

На правах рукописи

Фаюршин Альфир Забирович

**КЛИНИКО-ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
ПЫЛЬЦЕВОЙ АЛЛЕРГИИ В РЕСПУБЛИКЕ
БАШКОРТОСТАН В НАЧАЛЕ XXI ВЕКА**

14.00.16 – патологическая физиология
14.00.36 – аллергология и иммунология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Екатеринбург-2008

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» на базе Государственного учреждения здравоохранения «Республиканская клиническая больница им Г.Г. Куватова» .

Научные руководители:

доктор медицинских наук,
профессор
доктор медицинских наук,
профессор

Еникеев Дамир Ахметович

Еникеева Светлана Ахметовна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,
профессор
доктор медицинских наук,
профессор

Теплова Светлана Николаевна

Гусев Евгений Юрьевич

Ведущая организация:

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Защита диссертации состоится « 27 » ноября 2008г. в _____ часов на заседании совета по защите докторских диссертаций Д 208.102.03, созданного при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» по адресу : 620028, г. Екатеринбург, ул.Репина, д.3.

С диссертацией можно ознакомиться: в библиотеке ГОУ ВПО УГМА Росздрава по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Ключевская, д.17, а с текстом автореферата на сайте академии www.usma.ru

Автореферат разослан « ____ » _____ 2008 г.

Ученый секретарь совета
по защите докторских диссертаций
профессор, доктор медицинских наук

В.В.Базарный

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования.

Вторая половина XX – начало XXI века ознаменовались бурным ростом числа аллергических заболеваний различного генеза, в т. ч. вызываемой пылью растений. Распространенность пыльцевой аллергии (поллинозов) в разных регионах планеты колеблется от 5 до 30% населения (Р.М. Хаитов, 2002), при этом в каждом регионе данное заболевание имеет свои особенности. Сложившиеся климато-географические и ботанические условия, бурное развитие развития сельского хозяйства и промышленности в Республике Башкортостан являются наиболее благоприятными для развития пыльцевой аллергии. Проведенные в Республике Башкортостан эпидемиологические исследования (Х.Х.Ганцева, 1997) установили, что поллинозом болеет 7,1% взрослого населения, а у детей, в зависимости от района проживания, данный показатель колеблется от 1,3 до 7,6% (Р.М.Файзуллина, 1999).

При пыльцевой аллергии иммунная система, одновременно отвечает на воздействие аллергенов и факторы внешней среды. Ряд веществ, загрязняющих окружающую среду, оказывает системное влияние на иммунную систему (Н.Ю. Дякина, И.С. Гущин, 2002). Несомненно, что под их воздействием находится, не только система местного иммунитета, но и взаимоотношения между IgE и регуляторами его продукции, в частности IL-4 и IFN- γ . Бурный рост числа автотранспорта, наблюдаемый в последние десятилетия, и, как следствие, повышенная техногенная нагрузка на больных пыльцевой аллергией, особенно проживающих в городской местности, чаще приводит к развитию тяжелого течения аллергического ринита и формированию бронхиальной астмы. Причем, если в первые годы обострение ограничивается несколькими неделями, то в дальнейшем может длиться несколько месяцев и даже трансформироваться в круглогодичное заболевание (В.И. Пыцкий с соавт., 1999).

Таким образом, медико-социальное значение поллиноза обусловлено его широкой распространенностью и отрицательным влиянием на качество жизни пациентов. Изучение патогенетических особенностей пыльцевой аллергии, с целью повышения эффективности диагностики и лечения в Республике Башкортостан, является весьма актуальным.

Целью настоящей работы явилось определение роли и механизма участия некоторых эндогенных и экзогенных факторов в патогенезе пыльцевой аллергии и повышение точности диагностики, прогнозирования и лечения поллинозов в Республике Башкортостан.

Задачи исследования.

1. Провести выборку контингента больных поллинозом по анамнестическим данным и клиническим проявлениям.
2. Изучить спектр сенсibilизации по результатам кожного тестирования и определения аллергенспецифического IgE.
3. Исследовать содержание общего IgE в сыворотке крови и назальном секрете.
4. Изучить взаимоотношения между IgE и его регуляторами IL-4 и IFN- γ

и их зависимость от возрастных, половых и экологических факторов.

5. Выяснить особенность функциональных изменений в системе иммунитета и состояние местного иммунитета слизистых оболочек верхних дыхательных путей в различных периодах болезни.

Научная новизна.

Впервые в регионе проведена комплексная оценка реагирования иммунной системы при пыльцевой аллергии в различных периодах болезни. Установлено наличие латентной сенсibilизации к бытовым и грибковым аллергенам у больных поллинозом. Выявлены круглогодичные изменения в состоянии слизистых оболочек верхних дыхательных путей и наличие признаков хронического воспалительного процесса. Выявлены корреляционные связи между состоянием местного иммунитета и концентрацией IgE. Изучены взаимоотношения между IgE и его регуляторами IL-4 и IFN- γ и их зависимость от возрастных, половых и экологических факторов. Установлено, что при пыльцевой аллергии имеется обратная корреляция между содержанием эозинофилов в крови и уровнем общего IgE.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные данные об особенностях сенсibilизации, в т.ч. к непыльцевым аллергенам, состояния иммунной системы, наличия признаков хронического воспаления, участия некоторых эндогенных и экзогенных факторов в патогенезе пыльцевой аллергии позволяют наметить главные направления в организации мероприятий в повышении точности диагностики и лечения поллинозов в Республике Башкортостан.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. При лечении больных поллинозом необходимо учитывать высокую частоту латентной сенсibilизации к бытовым и грибковым аллергенам.

2. Воздействие экзогенных и эндогенных факторов на иммунную систему влияет на течение пыльцевой аллергии и предопределяет успех дальнейшей терапии.

3. С учетом признаков хронического течения аллергического воспаления в план лечения каждого больного поллинозом необходимо включить проведение предсезонной местной противовоспалительной терапии.

4. При обследовании больных поллинозом учитывать, что отсутствие эозинофилов в общем анализе крови в период обострения поллиноза является прогностическим признаком тяжести заболевания.

Внедрение результатов исследования в практику

Основные положения работы внедрены в учебный процесс кафедр: патофизиологии БГМУ, оториноларингологии БГМУ, микробиологии, вирусологии и иммунологии БГМУ, лабораторной диагностики ИПО БГМУ, в лечебно-диагностический процесс аллергологического и ЛОР-кабинетов, ЛОР-отделения Республиканской клинической больницы им. Г.Г. Куватова.

