

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 1223 (26.01.2017).
1223 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7

© The Author (s) 2017;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland
Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.
Received: 02.02.2017. Revised 03.02.2017. Accepted: 05.02.2017.

CELLULAR AND HUMORAL IMMUNITY IN CHILDREN WITH ASTHMA

V. M. Dudnyk, A. P. Fedchushen, K. V. Khromykh

Vinnitsa National Pyrogov Memorial Medical University

Abstract

Asthma – is a chronic inflammatory disease of the airways, which most researchers attribute to allergic diseases which are based on immunological mechanisms, essentially even at present the subject of numerous studies. The aim of our study was to determine the cellular and humoral immunity in children with various forms of asthma. We have comprehensively examined 200 children with asthma aged 6 to 17 years. Found that state humoral and cellular immunity in patients with asthma differs depending on the form of the disease, such as serum IgA was at 24.68% higher at nonatopic asthma compared with atopic its form. Phagocytic index in children with asthma in nonatopic 2.92 times higher than in atopic asthma, indicating the presence of an infectious factor. Marked changes in cellular and humoral immunity depending on the content of 25 (OH) D3 and catheliticidin LL-37. Thus, the value of IgA was 1.75 times higher in patients with the optimal content of 25 (OH) D3 in the serum, unlike the parameters in children with failure and deficiency of this vitamin. Found that in children with asthma containing catheliticidin LL-37 in the serum of more than 51.9 pg / ml phagocytic index at 44.74% higher compared to patients in whom serum content catheliticidin LL-37 was less than 17 55 pg / ml

Key words: asthma, immunity, children

СТАН КЛІТИННОГО ТА ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ У ДІТЕЙ ПРИ РІЗНИХ ФОРМАХ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ

В. М. Дудник, О. П. Федчишен, К. В. Хромих

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова

Актуальність теми. Бронхіальна астма (БА) – хронічне запальне захворювання дихальних шляхів, яке більшість дослідників відносить до алергічних захворювань в основі яких лежать імунологічні механізми, суть яких навіть у теперішній час є предметом численних досліджень [1]. Проста реакція антиген-антитіло не відображає усю складність формування відповіді імунної системи на антигенний подразник при різноманітних клінічних варіантах БА, особливо у дітей різних вікових груп.

Сучасна концепція патогенезу БА представляє його як характерний запальний процес, що веде до розвитку бронхіальної обструкції і підвищеної гіперреактивності бронхів у відповідь на імунологічні, нейрогенні, фізичні, хімічні стимули. Характерною рисою цього запалення є підвищений вміст активованих клітин (еозинофілів, тучних клітин, нейтрофілів, лімфоцитів і ін.) В слизовій бронхіального дерева і його просвіті, потовщення ретикулярного шару базальної мембрани альвеол [2].

Відповідь організму на антигенний вплив визначається імунною системою, основна ланка якої включає взаємодію трьох типів клітин: Т- і В-лімфоцитів та макрофагів. Відповідь проявляється розвитком клітинних і гуморальних реакцій, що включає підвищення вмісту IgE, зменшенням вмісту секреторного IgA, переважанні популяції Th2-лімфоцитів, які забезпечують нормальну імунну реакцію. Th2-лімфоцити секретують значну кількість запальних цитокінів – інтерлейкінів, які сприяють збільшенню секреції IgE В-лімфоцитами, опасистими клітинами та міграції й накопиченню еозинофілів у легенях [3].

У процесі розвитку імунної системи протимікробним пептидам була відведена особлива імунорегулююча роль. З одного боку, вони мають протизапальні властивості за рахунок індукції секреції інтерлейкіну 10. З іншого боку, протимікробні пептиди спрямовують до вогнища запалення нейтрофіли, В-клітини, макрофаги, призводячи до вивільнення медіаторів запалення, таких як інтерлейкіни 8, 6, 10, інтерферон- γ та лейкотрієн В4. Таким чином, протимікробні пептиди — це не тільки ендogenous антибіотики, а також відіграють важливу роль в активації процесів запалення, репарації

та регуляції адаптивної імунної відповіді [4]. Порушення їх експресії супроводжується збільшенням ризику розвитку інфекційних, запальних, алергічних та аутоімунних захворювань.

