

УДК 612.017:616-056.3-053.2

*Е.В. Просекова^{1,2}, В.В. Деркач^{1,2}, Т.Н. Шестовская^{2,3}, С.Ю. Нетесова^{2,3}, Ю.В. Иванова^{1,2}, О.В. Щеголева^{1,3}*¹ Владивостокский государственный медицинский университет (690950 г. Владивосток, пр-т Острякова, 2),² Дальневосточный филиал НИИ клинической иммунологии СО РАМН (690075, г. Владивосток, пр-т Острякова, 27),³ Детская городская клиническая больница (690075 г. Владивосток, пр-т Острякова, 27)

ДИНАМИКА ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ У ДЕТЕЙ

Ключевые слова: цитокины, дети, аллергические заболевания.

Проведен мониторинг динамики локального и системного синтеза цитокинов, иммуноглобулина Е и цитокиновой регуляции в реализации аллергического воспаления у 200 детей с аллергическими заболеваниями (бронхиальная астма, атопический дерматит, аллергический ринит, сочетание бронхиальной астмы и аллергического ринита, другие сочетания). В процессе реализации аллергических заболеваний у детей наблюдалось повышение продукции интерлейкинов 4, 13 и иммуноглобулина Е, нарастающее к 7–8 годам в сочетании со снижением уровня γ -интерферона. Выявлены корреляционные связи и изменения регуляторных коэффициентов содержания иммуноглобулина Е, интерлейкинов 4 и 13 при бронхиальной астме, аллергическом рините, атопическом дерматите и при различных сочетаниях данных заболеваний. Делается заключение, что динамика цитокинового профиля является диагностическим и прогностическим критерием развития аллергических заболеваний в дошкольном возрасте.

Регуляция интенсивности иммунных реакций, процессов пролиферации, миграции и дифференцировки клеток, а также нормальное функционирование иммунной системы обеспечиваются балансом продукции и акцепции цитокинов, образующих цитокиновую сеть [5, 6, 11]. При запуске иммунного ответа индуцируется синтез цитокинов, определяющих тип иммунного реагирования. Дифференцировку Т-хелперов и усиление экспрессии генов цитокинов контролируют различные транскрипционные факторы. Хелперы 1-го типа (субпопуляции $CD4^+$), продуцирующие интерлейкин-2 (IL-2), γ -интерферон (IFN γ), реализуют клеточные иммунные реакции. Хелперы 2-го типа (субпопуляции $CD4^+$), продуцирующие IL-4, реализуют гуморальный иммунный ответ при участии интерлейкинов 5, 9, 11 и 13. Изменения в продукции цитокинов являются маркером воздействия неблагоприятных факторов на иммунную систему и могут составлять патогенетические звенья многих заболеваний [7–10]. Общепринятой считается теория, в соответствии с которой аллергические заболевания обусловлены нарушениями в иммунной системе, дисрегуляцией цитокиновых механизмов, активацией аллергенспецифических клонов Т-лимфоцитов. Дифференцировка предшественников Т-хелперов находится под контролем цитокинов, и тип патогена влияет на варианты дифференцировочных сигналов, соотношение хелперных клонов и цитокиновый профиль. Развитие иммунного ответа с преимущественным синтезом антител класса иммуноглобули-

на Е регулируется Т-хелперами 2-го типа при участии главным образом IL-4 и IL-13. Кроме того, IL-13 вызывает гиперреактивность бронхов, усиление секреции и эозинофилию в легких, продукцию эотаксина, отвечающего за привлечение эозинофилов в ткани [1–4, 11]. Анализ динамики выработки цитокинов, соотношения оппозиционных цитокинов и комплекса регуляторных коэффициентов иллюстрирует механизмы реализации и прогноз многофакторных аллергических заболеваний [5, 11, 12].

Цель настоящего исследования — анализ динамики цитокинового профиля и цитокиновой регуляции аллергического воспаления у детей с различными формами аллергических заболеваний.

Материал и методы. Исследование проводилось в 2001–2007 гг. в «Астма-центре» Детской городской клинической больницы Владивостока и включало 200 детей (110 девочек и 90 мальчиков) в возрасте от 3 до 15 лет с аллергическими заболеваниями: бронхиальная астма (n=50), атопический дерматит (n=50), аллергический ринит (n=40), сочетание бронхиальной астмы и аллергического ринита (n=40), различные сочетания перечисленных форм (n=20). Группу контроля составили 35 практически здоровых сверстников. Материалом исследования являлись медицинские документы, анкеты, анализы крови, слюны и назального секрета. Изучены клинко-этиологические особенности, проведены аллергообследование и мониторинг содержания клеток $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ и $CD22^+$, иммуноглобулинов (Ig) А и Е, цитокинов (IL-4, IL-13 и IFN γ) в динамике. При определении цитокинового профиля использовали тест-системы R&D diagnostics Inc. (США), иммуноферментный метод в сэндвич-варианте. Рассчитывали регуляторные коэффициенты — $K_{IFN\gamma/IL-4}$ и $K_{IFN\gamma/IL-13}$. Для изучения иммуноглобулинового спектра сыворотки крови применяли тест «Иммуноспектр». Анализ количества Т-клеток проводили с использованием моноклональных антител и оценкой дифференцировочных маркеров иммунофлуоресцентным методом. Математическую обработку проводили с использованием программы Statistica 5.0.

