

Аллергическое воспаление и влияние на него глюкокортикоидной терапии у больных бронхиальной астмой

В.И. Трофимов, Н.Л. Шапорова, Т.П. Сесь, О.В. Дудина

Кафедра госпитальной терапии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Лаборатория Иммунологии Института Пульмонологии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

Изучали влияние гормональной терапии на показатели иммунного воспаления. Обследовали 84 больных бронхиальной астмой (БА): 44 с преимущественно аллергической БА и 40 с преимущественно гормонозависимой БА. У 31 пациента последней группы наблюдали кортикочувствительную и у 9 - стероидрезистентную БА. Всем обследованным определяли чувствительность лимфоцитов к кортизолу, показатели клеточного и гуморального иммунитета (CD3+, CD4+, CD8+, CD20+, иммунорегуляторный индекс, IgE), а также содержание интерлейкинов (IL4, IL8, IFN- γ) в крови и мокроте в динамике. Показали, что фаза затихающего обострения БА характеризуется активацией популяции супрессорно-цитотоксических Т-лимфоцитов. Выявили, что у больных БА в фазу затихающего обострения происходит переключение местных иммунных реакций с Th2 на Th1 - тип ответа. Показали пониженную чувствительность к глюкокортикоидным гормонам не только В- лимфоцитов, но и Т-хелперов (CD4+). Выявили, что определение уровня IL8 в мокроте больных БА может являться маркером стероидрезистентности и отражать недостаточность эффекта глюкокортикоидных гормонов на уровне клетки.

Ключевые слова: бронхиальная астма, глюкокортикоидные гормоны, клеточный иммунитет, интерлейкины.

Введение

В настоящее время не вызывает сомнений ведущая роль хронического воспаления в патогенезе бронхиальной астмы (БА) [9]. Это воспаление имеет в своей основе сложные нарушения со стороны иммунной системы и приводит к развитию гиперчувствительности и гиперреактивности бронхов (одного из основных звеньев патогенеза БА) [11]. Глюкокортикоидные гормоны принимают активное участие в нейрогуморальном обеспечении иммунного го-

меостаза, причем воздействуют на различные компоненты иммунного ответа. При этом кортикостероиды вызывают нарушение сложных межклеточных взаимодействий в иммунологических реакциях, дифференцированно воздействуют на разные субпопуляции иммунокомпетентных клеток [8]. Представленные в литературе данные об изменении субпопуляций лимфоцитов у пациентов БА на фоне гормональной терапии противоречивы и касаются в основном фазы обострения заболевания. Так Audilek В. и соавторы [10] отмечали, что количество В-лимфоцитов в просвете бронхов у больных БА увеличивается, а Т-лимфоцитов снижается. Прищепя И.В. [2] показала, что у больных стероидозависимой БА происходит угнетение Т - клеточного иммунитета в виде уменьшения содержания CD3+, CD4+, CD8+ лимфоцитов, а также снижение количества IgA, IgG и нарушение фагоцитарной функции нейтрофилов, выражающееся в снижении фагоцитарного показателя и индекса. Corrigan С. J. и соавторы [12] выявили, что у пациентов БА в фазе обострения заболевания гормональная терапия вызывала уменьшение процентного содержания CD4+ лимфоцитов и секрецию соответствующих протеинов. Как известно, глюкокортикоидные гормоны воздействуют не только на антиген-специфические лимфоциты, но и на другие клетки, участвующие в запуске иммунного ответа и его эффекторной фазе. Глюкокортикоиды влияют на подвижность нейтрофилов, блокируют их активацию, нарушают миграцию лейкоцитов в очаг воспаления и их адгезию [13]. Кортикостероиды способны подавлять функцию макрофагов, ингибировать комплементарные рецепторы мононуклеаров и таким образом снижать происходящую при участии комплемента адгезию моноцитарно-макрофагальных клеток [14].

