

УДК: 616.233 — 002.193 — 053.4/.6] — 071: 612.017.1

СТАН НЕСПЕЦИФІЧНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ, СИСТЕМНОГО ТА МІСЦЕВОГО ІМУНІТЕТУ У ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА РЕЦИДИВНИЙ БРОНХІТ, У ПЕРІОДІ РЕМІСІЇ

Большот Ю. К., Бордій Т. А., Гуржій Є. С., Баклунов В. В.

Дніпропетровська державна медична академія

Ключові слова: діти, рецидивний бронхіт, імунний, інтерфероновий статус, синтез фактора некрозу пухлин.

Актуальність проблеми рецидивного бронхіту (РБ) у дітей визначається його значною поширеністю. У структурі захворювань бронхолегеневої системи РБ стабільно утримує друге місце після бронхіальної астми. Зростання захворюваності на РБ (особливо у великих містах), тривалий фазний перебіг захворювання, можливість трансформації у бронхіальну астму та хронічний бронхіт, а також неповні уявлення про патогенетичні основи та методи лікування пояснюють пильну увагу педіатрів до даної патології [1, 11].

Одним з напрямків вивчення причин формування в дітей схильності до повторних епізодів бронхіту стало імунологічне дослідження, оскільки відомо, що імунна система дитини, особливо в перші роки життя, ще не досконала і не завжди адекватно реагує на зміну умов навколишнього середовища [10]. Відомо, що перебіг та наслідки гострого респіраторного захворювання багато в чому залежать від фазності, динамічності та ступеня виразності численних специфічних та неспецифічних, системних та місцевих механізмів захисту. Однак у практиці педіатрів-пульмонологів імунологічне обстеження дітей, хворих на РБ, звичайно зводиться лише до визначення показників клітинного та гуморального імунітету, що не відповідає рівню знань сучасної імунології. Стан таких важливих механізмів протиінфекційного захисту, як система інтерферону та інших цитокінів, місцевий імунітет слизових оболонок дихальних шляхів, і дотепер залишаються поза увагою клініцистів, що, безперечно, впливає на якість застосовуваної імунокорекції.

Мета даного дослідження — дати комплексну оцінку стану системного та місцевого імунітету, системи інтерферону (ІФН) та вироблення фактора некрозу пухлин (ФНП) у дітей, хворих на рецидивний бронхіт, у періоді ремісії, задля визначення оптимальних напрямків імунокорекції.

Матеріали та методи

Обстежено 126 дітей, хворих на рецидивний бронхіт, у періоді ремісії (68 хлопчиків — 53,9 % та 58 дівчаток — 46,1 %), віком від 5 до 15 років. Середня трива-

лість захворювання становила 3,65 року. Частота рецидивів бронхіту коливалася від 3 до 6 разів на рік і в середньому дорівнювала 4,68. Середня тривалість загострення в групі дітей з РБ становила 15,7 дня. У контрольну групу увійшли 36 практично здорових дітей. За віком та статтю групи не відрізнялися.

Стан клітинної ланки імунітету оцінювали у реакції розеткоутворення: визначали вміст Е-РУК та ЕАС-РУК (М. Jondal et al., 1972 — у модифікації О. М. Чередуєва та співавт., 1976), активних Е-РУК (R. Smith et al., 1975), теофілінрезистентних та теофілінчутливих Е-РУК (S. Limatibul et al., 1978).

Концентрацію імуноглобулінів класів А, М та G у сироватці крові, а також концентрацію секреторного імуноглобуліну А, IgA та IgG у змішаній слині визначали способом радіальної імунодифузії за Manchini et al., 1965.

Стан фагоцитозу оцінювали за показниками фагоцитарної активності та спонтанного НСТ-тесту із застосуванням тест-систем НПО «Реакомплекс».

