Материалы VIII Съезда педиатров России. М.; 1998. 117 (265).
14. Штельцнер А. (A.Stelzner) Фагоцитоз. В кн.: Фримель Г. (ред.) Иммунологические методы. М.: Медицина; 1987. 378–389.
15. Ciprandi A. et al. Minimal persistent inflammation is present at mucosal level in patient with asymptomatic rhinitis and mite allergy. J. Allergy Clin. Immunol. 1995; 96: 969–971.
16. Correx J. Allergic rhinitis and asthma: How important is the link? Ibid. 1997; 99: 781–786.
17. Cristodouloulos P. et al. Molecular pathology of allergic disease. II. Upper airway disease. Ibid. 2000; 105: 211–223.
18. Palma-Carlos A.G., Branco-Ferreira M., Palma M.L. Нос и бронхи — единое функциональное целое. В кн.: Научные труды Европейского конгресса по астме, 9–12 сент. 2001. М.; 2001. 112.
19. Romagnani S. Роль Т-лимфоцитов в аллергическом воспалении. Там же. 29.
20. Scadding Q. Diagnosis and treatment of nasal allergy in children. In.: 7-th International. Congress. of Pediatric. Otorhinolaryngology. Helsinki; 1998. 53a.
21. Slavin R.G. Relationship of nasal disease and sinusitis to bronchial asthma. Ann. Allergy. 1982; 49: 76–80.
22. Ussel H. Роль Т-клеток в патогенезе астмы. В кн.: Научные труды Европейского конгресса по астме, 9–12 сент. 2001. М.; 2001. 25–26.

Поступила 20.05.03

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2003

УДК 616.248-07:[616-092:612.017.1]-07

*Л.М.Куделя, Л.Д.Сидорова, С.В.Сенников, В.А.Козлов*

## СОСТОЯНИЕ СИСТЕМОГО И МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ С ПОЗДНЕЙ АСТМОЙ

Новосибирская государственная медицинская академия;  
Институт клинической иммунологии

SYSTEMIC AND LOCAL IMMUNITY IN PATIENTS WITH LATE ASTHMA

*L.M.Kudelya, L.D.Sidorova, S.V.Sennikov, V.A.Kozlov*

### Summary

Clinical, functional and immunological examination was performed in 280 bronchial asthma (BA) patients. They were divided into 2 groups: 168 patients with the disease onset later than 40 years old age (the 1st group) and 112 patients with BA onset earlier than 40 years old age (the 2nd group). The immunological examination of the patients revealed a significant decrease in the serum T-lymphocyte general population due to reduction in the T-helpers and prevalently T-suppressors numbers, increased levels of IgE, IL-4, TNF- $\alpha$  and drop in the serum IFN- $\gamma$  level; a tendency to reduction in C3 and C4 and a considerable failure of the bronchopulmonary local defense (IgA, IgG and IFN- $\gamma$  deficiency) tested in bronchoalveolar lavage fluid. These

changes were mainly provided by immunosuppressive effects of co-existing and previous respiratory diseases. Our research established that the strongest blockage of the suppression mechanisms was observed under intricate combinations of BA pathogenic features and respiratory infections. A correlation was shown between the immune disorders and clinical, functional, endoscopic parameters.

### Резюме

Проведено клинико-функциональное и иммунологическое обследование 280 больных бронхиальной астмой (БА). Все больные были разделены на 2 группы: 1-я группа (168 больных) с дебютом заболевания после 40 лет, т.е. больные с поздней астмой (ПА), 2-я группа (112 больных) с началом БА до 40 лет. Иммунологическое обследование больных ПА выявило выраженное снижение общей популяции Т-лимфоцитов в сыворотке крови за счет уменьшения как Т-хелперов, так и Т-супрессоров с более значительным снижением последних, повышение содержания IgE, IL-4, TNF- $\alpha$  и снижение IFN- $\gamma$  в сыворотке крови, тенденцию к уменьшению содержания С3 и С4, а также значительное снижение местной защиты бронхолегочной системы (дефицит IgA, IgG и IFN- $\gamma$ ) в бронхоальвеолярном смыве, которые во многом определены иммуносупрессивными свойствами сопутствующих и перенесенных заболеваний респираторной системы. В наших исследованиях установлено, что наиболее выраженная блокада механизмов супрессии наблюдается при сложных сочетаниях механизмов патогенеза БА и присутствии инфекции дыхательных путей. Отмечена корреляционная связь иммунологических изменений с показателями клинического, функционального и эндоскопического исследований.

Бронхиальная астма (БА) является широко распространенным заболеванием и занимает одно из первых мест по частоте встречаемости среди всех хронических заболеваний легких. Несмотря на значительные успехи в изучении астмы, достигнутые за последнее десятилетие, это заболевание и в наши дни остается тяжелым, приводящим к инвалидности и смерти [20]. В последние годы изменился и возрастной состав больных астмой. До недавнего времени дискутировалась сама возможность возникновения БА в возрасте старше 40 лет, т.е. поздней астмы (ПА), теперь же данная форма астмы завоевала прочное место в структуре патологии старшего возраста [2,30,31].

Немаловажное значение в увеличении частоты заболеваемости и утяжелении течения БА имеют нарушения системного и местного иммунитета [5,10,14,16,27,28,30]. Сведения о функции иммунорегуляторных клеток крови, гуморальных факторах, иммунологических характеристиках бронхоальвеолярного смыва у больных БА немногочисленны и неоднозначны [1,10,14,17,18] и практически отсутствуют у больных с ПА [15]. В настоящее время неясна причина иммунологической гетерогенности и цитокиновой диссоциации при БА [9,27,29]. Отсутствие информации о структуре связи между различными клеточными и гуморальными компонентами иммунной системы препятствует формированию представления о функционировании иммунной системы в целом при БА. Известно, что нарушения функции иммунной системы вследствие недостаточности механизмов регуляции иммунного ответа являются основой патогенеза БА, приводят к тяжелому течению, развитию осложнений, к ранней инвалидизации [1,19,23,24,26].