Апробация работы

Результаты исследования были представлены на III Всемирном конгрессе по клинической патологии и реабилитации в медицине (Паттайя, 2005); на конференции, посвященной 80-летию первого на Урале отоларингологического

стационара и 70-летию кафедры ЛОР-болезней УГМА (Екатеринбург, 2005); на V Всемирном конгрессе по иммунопатологии и аллергии (Москва, 2007), заседании ассоциации оториноларингологов Республики Башкортостан (Уфа, 2008).

Апробация работы проведена на совместном заседании кафедр Башкирского государственного медицинского университета, Башкирского государственного аграрного университета, Башкирского государственного педагогического университета.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 8 научных работ, в том числе 2 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Объем и структура диссертации.

Диссертация изложена на 122 страницах, содержит 35 таблиц и 25 рисунков. Состоит из введения, обзора литературы, глав собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций. Список использованной литературы содержит 146 источника (97 отечественных и 49 зарубежных авторов).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Этиологическая структура поллинозов и ее особенности в зависимости от места проживания получены на основании изучения медицинской документации (амбулаторных карт) 100 пациентов, обратившихся по поводу поллинозов в 2004-2006 годы в аллергологический кабинет ГУЗ Республиканской клинической больницы им. Г.Г. Куватова (г.Уфа). Возраст больных составил от 15 до 55 лет. Из числа обследованных -59% составили лица женского пола и 41% -мужчины. При этом 55 пациентов проживали в крупных городах Республики Башкортостан, а 45 человек в сельской местности.

В качестве контроля использовали результаты обследования 21 практически здорового лица (ПЗЛ) не имеющих клинических проявлений острых и хронических заболеваний, а также непереносимости пищевых, бытовых, пылевых и лекарственных веществ в анамнезе.

Анкетирование.

С целью изучения клинико-anamnestических особенностей у больных с пылевой аллергией была составлена анкета. За основу были взяты «Карта учета больного аллергологическим заболеванием» и «Схема аллергологического анамнеза», разработанные в НИАЛ АМН СССР, куда были включены дополнительные вопросы. Анкета в нашей модификации содержала общие вопросы, ведение здорового образа жизни, история жизни, особенности пылевой аллергии.

Клинические методы.

Всем больным поллинозом с целью изучения состояния здоровья и особенностей течения болезни проведено клинико-лабораторное обследование. Все исследования проводились по общепризнанной методике в соответствующих подразделениях ГУЗ Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова (г.Уфа).

Аллергологические методы

Для установления диагноза болезни и его этиологической структуры использовались следующие общепринятые аллергологические методы:

- а) сбор аллергологического анамнеза;
- б) постановка кожных аллергических проб с набором аллергенов;
- в) провокационные назальные тесты с аллергенами в необходимых случаях;
- г) лабораторные методы исследования (определение общего и аллергенспецифического IgE).

Для постановки кожных скарификационных проб использовались стандартные пыльцевые аллергены - 24 наименования, содержащие 10 000 PNU (единиц белкового азота) в 1 мл, выпускаемые ФГУП «Аллерген» (г. Ставрополь). Для уточнения сопутствующей бытовой и эпидермальной аллергии проводились скарификационные тесты с аллергенами (домашняя пыль, библиотечная пыль, перо подушки, клещ *Dermatofagoides pteronissinus*, шерсть кошки - 5 наименований), производства АО «Биомед», Московская область. При постановке и оценке скарификационных проб руководствовались «Инструкцией по применению пыльцевых аллергенов» (1999). При несоответствии клинических, анамнестических данных и результатов кожного тестирования проводились провокационные назальные тесты с пыльцевыми аллергенами по общепризнанной методике (А.Д.Адо, 1978; А.М. Потемкина, 1990; А.В. Караулов, 2002).

Показатель местной активности (ПМА) пыльцевого аллергена вычисляли умножением всех положительных реакций (+, ++, +++, +++) с испытуемым аллергеном в процентах на процент положительных реакций только выраженной степени (+++, +++) с данным аллергеном (С.Н. Куприянов и соавт., 1984).

Количественное определение уровня общего IgE в сыворотке крови проводили иммуноферментным методом с использованием тест-системы для иммуноферментного анализа (ЗАО «Вектор-Бест», г.Новосибирск). Уровень общего IgE определяли также в назальном секрете. Для этого назальный секрет собирали на сухой ватный тупфер из-под средней носовой раковины в течение 30 сек. поочередно из каждого носового хода, затем тупфер переносили в 1,0 мл физиологического раствора.

Для определения уровня АС IgE использовались тест-системы производства ФГУП «НПО Микроген» (г.Москва) со следующими аллергенами: пыльцевые (береза, ольха, лещина, дуб, клен, ясень, одуванчик, ежа, райграс, тимофеевка, овсяница, лисохвост, костер, мятлик, полевица,

пырей, рожь, кукуруза, полынь, подсолнечник, лебеда, амброзия, конопля, циклахена - 24 наименования), бытовые (домашняя пыль, библиотечная пыль, перо подушки, клещи *Dermatophagoides pteronissinus* и *Dermatophagoides farinae* - 5 наименований), эпидермальные (шерсть кошки - 1 наименование), грибковые и бактериальные (*Alternaria tenuis*, *Rhizopus nigricans*, *Sacchararomyces cerevisia*, *Penicillium tardum*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Fuzarium oxysporum*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Niesseria perflava*, *Branhamella catarrhalis*, *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*, *Phoma betae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Providencia rettgeri*, *Proteus mirabilis* - 20 наименований). Забор крови для измерения АС IgE у больных поллинозом производился в период ремиссии (ноябрь-март). В работе руководствовались прилагаемой «Инструкцией по применению тест-системы иммуноферментной для определения аллергенспецифических IgE-антител человека (IgE-АТ-ИФТС), (2004)». Уровень АС IgE определялся полуколичественно: результат оценивался в классах от 0 до 4. При подсчете учитывали только положительные реакции (3 и 4 класс), согласно «Шкалы для оценки уровня аллергенспецифического IgE» (Федосеев Г.Б., 2001)

Иммунологические методы

Иммунологический статус изучали по следующим показателям: состав лейкоформулы, количество лейкоцитов, Т- и В- лимфоцитов, количество циркулирующих иммунных комплексов, гемолитическая активность комплемента CH_{50} (В.В. Меньшиков, 1987); уровень содержания Ig A, M, G (по Манчини, 1965); субпопуляции лимфоцитов с маркерами: $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$, $CD22^+$ и $HLA-DR^+$ (А.А. Тотолян с соавт., 1999).