В настоящее время считается общепризнанным, что у пациентов с БА имеет место

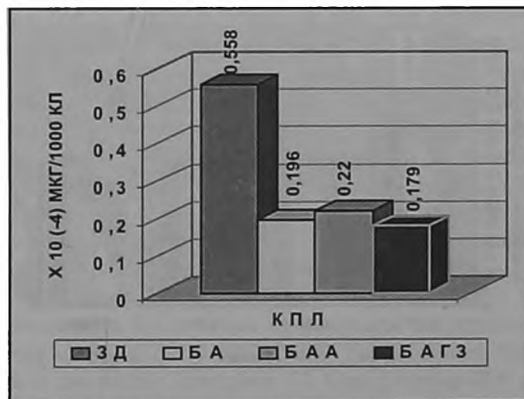
изменение функции Т хелперов (CD 4+) в виде преимущественной активации Т-хелперов 2 (Th2) по сравнению с Т-хелперами 1 (Th1) [7]. Преобладание Th2 над Th1 лимфоцитами у пациентов с астмой приводит к избыточной активации В-лимфоцитов и развитию Ig E - зависимых реакций. Функции Th1 и Th2 лимфоцитов находятся под цитокиновым контролем. При этом Th1 лимфоциты продуцируют преимущественно IFN- γ , а Th2 лимфоциты - IL4 и IL5. Таким образом, определяя уровень IL4 и IFN- γ в крови и мокроте пациентов можно судить о соотношении Th1 и Th2 лимфоцитов в структуре CD4+ клеток. Известно, что глюкокортикоидные гормоны способны оказывать влияние, как на синтез цитокинов, так и на реализацию их эффектов на уровне клетки. Показана способность глюкокортикоидов блокировать экспрессию гена для ИЛ-8 и генерацию ИЛ-8 в эпителиальных клетках дыхательных путей [16].

В связи с этим целью настоящей работы было исследовать влияние гормональной терапии на клеточный и гуморальный иммунитет больных бронхиальной астмой.

Материалы и методы

Для решения указанной цели нами было обследовано 84 больных бронхиальной астмой (БА), 30 мужчин и 54 женщины, средний возраст обследованных составил 44,6 года. У 44 пациентов была диагностирована преимущественно аллергическая (атопическая) бронхиальная астма (БАА) и у 40 преимущественно гормонозависимая астма (БАГЗ). Последнюю группу составил 31 пациент, получавшие терапию системными глюкокортикоидами через рот в дозе, не превышающей 15 мг преднизолона в сутки, кортикостероидные пациенты (БАКЧ) и 9 больных, получавших более 20 мг

Рисунок 1. Величина кортизолпоглощения лимфоцитов здоровых лиц и больных БА в зависимости от гормональной терапии



преднизолона в сутки, стероидрезистентные пациенты (БАСР). Часть больных была обследована в динамике.

У всех пациентов исследовали чувствительность клеток крови к кортизолу методом кортизолпоглощения лимфоцитов [4]. У 48 больных определяли субпопуляции лимфоцитов: CD3+, CD4+, CD8+, CD20+ методом непрямой иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител фирмы Dako (Дания), иммунорегуляторный индекс (ИРИ) [3] и IgE плазмы крови методом иммуноферментного анализа с использованием реактивов фирмы "ДИАплюс" (Москва, Россия), а также показатели фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов-макрофагов с расчетом фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса. Исследование иммунного статуса выполнялось в иммунологической лаборатории ГКДЦ 1 однократно в фазу затихающего обострения или ремиссии заболевания. У 36 пациентов определяли уровни IL4, IFN- γ , IL8 в крови и мокроте методом иммуноферментного анализа [15] с использованием коммерческих наборов ТОО "Цитокин" (Москва, Россия). Эти исследования выполнялись в лаборатории иммунологии Института Пульмонологии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, часть пациентов была обследована в динамике.

Статистическую обработку выполняли с использованием стандартного пакета программ прикладного статистического анализа ("Statistic for Windows") и системы концептуального моделирования "COMOD", разработанной в Санкт-Петербургском Государственном Электротехническом Университете [1].

Результаты

Исследования показали, что чувствительность лимфоцитов к кортизолу у больных БА и в фазу затихающего обострения заболевания оставалась достоверно ниже, чем у здоровых лиц, при чем максимально низкой величина КПЛ была у гормонозависимых пациентов (рисунок 1).