Мета дослідження. Визначити стан клітинного та гуморального імунітету у дітей при різних формах бронхіальної астми.

Матеріали та методи дослідження. Нами було комплексно обстежено 200 дітей, хворих на бронхіальну астму віком від 6 до 17 років. Верифікацію діагнозу БА проводили згідно наказу МОЗ України № 868 від 08.10.13р. із урахуванням рекомендацій «Глобальної ініціативи по бронхіальній астмі» (Global Initiative for Asthma, GINA, 2016) та рекомендацій, затверджених на XII з'їзді педіатрів України (2010 р., м. Київ). Всі дослідження та лікувальні заходи проводились за згодою хворих дітей та їх батьків.

Імунограма: тести I та II рівня виконувались методом проточної цитофлуометрії, а III та IV рівня визначали методом твердо фазного імуноферментного аналізу (ELISA) у медичній лабораторії «Synevo» (свідоцтво про атестацію №ПУ-0127/09 від 18.08.2009р.).

Вміст 25- гідроксихолекальциферолу (25(OH)D₃) в сироватці крові визначали імуноферментним методом за набором «25-OH-Vitamin D-ELISA» (BioVendor, Німеччина) у відповідності до інструкції фірми-виробника.

Вміст кателіцидину LL-37 в сироватці крові визначали імуноферментним методом за набором «Human Cathelicidin LL-37» (HK321, HUMAN LL-37 ELISA; Nycultbiotech, Нідерланди) у відповідності до інструкції фірми-виробника. Розподіл рівнів кателіцидину LL-37 здійснювали за допомогою статистичного методу поділу варіаційних рядів на квартилі: I квартиль (менше 17,55 пг/мл), II квартиль (17,56 – 33,70 пг/мл), III квартиль (33,71 – 51,87 пг/мл) та IV квартиль (більше 51,9 пг/мл).

В якості контрольної групи було обстежено 40 здорових дітей, яким було виконано весь спектр клінічного, біохімічного та інструментального дослідження. Статистична обробка отриманих результатів була проведена за допомогою програми IBM SPSS Statistics, версія 20 (2013 р.), із застосуванням параметричних і непараметричних методів оцінки отриманих результатів.

Результати та їх обговорення. Вивчивши стан імунної системи у дітей із БА відмічено, що вміст IgA, IgM та IgG (2,63± 0,10 МО/мл, 0,45 ± 0,02 МО/мл та 4,68 ± 0,10 МО/мл відповідно) достовірно відрізняється від показників здорових дітей (1,98±0,09 МО/мл, 1,15±0,09 МО/мл та 12,15±0,27 МО/мл відповідно)(p ≥ 0,05). Показники

клітинної ланки імунітету відрізнялись від значень здорових дітей, а саме імунорегуляторний індекс ($2,39 \pm 0,06$), В-лімфоцити ($30,87 \pm 0,21$), НК-клітини ($30,87 \pm 8,13$) та фагоцитарний індекс ($72,81 \pm 0,31$).

Вивчаючи зміни показників гуморальної ланки імунітету залежно від форми захворювання, встановлено, що вміст сироваткового IgA вищий при неалергічній формі БА та свідчить про наявність інфекційного чинника, який стимулює підвищення наведеного імуноглобуліну. IgM та IgG мали достовірно нижчі рівні, аніж у групі здорових дітей (табл. 1).

Таблиця 1

Стан гуморальної ланки імунітету у дітей, хворих на бронхіальну астму залежно від форми захворювання ($M \pm m$)

Форма БА		IgA	IgM	IgG
Алергічна	Атопічна	$2,32 \pm 0,08^*$	$0,58 \pm 0,01^*$	$6,94 \pm 0,03^*$
	Неатопічна	$3,08 \pm 0,05^{***}$	$0,52 \pm 0,01^*$	$5,34 \pm 1,17^*$
Змішана		$2,45 \pm 0,31^*$	$0,35 \pm 0,012^{**}$	$3,42 \pm 1,19^{**}$
Здорові діти		$1,98 \pm 0,09$	$1,15 \pm 0,09$	$12,15 \pm 0,27$

Примітка. * - $p \leq 0,001$ - різниця вірогідна показників здорових дітей;

** - $p \leq 0,01$ - різниця вірогідна відносно показників пацієнтів із іншими формами БА;

$p \leq 0,05$ - різниця вірогідна відносно показників пацієнтів із атопічною формою БА.