Фагоцитарную активность нейтрофилов оценивали путем определения фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса на модели поглощения микрочастиц латекса. Метаболическую активность нейтрофилов определяли в НСТ-тесте (спонтанном и индуцированном частицами латекса) (В.Л. Шишкин с соавт., 1987).

Показатели цитокинового статуса оценивались по уровню IL-4 и IFN- γ в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием соответствующих тест-систем (ООО «Цитокин», г.Санкт-Петербург), согласно прилагаемой к ним «Инструкции по применению набора реактивов для иммуноферментного анализа».

Для изучения спонтанной и индуцированной продукции цитокинов в супернатантах культуры клеток использовали метод культивирования клеток *in vitro* с митогеном и без него. Супернатанты получали при культивировании свежей цельной венозной крови в рабочей среде, содержащей инактивированную эмбриональную телячью сыворотку, среду 199 и гентамицин. Постановку реакции проводили в пластиковых пробирках, куда вносили 1 мл рабочей среды и 50 мкл крови, а для активации продукции IL-4 и IFN- γ добавляли стандартный митоген - фитогемагглютинин (ФГА) в концентрации 12,5 мкг/мл, а затем инкубировали в термостате при $t = +37^\circ$ в

течение 24 часов. Далее содержимое пробирок центрифугировали в течение 10 минут при 1000 об/мин. Супернатанты отсасывали в соответствующие лунки микропланшетов и проводили в них иммуноферментный анализ концентраций IL-4 и IFN- γ . Отношение уровня индуцированной продукции к спонтанной обозначили как индекс стимуляции

Цитологические методы

Для приготовления мазков - отпечатков материал забирался ватным тупфером из-под средней носовой раковины поочередно с каждой половины носа. Вращательными движениями без надавливания наносили его на обезжиренные этанолом предметные стекла. Полученные мазки высушивали на воздухе, фиксировали 96% этанолом, красили по методу Романовского-Гимза и микроскопировали под иммерсией при увеличении (окуляр 7, объектив 90). Цитологический анализ мазков-отпечатков со слизистой оболочки носа проводился по методике Л.А.Матвеевой (1986). Для этого подсчитывали общее число клеток в мазке (цитоз), относительное (%) и абсолютное количество нейтрофилов (Нф), эозинофилов (Эф), лимфоцитов (Лф), макрофагов (Мф), цилиндрического эпителия (ЦЭ), плоского эпителия (ПЭ) и цитоплазмы плоского эпителия (ЦПЭ).

Оценку состояния эпителиального покрова слизистых оболочек проводили по результатам индекса кератинизации и процент метаплазии цилиндрического эпителия в плоский (Л.А. Матвеева, 1986):

Индекс кератинизации = $\%БПЭ / (\%ЦЭ + \%ПЭ + \%ЦПЭ)$

Процент метаплазии = $(\%ПЭ + \%ЦПЭ) / (\%ЦЭ + \%ПЭ + \%ЦПЭ) * 100$

О морфофункциональном состоянии назального секрета судили по степени деструкции клеточных элементов, вычисляя средней показатель деструкции (СПД), индекс цитолиза клеток (ИЦК), индекс деструкции клеток (ИДК) (Матвеева Л.А., 1986).

Статистическая обработка данных

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием компьютерной программы «EXCEL». Достоверность различия средних величин устанавливали с помощью t-критерия Стьюдента, результаты представлены как среднее арифметическое (M) \pm средняя ошибка средней арифметической (m). Для выяснения статистической зависимости между изучаемыми параметрами использовали определение коэффициента линейной корреляции (r) (Н.М. Харисова, Н.Х. Шарафутдинова, 1999).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Используя стандартный набор из 24 аллергенов, установили, что среди причинно значимых аллергенов в Республике Башкортостан наиболее чаще выступает пыльца злаковых трав (38,2%) и деревьев (34,6%). Сенсibilизация к нескольким группам пыльцевых аллергенов выявлена практически у каждого 3-го пациента (31%). Среди злаков наиболее часто положительные пробы регистрировались к аллергенам ежи, райграсса, тимофеевки, овсяницы, костра, пырея. Немного реже сенсibilизация выявлялась к аллергенам деревьев: березы, ольхи, лещины и сорняков: полыни, подсолнечника, лебеды, циклахены.

Появление первых признаков заболевания отмечалось в различном возрасте, но чаще всего диагноз регистрировался в возрастном промежутке 21-30 лет (44%), а это наиболее активная, трудоспособная часть населения. Только половина больных (56%) обращались за помощью к специалисту в первые годы заболевания, а остальные - в поздние сроки, когда течение пыльцевой аллергии приобретало более тяжелый, затяжной характер, присоединялись различные осложнения, в т.ч. в виде бронхиальной астмы (14,7%)

Развитие пыльцевой аллергии сопровождалось сопутствующей сенсibilизацией к бытовым аллергенам (45%), что подтверждалось результатами кожных проб и определением аллергенспецифического IgE в сыворотке крови. При этом в период отсутствия пыльцы бытовые аллергены редко вызывали клинические проявления, и сенсibilизация к ним протекала латентно. Но, при появлении пыльцы в атмосфере, они способствовали развитию и поддержанию симптомов, и тем самым осложняли течение поллиноза. Установлено, что длительная экспозиция даже низкой концентрации бытовых аллергенов (1-10 мкг/год) приводит к развитию аллергических заболеваний у лиц с генетической предрасположенностью к атопии (A. Pomes, 2002). В связи с этим, одной из первоочередных задач профилактики и лечения пыльцевой аллергии является элиминация аллергенов из непосредственного окружения больного

Кроме того, в 20% случаях выявлены высокие (3 класс) и очень высокие (4 класс) уровни специфического IgE к аллергену *Aspergillus flavus*. В настоящее время выдвинута гипотеза о том, что грибы могут играть роль неспецифических иммуногенных триггеров при развитии аллергических заболеваний и усиливать иммунный ответ на другие аллергены, в частности клещевые (R Savilahti. et al., 2001).

Нами установлено, что место жительства влияло на этиологию поллиноза: в городе чаще причиной пыльцевой аллергии являлись деревья (44%), а в сельской местности - злаки (42,4%) и сорняки (33,9%). У больных поллинозом, проживающих в городе, уровень сенсibilизации к бытовым аллергенам (63,6%-72,7%) значительно превышал таковой относительно больных из сельской местности (11,1%-15,5%), что тоже влияло на течение поллиноза: у них чаще встречались симптомы бронхиальной астмы (рис.1).

