

изменений в содержании sCD₃₀ у обследованных детей может отражать стойкую активацию Th₂-лимфоцитов, обуславливающую развитие атопии, что в свою очередь является предрасполагающим фактором, способствующим инфицированию.

Проведенный анализ корреляционных взаимоотношений между средним содержанием изученных показателей выявил прямую зависимость между уровнями sCD₉₅ и sCD₃₀ ($r=0,34$, $p<0,05$), sFAS и Caspase-1/ICE ($r=0,28$, $p<0,05$), sFAS и Annexin V ($r=0,29$, $p<0,05$), обратная корреляционная зависимость была выявлена между содержанием sCD₉₅ и sFASL ($r=-0,31$, $p<0,05$), sCD₃₀ и sCD₄₀ ($r=-0,30$, $p<0,05$), sCD₉₅ и Caspase-1/ICE ($r=-0,34$, $p<0,05$), sCD₉₅ и Annexin V ($r=-0,36$, $p<0,05$), что характеризует патогенетические взаимосвязи этих показателей в процессе развития аллергического воспаления и свидетельствует о нарушении соотношения между активацией и элиминацией иммунокомпетентных и провоспалительных клеток при атопической бронхиальной астме у детей.

Таким образом, результаты исследования выявили достоверные изменения содержания сывороточных маркеров активации и апоптоза иммунных клеток у детей с атопической бронхиальной астмой. Установлены достоверные отличия концентрации указанных показателей от их референтных уровней, наиболее выраженные при тяжелом течении болезни, в стадии обострения, а также при наличии сопутствующей инфекции, свидетельствующие об изменениях процесса как FAS-, так и TRAIL-индуцированного апоптоза провоспалительных и иммунокомпетентных клеток при атопической бронхиальной астме. Между исследованны-

ми показателями установлены множественные корреляционные взаимосвязи, что указывает на взаимообусловленность процессов рецепции (активации) и элиминации (апоптоза) в патогенезе бронхиальной астмы у детей. Исследование показало, что оценка уровня сывороточных маркеров активации и апоптоза иммунных клеток может быть использована в качестве дополнительного диагностического и прогностического критерия тяжести и выраженности атопической бронхиальной астмы у детей.

Литература

1. Балаболкин И. И. Бронхиальная астма у детей; М.: Медицина. 2003; 320 с.
2. Балаболкин И. И., Смирнов И. Е., Булгакова В. А. и др. Сов. концепция патогенеза бронх. астмы у детей; Иммунология, аллергология, инфектология. 1, 2006; 26-35.
3. Бойчук С. В., Муштафин И. Г., Фассахов Р. С. Изучение апоптоза при атопической бронхиальной астме; Матер. X Нац. Конгресса по болезням органов дыхания. Санкт-Петербург, 2000; 26.
4. Бронхиальная астма у детей: диагностика, лечение и профилактика. Научно-практ. программа. М., 2004; 46с.
5. Булгакова В. А. Влияние вирусных инфекций на развитие и течение атопических болезней у детей. Автореф. ... канд. мед. наук. М.: 2002; 26 с.
6. Гуцин И. С. Аллергическое воспаление и его фармакологический контроль. — М.: Фармус Принт. 1998; 322 с.
7. Новиков В. В., Барышников А. Ю., Караулов А. В. Растворимые формы мембранных антигенов клеток иммунной системы; Иммунология. 2007; 4: 249-253.
8. Порядин Г. В. Иммунные механизмы аллергических реакций; В сб. «Аллергия и иммунопатология (иммунные механизмы формирования, принципы терапии)»; под ред. Порядина Г. В. М., ВУНМЦ МЗ РФ. 1999; 24-38.
9. Ярилин А. А. Основы иммунологии. М., Мед, 1999; 216с.
10. Jeramias L, Herr I., Boehler T., Debatin K.M. TRAIL/Apo-2-ligand-induced apoptosis in human T cells; Eur. J. Immunol. 1998; 28: 1: 143-152.
11. Martinez-Lorenzo M.J., Alava M.A., Gamen S. et al. Involvement of APO-2 ligand/TRAIL in activation-induced death of Jurkat and human peripheral blood T cells; Eur. J. Immunol. 1998; 8: 9: 2714-2725.