Целью исследования явилось изучение особенностей состояния системного и местного иммунитета у больных ПА.

### Материалы и методы

Обследовано 280 больных БА в стадии обострения в возрасте от 40 до 78 лет, которые были разделены на 2 группы: 1-ю группу составили 168 больных с дебютом развития астмы после 40 лет, т.е. больные с ПА (легкая степень — у 6 больных, средняя степень — у 42 больных, тяжелая степень — у 42 больных), 2-ю группу — 112 больных с началом астмы в более молодом возрасте, т.е. до 40 лет (легкая степень — у 12 больных, средняя степень — у 40 больных, тяжелая степень — у 37 больных). В 1-й группе атопическая форма диагностирована у 6 больных, инфекционно-зависимая форма — у 59 больных, смешанная форма (инфекционно-зависимая и атопическая) — у 49 больных, гормонозависимая форма — у 54 больных. Во 2-й группе атопическая форма диагностирована у 8 больных, инфекционно-зависимая форма — у 40 больных, смешанная форма — у 35 больных, гормонозависимая форма — у 32 больных. Субпопуляции лимфоцитов определяли методом проточной цитометрии с помощью моноклональных антител серии ОКТ и ОКВ фирмы "Orto Diagnostig" (США). Определяли также субпопуляции Т-клеток, несущих поверхностные антигены CD3+ (зрелые Т-клетки), CD4+ (хелперы), CD8+ (супрессоры), рассчитывали иммунорегуляторный индекс (ИРИ) — отношение CD4+/CD8+. Иммуноглобулины (IgA, IgM, IgG) сыворотки крови определяли методом радиальной иммунодиффузии по G.Mancini и соавт. (1965) с помощью стандартных антииммуноглобулиновых сывороток. Содержание общего IgE сыворотки определяли иммуноферментным методом с помощью наборов фирмы "Labodia-Xema" (Швейцария-Россия). Результаты выражали в международных единицах на миллилитр (МЕ/л), за норму принимали концентрацию не более 130 МЕ/л. Контрольную группу составили 20 человек. Концентрацию компонентов комплемента С3 и С4 в сыворотке крови определяли с помощью мето-

да радиальной иммунодиффузии с использованием моноспецифических антисывороток у 78 больных БА (1-я группа — 54 больных, 2-я группа — 24 больных), контрольная группа — 15 человек. Функциональное исследование внешнего дыхания было выполнено на установке фирмы "Eger" (ФРГ) и включало в себя плетизмографию всего тела и регистрацию отношений поток—объем в процессе маневра форсированной жизненной емкости легких (FVC). Для определения интенсивности воспалительных изменений бронхов проведено бронхологическое исследование фибронскопом фирмы "Olympus" у 175 больных (1-я группа — 124 больных, 2-я группа — 51 больной). У 72 больных (1-я группа — 40 больных, 2-я группа — 32 больных) проведено цитологическое исследование бронхоальвеолярных смывов. Бронхоальвеолярный лаваж выполняли по стандартной методике в соответствии с рекомендациями Европейской рабочей группы по изучению бронхоальвеолярного лаважа. Содержание цитокинов IL-4, TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$  в сыворотке крови и бронхоальвеолярных смывах у 36 больных (1-я группа — 20 больных, 2-я группа — 16 больных) и в контрольной группе (30 человек) определяли с помощью меченых моноклональных и поликлональных антител ("R&D Systems") (США) методом электрохемилюминесценции с использованием прибора "Origen Analyser" фирмы IGEN (США) и реагентов, приготовленных согласно протоколам [7,8,22]. Уровень цитокинов в бронхоальвеолярных смывах определяли в пересчете на содержание в них белка. Для оценки эффективности местной защиты бронхолегочной системы исследовали содержание IgA, IgM, IgG и С3 и С4 в смывах у 32 больных БА (1-я группа — 19 больных, 2-я группа — 13 больных). Состояние центральной гемодинамики определяли методом тетраполярной грудной реографии в модификации Пушкаря. Среднее давление в легочной артерии (СГДла) рассчитывали по формуле *M. Isode*. Общее легочное сопротивление (ОЛС) определяли по формуле:  $ОЛС = (СГДла - 5) \cdot 1332 \cdot 60 / МО$ , где МО — минутный объем крови. Рассчитывали индекс аллергии, предложенный А.А.Солдатовым и соавт. [16], и лейкоцитарный индекс интоксикации. Количественные данные обрабатывали методом вариационной статистики с определением средней арифметической, критерия существенности различий, уровня значимости отличий и коэффициента корреляции рангов Спирмена на компьютере IBM с помощью приложения *Microsoft Excel*. Разницу между средними арифметическими считали достоверной при  $p < 0,05$ .