Анализ клинической крови выявил достоверное повышение лейкоцитов периферической крови, и одновременно достоверное понижение лимфоцитов периферической крови у гормонозависимых пациентов по сравнению с больными преимущественно аллергической БА (рисунок 2).

Гормональная терапия приводила к достоверному понижению нейтрофильного фагоцитоза, однако в дозе, не превышающей 15 мг преднизолона в сутки, не оказывала существенного влияния на фагоцитарную активность моноцитов-макрофагов (рисунок 3).

Рисунок 2. Влияние гормональной терапии на содержание лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови больных БА



Рисунок 3. Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов-макрофагов у больных БА

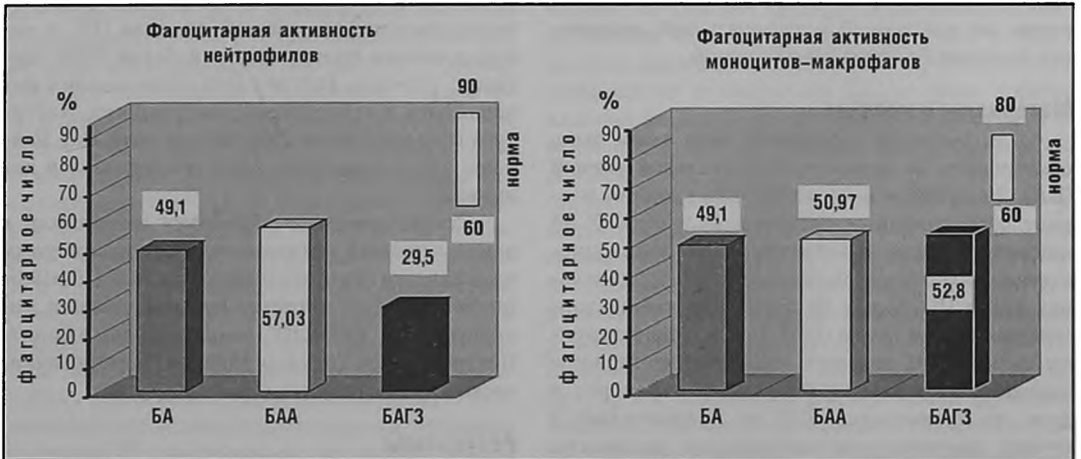


Рисунок 4. Уровень IgE плазмы крови у больных с различными клиничко-патогенетическими вариантами БА

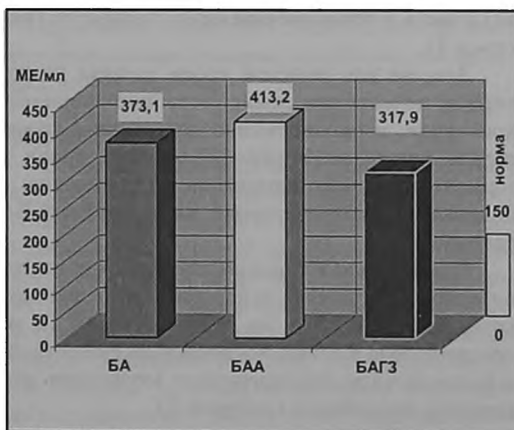
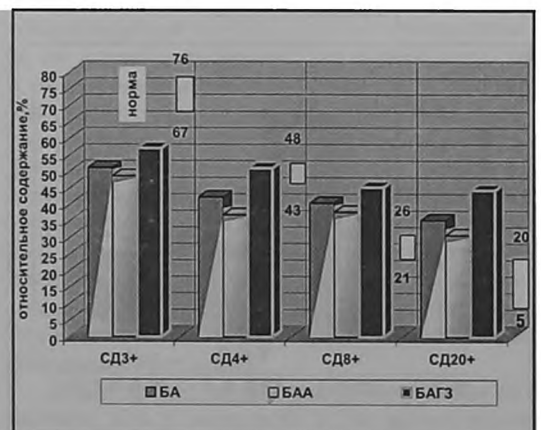


Рисунок 5. Показатели клеточного иммунитета у больных БА и здоровых лиц



Исследование иммунного статуса показало, что у больных БА и в фазу затихающего обострения заболевания сохранялся низкий уровень Т-лимфоцитов, при повышенном уровне В-лимфоцитов (CD20+) (рисунок 5), что, видимо, и обуславливало сохранение высокого содержания IgE в крови у всех групп больных БА (рисунок 4). Гормональная терапия приводила к нарастанию уровня как Т-лимфоцитов (который однако не достигал нормальной величины), так и В-лимфоцитов (рисунок 5), что однако, не сопровождалось повышением уровня IgE, который у гормонозависимых пациентов оказался достоверно ниже, чем у больных с аллергической астмой (рисунок 4).