Сравнительная характеристика иммунологических показателей индуцированной мокроты у детей с бронхиальной астмой легкой степени тяжести

Я. И. Жаков, Е. Е. Минина, О. Г. Рыбакова, В. И. Куличков
Кафедра детских болезней №1, ЧелГМА, г. Челябинск.

The Resume

Authors investigate immunologic factors of induced sputum in children with mild asthma. The aim of the study was to find out the differences of immunologic profiles in intermittent and persistent mild asthma. 57 children aged 6-18 years old (12±0,45) with diagnosed stable mild asthma (41 (72%) — with intermittent and 16 (28%) — with persistent mild asthma) were include in this study. Control group was 10 children without allergic diseases, which had no respiratory symptoms during last month. Sputum induction carried out according to our modification of protocol developed by Pin et al. The levels of IgE, sIgA, IgM, IgG, IL-4, IL-8, TNFα, INFγ, NO were evaluated in sputum.

Results. The levels of proinflammatory factors in sputum were elevated in both forms of mild asthma. But the levels of IL-4, IL-8, NO were significantly higher in sputum of children with intermittent asthma, than in persistent mild asthma ($p < 0,05$). We can conclude, that chronic inflammation already exists in intermittent mild asthma and this group of patients needs in administration of controller medications.

Актуальность проблемы бронхиальной астмы (БА) у детей определяется широкой распространенностью заболевания, частой клинической манифестацией его в детском возрасте, гиподиагностикой данного заболевания у детей. Во всех странах отмечается постоянное увеличение числа детей, больных БА — данным заболеванием страдают от 3 до 12% детского населения [2], при этом в структуре заболеваемости по данным большинства исследований преобладает БА легкого течения. Но известно, что критерии диагностики бронхиальной астмы легкой степени тяжести (персистирующей и интермиттирующей) нечеткие, поэтому существует необходимость определения конкретных диагностических показателей.

В последние годы получила широкое распространение концепция БА как заболевания, в основе которого лежит хроническое аллергическое воспаление дыхательных путей. При этом большинство исследователей отмечают отсутствие корреляции между выраженностью воспаления и степенью тяжести БА [3, 4, 5, 9, 15]. Воспаление при БА имеет ряд особенностей, характерных для всех аллергических заболеваний. Воспалительные изменения различной степени выраженности прослеживаются, начиная с ранних сроков болезни, иногда задолго до появления первых клинических симптомов, а также в межприступном периоде, как при достаточно тяжелом, так и при легком варианте течения болезни [1, 2, 7]. До недавнего времени в клинической практике не было возможности оценить воспаление дыхательных путей прямым способом, наличие и характер воспаления дыхательных путей оценивали косвенно по наличию клинических симптомов, данных исследования функции внешнего дыхания и по ответу на противовоспалительную терапию.

Согласно Национальной программе «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика», 2006 г. [2], бронхиальная астма легкого интермиттирующего течения не нуждается в назначении базисной терапии. А

неадекватное лечение бронхиальной астмы у детей приводит к неконтролируемому течению с сохранением воспалительных изменений в бронхах

В течение последних лет накоплены данные о перспективности изучения индуцированной мокроты (ИМ) [5, 13, 15]. В настоящее время помимо цитологического исследования, возможна оценка цитокинового профиля ИМ. [5, 9, 15]. Наличие воспаления было доказано у пациентов с впервые выявленной БА, легкой интермиттирующей БА [8, 14], а также у некоторых пациентов с хроническим кашлем и нормальной функцией легких [6, 10]. Многие зарубежные авторы подчеркивают важность применения ИМ с целью оценки воспаления дыхательных путей, а простота этой техники позволяет широко ее использовать.