Дослідження інтерферонового статусу проводили за загальноприйнятою методикою [2], визначали концентрацію сироваткового ІФН, рівень вироблення ІФН- α лейкоцитами периферійної крові *in vitro* у відповідь на вірусну індукцію (як індуктор використовували вірус хвороби Ньюкасла, штам Канзас) та рівень вироблення лімфоцитами периферійної крові ІФН- γ *in vitro* після індукції мітогеном (фітогемаглютинін, ФГА). Активність ІФН оцінювали за пригніченням цитопатичної дії тест-вірусу (вірус везикулярного стоматиту (ВВС), штам Індіана) в культурі клітин НЕР-2. За титр ІФН вважали величину, обернену до розведення проби, у якій спостерігався захист 50 % моношарів клітин від цитопатичної дії 100 ТЦД₅₀/0,1 мл ВВС.

Рівень вироблення ФНП визначали шляхом дослідження спонтанного та індукovanого ліпополісахаридом (ЛПС) *E. coli* (у кінцевій концентрації 2 мкг/мл) синтезу даного цитокіну клітинами периферійної крові [5]. Біологічну активність ФНП визначали за допомогою цитотоксичного тесту, описаного колегами [9], і виражали індексом цитотоксичності (ІЦ).

Статистичну обробку отриманих даних здійснювали за допомогою програми Microsoft Excel 5.0 з використанням методів параметричної та непараметричної статистики. Для виявлення відмінностей між досліджуваними показниками застосовували t-критерій Стьюдента та U-критерій Уїлкоксона—Манна—Уїтні; для визначення наявності зв'язку між досліджуваними величинами розраховували показники лінійної кореляції Пірсона (r) та рангової кореляції Спірмена (rs) [8].

Результати та обговорення

Особливістю стану клітинного імунітету в періоді ремісії РБ у дітей (табл. 1) було зменшення загальної кількості Т-лімфоцитів, зниження вмісту «активних» Т-лімфоцитів, а також наявність дисбалансу в субпопуляційній структурі пулу Т-лімфоцитів у вигляді зниження кількості Т-хелперів, яке не є статистично вірогідним, у поєднанні з більш виразним пригніченням супресорної активності Т-клітин, що зумовило тенденцію до підвищення імунорегуляторного індексу.

Гуморальний імунітет хворих на РБ в періоді ремісії (табл. 1) характеризувався підвищеним вмістом В-лімфоцитів та дисімуноглобулінемією. Приміром, відзначено зниження рівня IgA та підвищення вмісту IgM в сироватці крові, які не є статистично вірогідними. Середні значення сироваткової концентрації IgG у дітей з РБ не відрізнялися від показників їхніх здорових однолітків.

Фагоцитарна активність нейтрофільних гранулоцитів периферійної крові щодо часток латексу у дітей з РБ виявилася вірогідно нижчою, ніж у контрольній групі (табл. 1). Водночас, метаболічна активність сегментоядерних нейтрофілів, за даними НСТ-тесту, була достовірно підвищеною (в 1,6 разу), що свідчить про напружене функціонування системи фагоцитозу, навіть у періоді ремісії захворювання.

Вивчення стану місцевого імунітету у хворих на РБ становить інтерес передусім тому, що слизові оболон-

ки верхніх дихальних шляхів — це перший імунологічний бар'єр, що забезпечує захист організму від різноманітних антигенних впливів. Серед чинників гуморальної ланки місцевого захисту слизових оболонок найбільше значення мають імуноглобуліни, основну роль з-поміж яких відіграє секреторний IgA (sIgA). Секреторний IgA проявляє активність головним чином у проксимальних відділах респіраторного тракту, здійснюючи функцію імунологічного виключення, яка полягає у запобіганні проникненню в слизові оболонки антигенів будь-якого походження: харчових, вірусних, бактеріальних, грибкових. Крім sIgA, у секретах слизових оболонок в нормі наявні невеликі кількості IgA та IgG, основне біологічне та клінічне значення яких визначається їхньою активністю щодо мікроорганізмів. На відміну від sIgA, який синтезується безпосередньо клітинами слизових оболонок, IgA має частково, а IgG — переважно сироваткове походження [3, 7].