Изучение субпопуляций Т-лимфоцитов показало, что в фазу затихающего обострения заболевания у больных с аллергической астмой не только не наблюдалось повышения уровня CD4+ лимфоцитов, но этот уровень оказался даже ниже нормы. Гормональная терапия приводила к достоверному увеличению количества CD4+ лимфоцитов до нормального уровня (рисунок 5).

Содержание цитотоксических лимфоцитов (CD8+) в крови пациентов с аллергической астмой в фазу затихающего обострения оказалось достоверно выше нормы, гормональная терапия несколько повышала уровень CD8+, однако в меньшей степени, чем CD4+, что приводило к нормализации иммунорегуляторного индекса (рисунок 5).

Анализ в системе связей выявил достоверную отрицательную информационную связь ($p < 0,05$) между величиной КИЛ и уровнями CD4+ и CD20+ в крови. Кроме того была получена достоверная положительная связь ($p < 0,05$) между эффектом гормональной терапии и уровнем Т-, В- лимфоцитов и Т-хелперов в крови.

Исследование интерлейкинового профиля показало повышение уровня IL4 в крови и мокроте больных БА в фазу обострения заболевания и достоверное снижение этого показателя в фазу затихающего обострения (рисунки 6, 7). Наиболее показательным было понижение уровня IL4 в мокроте больных БА, что отражает снижение местной активности Th2 под влиянием терапии (рисунок 7). Содержание IFN- γ в крови и мокроте пациентов в фазу обострения заболевания оказалось достоверно повышенным (рисунки 6, 7). Уровень IFN- γ в крови пациентов при обследовании в динамике понижался, а в мокроте достоверно возрастал, что отражает местную активацию Th1 в фазу затихающего обострения заболевания (рисунок 7).

Исследование уровня IL8 показало, что у пациентов БА в крови он оказался в пределах нормы как в фазу обострения заболевания, так и в динамике (рисунок 8). Содержание IL8 в

мокроте было достоверно выше нормы в фазу обострения заболевания и существенно увеличивалось в фазу затихающего обострения БА. Необходимо отметить, что у больных гормонозависимой БА наблюдалось снижение уровня IL8 в мокроте как фазу обострения, так и в фазу затихающего обострения заболевания. При этом кортикостероидчувствительные и стероидрезистентные пациенты достоверно отличались по влиянию гормональной терапии на уровень IL8 в мокроте: гормональная терапия понижала содержание IL8 в мокроте кортикостероидчувствительных пациентов, а у стероидрезистентных больных этого не наблюдалось (рисунок 8).

Обсуждение

Полученные нами результаты позволили уточнить особенности изменений показателей иммунологического статуса у больных БА в динамике заболевания и влияние на них гормональной терапии.

Сохранение повышенного уровня CD20+ при снижении CD3+ отражает преобладание В-лимфоцитов над Т-лимфоцитами в фазу затихающего обострения БА и указывает на значимость IgE зависимых реакций в динамике заболевания. Это подтверждается и повышенным уровнем IgE в плазме крови у всех пациентов в фазу затихающего обострения БА. Исследование субпопуляций Т-лимфоцитов, однако, выявило повышенный уровень CD8+ при понижении содержания Т-хелперов (CD4+). Это может отражать тот факт, что у больных БА фаза затихающего обострения заболевания характеризуется активацией популяции супрессорно-цитотоксических Т-лимфоцитов.