## Результаты исследования

Исследование выявило значительные нарушения иммунного статуса у больных ПА. Отмечено повышение содержания лейкоцитов по сравнению с контрольной и 2-й группами ( $p < 0,05$ ), зависящее от степени тяжести и формы заболевания. Более выраженное повышение числа лейкоцитов наблюдалось у

больных с тяжелым течением ( $7,453 \pm 0,317$ ,  $p < 0,05$ ) и при инфекционно-зависимой форме ( $7,486 \pm 0,429$ ,  $p < 0,05$ ). Содержание лимфоцитов (преимущественно относительное) было несколько ниже у больных ПА, чем в контроле ( $p < 0,05$ ), достигая минимального значения при гормонозависимой форме ( $23,0 \pm 1,33\%$ ,  $p < 0,05$ ). У всех больных ПА выявлено снижение общей популяции Т-лимфоцитов ( $p < 0,05$ ). Известно, что уменьшение количества иммунокомпетентных клеток является одним из проявлений нарушения иммунореактивности [6]. Это происходит как при реализации естественной биологической программы апоптоза и ее интенсификации, так и в результате непосредственного воздействия повреждающего фактора, приводящего, как правило, к гибели клетки. При действии этих механизмов меняется численность популяций клеток, обеспечивающих реализацию иммунореактивности, и прежде всего субпопуляций Т-лимфоцитов [25]. При исследовании характера иммунологических нарушений Т-системы иммунитета обнаружено существенное угнетение супрессорных систем у больных ПА (Т-супрессоры,  $p < 0,01$ ), уменьшение количества Т-хелперов ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой. Более выраженная супрессия Т-хелперов отмечена при средне-тяжелом течении ПА ( $p < 0,01$ ). Среднее значение ЛИИ не отличалось от контроля и было несколько снижено у больных с тяжелой степенью астмы. Отмечен дефицит НК-клеток у больных ПА по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). Более показателен количественный анализ содержания НК-клеток — число больных с низким содержанием НК-клеток в 1-й группе было значительно выше ( $f=0,60$ ,  $p < 0,001$ ), чем во 2-й группе. Известно, что НК-клетки оказывают важную роль в регуляции воспалительного процесса и являются главными защитниками организма от микроорганизмов на стадии раннего индуцибельного ответа [21]. Дефицит НК-клеток приводит к развитию острых респираторных инфекций и хронизации инфекционно-воспалительных процессов различной локализации. Особо необходимо отметить тот факт, что частота выявления количественного дефицита НК-клеток была максимальной у больных с тяжелым течением ( $f=0,64$ ) при относительно нормальном среднем показателе содержания этих клеток в крови, что указывало на разнонаправленный характер изменений (снижение и повышение) числа естественных киллеров у больных ПА. ИРИ был несколько выше у больных ПА, чем в контроле ( $p < 0,05$ ), что связано с более выраженным дефицитом Т-супрессоров, но не менялся в зависимости от степени тяжести заболевания. Содержание В-лимфоцитов было достоверно ниже у больных ПА, чем в контроле ( $p < 0,01$ ) и у больных 2-й группы ( $p < 0,05$ ). Более выраженный дефицит В-лимфоцитов отмечен у больных с тяжелым течением заболевания ( $p < 0,05$ ) и при инфекционно-зависимой форме ( $p < 0,05$ ).

Отмечена корреляционная зависимость показателей клеточного иммунитета с данными клиническо-

го, функционального и биохимического исследования. Содержание лейкоцитов коррелировало с уровнем ОЛС ( $r=0,330$ ,  $p<0,01$ ), со степенью ДН ( $r=0,799$ ,  $p<0,01$ ), с частотой развития астматического статуса (АС) ( $r=0,771$ ,  $p<0,01$ ). Обратная корреляционная связь содержания лейкоцитов отмечена с такими показателями, как степень тяжести ( $r=-0,378$ ,  $p<0,01$ ) и форма заболевания ( $r=-0,89$ ,  $p<0,01$ ), частота дневных приступов удушья ( $r=-0,618$ ,  $p<0,01$ ). Выявлена корреляционная связь абсолютного и относительного количества лимфоцитов с сывороточным уровнем СЗ ( $r=0,536$ ,  $r=0,752$ ,  $p<0,01$ ), с содержанием в мокроте эозинофилов ( $r=0,388$ ,  $r=0,419$ ,  $p<0,01$ ), кристаллов Шарко-Лейдена ( $r=0,455$ ,  $r=0,338$ ,  $p<0,05$ ), с уровнями ОПС ( $r=0,400$ ,  $p<0,01$ ,  $r=-0,234$ ,  $p<0,05$ ), FEV<sub>1</sub> ( $r=0,311$ ,  $p<0,01$ ,  $r=0,260$ ,  $p<0,05$ ), FEF<sub>25</sub> ( $r=0,427$ ,  $p<0,01$ ,  $r=0,254$ ,  $p<0,05$ ), PEF ( $r=0,402$ ,  $p<0,01$ ,  $r=0,283$ ,  $p<0,05$ ). Абсолютное и относительное содержание Т-лимфоцитов оказывало влияние на содержание в сыровотке крови IgM ( $r=-0,306$ ,  $r=-0,208$ ,  $p<0,05$ ), IgG ( $r=-0,288$ ,  $r=-0,249$ ,  $p<0,05$ ), ЦИК ( $r=0,405$ ,  $p<0,01$ ,  $r=0,263$ ,  $p<0,05$ ), содержание в периферической крови лейкоцитов ( $r=0,335$ ,  $r=0,251$ ,  $p<0,05$ ), уровень ЛИИ ( $r=-1,0$ ,  $r=-1,0$ ,  $p<0,01$ ), степень обструкции бронхиального дерева ( $r=0,314$ ,  $r=0,304$ ,  $p<0,05$ ). Отмечена корреляционная связь абсолютного и относительного количества Т-супрессоров с содержанием НК-клеток ( $r=-0,234$ ,  $r=-0,344$ ,  $p<0,05$ ), величиной ИРИ ( $r=-0,266$ ,  $p<0,05$ ,  $r=-0,828$ ,  $p<0,01$ ), уровнем СГДла ( $r=0,318$ ,  $p<0,01$ ,  $r=-0,203$ ,  $p<0,05$ ), распространенностью воспалительного процесса ( $r=-0,536$ ,  $r=-0,500$ ,  $p<0,01$ ), степенью активности эндобронхита ( $r=-0,555$ ,  $r=-0,548$ ,  $p<0,01$ ). Абсолютное и относительное содержание Т-хелперов коррелировало с величиной ЛИИ ( $r=-0,706$ ,  $p<0,01$ ,  $r=-0,227$ ,  $p<0,05$ ), ИРИ ( $r=0,527$ ,  $p<0,01$ ,  $r=0,302$ ,  $p<0,05$ ), степенью активности эндобронхита ( $r=0,327$ ,  $r=0,931$ ,  $p<0,01$ ). Содержание НК-клеток коррелировало с величиной ИРИ ( $r=0,327$ ,  $p<0,05$ ), содержанием в периферической крови палочкоядерных лейкоцитов ( $r=-0,498$ ,  $p<0,01$ ), величиной ЛИИ ( $r=1,0$ ,  $p<0,01$ ), содержанием клеток цилиндрического эпителия в мокроте ( $r=-0,402$ ,  $p<0,01$ ), характером бронхиальной секреции ( $r=0,496$ ,  $p<0,01$ ), распространенностью воспалительного процесса в бронхах ( $r=-0,807$ ,  $p<0,01$ ). Величина ИРИ коррелировала с уровнем ЛИИ ( $r=-1,0$ ,  $p<0,01$ ), распространенностью воспалительного процесса в бронхах ( $r=0,769$ ,  $p<0,01$ ), степенью активности эндобронхита ( $r=0,963$ ,  $p<0,01$ ).