Дослідження рівнів імуноглобулінів у слині дітей, хворих на РБ, визначило тенденцію до підвищення рівня секреторного IgA та значне підвищення концентрації IgA та IgG (у 3,87 та у 30 разів відповідно) порівняно з контрольною групою (табл. 2). Одним з можливих чинників активації місцевого імунітету слизових оболонок верхніх дихальних шляхів у хворих на РБ є наявність вогнищ хронічного запалення в носоглотці. Хронічний тонзиліт було зареєстровано у 77,5 % хворих, аденоїдит — у 37,5 %, синусити — у 8 %, зубний карієс — у 36,7 % випадків, при цьому у 47,5 % пацієнтів ми визначали 2 та більше вогнищ інфекції.

Характеризуючи стан місцевого імунітету у хворих на РБ, слід також відзначити, що приблизно в 11 % хворих ми реєстрували стабільно низькі концентрації sIgA в слині, при цьому нормальні або підвищені рівні IgA та IgG в секреті ротової порожнини, однак не спостерігали зниження рівня сироваткового IgA. Це явище, причиною якого, на нашу думку, можуть бути наявні вторинні дефекти місцевого синтезу sI-

Таблиця 1. Показники системного імунітету у дітей, хворих на рецидивний бронхіт, у періоді ремісії

Показник	Здорові діти (контроль), n = 36	Діти, хворі на РБ, n = 126	P
Т-лімфоцити, %	57,17 ± 2,40	49,92 ± 9,15	< 0,05 (U)
«Активні» Т-лімфоцити, %	33,17 ± 5,70	27,48 ± 6,57	< 0,05 (U)
Т-хелпери, %	39,83 ± 3,10	34,83 ± 9,90	> 0,05 (U)
Т-супресори, %	17,33 ± 2,66	14,10 ± 7,08	< 0,05 (t)
Імунорегуляторний індекс	2,36 ± 0,53	3,30 ± 2,33	> 0,05 (U)
В-лімфоцити, %	11,47 ± 0,35	21,13 ± 5,62	< 0,05 (U)
IgA, г/л	1,60 ± 0,39	1,25 ± 0,78	> 0,05 (U)
IgM, г/л	1,08 ± 0,35	1,39 ± 1,02	> 0,05 (U)
IgG, г/л	9,70 ± 0,82	9,64 ± 3,80	> 0,05 (U)
Фагоцитарна активність, %	63,50 ± 3,62	56,27 ± 15,30	< 0,05 (U)
НСТ-тест, %	19,67 ± 4,27	31,79 ± 14,12	< 0,05 (U)

gA, можливо, пов'язані з тривалим та інтенсивним антигенним навантаженням, — в цілому свідчить про неадекватність функціонування системи місцевого захисту слизових оболонок дихальних шляхів у даного контингенту хворих.

Визначення параметрів інтерферонового статусу та вироблення ФНП було проведено у 56 хворих на РБ дітей та у 14 дітей контрольної групи. До інтегрального поняття «інтерфероновий статус» (ІФН-статус) належать параметри, що визначають стан системи ІФН: вміст інтерферонів кожного типу в циркулюючій крові, здатність лейкоцитів виробляти ІФН- α та ІФН- γ при відповідній індукції *in vitro*, — та низка інших показників, деякі з них тепер тільки розробляються.

Найпростішим та доступним сумарним показником є кількісне визначення ІФН у сироватці крові (циркулюючій або сироватковий ІФН). Сироватковий ІФН — це суміш α -, β - та γ -типів ІФН і в нормі виробляється у невеликих кількостях. Приблизно у 90 % здорових осіб рівень циркулюючого ІФН не перевищує 4 од./мл. Під час різноманітних інфекційних захворювань, а також в результаті стресів, інтенсивних фізичних навантажень система ІФН пригнічується, а рівень сироваткового ІФН підвищується [4]. За нашими даними, у практично здорових дітей концентрація сироваткового ІФН становила $(7,00 \pm 5,02)$ од./мл. У 36 % хворих на РБ ми виявили підвищення концентрації циркулюючого ІФН, а середній показник дорівнював $(11,55 \pm 9,60)$ од./мл ($P > 0,05$). Це свідчить про збереження активності запального процесу в організмі, а також про можливість персистенції вірусів або інших внутрішньоклітинних мікроорганізмів, у тому числі й у дихальних шляхах.