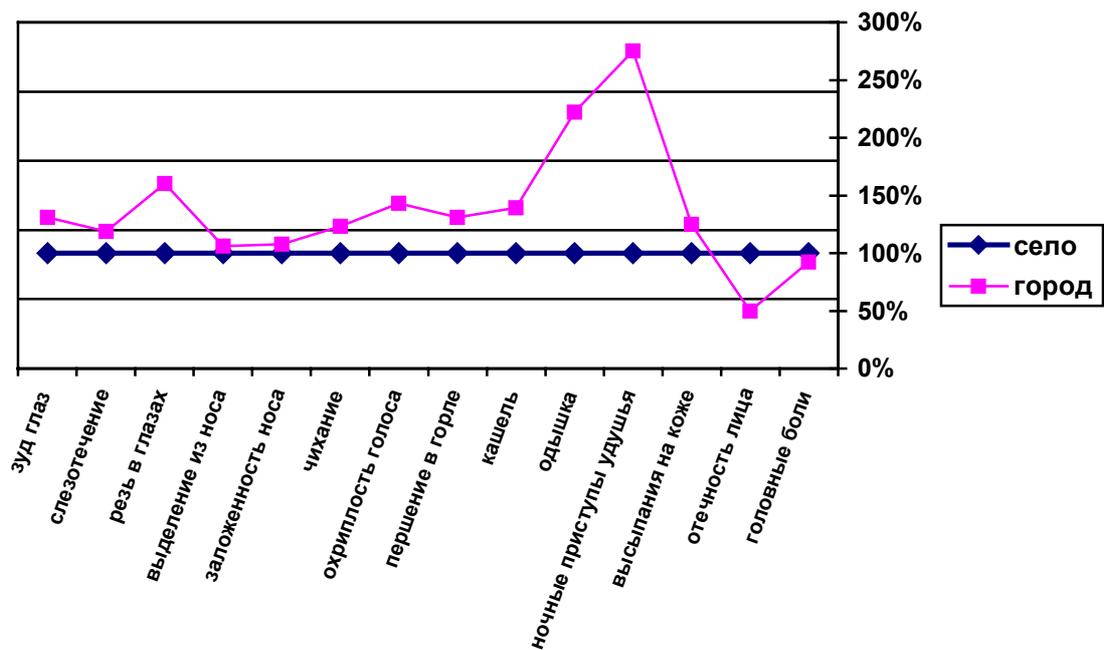


Рис. 1. Частота симптомов при поллинозе в зависимости от места жительства (% к сельским больным, n=100).

Наличие перекрестной пищевой аллергии, отметили пациенты, имеющие сенсibilизацию к аллергенам березы (36%) и сорных трав (37%). К аллергенам дикорастущих злаков таких проявлений не выявлено

Наследственная отягощенность, как фактор риска развития данного заболевания, выявлена у 37% больных. К другим факторам риска можно отнести наличие в районе проживания крупных автодорог и/или промышленных предприятий (63%), а так же влияние на организм нервно-психического напряжения (67%).

Подчиняясь общим механизмам воспаления, перестройка организма в период обострения поллиноза проходила на фоне роста общего количества лейкоцитов ($5,9 \pm 0,18 \cdot 10^9/\text{л}$ и $5,0 \pm 0,27 \cdot 10^9/\text{л}$ – соответственно, $p < 0,01$), при этом количество лимфоцитов практически не менялось. Оценка содержания лимфоцитов с помощью моноклональных антител позволила выявить, что развитие пыльцевой аллергии связано с повышением активности Т-клеточного звена иммунитета, которое выражалось в повышении относительного числа $CD3^+$ ($61,05 \pm 0,96\%$) и $CD8^+$ ($20,81 \pm 0,64\%$), ($p < 0,001$). В отношении $CD4^+$ наблюдалась небольшая тенденция к повышению. Изменения в субпопуляциях Т- лимфоцитов, мы можем объяснить увеличением потребности в контроле над продукцией IgE-антител В-клетками в период обострения. Одновременно наблюдались изменения среди субпопуляций В-клеточного звена - снижение содержания $CD22^+$ ($11,22 \pm 0,72\%$), ($p < 0,001$). В-лимфоциты, несущие маркер $CD22^+$, ответственны в организме за адгезию к эритроцитам, нейтрофилам, моноцитам, Т- и В-клеткам. Под воздействием определенных медиаторов и хемокинов они активнее мигрируют из кровяного русла в зону аллергического

воспаления. У больных поллинозом наблюдалось увеличение относительного числа HLA-DR⁺ (31,8±1,49%), (p<0,001). Экспрессия HLA-DR-антигенов напрямую связана с тяжестью atopического заболевания (Г.В. Порядин, 2008) После дифференцировки В-лимфоциты превращаются в плазматические клетки, запрограммированными продуцировать IgA и IgE. Установленное нами повышение IgA (2,58±0,18 г/л), p<0,001) и IgE (822,73±83,78 нг/мл), p<0,001) свидетельствовало об активации плазматических клеток в этот период. Параллельное исследование концентрации общего IgE в назальном секрете выявило значительное преобладание над показателями в контрольной группе (9,97±4,18 и 0,16±0,06 нг/мл – соответственно, p<0,001).

В целом, за исключением уровня общего IgE, полученные результаты иммунограмм больных поллинозом не имели существенных отклонений, выходящих за пределы нормы. Учитывая данное обстоятельство, в период ремиссии пыльцевой аллергии нами проведено исследование уровня общего IgE в сыворотке крови и назальном секрете (рис.2)