Вміст Т-лімфоцитів, НК-клітин та фагоцитарний індекс найвищі при неатопічній формі захворювання, що свідчить про присутність інфекційного агента та активацію відповідних ланок імунітету. Т-хелпери, Т-супресори та імунорегуляторний індекс зростають при атопічному варіанті БА, а В-лімфоцити – при змішаному її перебігу (табл. 2).

Встановлено, що вміст імуноглобулінів А,М та G достовірно відрізнявся в залежності від рівня 25(OH)D₃. Так, у дітей із оптимальним вмістом вітаміну D₃ значення показників гуморальної ланки були достовірно нижчими ($p \leq 0,05$), ніж у хворих із недостатністю та дефіцитом 25(OH)D₃ (табл. 3).

Таблиця 2

Стан клітинної ланки імунітету у дітей, хворих на бронхіальну астму залежно від форми захворювання ($M \pm m$)

Показники	Форма БА			Здорові діти
	Алергічна		Змішана	
	Атопічна	Неатопічна		
CD3 (Т-лімфоцити)	46,62±1,19	72,46±0,39**	50,13±1,75	53,2 ± 0,42
CD4 (Т-хелпери)	53,89±1,63**	34,14±0,93	17,20±0,41	35,73 ± 0,44
CD8 (Т-супресори)	8,05±0,61**	31,19±0,53	19,95±0,83	20,45± 0,24
Імунорегуляторний індекс (CD4/CD8)	3,42±0,09**	1,92±0,05	2,29±0,08	1,87 ± 0,09
CD22 (В-лімфоцити)	26,27±1,87	33,69±2,19	44,89±0,60**	24,53± 0,41
CD16 (NK-клітини)	40,32±1,22	30,22±0,88**	31,37±0,84	59,5 ± 0,54
Фагоцитарний індекс	30,62±1,49	89,62±0,68**	74,23±1,08	17,48± 0,22

Примітка. * - $p \leq 0,001$ - різниця вірогідна показників здорових дітей;

** - $p \leq 0,01$ - різниця вірогідна відносно показників пацієнтів із іншими формами БА.

Таблиця 3

Значення показників гуморальної ланки імунітету залежно від рівня 25(OH)D₃в сироватці крові дітей, хворих на БА ($M \pm m$)

Рівень 25(OH)D ₃ , нг/мл	Показники гуморальної ланки імунітету		
	IgA	IgM	IgG
Оптимальний (30 – 50 нг/мл)	2,84±0,29	0,46±0,02	4,48±0,39
Субоптимальний (20 – 30 нг/мл)	2,57±0,22	0,43±0,02	4,34±0,33
Недостатність (10 – 20 нг/мл)	2,58±0,15*	0,45±0,01*	4,79±0,19*
Дефіцит (менше 10 нг/мл)	2,26±0,13	0,45±0,03	5,52±0,46
Здорові діти	1,98±0,09	1,15±0,09	12,15±0,27

Примітка. * - $p \leq 0,05$ - різниця вірогідна показників здорових дітей

Проаналізувавши значення імуноглобулінів А,М та G у дітей, хворих на БА, залежно від вмісту кателіцидину LL-37, встановлено, що у пацієнтів із рівнем даного протимікробного пептиду більше 51,9 пг/мл показники гуморальної ланки імунітету були достовірно ($p \leq 0,05$) вищими, у порівнянні із групою дітей, які мали вміст кателіцидину LL-37 менше 17,55 пг/мл (табл. 4).