Іншими показниками ІФН-статусу є визначення рівня індукованого *in vitro* синтезу ІФН- α та ІФН- γ лейкоцитами периферійної крові. У здорових осіб у 80 % випадків спостерігається високий (≥ 1280 од./мл) або середній (32—64) рівень вироблення ІФН- α та ІФН- γ . Показники синтезу ІФН- α та ІФН- γ дають змогу оцінити потенційну активність системи інтерферону. За численними даними, ці параметри більшою мірою зазнають функціональних коливань, ніж рівень сироваткового ІФН, тому вони є більш інформативними з практичного погляду [4, 9]. За нашими даними, у хворих на РБ в періоді ремісії рівень вірус-індукованого вироблення ІФН- α становив $(7,80 \pm 4,86)$ од./мл проти $(50,67 \pm 21,27)$

од./мл у контрольній групі ($P < 0,001$), а рівень мітоген-стимульованого синтезу ІФН- γ становив $(4,18 \pm 2,46)$ од./мл (контроль — $(18,67 \pm 3,27)$ од./мл, $P < 0,001$).

Таким чином, ІФН-статус хворих на РБ у періоді ремісії характеризується фоновими або різною мірою підвищеними титрами циркулюючого ІФН з одночасним глибоким пригніченням інтерферон-продуктивної здатності імуніцитів.

Вироблення ФНП вивчали з огляду на значення даного цитокіну в підтриманні запального процесу в респіраторному тракті, а також враховуючи його тісний функціональний взаємозв'язок із системою ІФН [4, 6, 12]. Дослідження синтезу ФНП у практично здорових дітей виявило, що ІЦ в спонтанному та стимульованому тесті становив відповідно $(9,75 \pm 3,75)$ та $(38,42 \pm 8,88)$ %. Іншу картину спостерігали у хворих на РБ. Приміром, рівень спонтанного вироблення ФНП у періоді ремісії захворювання виявився підвищеним у 64 % обстежених і в середньому становив $(18,09 \pm 7,58)$ %, $P < 0,05$. Водночас, середній показник ЛПС-індукованого синтезу ФНП виявився нижчим, ніж у контрольній групі: $(21,54 \pm 9,54)$ %, $P < 0,001$. Індивідуальний аналіз виявив, що підвищення ЛПС-індукованого синтезу ФНП мало місце лише в 4,5 % випадків, тоді як зниження цього показника зареєстровано у 68 % обстежених. Більш того, у 40,1 % дітей, хворих на РБ, спонтанне вироблення ФНП перевищувало стимульоване, що свідчить про низькі потенційні можливості клітин-продуцентів.

Дані щодо інтерферонового статусу та показники синтезу ФНП у дітей, хворих на РБ, наведено в табл. 3.

Ми також провели кореляційний аналіз показників системного та місцевого імунітету, інтерферонового статусу та вироблення ФНП. Виявлено наявність зв'язку між рівнем вірус-індукованого синтезу ІФН- α та спонтанним ($r = -0,45$, $P < 0,05$) й ЛПС-індукованим синтезом ФНП ($r = 0,4$, $P < 0,05$), показником фагоцитарної активності ($r = 0,51$, $P < 0,05$), метаболічною активністю нейтрофілів за даними НСТ-тесту ($r = -0,43$, $P < 0,05$) та рівнями IgA та IgG в слині (відповідно $r = -0,41$, $P < 0,05$ та $r = -0,46$, $P < 0,05$). Мітоген-стимульоване вироблення ІФН- γ у свою чергу виявилось пов'язаним із загальною кількістю Т-лімфоцитів ($r = 0,56$, $P < 0,05$), рівнем ЛПС-індукованого синтезу ФНП ($r = 0,57$, $P < 0,05$), показником НСТ-тесту ($r = -0,42$, $P < 0,05$) та рівнем IgG

Таблиця 2. Концентрація імуноглобулінів у змішаному секреті ротової порожнини у дітей, хворих на рецидивний бронхіт, у періоді ремісії