БА часто начинается в детском возрасте, однако воспаление дыхательных путей при детской астме не так хорошо изучено, как у взрослых. Данных о возможности и особенностях использования метода ИМ у детей для выявления маркеров воспаления дыхательных путей недостаточно, что диктует необходимость проведения исследований в данном направлении. В документе «Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы пересмотр 2006 г.» говорится о возможности исследования индуцированной мокроты для оценки активности воспаления в дыхательных путях при БА [1].

Нашим коллективом был модифицирован и внедрен в практику аллергологической службы г. Челябинска метод ИМ у детей.

Цель работы. На основании изучения иммунологических показателей индуцированной мокроты (ИМ) у детей с БА легкой степени тяжести выявить различия иммунологического профиля между формами (персистирующей (ЛПБА) и интермиттирующей (ЛИБА)).

Материалы и методы

Было обследовано 57 детей в возрасте от 6 до 18 лет ($12 \pm 0,45$ лет) с БА, из них 41 (72%) ребенок с легким интермиттирующим течением и 16 (28%) детей с легким персистирующим течением, находившихся на обследовании в детском аллергологическом центре МУЗ ГКБ №1 г. Челябинска. На момент обследования все дети находились в периоде ремиссии, не имели эпизодов респираторной инфекции в течение 1 месяца и не получали базисную терапию

Я. И. Жаков — д. м. н., проф., зав. кафедрой детских болезней №1 ЧГМА;

Е. Е. Минина — врач аллергоотделения;

О. Г. Рыбакова — врач-педиатр, очный аспирант кафедры детских болезней №1 ЧГМА;

В. И. Куличков — к. м. н., доцент кафедры детских болезней №1 ЧГМА.

Таблица 1. Сравнительная характеристика показателей секреторного иммунитета индуцированной мокроты у детей с ЛПБА и контрольной группой

Показатели	ЛПБА		Контроль		Уровень достоверности
	Me	Q25-Q75	Me	Q25-Q75	
IgE ME/мл	0,71	0,29-1,08	0,24	0,10-0,50	$p=0,001$
sIgA мкг/мл	48,5	35,6-55,9	81,18	54,8-94,4	$p=0,001$
IgM мкг/мл	0,88	0,61-1,03	0,89	0,58-0,99	$p>0,05$
IgG мкг/мл	2,12	1,16-2,56	2,68	1,83-3,67	$p>0,05$
IL-4 пг/мл	0,33	0,09-0,66	0,49	0,37-0,94	$p>0,05$
IL-8 пг/мл	49,03	22,3-86,9	41,5	20,6-64,87	$p>0,05$
TNF α пг/мл	2,89	1,87-4,09	1,71	0,36-2,23	$p=0,001$
INF γ пг/мл	0,24	0,10-0,39	0,63	0,27-1,0	$p=0,003$
НОмкмоль/л	4,77	3,54-6,25	5,27	3,48-6,35	$p>0,05$

Таблица 2. Сравнительная характеристика показателей секреторного иммунитета индуцированной мокроты у детей с ЛИБА и контрольной группой

Показатели	ЛИБА		Контроль		Уровень достоверности
	Me	Q25-Q75	Me	Q25-Q75	
IgE ME/мл	0,83	0,38-1,31	0,24	0,10-0,50	$p=0,02$
sIgA мкг/мл	95,7	80,5-160,9	81,18	54,8-94,4	$p>0,05$
IgM мкг/мл	0,75	0,52-1,38	0,89	0,58-0,99	$p>0,05$
IgG мкг/мл	3,88	2,40-5,51	2,68	1,83-3,67	$p>0,05$
IL-4 пг/мл	0,96	0,49-1,45	0,49	0,37-0,94	$p>0,05$
IL-8 пг/мл	102,4	45,3-158,9	41,5	20,6-64,87	$p=0,01$
TNF α пг/мл	2,26	1,00-4,70	1,71	0,36-2,23	$p>0,05$
INF γ пг/мл	0,52	0,12-0,70	0,63	0,27-1,0	$p>0,05$
НОмкмоль/л	9,20	6,12-11,4	5,27	3,48-6,35	$p=0,02$