Отмечены изменения показателей гуморального иммунитета у больных ПА: содержание IgM ( $p<0,1$ ) имело тенденцию к увеличению, а уровень IgG ( $p<0,1$ ) — к снижению по сравнению с контрольной группой. Выявлена обратная зависимость содержания IgA от степени тяжести заболевания — с увеличением тяжести заболевания уровень IgA снижался ( $p<0,05$ ). Содержание IgE у больных ПА было выше,

чем в контроле ( $p<0,01$ ), но ниже, чем у больных 2-й группы ( $p<0,01$ ). Однако частота повышенного уровня IgE у больных ПА не отличалась от больных 2-й группы ( $f=0,65$ ,  $f=0,7$  соответственно). Столь высокая частота повышенного уровня IgE у больных ПА несколько противоречит мнению D.Czarny (1993) о том, что с возрастом снижается роль IgE-опосредованных реакций, и у больных БА старше 60 лет они встречаются только в 30% случаев. Наиболее часто повышенный уровень отмечался у больных ПА с легким течением ( $f=0,75$ ) и при атопической форме ( $f=0,86$ ). Среднее значение содержания циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыровотке крови у больных ПА было ниже, чем в контрольной группе ( $p<0,01$ ) и у больных 2-й группы ( $p<0,01$ ), и практически не отличались у больных с разной степенью тяжести. Однако число больных с высоким содержанием ЦИК было максимальным при тяжелой степени ( $f=0,34$ ) и при гормонозависимой форме ( $f=0,37$ ).

Отмечены тенденция к снижению концентрации в сыровотке крови СЗ и С4 у больных ПА по сравнению с контрольной группой ( $p<0,1$ ), более выраженное снижение уровня СЗ и С4 у больных с тяжелой степенью ПА. В литературе существуют противоречивые данные о содержании СЗ и С4 в сыровотке крови больных БА. Ряд авторов [3] отметили повышение концентрации компонентов комплемента в период обострения БА. Однако имеются указания на различие в содержании С4 у больных БА в зависимости от длительности заболевания. Так, концентрация С4 в сыровотке была ниже при длительной БА по сравнению с таковой у пациентов с более коротким анамнезом [23], что согласуется с нашими данными. Нами отмечена обратная корреляционная связь давности заболевания с уровнями СЗ ( $r=-0,304$ ,  $p<0,05$ ) и С4 ( $r=-0,308$ ,  $p<0,05$ ). В клинической практике известно, что по мере увеличения длительности заболевания течение БА может изменяться — отмечается постепенное уменьшение или исчезновение признаков атопии и присоединение симптомов бронхолегочной инфекции. Это в большей степени относится к возрастному аспекту — с возрастом способность продуцировать IgE несколько снижается, а значит уменьшается возможность возникновения аллергических проявлений. Параллельно с подобной эволюцией может наблюдаться снижение концентрации С4, который более тесно коррелирует с аллергическими проявлениями, чем содержание IgE [3]. Снижение концентрации С4 у больных ПА можно расценить как участие активации комплемента по классическому пути в развитии нарушений бронхиальной проходимости.

Известно, что изменение субпопуляционного состава хелперных Т-лимфоцитов, приводящее к модификации набора цитокинов, продуцируемых Th1- и Th2-типами клеток, и как следствие к нарушению баланса между клеточной и гуморальной составляющими иммунореактивности, является одной из форм

количественного и качественного дисбаланса в иммунной системе. Дисбаланс этих компонентов адаптивного иммунитета способствует формированию патологических вариантов "ответа" иммунной системы, что вызывает развитие или обострение ряда заболеваний, в том числе и БА [5].

Исследования показали высокий уровень сывороточного содержания IL-4 у больных ПА, превышающий в несколько раз содержание этого цитокина в контроле ( $p < 0,001$ ) и у больных 2-й группы ( $p < 0,001$ ). Содержание TNF- $\alpha$  также было выше у больных ПА по сравнению с контролем ( $p < 0,01$ ) и больными 2-й группы ( $p < 0,05$ ), однако не столь существенно, как содержание IL-4. Содержание же IFN- $\gamma$  у больных ПА имело тенденцию к снижению. Это свидетельствовало о сдвиге баланса Th1/Th2-ответа в сторону Th2. Доказано, при Th2-ответе активация антигенспецифических Т-лимфоцитов может происходить при отсутствии антигена (аллергена). При этом возрастает роль инфекционных агентов, химических и физических факторов окружающей среды, способных за счет раздражения клеток эпителия дыхательных путей и макрофагов, находящихся в просвете бронхов, вызывать продукцию цитокинов, выступающих в качестве эндогенных индукторов активации лейкоцитов, формирующих воспалительную реакцию в бронхолегочной ткани. Именно перестройка иммунной системы на Th2-зависимый путь ответа может рассматриваться как иммунопатологическая основа ПА, при которой важное значение имеет сочетанное воздействие аллергических и неаллергических факторов и прежде всего персистирующей бронхолегочной инфекции.