Исследование цитокинового профиля показало, что у больных БА в фазу обострения заболевания был повышен уровень, как IL4, так и IFN- γ в крови и мокроте, что отражает усиление активности как Th2, так и Th1 среди CD4+ лимфоцитов. В фазу затихающего обострения или ремиссии заболевания наблюдалось достоверное и значительное понижение уровня IL4 при одновременном повышении IFN- γ в мокроте пациентов, что указывает на переключение в фазу затихающего обострения местных иммунных реакций с Th2 на Th1, последние являются супрессорами для IgE-зависимых и индукторами клеточно-опосредованных реакций [6]. Подобная поляризация иммунного ответа может являться одним из факторов, способствующих стиханию иммунного воспаления у больных БА.

Особый интерес представляет полученная нами отрицательная информационная связь между величиной кортизолпоглощения лимфоцитов и содержанием CD4+ и CD20+ в крови. Наличие такой связи позволяет предположить,

Рисунок 6. Содержание IL4 и IFN в крови больных БА в динамике

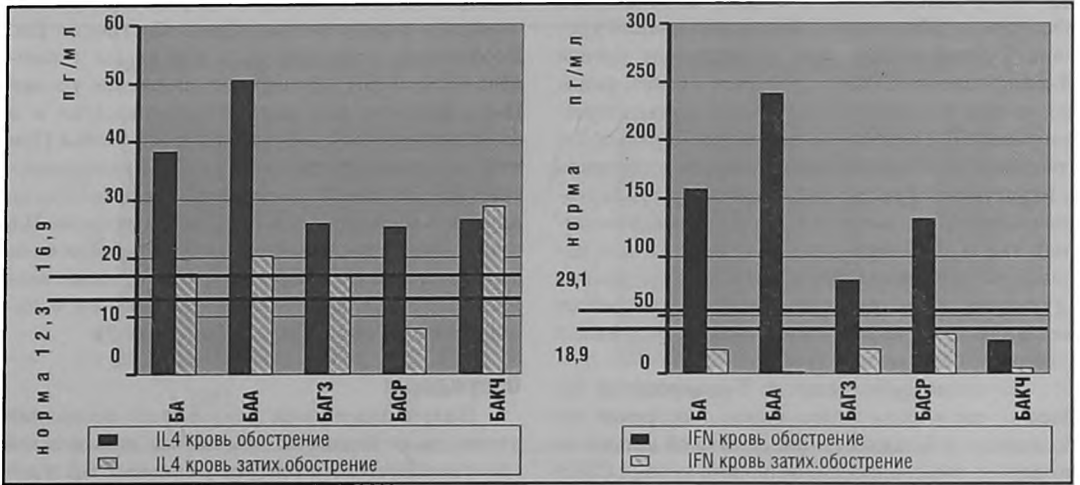


Рисунок 7. Содержание IL4 и IFN в мокроте больных БА в динамике

