

Тип иммунных реакций у детей дошкольного возраста с хроническими заболеваниями

Л. В. Богданова, Ю. Г. Лагерева, Я. Б. Бейкин

ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия» Росздрава, г. Екатеринбург.
Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург.

Резюме

Впервые изучена цитокинсинтезирующая функция CD_3^+ Т-лимфоцитов у детей дошкольного возраста с хроническими заболеваниями. Снижение функциональной активности CD_3^+ Т-лимфоцитов у детей 4 группы здоровья является адаптационно-приспособительной реакцией, направленной на торможение развития процессов системного воспаления. В основной и контрольной группах преобладали дети с клонами Т-лимфоцитов-хелперов 1 типа, что свидетельствует о превалировании клеточных механизмов иммунной защиты над гуморальными у большинства детей дошкольного возраста. Полученные данные имеют практическое значение, так как позволяют создать новые подходы к лечению больных с хронической патологией.

Оптимальное функционирование иммунной системы является одним из базисных условий сохранения здоровья ребенка [3]. Дисбаланс иммунных реакций, развивающихся как следствие стойкого влияния неблагоприятных факторов внешней и внутренней среды на растущий организм ребенка, способствует формированию хронической патологии [5]. При этом, регистрируемые транзиторные и вариабельные нарушения в иммунном статусе трактуются, как правило, врачами-педиатрами как проявление вторичного иммунодефицитного состояния [1, 4, 8]. Между тем, неспецифичные отклонения иммунологических показателей от возрастной нормы могут свидетельствовать об адаптивной перестройке иммунных реакций как следствие стойких изменений гомеостаза.

Выявление особенностей иммунного ответа с преимуществом активацией клонов Т-лимфоцитов-хелперов 1 или 2 типа может помочь вскрыть механизмы формирования хронических заболеваний [7, 9, 10].

Цель работы: оценить особенности иммунных реакций у детей дошкольного возраста с хронической патологией.

Материалы и методы

Под наблюдением находилось 82 ребенка дошкольного возраста. Основную группу составили 54 ребенка с хроническими заболеваниями в стадии субкомпенсации (4 группа здоровья). Из них 6 детей страдало бронхиальной астмой,

8 — атопическим дерматитом, 12 — хроническими заболеваниями носоглотки (хроническим тонзиллитом, синуситом), 12 — хроническим гастродуоденитом, 16 детей — хроническим пиелонефритом. В контрольную группу вошли 28 детей, относившихся ко 2 группе здоровья.

Всем детям проведен ретроспективный анализ анамнестических данных, рассчитывались инфекционный индекс [4, 6], индекс отягощенной наследственности [2]. Все дети были подвергнуты углубленному клиническому обследованию, для объективизации выраженности синдрома интоксикации, использовалась разработанная нами бальная оценка.

На момент иммунологического обследования все пациенты не имели признаков острого инфекционного заболевания и отклонений в показателях гемограммы.

Определение иммунологического профиля проводилось по общепринятым протоколам 1-го и 2-го уровня. Для оценки цитокин-синтезирующей способности Т-лимфоцитов, а также идентификации функциональных субпопуляций Т-хелперов первого и второго порядков — метод внутриклеточного окрашивания цитокинов (ICCS). Для оценки внутриклеточного синтеза цитокинов мононуклеары периферической крови получали путем выделения на градиенте плотности фикокол-верографина (1,077 г/см³). Спонтанную продукцию IL2, IL4, IFN γ и TNF α CD_3^+ -лимфоцитами оценивали по истечении 4 часов инкубации в присутствии брэфельдина А

Л. В. Богданова — к. м. н., доцент кафедры семейной медицины ГОУ ВПО УГМА Росздрава;

Ю. Г. Лагерева — к. м. н., зав. лаб. иммунного статуса центра лаб. диагностики болезней матери и ребенка;

Я. Б. Бейкин — д. м. н., проф., гл. врач Клинико-диагностического центра г. Екатеринбурга, Заслуженный врач России.