Выявлена зависимость уровня этих цитокинов от степени тяжести заболевания — максимальные уровни IL-4 ( $p < 0,001$ ) и TNF- $\alpha$  ( $p < 0,01$ ) отмечены у больных с тяжелой степенью ПА, что указывало на разбалансированность регуляторных процессов, ответственных за поддержание нормального уровня клеточной активности, увеличивающуюся при прогрессировании заболевания. Содержание IFN- $\gamma$ , напротив, было минимальным у больных с тяжелым течением. Известно, что IFN- $\gamma$ , активируя макрофаги, стимулирует иммунную цитотоксичность, увеличивает киллинг интрацеллюлярных патогенов, обладает противовирусной активностью [4,27]. Снижение содержания IFN- $\gamma$  у больных с тяжелым течением ПА указывало на истощение иммунной системы и резком снижении макрофагальной активности. Анализ цитокинового профиля у больных с различными формами ПА показал, что максимальные уровни IL-4 и TNF- $\alpha$  отмечены при гормонозависимой форме, тогда как уровень IFN- $\gamma$  у этих больных был минимальным. У больных 2-й группы уровень IL-4 был выше, а IFN- $\gamma$  ниже при гормонозависимой форме, содержание же TNF- $\alpha$  практически не отличалось при различных формах.

Парный корреляционный анализ показал, что у больных ПА содержание IL-4 в сыворотке крови кор-

релировало со степенью утолщения слизистой бронхов ( $r = -0,428$ ,  $p < 0,05$ ); уровни TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$  — с содержанием в периферической крови лейкоцитов ( $r = 0,460$ ,  $r = 0,443$ ,  $p < 0,05$ ), с содержанием в мокроте эритроцитов ( $r = 0,515$ ,  $r = 0,410$ ,  $p < 0,05$ ) и нейтрофилов ( $r = 0,494$ ,  $r = 0,531$ ,  $p < 0,05$ ), сывороточными уровнями серомукоида ( $r = 0,566$ ,  $r = 0,573$ ,  $p < 0,01$ ) и  $Ca^{2+}$  ( $r = 0,431$ ,  $r = 0,433$ ,  $p < 0,05$ ),  $R_{tot}$  ( $r = 0,440$ ,  $r = 0,437$ ,  $p < 0,05$ ); уровни С3 и С4 коррелировали со степенью активностью эндобронхита ( $r = -0,342$ ,  $r = -0,398$ ,  $p < 0,01$ ); уровень С3 — с сывороточным содержанием  $Ca^{2+}$  ( $r = 0,342$ ,  $p < 0,05$ ); уровень IgA коррелировал с сывороточным содержанием кортизола ( $r = 0,516$ ,  $p < 0,01$ ); содержание IgG, IgM, IgA и С4 — со стадией АС ( $r = 0,494$ ,  $r = 0,775$ ,  $r = -0,507$ ,  $r = 0,903$ ,  $p < 0,01$ ). Наличие корреляционной зависимости между показателями системного иммунитета и тяжестью течения ПА, фазой обострения заболевания, функцией внешнего дыхания, бронхологически данными свидетельствует, что нарушения регуляции иммунного ответа имеют прямое отношение к отягощению течения заболевания и оказывают влияние на состоянии местного иммунитета бронхолегочной системы.

Известно, что важную роль в эффективности местной защиты бронхолегочной системы играют гуморальные факторы и прежде всего IgA, IgM, IgG и комплемент. Иммуноглобулины оказывают противовирусное и антимикробное действие, уменьшают адгезивную способность микроорганизма к слизистой оболочке бронха. Биологическое значение комплемента связано с его участием в воспалительных и иммунных реакциях легочной ткани в процессах местной защиты. Комплемент оказывает опсонизирующее действие, участвует в хемотаксисе и адгезии, оказывает влияние на секрецию гликопротеидов слизи, движение ресничек мерцательного эпителия бронхов, регулируя таким образом мукоцилиарный клиренс. Данные литературы о иммунологической характеристике бронхоальвеолярного смыва при БА неоднозначны [11–13,24].

Исследование содержания иммуноглобулинов в бронхоальвеолярном смыве показало, что концентрации IgA и IgG в нем у больных ПА были значительно снижены ( $p < 0,01$ ) по сравнению с больными 2-й группы. Более значительное снижение уровней иммуноглобулинов (IgA, IgG, IgM) отмечено при тяжелой степени ПА ( $p < 0,01$ ) и при гормонозависимой форме. Снижение содержания IgA, IgG, которые играют наиболее важную роль в местной защите бронхов, объясняет высокую частоту инфекционно-зависимой формы ( $f = 0,61$ ,  $p < 0,01$ ), а также перенесенных и сопутствующих заболеваний бронхолегочной системы у больных ПА ( $f = 0,97$ ,  $p < 0,001$ ). Содержание ЦИК в бронхоальвеолярном смыве было выше у больных ПА ( $p < 0,001$ ) по сравнению с показателем во 2-й группе и не зависело от тяжести и формы заболевания. Содержание С3 и С4 в смыве у больных ПА не отличалось от больных 2-й группы. Нами не отмечено раз-