Таблиця 4

Значення показників гуморальної ланки імунітету залежно від рівня протимікробного пептиду кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на БА ($M \pm m$)

Вміст протимікробного пептиду кателіцидину LL-37	Показники гуморальної ланки імунітету		
	IgA	IgM	IgG
I кuartиль (менше 17,55 пг/мл)	2,52±0,09*	0,53±0,02*	6,19±0,22*
II кuartиль (17,56 – 33,70 пг/мл)	2,59±0,49*	0,35±0,02*	3,46±0,25*
III кuartиль (33,71 – 51,87 пг/мл)	2,53±0,13*	0,45±0,02*	4,15±0,29*
IV кuartиль (більше 51,9 пг/мл)	2,97±0,09**	0,49±0,01**	5,34±0,24**
Здорові діти	1,98±0,09	1,15±0,09	12,15±0,27

Примітка. * - $p \leq 0,05$ - різниця вірогідна показників здорових дітей;
 $p \leq 0,05$ - різниця вірогідна відносно показників I кuartилю.

Встановлено, що при недостатності та дефіциті 25(OH)D₃ показники В-лімфоцити, фагоцитарного та імунорегуляторного індексів достовірно підвищувались у порівнянні із показникми дітей, хворих на БА, із оптимальним вмістом 25(OH)D₃. Натомість CD₃, CD₄ та НК-клітини були вищими у дітей із недостатністю або дефіцитом вітаміну D₃ на відміну від пацієнтів із оптимальним його рівнем (табл. 5).

CD3 (Т-лімфоцити), CD4 (Т-хелпери) та CD8 (Т-супресори) мали найвищі значення у дітей, хворих на БА із вмістом кателіцидину LL-37 в сироватці крові більше 51,9 пг/мл. Що стосується імунорегуляторного та фагоцитарного індексів, В-лімфоцитів та НК-клітин, їх значення були достовірно більшими у пацієнтів із вмістом кателіцидину LL-37 менше 17,55 пг/мл (табл. 6).

Таблиця 5

Значення показників клітинної ланки імунітету залежно від рівня вітаміну Д₃ в сироватці крові дітей, хворих на БА (М ± m)

Показники	Рівень 25(OH)D ₃			
	Оптимальний (30 – 50 нг/мл)	Субоптимальний (20 – 30 нг/мл)	Недостатність (10 – 20 нг/мл)	Дефіцит (менше 10 нг/мл)
CD ₃ (Т-лімфоцити)	58,27±2,73	55,12±2,39	55,63 ± 1,73*	63,4 ± 3,74*
CD ₄ (Т-хелпери)	32,36±2,91	28,09±2,11	29,18 ± 1,55*	27,87 ± 3,14*
CD ₈ (Т-супресори)	21,39±2,00	20,15±1,29	21,36 ± 1,04*	24,53 ± 2,72*
Імунорегуляторний індекс (CD ₄ /CD ₈)	2,48±0,08	2,32±0,15	2,29±0,13*	2,27 ± 0,24*
CD ₂₂ (В-лімфоцити)	36,61±2,47	39,77±1,96	37,83±1,31*	35 ± 4,27*
CD ₁₆ (NK-клітини)	30,58±1,33	30,56±1,08	30,51±0,83*	35 ± 2,27*
Фагоцитарний індекс	70,64±3,73	73,38±2,56	72,39±1,88*	78,33 ± 4,78*

Примітка. * - $p \leq 0,05$ - різниця вірогідна відносно оптимального рівня 25(OH)D₃

Таблиця 6

Значення показників клітинної ланки імунітету залежно від рівня протимікробного пептиду кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на БА (М ± m)

Показники	Вміст протимікробного пептиду кателіцидину LL-37			
	I кuartиль (менше 17,55 пг/мл)	II кuartиль (17,56 – 33,70 пг/мл)	III кuartиль (33,71 – 51,87 пг/мл)	IV кuartиль (більше 51,9 пг/мл)
CD ₃ (Т-лімфоцити)	49,26±1,74	50,75±2,29	58,09±2,36	73,18±0,53*
CD ₄ (Т-хелпери)	43,1±2,65	18,25±0,94	25,8±1,53	33,71±1,31*
CD ₈ (Т-супресори)	12,54±1,21	19,11±1,09	24,14±1,13	32,47±0,69*
Імунорегуляторний індекс CD ₄ /CD ₈)	3,17±0,10	2,35±0,11	2,09±0,1	1,83±0,07
CD ₂₂ (В-лімфоцити)	31,2±1,82	32,26±3,15	40,90±1,49	44,46±0,99
CD ₁₆ (NK-клітини)	31,42±1,29	31,78±1,06	29,07±1,13	31,08±1,04
Фагоцитарний індекс	49,82±2,38	75,21±1,65	79,53±1,6	90,16±1,01