Таблица 3. Сравнительная характеристика показателей секреторного иммунитета индуцированной мокроты у детей с ЛИБА и ЛПБА

Показатели	ЛИБА		ЛПБА		Уровень достоверности
	Me	Q25-Q75	Me	Q25-Q75	
IgE ME/мл	0,83	0,38-1,31	0,71	0,29-1,08	$p>0,05$
sIgA мкг/мл	95,7	80,5-160,9	48,5	35,6-55,9	$p=0,001$
IgM мкг/мл	0,75	0,52-1,38	0,88	0,61-1,03	$p>0,05$
IgG мкг/мл	3,88	2,40-5,51	2,12	1,16-2,56	$p=0,001$
IL-4 пг/мл	0,96	0,49-1,45	0,33	0,09-0,66	$p=0,0025$
IL-8 пг/мл	102,4	45,3-158,9	49,03	22,3-86,9	$p=0,002$
TNF α пг/мл	2,26	1,00-4,70	2,89	1,87-4,09	$p>0,05$
INF γ пг/мл	0,52	0,12-0,70	0,24	0,10-0,39	$p>0,05$
НОмкмоль/л	9,20	6,12-11,4	4,77	3,54-6,25	$p=0,025$

не менее, чем в течение последних 6 месяцев. Диагноз БА устанавливался на основании данных тщательно собранного анамнеза заболевания, анамнеза жизни, клинического и лабораторно-инструментального обследования в соответствии с критериями «Национальной программы», 2006 [2].

Контрольную группу составили 10 детей того же возраста и пола, без аллергических

заболеваний и не имевших эпизодов респираторной инфекции в течение 1 месяца.

Индукция мокроты проводилась по модифицированному нами протоколу с использованием гипертонического раствора хлорида натрия. Прототипом явился метод, разработанный Pin et al. в модификации Popov et al. [11,12].

В мокроте определяли уровень IgE, sIgA, IgM, IgG, IL-4, IL-8, TNF α , INF γ , NO. Опре-

деление уровня sIgA, IgG, IgE, IgM, количества IL-4, IL-8, INF α , TNF γ в мокроте проводилось методом ИФА. Результат реакции регистрировали при помощи аппарата «Multi-scan Plus» и выражали в мкг/мл (sIgA, IgG, IgM) и пг/мл (IL-4,8, INF α , TNF γ), IgE МЕ/мл и были пересчитаны на квоту белка

Уровень продукции эндогенного оксида азота оценивали по концентрации конечных стабильных метаболитов оксида в анализируемых образцах (мкмоль/л).

Обработка данных проводилась с использованием критерия Манна-Уитни, отображение результатов в квартилях (Q25-Q75).

Результаты и обсуждение

При сравнении показателей секреторного иммунитета ИМ детей с ЛПБА и контрольной группы было выявлено повышение уровней IgE в 3 раза ($p=0,001$) и TNF α в 1,7 раз ($p=0,001$) в группе детей с ЛПБА, в то время как уровни INF γ и sIgA были снижены в 1,7 ($p=0,003$) и 2,6 ($p=0,001$) раза соответственно. По содержанию остальных показателей не было выявлено достоверных отличий (табл. 1). Уменьшение показателей специфических и неспецифических гуморальных факторов защиты (sIgA, INF γ) по сравнению с контрольной группой.

При сравнении показателей секреторного иммунитета ИМ детей с ЛИБА и контрольной группы было выявлено повышение уровней IgE в 3,5 раза ($p=0,02$), IL-8 в 2,5 раза ($p=0,01$), NO в 1,8 ($p=0,02$). По содержанию остальных показателей не было выявлено достоверных отличий (табл. 2).