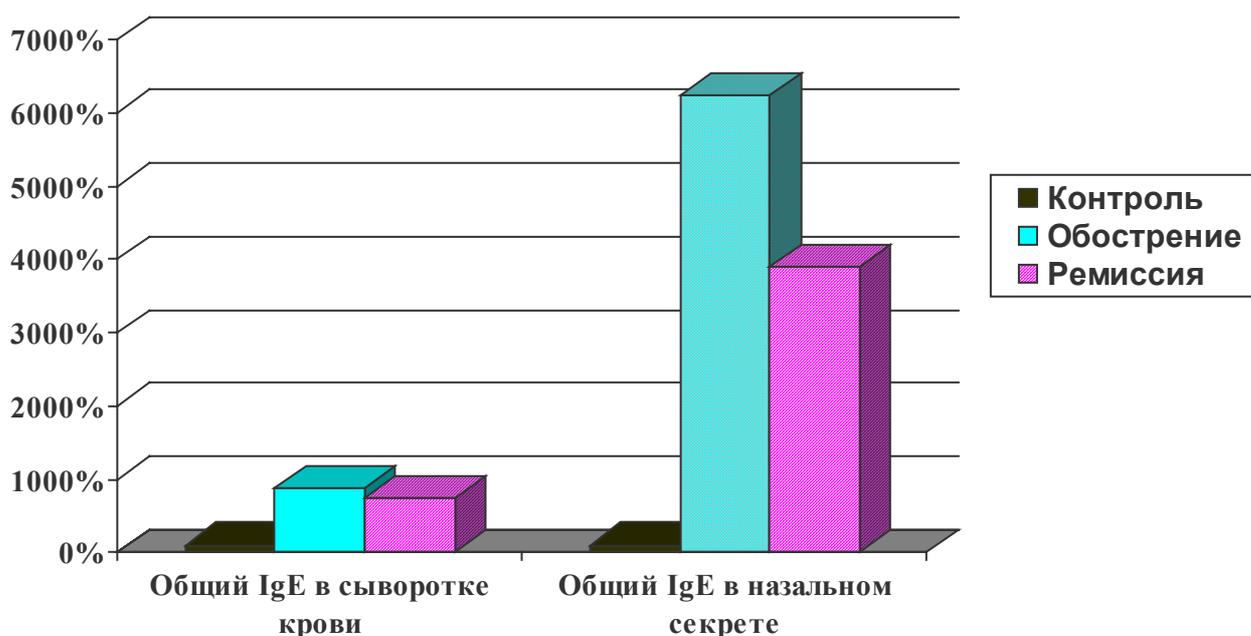


Рис. 2. Уровни общего IgE в сыворотке крови и назальном секрете в разных периодах поллиноза (% к контролю)

Как видно на диаграмме (рис.2), у больных поллинозом в период ремиссии уровни общего IgE в сыворотке крови (698,02±162,46 нг/мл) и назальном секрете (9,97±4,18 нг/мл) снижены по сравнению с периодом обострения, но значительно превышают аналогичные показатели в контрольной группе (240,88±112,66 и 0,16±0,06 нг/мл – соответственно, p<0,05, p<0,001).

Сравнительный анализ иммунограмм больных в период обострения, разделенных на группы в зависимости от возраста и места жительства, показал слабое влияние данных факторов на ее показатели. Наибольшие отличия,

причем в гуморальном звене иммунной системы, выявлены в группах больных разделенных по полу. Так, у мужчин по сравнению с женщинами, помимо понижения количества CD22⁺ (9,88±0,9% и 12,81±1,08% - соответственно, p<0,05) и снижения уровня IgM (1,24±0,13 и 2,63±0,37 г/л – соответственно, p<0,001), отмечалось превышение уровня общего IgE почти в 2 раза (1041,59±117,65 и 577,62±100,32 нг/мл – соответственно, p<0,01), а в назальном секрете – почти в 7 раз (18,1±6,07 и 2,62±1,05 нг/мл – соответственно, p<0,05). Несмотря на утверждения ряда исследователей (М. Нагуа, М.Э. Гершвин, 2004) о том, что уровень IgE коррелирует с тяжестью симптомов аллергического ринита, в том числе пыльцевой этиологии, нами не выявлено достоверных отличий по тяжести течения поллиноза у мужчин и женщин.

Наиболее характерным признаком в общем анализе крови у больных с аллергическими заболеваниями в период обострения является повышенное число эозинофилов в лейкоформуле. Но в ряде случаев можно обнаружить отсутствие основной эффекторной клетки аллергического воспаления. В доступной нам литературе не установлена интерпретация данному явлению. В нашем исследовании доля таких больных, с нулевым результатом, составила 11,7%. Сравнительный анализ позволил выявить у них достоверное превышение концентрации общего IgE в сыворотке крови почти в 2 раза и снижение его уровня в назальном секрете почти в 4 раза по сравнению с аналогичными показателями больных, имеющих эозинофилы в лейкоформуле. Полученные результаты позволяют утверждать, что более высокий уровень IgE в сыворотке крови, способствует усилению миграции эозинофилов из кровотока в очаг воспаления, а именно в подслизистый слой вовлеченных органов, где локализуются плазматиты – продуценты IgE. На поверхности эозинофилов имеются низко- и высокоаффинные рецепторы для IgE, что, вероятно, и влияет на снижение концентрации IgE в назальном секрете у «безэозинофильных» больных. Проведенный корреляционный анализ в группе больных «с эозинофилами», выявил у женщин обратную зависимость между содержанием эозинофилов в крови и уровнями общего IgE в сыворотке крови и назальном секрете. Таким образом, повышение уровня общего IgE в сыворотке крови приводит к усилению миграции эозинофилов в очаг воспаления, с последующим снижением концентрации общего IgE в назальном секрете.

На основании того, что уровень IgE в сыворотке крови коррелирует с тяжестью симптомов заболевания (М. Нагуа, М.Э. Гершвин, 2004), полученные нами результаты позволяют утверждать, что отсутствие эозинофилов в лейкоформуле больного поллинозом в период обострения является прогностическим признаком тяжести течения. Но, необходимо так же учитывать, что симптомы и характер течения пыльцевой аллергии, в т.ч. проявления бронхиальной астмы формируются под воздействием не только иммунных, но и неиммунных механизмов (В.И. Пыцкий с соавт., 1999).

Исследование у больных поллинозом цитокинового статуса выявило повышенный уровень IL-4 в сыворотке крови, что является патогномичным для аллергических реакций. Концентрация IFN-γ в сыворотке крови у больных

имела тенденцию к снижению, но данные у исследуемых сильно варьировали. В литературе имеются противоречивые данные об уровне IFN- γ в сыворотке крови при atopических заболеваниях (Д.К. Новиков с соавт., 1998; Ф. Диел, 2001; Курамшина Д.В. с соавт., 2003; Е.Е. Орлова с соавт., 2002).

Изучение индуцированной и спонтанной продукции цитокинов мононуклеарами периферической крови *in vitro* позволяет оценить функциональное состояние клеток. Установленное в нашем исследовании снижение, как спонтанного, так и индуцированного синтеза IL-4 лейкоцитами, на фоне повышенного уровня IL-4 в сыворотке крови, подтверждает активное участие данного цитокина в аллергическом воспалении. Так же установлено, что у больных поллинозом женского пола и проживающих в городской местности, более чем в 2 раза снижен индекс стимуляции IFN- γ , что свидетельствует о меньших резервных возможностях их иммунокомпетентных клеток в частности, так и иммунной системы в целом.