Примітка. * - $p \leq 0,05$ - різниця вірогідна відносно дітей із вмістом кателіцидину LL-37 менше 17,55 пг/мл

Встановлено взаємозв'язок між вмістом протимікробного пептиду кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на БА, та рівнем сироваткового $IgA_{r_{xy}} = -0,598$ ($p = 0,01$), фагоцитарним індексом ($r_{xy} = 0,469$; ($p = 0,01$)) та імунорегуляторним індексом ($r_{xy} = 0,679$; ($p = 0,01$)).

Висновки. Встановлено, що стан гуморального та клітинного імунітету у пацієнтів із бронхіальною астмою різнився в залежності від форми захворювання, а саме вміст сироваткового IgA був на 24,68 % вищим при неатопічній БА в порівнянні із атопічною її формою. Фагоцитарний індекс у дітей із неатопічною БА у 2,92 рази вищий, ніж при атопічній БА, що свідчить про наявність інфекційного чинника. Відмічено зміни у клітинному та гуморальному ланках імунітету залежно від вмісту 25(OH)D₃ та кателіцидину LL-37. Так, значення IgA були в 1,75 рази вищими у пацієнтів із оптимальним вмістом 25(OH)D₃ в сироватці крові, на відміну від показників у дітей із недостатністю та дефіцитом даного вітаміну. Встановлено, що у дітей, хворих на БА із вмістом кателіцидину LL-37 в сироватці крові понад 51,9 пг/мл фагоцитарний індекс на 44,74 % більший, у порівнянні із пацієнтами в сироватці крові яких вміст кателіцидину LL-37 був менше 17,55 пг/мл.

Список літератури

1. Охотникова Е.Н. Патогенетические особенности бронхообструктивного синдрома у детей и современные возможности неотложной терапии/ АСТМА ТА АЛЕРГИЯ, № 2 • 2013, с. 52 – 61.
2. Уманец Т.Р., Лапшин В.Ф. Бронхиальная астма и фенотипы свистящих хрипов у детей // Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. – 2010. – № 2. – С. 66-69.
3. Cosmi L, Liotta F, Maggi E, Romagnani S, Annunziato F. Th17 cells: new players in asthma pathogenesis. Allergy. 2011; 66:989–998.10.1111/j.1398-9995.2011.02576.x [PubMed: 21375540]
4. Абатуров, А. Е. Катионные антимикробные пептиды системы неспецифической защиты респираторного тракта: Дефензины и кателицидины. [Текст] : дефензины - молекулы, переживающие ренессанс : (часть 2) / А. Е. Абатуров // Здоровье ребенка. - 2011. - N 8. - С. 137-142

References

1. Ohotnikova E.N. Patogeneticheskie osobennosti bronhoobstruktivnogo sindroma u detey i sovremennye vozmozhnosti neotlojnoj terapii [Pathogenic features of bronchial obstruction syndrome in children and advanced capabilities of emergency treatment] / ASTMA TA ALERGIYA, № 2 • 2013, S. 52 – 61.
2. Umanec T.R., Lapshin V.F. Bronhialnaya astma i fenotipi svistyaschih hripov u detey [Bronchial asthma and phenotypes of wheezing in children] // Klinichna imunologiya. Alergologiya. Infektologiya. – 2010. – № 2. – S. 66-69.
3. Cosmi L, Liotta F, Maggi E, Romagnani S, Annunziato F. Th17 cells: new players in asthma pathogenesis. Allergy. 2011; 66:989–998.10.1111/j.1398-9995.2011.02576.x [PubMed: 21375540]
4. Abaturov, A. E. Kationnie antimikrobnie peptidi sistemi nespecificheskoy zaschiti respiratornogo trakta: Defenzini i katelicidini. [Tekst] : defenzini - molekuli, perejivayuschie renessans : (chast 2) [Cationic antimicrobial peptides of nonspecific protection of the respiratory tract: defensins and cathelicidins. [Text]: defensins - molecule experiencing a renaissance: (Part 2)] / A. E. Abaturov // Zdorov'e rebenka. - 2011. - N 8. - S. 137-142