личий средних значений СЗ у больных ПА в зависимости от тяжести и формы заболевания. Содержание же С4 было минимальным при тяжелом течении ПА ( $p<0,05$ ). Методом парной корреляции выявлена связь содержания IgA с уровнями в сыводе IgG, IgM, С4 и общего белка ( $r=0,555$ ,  $r=0,421$ ,  $r=0,463$ ,  $r=-0,523$ ,  $p<0,01$ ); содержание IgA, IgG и IgM в сыводе коррелировало с общим цитозом бронхоальвеолярного сывода ( $r=0,711$ ,  $r=0,786$ ,  $r=0,637$ ,  $p<0,01$ ), жизнеспособностью клеток ( $r=0,623$ ,  $r=0,775$ ,  $r=0,577$ ,

$p<0,01$ ), содержанием в сыводе альвеолярных макрофагов ( $r=0,675$ ,  $r=0,741$ ,  $r=0,671$ ,  $p<0,01$ ) и лимфоцитов ( $r=0,870$ ,  $r=0,582$ ,  $r=0,485$ ,  $p<0,01$ ), со степенью тяжести ( $r=-0,748$ ,  $r=-0,766$ ,  $r=-0,718$ ,  $p<0,01$ ); содержание ЦИК в бронхоальвеолярном сыводе коррелировало с распространенностью воспалительного процесса в бронхах ( $r=0,445$ ,  $p<0,05$ ), со стадией ЛСН ( $r=-0,474$ ,  $p<0,05$ ).

Важное значение в развитии и поддержании воспаления при БА имеют IL-4 и TNF- $\alpha$ . Именно эти ци-

Таблица

Показатели системного иммунитета

Показатель	Контрольная группа (n=20)	1-я группа (n=168)	2-я группа (n=112)
Лейкоциты, тыс/мкл	5,411±0,131	7,253±0,182*	6,621±0,133*.#
Лимфоциты:			
%	30,011±0,011	25,122±0,83938*	22,838±0,959
тыс/мкл	1,611±0,051	1,59±0,062	1,46±0,078
CD3+:			
%	76,011±1,031	62,395±1,205*	61,768±1,567
тыс/мкл	1,341±0,051	1,197±0,068*	1,092±0,082
CD4+:			
%	41,011±1,041	36,302±0,843*	37,804±1,048
тыс/мкл	2,741±0,241	0,846±0,069*	0,889±0,121
CD8+:			
%	29,121±1,021	27,023±0,905	26,679±1,014
тыс/мкл	2,741±0,241	0,646±0,043**	0,591±0,489
ЛИИ	7,021±0,245	7,063±0,285	7,454±0,355
НК	13,061±0,611	11,214±0,563*	12,854±0,913
СВ22+:			
%	8,001±0,231	5,514±0,307**	6,512±0,472*
тыс/мкл	0,111±0,002	0,092±0,01	0,089±0,009
ИРИ	1,311±0,131	1,579±0,088*	1,591±0,102
СЗ, г/л	n=15 1,311±0,051	n=54 1,152±0,063	n=24 1,311±0,115
С4, г/л	0,401±0,011	0,356±0,019	0,344±0,029
ЦИК, усл.ед.	n=20 50,091±2,211	n=119 42,714±2,682**	n=106 55,0±4,841##
IL-4, пг/мл	n=30 30,751±9,986	n=20 247,148±83,772***	n=16 19,365±10,004*.,###
TNF- $\alpha$ , пг/мл	30,635±4,18	106,063±11,565**	80,757±22,555***,.#
IFN- $\gamma$ , пг/мл	22,361±4,559	20,635±9,097	29,194±20,063
IgA	2,561±0,031	2,426±0,107	2,195±0,102
IgM	1,651±0,521	1,806±0,081	1,842±0,123
IgG	14,921±1,121	13,453±0,452	12,299±0,508
IgE, МЕ/мл	103,631±7,951	n=138 282,044±29,266**	n=80 369,058±27,192***,##

Примечание. \*  $p<0,05$ , \*\*  $p<0,01$ , \*\*\*  $p<0,001$  — достоверные отличия от контрольной группы. #  $p<0,05$ , ##  $p<0,01$ , ###  $p<0,001$  — достоверные отличия между 1-й и 2-й группами.

токины определяют цитологический тип воспаления в бронхах при БА. У больных ПА при исследовании клеточного состава бронхоальвеолярного смыва определен эозинофильно-нейтрофильный тип воспаления с преобладанием последнего компонента. Это объясняет особенность дисбаланса цитокинов в смыве при ПА: содержание IL-4 и IFN- $\gamma$  было ниже, чем у больных 2-й группы ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,01$ ), тогда как содержание TNF- $\alpha$  не отличалось. Отмечена зависимость содержания цитокинов от степени тяжести и формы заболевания: у больных ПА содержание IL-4 увеличивалось, а IFN- $\gamma$ , напротив, снижалось при тяжелом течении, тогда как содержание TNF- $\alpha$  не зависело от тяжести заболевания. У больных 2-й группы максимальный уровень IL-4 отмечен при средней степени тяжести астмы. Содержание IL-4 и TNF- $\alpha$  у больных ПА было максимальным при гормонозависимой форме, тогда как IFN- $\gamma$  при инфекционно-зависимой форме. У больных 2-й группы отмечена иная закономерность — уровень IL-4 был максимальным при смешанной форме, а TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$  — при инфекционно-зависимой.