Показник	Здорові діти (контроль), n = 36	Діти, хворі на РБ, n = 126	P
sIgA, г/л	$0,25 \pm 0,10$	$0,34 \pm 0,20$	$> 0,05$ (U)
IgA, г/л	$0,030 \pm 0,016$	$0,116 \pm 0,100$	$< 0,05$ (U)
IgG, г/л	$0,010 \pm 0,007$	$0,210 \pm 0,190$	$< 0,05$ (U)

Таблиця 3. Показники інтерферонового статусу та вироблення фактора некрозу пухлин у дітей, хворих на рецидивний бронхіт, у періоді ремісії

Показник	Здорові діти (контроль),	Діти, хворі на РБ,	P
	n = 14	n = 56	
Концентрація сироваткового ІФН, од./мл	7,00 ± 5,02	11,55 ± 9,60	> 0,05 (t)
Рівень вірус-індукованого синтезу ІФН-α, од./мл	50,67 ± 21,27	7,80 ± 4,86	< 0,001 (t)
Рівень мітоген-стимульованого синтезу ІФН-γ, од./мл	18,67 ± 3,27	4,18 ± 2,46	< 0,001 (t)
Спонтанний синтез ФНП (індекс цитотоксичності, %)	9,75 ± 3,75	18,09 ± 7,58	< 0,05 (U)
ЛПС-індукований синтез ФНП (індекс цитотоксичності, %)	38,42 ± 8,88	21,54 ± 9,54	< 0,001 (t)

в секреті ротової порожнини ($r_s = -0,46$, $P < 0,05$). Концентрація сироваткового ІФН наростала одночасно з рівнем sIgA у слині ($r = 0,42$, $P < 0,05$). Встановлено також, що рівень спонтанного синтезу ФНП був в обернено пропорційній залежності від загальної кількості Т-лімфоцитів ($r_s = -0,58$, $P < 0,05$), від фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів ($r_s = -0,4$, $P < 0,05$) та у прямо пропорційній — від кількості НСТ-позитивних клітин ($r_s = 0,4$, $P < 0,05$). У той же час ЛПС-індуковане вироблення ФНП, навпаки, було обернено пропорційним до показника НСТ-тесту ($r_s = -0,5$, $P < 0,05$) та прямо пропорційно залежало від рівня «активних» Т-лімфоцитів ($r_s = 0,5$, $P < 0,05$).

Висновки

У дітей, хворих на РБ, у періоді ремісії має місце значне пригнічення функціональної активності системи інтерферону, а також супресія ефекторної ланки клітинного імунітету й зниження фагоцитарної активності нейтрофілів. Це зумовлює низький рівень резистентності до інфекційних агентів та створює умови для тривалого персистування вірусно-бактеріальної флори в організмі. Певною мірою ці порушення компенсуються активацією місцевих гу-

моральних факторів захисту, підвищенням кисневого метаболізму нейтрофільних гранулоцитів, наростанням рівня циркулюючого ІФН, але цього недостатньо для елімінації збудників та купірування запального процесу, що підтверджується наявністю підвищеного рівня спонтанного синтезу одного з основних прозапальних цитокінів — ФНП.