Несмотря на имеющиеся данные в литературе об антагонистических взаимоотношениях в условиях *in vitro* между IL-4 и IFN- γ , полученные результаты *in vivo* не столь однозначны. В наших исследованиях установлена прямая корреляция между концентрациями IL-4 и IFN- γ у больных женского пола, старше 30 лет, проживающих в городской местности. В других группах больных (мужской пол, в возрасте до 30 лет, проживающих в сельской местности) так же выявлена прямая корреляция, но уже между уровнями IFN- γ и общего IgE. Таким образом, гиперпродукция общего IgE способствует увеличению у них выработки «противоаллергического» цитокина IFN- γ на фоне достаточных резервных возможностей их иммунокомпетентных клеток, о чем свидетельствует более высокий индекс стимуляции IFN- γ .

Цитологическое исследование слизистой носа имеет приоритетное диагностическое значение для оценки состояния защитных механизмов респираторного тракта (Н.А. Арефьева с соавт., 2005). По результатам проведенных исследований в период обострения поллиноза (таб. 1) отмечалась тенденция к увеличению общего количества клеток (цитоз) в мазках-отпечатках, относительно контрольной группы. В этот период менялось соотношение клеток, представленных на СОН. Количество нейтрофилов снижалось по сравнению с контрольной группой, причем как в процентном ($24,6 \pm 3,63\%$, $p < 0,001$), так и в абсолютном выражении ($34,32 \pm 8,39$, $p < 0,05$), а количество эозинофилов увеличивалось ($8,76 \pm 2,22\%$ и $17,83 \pm 5,59$ – соответственно, $p < 0,01$). Реакция со стороны эпителия СОН характеризовалась повышенной десквамацией клеток цилиндрического эпителия ($46,43 \pm 4,51\%$ и $73,75 \pm 17,4$) ($p < 0,001$ и $p < 0,05$ – соответственно).

Сравнительный анализ риноцитогрaмм больных, разделенных на группы в зависимости от возраста и места жительства, показал слабое влияние данных факторов на ее показатели. Аналогично иммунограммам, достоверные отличия выявлены в группах больных разделенных по полу. Абсолютное число клеток в мазках-отпечатках у больных поллинозом мужского пола в наших исследованиях превышало более чем в 2 раза данный показатель у женщин.

Таблица 1

**Показатели риноцитогаммы у ПЗЛ и больных поллинозом
в период обострения (M±m)**

Показатели	ПЗЛ	Обострение	P
Цитоз мазка, абс.ч.	116,5±8,69	157,88±25,78	>0,05
Нейтрофилы, %	51,4±2,91	24,6±3,63	<0,001
Нейтрофилы, абс.ч.	58,46±6,9	34,32±8,39	<0,05
Лимфоциты, %	0,54±0,1	0,68±0,26	>0,05
Лимфоциты, абс.ч.	0,76±0,16	0,98±0,35	>0,05
Макрофаги, %	0,28±0,07	0,12±0,06	>0,05
Макрофаги, абс.ч.	0,38±0,09	0,57±0,4	>0,05
Эозинофилы, %	0,14±0,05	8,76±2,22	<0,01
Эозинофилы, абс.ч.	0,18±0,06	17,83±5,59	<0,01
Цилиндрический эпителий, %	27,51±2,6	46,43±4,51	<0,001
Цилиндрический эпителий, абс.ч.	26,62±3,22	73,75±17,4	<0,05
Плоский эпителий, %	6,09±0,5	3,43±0,75	>0,05
Плоский эпителий, абс.ч.	4,1±0,7	4,04±1,28	>0,05
Цитоплазма плоского эпителия, %	10,8±1,83	15,67±2,93	>0,05
Цитоплазма плоского эпителия, абс.ч.	7,95±1,45	10,79±1,68	>0,05
Процент метаплазии, %	30,28±2,61	32,24±4,01	>0,05
Индекс кератинизации	0,23±0,03	0,25±0,04	>0,05

Примечание. p- достоверные отличия с контрольной группой;

Массивное воздействие пылевых аллергенов приводило к активному слущиванию большой доли клеток цилиндрического эпителия с неповрежденной структурой, о чем свидетельствует снижение показателей деструкции цилиндрического эпителия (таб.2). Нарушение целостности барьера эпителиального покрова и ослабление его защитной функции создает предпосылки к более легкому проникновению различных аллергенов, в т.ч. бытовых и грибковых.

Таблица 2

**Показатели деструкции клеток назального секрета ПЗЛ
и больных поллинозом в период обострения (M±m)**

Показатели	ПЗЛ (n=21)	Поллиноз (n=42)	P
СПД нейтрофилов	2,29±0,10	2,02±0,11	>0,05
ИДК нейтрофилов	0,81±0,02	0,79±0,02	>0,05
ИЦК нейтрофилов	0,24±0,02	0,17±0,03	>0,05
СПД цилиндрического	1,53±0,05	1,18±0,08	<0,001
ИДК цилиндрического	0,92±0,01	0,66±0,03	<0,001
ИЦК цилиндрического	0,06±0,01	0,04±0,01	>0,05

Примечание. p- достоверные отличия с контрольной группой:

Выявлению эозинофилии в риноцитограммах придается ценное диагностическое значение в установлении аллергической природы заболевания, однако отсутствие эозинофилов на слизистой носа не является основанием для подтверждения диагноза «аллергический ринит» (И.Л. Теодор с соавт., 1995; Г.А. Гаджимирзаев с соавт., 1996). В доступной литературе нами не установлена интерпретация отсутствию эозинофилов в риноцитограммах. В нашем исследовании доля таких больных составила 35,7%. При сравнительном анализе установлено, что их мазки-отпечатки характеризовались в целом скудной цитологической картиной, вследствие значительного содержания в составе назального секрета водного компонента.

При воспалительных процессах нарушается нормальное функционирование слизистой оболочки, со стороны цилиндрического эпителия наблюдаются процессы метаплазии (И.Н. Швембергер, 1978). В своих исследованиях И.Л. Теодор (1995) отмечала, что при поллинозе выделяются метаплазия эпителия, его десквамация, отечность и фибриноидное пропитывание ткани. Обнаружение нами прямой зависимости между уровнем IgE в назальном секрете и индексом кератинизации ($r=0,47$) и процентом метаплазии ($r=0,44$) в период обострения свидетельствует о том, что чем выше уровень IgE, тем выраженнее протекают патологические процессы в эпителии слизистой оболочки. Воспалительный процесс на СОН в период ремиссии так же поддерживается высокой концентрацией IgE. Между уровнем IgE в сыворотке крови и процентом метаплазии цилиндрического эпителия в плоский установлено наличие прямой связи ($r=0,36$).