Таблица 1. Общая характеристика детей основной и контрольной групп

Признак	Основная группа, n = 54	Контрольная, n=28	p
Демографические показатели			
Средний возраст, годы, M	5,06	4,70	0,143
Пол			
Мальчики	31 (57,4%)	14 (50%)	-
Девочки	23 (42,6%)	14 (%)	-
Данные анамнеза			
Средний индекс наследственной отягощенности, M	0,9	0,5	0,0003
Средний инфекционный индекс, M	1,4	0,8	0,0001
Данные клиники			
Среднее число баллов, характеризующей выраженность синдрома интоксикации, M	4,24	3,23	0,0002
Средняя степень гипертрофии миндалин, M	1,53	1,54	0,722
Среднее число пальпируемых групп лимфоузлов, M	5,3	5,3	0,638
Среднее число систем, где были выявлены отклонения, M	5,1	2,4	< 0,0001

при 37°C, в атмосфере 5% CO₂. В качестве активатора для стимуляции внутриклеточного синтеза использовали комбинацию PMA («Sigma», 50 ng/ml) с иономицином («Sigma», 1 ng/ml). Иммунофенотипирование проводили с использованием FITC-меченных анти-CD₃⁺-моноклональных антител (ООО «Сорбент», г. Москва) и PE-конъюгированных анти — IL2, IL4, IFN γ и TNF α -антител (Caltag).

Полученные результаты обработаны на персональном компьютере с применением пакета программ Microsoft Excel и SPSS 8. Достоверность различий оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение

Общая характеристика наблюдаемых детей представлена в табл. 1. Основная и контрольная группы были сопоставимы по демографическим показателям: полу и возрасту. Анализ особенностей анамнеза и клинической характеристики основной и контрольной групп показал, что дети, страдающие хронической патологией, имели высокий индекс наследственной отягощенности, обладали повышенной подверженностью к респираторным инфекциям, выраженными признаками интоксикации (табл. 1). Также обращала внимание мультиморбидность среди пациентов основной группы. Так среднее число систем, вовлеченных в патологический процесс, составило у них 5,1. В то время как у детей контрольной группы патологические отклонения были выявлены в 1-3 системах. Таким образом, дети основной группы имели клинические

признаки иммунодефицитного состояния: наследственную отягощенность, высокую восприимчивость к инфекционным заболеваниям, полиорганность поражений [3].

Данную гипотезу не подтвердил анализ результатов иммунологического исследования. Согласно протоколам 1 уровня не отмечено снижения показателей клеточного звена иммунитета по сравнению с контрольной группой. Содержание в периферической крови CD₂₀⁺-лимфоцитов, а также концентрация Ig G, Ig M, Ig A не отличались у детей с хроническими заболеваниями в период ремиссии от уровня данных показателей у детей 2 группы здоровья (табл. 2).

От сбалансированности цитокиновой регуляции зависит состояние иммунной системы, тип иммунного ответа, который связан с одним из вариантов активации клонов Th₁ или Th₂-клеток [7]. Поэтому нами была проведена оценка цитокинсинтезирующей функции CD₃⁺T-лимфоцитов у детей 2 и 4 групп здоровья.

Средние показатели спонтанной цитокинпродуцирующей способности Th-1 типа у детей 4 группы здоровья, по сравнению с контролем, в

Таблица 2. Показатели клеточного и гуморального иммунитета у детей 4 и 2 групп здоровья

Показатели	Основная группа, n=54, x	Контрольная группа, n=28, x	p
CD ₃ ⁺ - лимфоциты, x10 ⁹ /л	2,12	2,27	0,150
CD ₂₀ ⁺ - лимфоциты, x10 ⁹ /л	0,48	0,54	0,315
CD ₄ ⁺ - лимфоциты, x10 ⁹ /л	1,15	1,24	0,086
CD ₈ ⁺ - лимфоциты, x10 ⁹ /л	0,67	0,78	0,140
Иммуноглобулины G, г/л	9,22	8,39	0,220
Иммуноглобулины M, г/л	1,50	1,65	0,184
Иммуноглобулины A, г/л	0,88	0,74	0,056

Таблица 3. Содержание $CD_3^+/IFNg^{+-}$, $CD_3^+/TNF\alpha^{+-}$, $CD_3^+/IL2^{+-}$, $CD_3^+/IL4^{++}$ — лимфоцитов в периферической крови у детей 4 и 2 групп здоровья

Показатели	Основная группа, n=54, x	Контрольная группа, n=28, x	p
$CD_3^+/IFNg^+$ T – лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$, спонтанные	0,05	0,03	0,0002
$CD_3^+/IFNg^+$ T – лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$, стимулированные	0,51	0,52	0,443
Кoeffициент стимуляции $CD_3^+/IFNg^+$ T – лимфоцитов	12,90	24,94	0,001
$CD_3^+/TNF\alpha^+$ – лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$, спонтанные	0,10	0,03	0,000000004
$CD_3^+/TNF\alpha^+$ – лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$, стимулированные	0,63	0,62	0,996
Кoeffициент стимуляции $CD_3^+/TNF\alpha^+$ – лимфоцитов	8,06	22,33	0,0000001
$CD_3^+/IL2^+$ T – лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$, спонтанные	0,06	0,03	0,061
$CD_3^+/IL2^+$ T – лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$, стимулированные	0,31	0,48	0,0001
Кoeffициент стимуляции $CD_3^+/IL2^+$ T – лимфоцитов	10,91	20,74	0,0002
$CD_3^+/IL4^+$ T лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$, спонтанные	0,03	0,02	0,02
$CD_3^+/IL4^+$ T лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$, стимулированные	0,04	0,04	0,441
Кoeffициент стимуляции $CD_3^+/IL4^+$ T лимфоцитов	1,25	2,08	0,013