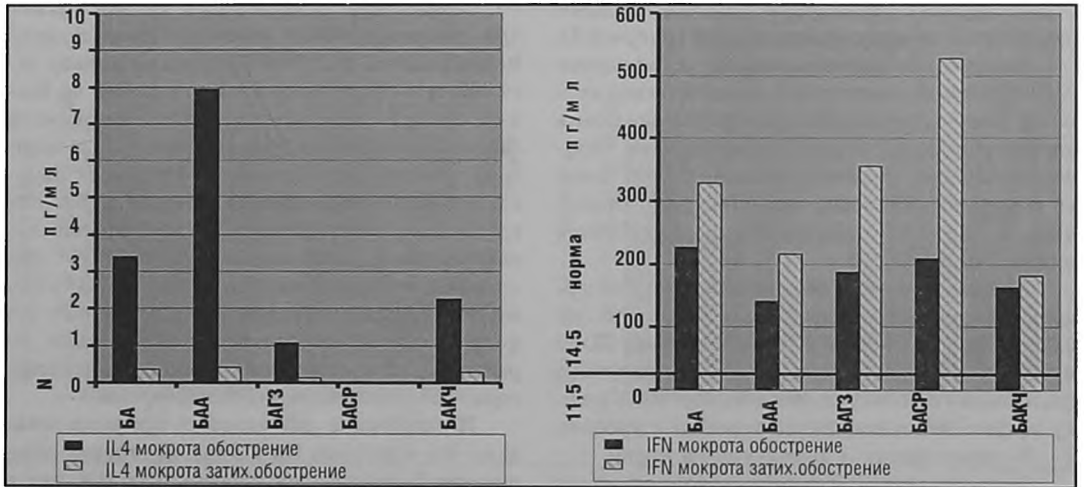
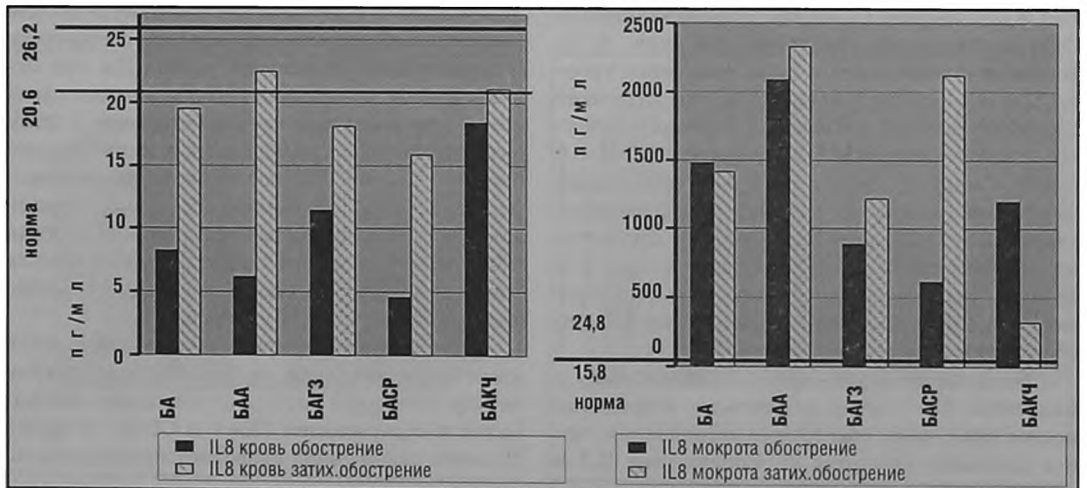


Рисунок 8. Содержание IL8 в крови и мокроте больных БА в динамике



что не только у В-лимфоцитов [5], но и Т-хелперов может снижаться чувствительность к регулирующим эффектам глюкокортикоидных гормонов. Поскольку В-лимфоциты находятся под цитокиновым контролем Th2 [7,8], такой дефект может объяснять недостаточность эффектов глюкокортикоидных гормонов у пациентов БА.

Изучение уровней ИЛ-8 в крови и мокроте пациентов БА показало, что у кортикочувствительных больных БА имело место существенное подавление местного синтеза ИЛ-8, а у стероидрезистентных пациентов такого эффекта не наблюдалось. Из литературы известно, что глюкокортикоиды способны блокировать экспрессию гена для ИЛ-8 и генерацию ИЛ-8 в культуре эпителиальных клеток дыхательных путей [16]. Полученные нами результаты свидетельствуют о значительном снижении ингибирующего влияния глюкокортикоидных гормонов на продукцию ИЛ-8 клетками воспаления, прежде всего, нейтрофилами. Таким образом, предполагается, что