Результаты исследования и обсуждение полученных данных. Дебют эпикутанной сенсибилизации у детей с атопическим дерматитом в 60% случаев приходился на 1-й год жизни, первые проявления бронхиальной астмы фиксировались до 3-го года жизни в $20,67 \pm 3,45\%$ наблюдений. Пик первых проявлений бронхиальной астмы отмечен в возрасте 4–6 лет ($41,22 \pm 4,15\%$). Проявления аллергического ринита

в $19,69 \pm 3,35\%$ случаев наблюдались у детей 4–6 лет и в $26,42 \pm 3,71\%$ случаев — у детей 7–9 лет.

В группе здоровых детей относительное содержание в крови Т-лимфоцитов ($CD3^+$) в возрасте 3–6 лет составило $54,75 \pm 1,36\%$, у школьников — $58,69 \pm 1,34\%$, количество Т-хелперов ($CD4^+$) равнялось $33,36 \pm 1,30$ и $35,40 \pm 1,8\%$, цитотоксических Т-лимфоцитов ($CD8^+$) — $20,6 \pm 0,9$ и $23,5 \pm 1,1\%$ соответственно. В назальном секрете и слюне детей контрольной группы во всех случаях не определялся IgE, но отмечено высокое содержание IFN γ при незначительной концентрации IL-13 и IL-4 (табл. 1). А.А. Останин и Е.Р. Черных [5] у здоровых доноров зафиксировали уровень IL-13 в сыворотке крови в пределах $14,9 \pm 1,5$, IFN γ — в пределах $23,7 \pm 4,6$ пг/мл. Уровень общего IgE в сыворотке крови здоровых детей различных возрастных групп колебался от 14,3 до 52,6 МЕ/мл (табл. 2).

У детей с atopическим дерматитом выявлены признаки иммунного дисбаланса: снижение удельного веса $CD3^+$ -клеток, изменение регуляторного индекса $CD4^+/CD8^+$, увеличение числа клеток $CD22^+$, дефицит сывороточного и секреторного IgA, изменение цитокинового профиля и регуляторных коэффициентов в сыворотке крови (табл. 1, 3).

В исследованиях О.В. Булиной и др. цитокинового звена иммунитета у детей старшего возраста при atopическом дерматите максимальное содержание IL-4 в сыворотке крови было зафиксировано при распространенной осложненной ($150,1 \pm 57,9$ пг/мл) и диффузной ($136,9 \pm 39,8$ пг/мл) формах заболевания и в период ремиссии превышало уровни периода обострения. Содержание IFN γ в сыворотке крови было выше в период обострения аллергического воспаления при осложнении пиодермией ($143,7 \pm 46,6$ пг/мл) и коэффициент $K_{IFN\gamma/IL-4}$ составлял $0,44–0,54$ [1].

При наличии atopического дерматита и бронхиальной астмы соотношение оппозиционных цитокинов IL-4 и IFN γ достоверно различалось в зависимости от клинических проявлений, степени активности и локализации аллергического воспаления, что отражалось и на регуляторном индексе $K_{IFN\gamma/IL-4}$. У детей с

Таблица 1
Цитокиновый профиль детей: здоровых и с аллергическими заболеваниями

Группа	Материал	Цитокиновый профиль ($M \pm m$), пг/мл		
		IL-13	IL-4	IFN γ
Контроль	Сыворотка крови	$8,01 \pm 1,60$	$8,50 \pm 1,10$	$50,60 \pm 4,20$
	Назальный секрет	$6,19 \pm 1,14$	$1,88 \pm 0,64$	$156,80 \pm 4,80$
	Слюна	$2,25 \pm 0,40$	$0,30 \pm 0,10$	$65,20 \pm 3,40$
Аллергический ринит	Сыворотка крови	$29,88 \pm 2,20$	$27,64 \pm 2,20$	$23,50 \pm 3,40$
	Назальный секрет	$84,85 \pm 17,38$	$59,66 \pm 3,42$	$82,40 \pm 4,20$
Бронхиальная астма + аллергический ринит	Сыворотка крови	$128,12 \pm 5,60$	$60,40 \pm 2,80$	$18,40 \pm 1,60$
	Назальный секрет	$112,00 \pm 8,40$	$87,62 \pm 2,59$	$70,40 \pm 6,80$
Атопический дерматит	Сыворотка крови	$39,40 \pm 4,90$	$55,20 \pm 4,20$	$11,40 \pm 1,60$
	Слюна	$124,41 \pm 5,90$	$89,30 \pm 6,80$	$11,90 \pm 1,70$