основном были повышены. При этом уровень *in vitro* стимулированной секреции IFNg, TNF α оставался таким же, как и у детей контрольной группы. Отмечено падение стимулированной секреции IL2 у детей с хроническими заболеваниями. Прозошедшие изменения цитокинпродуцирующего профиля CD_3^+ -лимфоцитов среди пациентов 4 группы здоровья способствовали уменьшению коэффициента стимуляции провоспалительных цитокинов в 2-3 раза (табл. 3)

Изменение вектора спонтанной и стимулированной продукции IL4 CD_3^+ T-лимфоцитами у больных хроническими заболеваниями было аналогичным изменениям синтеза IFNg и TNF α . Так в данной группе пациентов регистрировалось повышение спонтанной внутриклеточной продукции IL4. При этом основная и контрольная группы не отличались по уровню стимулированной синтеза IL4 CD_3^+ T-клетками, что повлекло за собой снижение коэффициента стимуляции $CD_3^+/IL4^+$ T-лимфоцитов почти в 2 раза (табл. 3).

Падение коэффициента стимуляции $CD_3^+/IFNg^{+-}$, $CD_3^+/TNF\alpha^{+-}$, $CD_3^+/IL2^{+-}$ и $CD_3^+/IL4^+$ T — лимфоцитов у детей с хронической патологией, возможно, способствовало сохранению иммунологических показателей на уровне значений 2 группы здоровья.

С целью определения направленности иммунологических реакций нами был предложен индекс поляризации (ИП), который рассчитывался следующим образом: $ИП = (CD_3^+/IFNg^+T\text{-лимфоциты} - CD_3^+/IL4^+T\text{-лимфоциты})/CD_3^+/IL4^+T\text{-лимфоциты}$

В зависимости от преобладания синтеза IFNg или IL4 данный индекс был положительный ИП (+) или отрицательный ИП (-). Положительное значение индекса свидетельствовало в пользу активации клонов T-лимфоцитов-

хелперов 1 типа и стимулированию развития иммунных реакций по клеточному типу, отрицательное значение — превалирования иммунного ответа по гуморальному типу. Доля детей с положительным индексом поляризации среди детей 2 группы здоровья составила 0,8 (22 ребенка) и 0,9 (46 детей) среди больных с хроническими заболеваниями.

Выводы

1. В основной и контрольной группах преобладали дети с клонов T-лимфоцитов-хелперов 1 типа, что свидетельствует о превалировании клеточных механизмов иммунной защиты над гуморальными у большинства детей дошкольного возраста.

2. Падение коэффициента стимуляции $CD_3^+/IFNg^{+-}$, $CD_3^+/TNF\alpha^{+-}$, $CD_3^+/IL2^{+-}$ и $CD_3^+/IL4^+$ T — лимфоцитов у детей, страдающих хроническими заболеваниями, является, вероятно, результатом адаптивной реакции направленной на сохранение гомеостатических функций организма и торможения процессов, ведущих к развитию системного воспаления.

Литература

1. Блащенко К. В. Оценка состояния иммунитета у часто и длительно болеющих детей; К. В. Блащенко, С. А. Блащенко, Т. В. Букина. Russian Journal of Immunology. 2004; 9 Suppl.1: 200.
2. Градинаров А. М. Современные подходы к комплексной оценке состояния здоровья у детей в раннем и дошкольном возрасте в детской поликлинике; А. М. Градинаров, Б. А. Бабушкин, А. А. Шварцбеин. Вестник педиатра 1998; №1: 12-24.
3. Иммунодефицитные состояния; под ред. В. С.Смирнова, И. С. Фрейлина. СПб.: Фолиант, 2000; 568 с.
4. Коровина Н. А. Часто и длительно болеющие дети: терминология, патофизиология, терапевтические подходы; Н. А. Коровина. Опыт применения рибомунила в российской педиатрической практике. М., 2002; 7-17.

Полный список литературы см. на сайте www.urtj.ru