При сравнении показателей секреторного иммунитета ИМ детей с ЛИБА и ЛПБА не было выявлено достоверных отличий по содержанию IgE, IgM, TNF α и INF γ . В группе ЛИБА содержание IgG было в 1,8 раза выше ($p=0,001$), IL-4 — в 2,9 раза ($p=0,0025$), IL-8 — в 2,1 раза, NO — в 1,9 раза ($p=0,025$). Отмечено снижение sIgA в 2 раза в группе ЛПБА ($p=0,001$). При сравнении содержания INF γ имелась тенденция к снижению в группе ЛПБА, но она не достигла уровня значимости (табл. 3).

Выводы

При БА выявлено повышение провоспалительных факторов и в группе ЛПБА (TNF α), и в группе ЛИБА (IL-8, NO). При этом уровень провоспалительных факторов (IL-4, IL-8, NO) был достоверно выше в группе ЛИБА по сравнению с ЛПБА.

При ЛПБА выявлено снижение показателей неспецифических гуморальных факторов защиты (sIgA, INF γ) по сравнению с контрольной группой, что не наблюдалось при ЛИБА.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что достижение контроля заболевания не является критерием отсутствия воспаления и не всегда клинические проявления при ЛИБА и ЛПБА соответствуют выраженности иммунологического воспаления на уровне бронхиального дерева.

Несмотря на то, что симптомы астмы возникают эпизодически, воспаление дыхательных путей имеет хронический характер и может быть выражено при ЛИБА, что диктует необходимость дифференцированного подхода к данной категории пациентов и решения вопроса о назначении им адекватной базисной терапии.

Литература

1. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы. Пересмотр 2006 г., под ред. Чучалина А. Г. М.: «Атмосфера», 2007; 104с.
2. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактики». Второе издание. М.: Издательский дом «Русский врач», 2006; 100 с.
3. Bousquet J, Jeffery PK, Busse WW et al. Asthma. From bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling; *Am J Respir Crit Care Med.* 2000; 1: 161(5): 1720-45.
4. Cohn L, Elias JA, Chupp GL. Asthma: mechanisms of disease persistence and progression; *Annu Rev Immunol.* 2004; 22: 789-815.
5. De Diego A, Martinez E, Perpi? M. L. et al. Airway inflammation and cough sensitivity in cough-variant asthma; *Allergy.* 2005; 60: 1407-1411.
6. Gibson PG, Norzila MZ, Fakes K et al. Pattern of airway inflammation and its determinants in children with acute severe asthma. *Pediatr Pulmonol.* 1999; 28: 261-270.
7. Holgate S. T. The year in allergy 2003; S. T. Holgate, S. H. Arshad. Oxford, 2003; 319 p.
8. Laitinen LA, Laitinen A, Haahntela T. Airway mucosal inflammation even in patientwith newly diagnosed asthma; *Am Rev Respir Dis.* 1993; 147: 697-704.
9. Obase Y., Shimoda T., Kawano T. et al. Bronchial hyperresponsiveness and airway in.ammation in adolescents with asymptomatic childhood asthma; *Allergy.* 2003; 58: 213-220.
10. Pavord I, Pizzichini MM, Pizzichini E et al. The use of induced sputum to investigate airway inflammation; *Thorax.* 1997; 52: 498-501.
11. Pin I, Gibson P, Kolendowicz F. et al. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma; *Thorax.* 1992; 47: 25-29.
12. Popov T.A., Pizzichini M.M., Pizzichini E. et al. Some technical factors influencing the induction of sputum for cell analysis; *Ibid.* 1995; 8: 559-565.
13. Ryttila P, Pelkonen AS, Metso T et al. Induced sputum in children with newly diagnosed mild asthma: the effect of 6 months of treatment with budesonide or disodium cromoglycate; *Allergy.* 2004; 59(8): 839-44.
14. Vignola AM, Chanez P, Campbell AM et al. Airway inflammation in mild intermittent and in persistent asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998a; 157: 403-409.
15. Yoo Y., Koh Y.Y., Kang H. et al. Sputum eosinophil counts and eosinophil cationic protein levels in cough-variant asthma and in classic asthma, and their relationships to airway hypersensitivity or maximal airway response to methacholine. *Allergy.* 2004; 59: 1055-1062.