Выявлены корреляционные связи между содержанием цитокинов в бронхиальном смыве и рядом показателей, определяющих особенности течения ПА. Так, содержание IL-4 коррелировало с содержанием в смыве С3 ( $r = -0,632$ ,  $p < 0,01$ ), С4 ( $r = -0,549$ ,  $p < 0,01$ ), общего белка ( $r = -0,451$ ,  $p < 0,05$ ), с абсолютным содержанием Т-лимфоцитов ( $r = -0,442$ ,  $p < 0,05$ ), содержанием НК-клеток ( $r = -0,575$ ,  $p < 0,01$ ); сывороточными уровнями С3 ( $r = 0,656$ ,  $p < 0,01$ ) и С4 ( $r = 0,895$ ,  $p < 0,01$ ), уровнями ударного объема (УО) ( $r = -0,498$ ,  $p < 0,05$ ), УИ ( $r = -0,514$ ,  $p < 0,05$ ), FEF<sub>25</sub> ( $r = -0,461$ ,  $p < 0,05$ ), PEF ( $r = -0,653$ ,  $p < 0,01$ ), со степенью ДН ( $r = 0,429$ ,  $p < 0,05$ ), частотой дневных ( $r = 0,594$ ,  $p < 0,01$ ) и ночных ( $r = 0,452$ ,  $p < 0,05$ ) приступов удушья, состоянием больного ( $r = 0,612$ ,  $p < 0,01$ ), выраженностью одышки ( $r = 0,569$ ,  $p < 0,01$ ) и цианоза ( $r = 0,611$ ,  $p < 0,01$ ). Уровень TNF- $\alpha$  коррелировал с содержанием в смыве альбумина ( $r = -0,871$ ,  $p < 0,01$ ); уровнями УО ( $r = 0,496$ ,  $p < 0,05$ ), УИ ( $r = 0,440$ ,  $p < 0,05$ ), СГДла ( $r = -0,546$ ,  $p < 0,01$ ); степенью бронхиальной обструкции ( $r = -0,548$ ,  $p < 0,01$ ); стадией ЛСН ( $r = -0,665$ ,  $p < 0,01$ ), характером кашля ( $r = -0,448$ ,  $p < 0,05$ ) и мокроты ( $r = 0,429$ ,  $p < 0,05$ ), выраженностью интоксикационного синдрома ( $r = 0,689$ ,  $p < 0,01$ ). Содержание IFN- $\gamma$  коррелировало с абсолютным содержанием Т-лимфоцитов ( $r = -0,572$ ,  $p < 0,01$ ) и В-лимфоцитов ( $r = 0,494$ ,  $p < 0,05$ ), содержанием НК-клеток ( $r = -0,541$ ,  $p < 0,01$ ), уровнем IgM ( $r = -0,653$ ,  $p < 0,01$ ), С4 ( $r = 0,648$ ,  $p < 0,01$ ), PEF ( $r = -0,440$ ,  $p < 0,05$ ), содержанием нейтрофилов в мокроте ( $r = 0,460$ ,  $p < 0,05$ ), распространенностью воспалительного процесса в бронхах ( $r = 0,460$ ,  $p < 0,05$ ) и суточным объемом мокроты ( $r = 0,476$ ,  $p < 0,05$ ).

Таким образом, иммунологические исследования больных ПА выявили выраженное снижение общей популяции Т-лимфоцитов в сыворотке крови за счет уменьшения как Т-хелперов, так и Т-супрессоров с

более значительным снижением последних, повышение уровней сывороточных IgE, TNF- $\alpha$ , IL-4, некоторое снижение концентрации компонентов комплемента С3 и С4, а также значительное снижение местной защиты бронхолегочной системы (дефицит IgA, IgG и IFN- $\gamma$  в бронхоальвеолярном смыве), которые во многом определены иммуносупрессивными свойствами сопутствующих и перенесенных заболеваний респираторной системы. В наших исследованиях установлено, что наиболее выраженная блокада механизмов супрессии наблюдается при сложных сочетаниях механизмов патогенеза БА и присутствии инфекции дыхательных путей. Выраженность нарушений системного и местного иммунитета оказывала влияние на клинические проявления заболевания, интенсивность эндоскопических признаков эндобронхита, функцию внешнего дыхания, состояние центральной и легочной гемодинамики (см. табл.)

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Борисова А.М. Новые подходы к изучению иммунодефицитных состояний при хронических неспецифических заболеваниях легких. Тер. арх. 1991; 10: 4–13.
2. Дворецкий Л.И., Дидковский Н.А., Решетова Н.В. Система комплемента и бронхиальная астма. Там же. 1984; 3: 38–40.
3. Денисова Т.П., Малинова Л.И., Брук С.Б. Особенности течения бронхиальной астмы у лиц пожилого и старческого возраста. В кн.: Резюме докладов IX Национального конгресса по болезням органов дыхания. М.; 1999. 63, N.10.
4. Жибурт Е.Б., Серебряная Н.Б., Каткова И.В., Дьякова В.В. Цитокины в кроветворении, иммуногенезе и воспалении. Terra Medica 1996; 3: 38–42.
5. Козлов В.А. Научные аспекты современной цитокинотерапии: реальность и перспективы. Рос. Мед. вести 1999; 1: 52–54.
6. Козлов В.К. Современная иммунотерапия при инфекционной патологии. Опыт клинического применения препарата Ронколейкин. СПб; 2001.
7. Крысов С.В., Курашин Д.Х., Силков С.А. и др. Использование электрохемилюминесцентного метода для количественного определения цитокинов в различных средах. Клини. лаб. диагн. 2000; 12: 39–43.
8. Лобкова Ю.С., Калинина Н.М., Лобкова О.С. и др. Цитокиновый профиль как критерий оценки специфической иммунотерапии atopических аллергических заболеваний. Экспер. и клин. алергол. 1999; 2: 35–38.
9. Медуницин Н.В. Цитокины и аллергия. Иммунология 1999; 5: 5–8.
10. Потанин М.П., Печковский Д.В. Молекулярные и клеточные механизмы иммунопатологии при бронхиальной астме. Пульмонология 1997; 3: 74–79.
11. Саликаева Ю.О., Волкова Л.И., Плешко Р.И. и др. Характеристика бронхиальных смывов у больных с различными формами бронхиальной астмы и хроническим обструктивным бронхитом. Там же 1998; 2: 59–63.
12. Саликаева Ю.С. Цитологическая и иммунологическая характеристика бронхоальвеолярных смывов и морфофункциональные свойства эозинофилов крови при бронхиальной астме: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Барнаул; 2000.
13. Самсонова М.В. Цитологическая и бактериоскопическая характеристика бронхоальвеолярных смывов взрослых больных муковисцидозом в процессе лечения. Пульмонология 1996; 3: 50–54.
14. Семенова Н.В. Особенности нарушения иммунного статуса при сочетании бронхиальной астмы и аутоиммунного тиреоидита и подходы к иммунокоррекции. Там же 1997; 4: 19–22.