После прекращения действия иницирующего фактора (пыльцевых аллергенов) в последующую стадию активизируются процессы, направленные на полное или частичное восстановление поврежденных тканей. Стадия восстановления характеризуется пролиферативными, анаболическими, а в некоторых случаях и склеротическими изменениями (В. А. Черешнев с соавт., 2004).

Результаты риноцитограммы больных в период ремиссии приведены в таблице 3. Как нее видно, рост цитоза в период ремиссии происходил преимущественно за счет увеличения числа нейтрофилов ($381,82 \pm 130,26$, $p < 0,05$). Абсолютное число эозинофилов в мазках-отпечатках у больных поллинозом в этом периоде, по сравнению с обострением, достоверно снижалось. Но, несмотря на отсутствие в воздухе пыльцевых аллергенов, число эозинофилов в мазках-отпечатках у больных поллинозом, оставалось повышенным ($4,68 \pm 2,2\%$ и $3,31 \pm 1,13$) ($p < 0,05$ и $p < 0,01$ - соответственно). Так же в этот период, сохранялась повышенная десквамация клеток цилиндрического эпителия ($33,35 \pm 2,56\%$ и $59,73 \pm 12,43$) ($p < 0,05$). По сравнению с периодом обострения, уменьшилось содержание безъядерных клеток плоского эпителия более чем в 3 раза, ($15,67 \pm 2,93\%$ и $4,2 \pm 1,42\%$ - соответственно, $p_1 < 0,05$). Анализ других показателей клеточного состава СОН (Лф, Мф, ПЭ) не выявил достоверных изменений.

**Показатели риноцитогаммы у ПЗЛ и больных поллинозом
в период ремиссии (M±m)**

Показатели	ПЗЛ	Ремиссия	P	p₁
Цитоз мазка, абс.ч.	116,5±8,69	472,28±140,0	<0,05	<0,05
Нейтрофилы, %	51,4±2,91	54,84±7,27	>0,05	<0,05
Нейтрофилы, абс.ч.	58,46±6,9	381,82±130,2	<0,05	<0,05
Лимфоциты, %	0,54±0,1	0,2±0,16	>0,05	>0,05
Лимфоциты, абс.ч.	0,76±0,16	0,48±0,4	>0,05	>0,05
Макрофаги, %	0,28±0,07	0,08±0,08	>0,05	>0,05
Макрофаги, абс.ч.	0,38±0,09	2,4±2,4	>0,05	>0,05
Эозинофилы, %	0,14±0,05	4,68±2,2	<0,05	>0,05
Эозинофилы, абс.ч.	0,18±0,06	3,31±1,13	<0,01	<0,05
Цилиндрический эпителий, %	27,51±2,6	33,35±2,56	<0,05	>0,05
Цилиндрический эпителий, абс.ч.	26,62±3,22	59,73±12,43	<0,05	>0,05
Плоский эпителий, %	6,09±0,5	4±1,21	>0,05	>0,05
Плоский эпителий, абс.ч.	4,1±0,7	9,16±3,36	>0,05	>0,05
Цитоплазма плоского эпителия,	10,8±1,83	4,2±1,42	>0,05	<0,01
Цитоплазма плоского эпителия,	7,95±1,45	7,53±2,1	>0,05	>0,05
Процент метаплазии, %	30,28±2,61	39,51±6,91	>0,05	>0,05
Индекс кератинизации	0,23±0,03	0,25±0,05	>0,05	>0,05

Примечание. p- достоверные отличия с контрольной группой;
p₁- достоверные отличия с группой больных в период обострения

Повышение числа нейтрофилов на слизистой в период ремиссии поллиноза можно объяснить усилением их миграции в очаг воспаления в результате напряжения местного клеточного иммунитета на фоне нарушений барьерной функции слизистой оболочки носа, о чем свидетельствует повышенная десквамация эпителия. Нарушение барьерной функции слизистой оболочки ведет к активации «клеток тревоги» (тучных клеток и макрофагов соединительной ткани) и продукции ими различных медиаторов (ФАТ, ФХН-А), обладающих хемотаксическим действием на нейтрофилы. Локализуясь в очаге аллергического воспаления нейтрофилы наряду с эозинофилами и другими клетками, принимают активное участие в поздней фазе аллергической реакции (Г.Б. Федосеев, 2001). Стабилизация аллергического воспаления, поддерживаемая периодическим поступлением аллергена и сложными взаимодействиями клеток, создает предпосылки для хронизации процесса (А.Н. Маянский, 2005), с последующим формированием структурных изменений, обозначаемых как ремоделинг (С.Н. Теплова, Д.А. Алексеев, 2002)

Были выявлены особенности состояния слущенных клеток ЦЭ в мазках-отпечатках, по показателям деструкции, у больных поллинозом по сравнению с контрольной группой (таб. 4).

**Показатели деструкции клеток назального секрета ПЗЛ
и больных поллинозом в период ремиссии (M±m)**

Показатели	ПЗЛ (n=21)	Поллиноз (n=42)	P
СПД нейтрофилов	2,29±0,10	1,82±0,13	>0,05
ИДК нейтрофилов	0,81±0,02	0,72±0,05	>0,05
ИЦК нейтрофилов	0,24±0,02	0,12±0,03	>0,05
СПД цилиндрического	1,53±0,05	0,95±0,1	<0,001
ИДК цилиндрического	0,92±0,01	0,55±0,05	<0,001
ИЦК цилиндрического	0,06±0,01	0,03±0,01	<0,05

Примечание. p- достоверные отличия с контрольной группой

Установлено достоверное снижение показателей деструкции: СПД (0,95±0,01, p<0,001), ИЦК (0,03±0,01, p<0,05) и ИДК (0,55±0,05, p<0,001) цилиндрического эпителия, что свидетельствует об уменьшении доли поврежденных слущенных клеток ЦЭ и показывает наличие хронического воспалительного процесса. Таким образом, установленные нами изменения в риноцитограммах больных поллинозом круглогодичные изменения, сопровождаемые увеличением количества эозинофилов и повышенной десквамацией цилиндрического эпителия со сниженными показателями деструкции, свидетельствуют о наличии признаков персистирующего воспалительного процесса в области слизистых оболочек носа.

ВЫВОДЫ

1. По анамнестическим данным и клиническим проявлениям отмечено, что среди взрослого населения по поводу пыльцевой аллергии чаще обращаются женщины (56%) в возрасте 21-30 лет (44%), проживающие в городской местности (55%), при этом 44% пациентов обращается впервые к специалисту на поздних сроках болезни (более 5 лет), когда течение пыльцевой аллергии приобретает затяжной характер (31%), с присоединением осложнений в виде бронхиальной астмы (14,7%).