Литература

1. Немцов В.И. Концептуальные модели различных вариантов бронхиальной астмы на основе нового метода системного моделирования // Дисс.... д-ра мед. наук - Санкт-Петербург: - 1995. - 385 с.
2. Прищепа И.В. Особенности клеточного и гуморального иммунитета у больных стероидозависимой и стероиднезависимой бронхиальной астмой // Автореф. дисс.... канд. мед. наук. - Благовещенск-на-Амуре. - 1995. - 23с.
3. Тотолян А.А., Балдуева И.А., Бубнова Л.Н., Закревская А.В., Зуева Е.Е., Калинин Н.М., Лисицина З.Н. Стандартизация методов иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга человека (рекомендации рабочей группы СПб РО РААКИ) // Медицинская иммунология. - 1999. - Т.1, № 5. - С. 21 - 45.
4. Трофимов В. И., Елисеева М. В., Вишневская Н.Л. Кортизолпоглощение лимфоцитов у больных бронхиальной астмой // Сб. "Аллергия и иммунопатология в клинике и эксперименте". - Москва, 1988. - С. 48 -51.
5. Трофимов В.И., Долгодворов А.Ф., Шапорова Н.Л. Роль изменений эндокринной системы в формировании обструкции бронхов // Бронхиальная астма: Библиотека врача общей практики. Т.2./ Под ред. Г.В.Федосеева. Санкт-Петербург: Медицинское информационное агентство, 1996. - С.70 - 78.
6. Фрейдлин И.С. Иммунная система и ее дефекты // Руководство для врачей. - Санкт-Петербург: НТФФ "Полисан", 1998. - 113 с.
7. Фрейдлин И.С., Тотолян А.А. Иммунопатологические механизмы воспаления бронхов и легких // Механизмы воспаления бронхов и легких и противовоспалительная терапия / Под ред. Г.В.Федосеева. Санкт-Петербург: "Нормед - издат", 1998. - С. 194 - 298.
8. Фрейдлин И.С., Тотолян А.А. Роль изменений иммунной системы в формировании бронхиальной астмы // Бронхиальная астма: Библиотека

изменение уровня ИЛ-8 под влиянием глюкокортикоидной терапии может служить маркером эффективности действия глюкокортикоидных гормонов на клетки воспаления.

Выводы

1. Фаза затихающего обострения БА характеризуется активацией популяции супрессорно-цитотоксических Т-лимфоцитов.
2. У больных БА в фазу затихающего обострения местные иммунные реакции характеризуются преобладанием Th1 - типа ответа над Th2-типом.
3. У больных БА Т-хелперы наряду с В-лимфоцитами отличаются пониженной чувствительностью к регулирующим эффектам глюкокортикоидных гормонов.
4. Изменение уровня ИЛ8 в мокроте под влиянием гормональной терапии может являться маркером эффективности действия глюкокортикоидных гормонов на уровне клетки.

- врача общей практики. Т.2./ Под ред. Г.В.Федосеева. Санкт-Петербург: Медицинское информационное агентство, 1996. - С. 54 - 69.
9. Чучалин А.Г. Бронхиальная астма глобальная стратегия// Терапевт. архив. - 1994. - №3. - С. 3-8.
10. Aydilek R., Ekinci E., Sadi Yenen O. et al. Cellular distribution of bronchoalveolar lavage and peripheral blood in bronchial asthma// XIV World Congress of Asthology. - Abstracts. - 1993. - P.I.
11. Corrigan C., Kay A. The roles of inflammatory cells in the pathogenesis of asthma and of COPD// Am. Rev. Respir. Dis. - 1991. - Vol.143. - P.1165-1168.
12. Corrigan C.J., Hamid Q., North J., Barkans J., Moqbel R., Durham S., Gemou-Engesaeth V., Kay A.B. Peripheral blood CD4 but not CD8 T-Lymphocytes in patients with exacerbation of asthma transcribe and translate messenger RNA encoding cytokines which prolong eosinophil survival in context of Th2-type pattern: effect of glucocorticoid therapy // American Journal of Respiratory Cell & Molecular Biology. - 1995. - Vol.12, № 5. - P. 567-578.
13. Crastein B.N. A mechanism for the glucocorticoid receptor regulates leukocyte adhesion to endothelial cells and expression of ELAM-1 and ICAM-1 // Proc. Natr. Acad. Sci. USA. - 1992. - Vol. 89. - P. 9991 - 9995.
14. Gin W., Kay A.B. The effect of corticosteroids on monocyte and neutrophil activation in bronchial asthma // J. Allergy Clin. Immunol. - 1985. - Vol. 76, № 5. -P. 675 - 682.
15. Koller D.Y., Nething I., Otto J., Urbaner R., Eichler I. Cytokine concentration in sputum from patients with cystic fibrosis and their relation to eosinophil activity // Am. J. Respir. Care Med. - 1997. Vol. 155. - P. 1050 - 1054.
16. Kwon O.J., An B.T., Collins P.D. et al. Inhibition of interleukin-8 expression by dexamethasone in human cultured airway epithelial cells // Immunology. - 1994. - Vol. 81, N 3. - P. 389 - 394.