15. Собченко С.А. Особенности течения и организация длительного лечения поздней астмы: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. СПб, 1997.
16. Солдатов А.А., Соболев А.В., Берензон М.В. и др. Расчетный индекс лейкоцитов в оценке аллергического процесса. Клини. лаб. диагн. 1997; 11: 35–36.
17. Стригин В.М., Колесников А.П. Клеточный иммунитет и уровень циклонуклеотидов в иммунорегуляторных клетках больных бронхиальной астмой и хроническим бронхитом. Тер. арх. 1997; 1: 72–75.
18. Федоров И.А. Характеристика воспалительного процесса в бронхиальном дереве у детей при тяжелых формах бронхиальной астмы в фазу ремиссии. Пульмонология 1999; 1: 63–67.
19. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Современные представления о защите организма от инфекции. Иммунология 2000; 1: 61–65.
20. Чучалин А.Г. Бронхиальная астма. М.: Агар; 1997; т.1: 357–423.
21. Чучалин А.Г. Актуальные вопросы диагноза в пульмонологии. Пульмонология 2001; 2: 6–11.
22. Blackburn G.F., Shah H.P., Kenten J.H. et al. Electrochemiluminescence detection for development of immunoassays and DNA probe assay for clinical diagnostics. Clin. Chem. 1991; 37: 1534–1539.
23. Bodey K., Semper A., Redington A., Madden J. Cytokine profiles of BAL T cell and T cell clones obtained from human astmatic airways after local allergen challenge. Allergy 1999; 54 (11): 1083–1093.
24. Connolly M.J. Ageing, late-onset asthma and the beta-adrenoceptor. Pharmacol. Ther. 1993; 60 (3): 389–404.
25. Deniz G., Akdiss M., Blaser K. Human natural cell subsets, cytokine pattern and IgE regulation. Allergy 1999; 54 (suppl.57): 840–851.
26. Durham S.D. Allergic inflammation: cellular aspects. Ibid. (suppl.56): 18–20.
27. Esnault S., Benbernou N., Lavaud F. et al. Differential spontaneous expression of mRNA for IL-4, IL-10, IL-13, IL-2 and interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) in peripheral mononuclear cells (PBMC) from atopic patients. J. Clin. Exp. Immunol. 1996; 103: 111–118.
28. Gianni Marone. Asthma: recent advances. Trends Immunol. Today 1998; 19 (1): 5–9.
29. Oettgen H.C., Raif S. Geha IgE in asthma and atopy: cellular and molecular connections. The J. Clin. Invest. 1999; 104 (7): 829–835.
30. Taro Shirakawa, Deichmann K.A., Kenji Izuhara et al. Atopy and asthma: genetic variants of IL-4 and IL-13 signalling. Trends Immunol. Today 2000; 21 (2): 60–63.
31. Tay K.I. Asthma among elderly people. Int. J. Immunorehabil. 1997; 7: 22–24.

Поступила 16.07.01

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2003

УДК [616.248-06:616.155.35]-056.73

*Л.М.Огородова, В.П.Пузырев, О.С.Кобякова, Ю.А.Петровская, А.В.Дубаков, Ф.И.Петровский, М.Б.Фрейдin, И.М.Кулманакова, Е.М.Камалтынова, О.А.Салюкова*

## ПОЛИМОРФИЗМ С-703Т-ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-5 И МАРКЕРЫ ЭОЗИНОФИЛЬНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И ИХ РОДСТВЕННИКОВ

Сибирский медицинский университет, Томск; НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН

POLYMORPHISM OF C-703T INTERLEUKIN-5 GENE AND EOSINOPHILIC INFLAMMATION  
MARKERS IN BRONCHIAL ASTHMA PATIENTS AND THEIR RELATIVES

*L.M.Ogorodova, V.P.Puzyrev, O.S.Kobyakova, Yu.A.Petrovskaya, A.V.Dubakov, F.I.Petrovsky,  
M.B.Freidin, I.M.Kulmanakova, E.M.Kamaltynova, O.A.Salyukova*

### Summary

Markers of eosinophilic inflammation were studied in bronchial asthma patients and their relatives (bronchial hyperreactivity, eosinophils of nasal smear, total serum immunoglobulin E, interleukin-5). An association of C-703T interleukin-5 gene polymorphism and the disease was analysed. Results of our study showed a close relationship between eosinophils in nasal smear, total serum immunoglobulin E and bronchial hyperreactivity in mechanisms involved in asthma and atopy development. The statistically significant association of C-703T interleukin-5 gene polymorphism with asthma was shown.

### Резюме

В выборке больных атопической бронхиальной астмой и членов их семей исследованы маркеры эозинофильного воспаления (бронхиальная гиперреактивность, эозинофилы в мазках-отпечатках со слизистой носа, общий иммуноглобулин Е и интерлейкин-5 в сыворотке крови) и проведен анализ ассоциации полиморфизма С-703Т-гена интерлейкина-5 с заболеванием. Показана взаимосвязь изученных маркеров эозинофильного воспаления в механизмах развития астмы и атопии. Установлена достоверная ассоциация полиморфизма С-703Т-гена интерлейкина-5 с бронхиальной астмой.