2. У больных поллинозом, проживающих в Республике Башкортостан, наиболее значимыми аллергенами выступают пыльца злаков (38,2%) и деревьев (34,6%), при этом 45% больных имеют латентную сенсibilизацию к бытовым аллергенам (домашняя пыль, библиотечная пыль, перо подушки, клещ *Dermatofagoides pteronissinus*), и 20% - к грибковым аллергенам (*Aspergillus flavus*).

3. Уровень общего IgE в сыворотке крови и назальном секрете у больных поллинозом, независимо от периода заболевания (обострение или ремиссия), находится на высоком уровне.

4. Уровень общего IgE и взаимоотношения между ним и регуляторами его продукции - IL-4 и IFN- γ , находятся под влиянием возрастных, половых и экологических факторов. Снижение индекса стимуляции «противоаллергического» IFN- γ у больных поллинозом женского пола и проживающих в городской местности, более чем в 2 раза говорит о меньших резервных возможностях их иммунокомпетентных клеток в частности, так и иммунной системы в целом.

5. Иммунограммы больных поллинозом характеризуются отсутствием существенных отклонений выходящих за пределы нормы, при этом в период обострения пыльцевой аллергии отмечено повышение активности Т-клеточного звена иммунитета за счет повышения относительного числа CD3⁺, CD4⁺ и CD8⁺, увеличение IgA-, IgE-антителпродуцирующей функции плазматических клеток и экспрессия маркера активации поздней стадии пролиферации HLA-DR.

6. Риноцитограммы больных поллинозом характеризуются круглогодичными изменениями и сопровождаются увеличением количества эозинофилов и повышенной десквамацией цилиндрического эпителия, со сниженными показателями деструкции, что свидетельствует о наличии хронического воспалительного процесса в области слизистых оболочек носа.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При пыльцевой аллергии, независимо от отсутствия клинических проявлений, необходимо проведение профилактических и элиминационных мероприятий, рекомендованных при бытовой и грибковой аллергии.

2. При планировании комплекса лечебных мероприятий необходимо учитывать влияние возрастных, половых и экологических факторов на иммунную систему больного.

3. Наличие хронического воспалительного процесса в области слизистых оболочек носа является обязательным показанием для проведения местной противовоспалительной терапии, как в период обострения, так и в период предсезонной подготовки больного.

4. При обследовании больных поллинозом учитывать, что отсутствие эозинофилов в общем анализе крови в период обострения поллиноза является прогностическим признаком тяжести заболевания.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Фаюршин А.З., Еникеев Д.А. Особенности течения поллинозов у городских жителей экологически неблагоприятного региона // Аллергология и иммунология. - 2005. - Т.6. - № 2. - С. 223.
2. Кильсенбаева Ф.А., Азнабаева Л.Ф., Фаюршин А.З., Арефьева Н.А., Стригина Т.В. Некоторые особенности иммуноцитограмм у больных поллинозом // Вестник первой областной клинической больницы. Екатеринбург. - 2005. - № 3. - С. 29.
3. Фаюршин А.З., Еникеев Д.А. Региональные особенности пыльцевой аллергии в Республике Башкортостан // Аллергология и иммунология. - 2007. - Т.8. - № 1. - С. 34-35.
4. Фаюршин А.З., Еникеев Д.А., Рахматуллин С.И. Состояние слизистой оболочки носа при сезонном аллергическом рините пыльцевой этиологии // Медицинский вестник Башкортостана. - 2007. - № 6. - С. 84-87.
5. Фаюршин А.З., Еникеев Д.А., Еникеев О.А. Сравнительная оценка уровней иммуноглобулинов А, М, G, Е в сыворотке крови и IgE в назальном секрете при поллинозе // Медицинский вестник Башкортостана. - 2008. - № 1. - С. 27-29.
6. Еникеев Д.А., Еникеева С.А., Фаюршин А.З., Еникеев О.А. Сравнительная оценка цитокинового статуса у больных с пыльцевой аллергией, проживающих в городской и сельской местности // **Патологическая физиология и экспериментальная терапия.** - 2008. - № 2. - С. 25-27.
7. Еникеев Д.А., Фаюршин А.З., Еникеева С.А., Еникеев О.А. Латентная сенсibilизация и оценка роли аллергенспецифического иммуноглобулина Е у больных поллинозом // **Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье».** - 2008. - № 2. - С. 74-79.
8. Фаюршин А. З., Еникеев Д. А., Еникеев О. А. Ареал аллергензначимых пыльценосителей в Республике Башкортостан, характер развития и течения поллинозов в возрастном и половом аспекте в зависимости от местности проживания и антропогенной нагрузки // Медицинский вестник Башкортостана. - 2008. - № 4. - С. 47-52.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АС IgE - аллергенспецифический иммуноглобулин E
В-Лф – В- лимфоциты
ИДК - индекс деструкции клеток
ИФА - иммуноферментный анализ
ИЦК - индекс цитолиза клеток
Лф – лимфоцит
Мф – макрофаг
НСТ - нитросиний тетразолий
Нф – нейтрофил
ПЗЛ - практически здоровые лица
ПМА - показатель местной активности пыльцевых аллергенов
ПЭ - плоский эпителий
СОН - слизистая оболочка носа
СПД - средний показатель деструкции
ФАТ – фактор активации тромбоцитов
ФГА - фитогемагглютинин
ФХН-Ф – фактор хемотаксиса нейтрофилов
ЦПЭ - цитоплазма плоского эпителия
ЦЭ - цилиндрический эпителий
Эф – эозинофил
CD - поверхностный кластер дифференцировки
HLA-DR - антигены главного комплекса гистосовместимости
Ig A (M, G, E) - иммуноглобулин класса A (M, G, E)
IFN- γ - интерферон- γ
IL-4 - интерлейкин 4

На правах рукописи

Фаюршин Альфир Забирович

**КЛИНИКО-ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
ПЫЛЬЦЕВОЙ АЛЛЕРГИИ В РЕСПУБЛИКЕ
БАШКОРТОСТАН В НАЧАЛЕ XXI ВЕКА**

14.00.16 – патологическая физиология
14.00.36 – аллергология и иммунология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Автореферат напечатан по решению профильной комиссии
ГОУ ВПО УГМА Росздрава от 30.09.2008 г.

Отпечатано ЧП Раянов В.Р.
Подписано в печать 30.09.2008 г.
Формат 60x84/16 Гарнитура Times New Roman.
Бумага офсетная. Отпечатано на ризографе.
Усл. печ. л. 2,55. Уч.-изд. л.2,06
Тираж 100. Заказ №379