Ми вважаємо, що основою реабілітаційних заходів для хворих на РБ мають бути: етіотропна терапія, спрямована на елімінацію збудників запального процесу в дихальних шляхах і поза ними (санация хронічних вогнищ інфекції, за потреби — протівірусна терапія тощо); заходи задля поліпшення дренажної функції респіраторного тракту (муколітики, інгаляційна та галотерапія); у деяких випадках — десупресія імунної системи (мембраностабілізуювальна, детоксикаційна терапія) і, зрештою, — цілеспрямована імунокорекція. Враховуючи, що найвиразніші зміни, зумовлені РБ, відзначено у системі інтерферону, перспективними засобами для імунокорекції можуть стати індуктори інтерферону (циклоферон, аміксин), які не тільки підвищують рівень вироблення ендogenous ІФН, а й справляють м'який імуномодулювальний вплив.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Белопасова Н. А., Рязанова В. С., Аверина Л. И. Рецидивующий бронхит у детей: особенности диагностики // Сб. трудов Астрах. ТМА.— Астрахань, 1999.— С. 127—132.
2. Дзюблик І. В., Кривохатська Л. Д., Трохименко О. П., Ковалюк О. В. Мікрометод визначення інтерферонового статусу людини у пробах цільної крові // Лабораторна діагностика.— 2001.— № 1.— С. 34—37.
3. Дидковский Н. А., Дворецкий Л. И. Наследственные факторы и местная защита при неспецифических заболеваниях легких.— М.: Медицина, 1990.— 224 с.
4. Ершов Ф. И. Система интерферона в норме и при патологии.— М.: Медицина, 1996.— 240 с.
5. Исаченко Е. Г., Виткина Т. И., Геронина С. А. и др. Спонтанный и липополисахарид-индуцированный синтез цитокинов клетками крови в норме и при аллергопатологиях // Иммунология.— 1999.— № 5.— С. 37—39.
6. Кетлинский С. А., Симбирцев А. С., Воробьев А. А. Эндогенные иммуномодуляторы.— СПб.: Гиппократ, 1992.— 256 с.
7. Колесник Н. В. Особенности функционирования иммунной системы слизистых. О целесообразности иммунокоррекции при острых респираторных заболеваниях // Запорожский мед. журн.— 1999.— № 1.— С. 41—44.
8. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel.— К.: Морион, 2000.— 320 с.
9. Руденко А. В., Ромащенко О. В., Яковенко Л. Ф. та ін. Показники інтерферонового статусу та продукція фактора некрозу пухлин у юних жінок із запальними захворюваннями внутрішніх статевих органів // Імунологія та алергологія.— 2000.— № 2—3.— С. 43—47.
10. Стефани Д. В., Вельтищев Ю. Е. Клиническая иммунология и иммунопатология детского возраста: Руководство для врачей.— М.: Медицина, 1996.— 384 с.
11. Таточенко В., Дорохова Н., Реутова В., Шмакова С. Рецидивующий бронхит и частая респираторная заболеваемость у детей // Врач.— 1995.— № 4.— С. 12—14.
12. Meager A., Leung H., Walley J. Tumor necrosis factor alpha (TNF) // J. Immunol. Meth.— 1989.— Vol. 116, N 1.— P. 1—17.

СОСТОЯНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ, СИСТЕМНОГО И МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА У ДЕТЕЙ С РЕЦИДИВИРУЮЩИМ БРОНХИТОМ В ПЕРИОДЕ РЕМИССИИ

Большот Ю. К., Бордий Т. А., Гуржий Е. С., Баклунов В. В.

Проведена комплексная оценка показателей системного и местного иммунитета, интерферонового статуса и продукции фактора некроза опухолей (ФНО) у 126 детей с рецидивирующим бронхитом (РБ) в периоде ремиссии и 36 практически здоровых детей. Выявлено значительное подавление интерфероногенеза при РБ, снижение показателей эффекторного звена клеточного иммунитета и фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов на фоне активации и напряжения в системе местного иммунитета слизистых оболочек верхних дыхательных путей, повышения метаболической активности нейтрофилов, усиления спонтанной продукции ФНО. Представлены результаты корреляционного анализа исследуемых параметров. Обозначены основные направления реабилитации детей с рецидивирующими бронхитами.

CONDITION OF NON-SPECIFIC RESISTENTION, SYSTEMIC AND LOCAL IMMUNITY FOR CHILDREN, SUFFERING FROM RECURRENT BRONCHITIS IN REMISSION

Bolbot Yu. K., Bordiy T. A., Ghurzhiy Ye. S., Baclunov V. V.

The complex value of systemic and local immunity indexes, interferon status and tumor necrosis factor (TNF) production for 126 children, suffering from recurrent bronchitis in remission and 36 healthy children was held. The significant decrease of interferonogenesis for children with recurrent bronchitis and indexes of effector part of cell immunity and phagocyte activity of neutrophyl granulocytes on the basis of activation and tenses in local mucosal immunity of upper part of respiratory system, increasing of neutrophyl metabolic activity and spontaneous production of TNF was established. The results of correlation analysis of all parameters are showed. The most important way for rehabilitation of children with recurrent bronchitis is done.