Таблица 2
Содержание IgE в сыворотке крови детей с бронхиальной астмой ($M \pm m$), МЕ/мл

Возраст, лет	Группа	Средний уровень	Приступный период	Постприступный период	Период ремиссии
3–7	Бронхиальная астма	$486,10 \pm 62,12^1$	$286,75 \pm 33,25^1$	$530,10 \pm 45,70^{1,2}$	$235,32 \pm 35,40^1$
	Контроль	$20,90 \pm 6,60$	—	—	—
8–15	Бронхиальная астма	$574,30 \pm 72,80^1$	$314,80 \pm 38,44^1$	$590,46 \pm 62,91^{1,2}$	$268,80 \pm 57,35^1$
	Контроль	$42,10 \pm 10,60$	—	—	—

¹ Разница с контролем статистически значима.

² Разница с приступным периодом статистически значима.

Таблица 3
Показатели регуляторного цитокинового коэффициента $K_{IFN\gamma/IL-4}$ у детей с аллергическими заболеваниями ($M \pm m$)

Материал	Группа				
	аллергический ринит	бронхиальная астма	ринит + астма	атопический дерматит	контроль
Сыворотка крови	$0,86 \pm 0,04$	$0,39 \pm 0,06$	$0,34 \pm 0,06$	$0,21 \pm 0,05$	$5,20 \pm 1,40$
Назальный секрет	$1,38 \pm 0,04$	$4,80 \pm 0,30$	$0,95 \pm 0,20$	—	$75,40 \pm 4,80$
Слюна	$12,20 \pm 0,4$	—	$8,90 \pm 0,60$	$0,14 \pm 0,05$	$95,90 \pm 8,40$

бронхиальной астмой установлено снижение клеток $CD3^+$, более выраженное у подростков при тяжелом течении болезни, зафиксирован дисбаланс $CD4^+/CD8^+$. Уровень общего IgE в сыворотке крови превышал показатели контроля в период обострения и в период клинической ремиссии. Сывороточная концентрация IL-13 в различные периоды бронхиальной астмы колебалась, что определяло регуляторный индекс $K_{IFN\gamma/IL-13}$ в пределах $0,63 \pm 0,04$ (табл. 1–3).

Изменения цитокинового профиля при аллергическом рините и бронхиальной астме были односторонними и преимущественно выявлялись в назальном секрете и сыворотке крови, в то время как содержание цитокинов в слюне у данной группы больных было аналогично показателям контрольной группы. Сочетанное поражение аллергическим воспалением верхних и нижних дыхательных путей в период обострения сопровождалось более глубокими нарушениями цитокиновой сети в назальном секрете и в сыворотке крови (табл. 1, 3). При аллергическом воспалении дыхательных путей без выявленных признаков поражения кожных покровов $K_{IFN\gamma/IL-4}$ составил

в слюне $8,90 \pm 0,60$ за счет повышения концентрации IFN γ . В группе изолированного аллергического ринита у части детей обострение болезни, спровоцированное вирусной инфекцией, сопровождалось нарастанием концентрации IFN γ в назальном секрете до 145–165 пг/мл. При изолированном рините высокие уровни IL-13 и IL-4 при снижении IFN γ фиксировались в назальном секрете и были менее выражены в сыворотке крови (табл. 3).

При рините в период обострения в назальном секрете уровень IL-13 составил $187,55 \pm 9,4$ пг/мл, а в период ремиссии — $84,85 \pm 17,38$ пг/мл, уровень IgE колебался в пределах 12,99–90,94 МЕ/мл (в среднем — $32,22 \pm 4,21$ МЕ/мл), коэффициент корреляции IL-13 и IgE в назальном секрете составил +0,67. В сыворотке крови при аллергическом рините средний уровень IL-13 составил $39,50 \pm 9,42$ пг/мл, возрастая в период активации воспаления до $160,50 \pm 21,30$ пг/мл и снижаясь в период клинической ремиссии. Содержание общего IgE в сыворотке крови определялось в пределах $457,75 \pm 18,78$ МЕ/мл, коэффициент корреляции между IL-13 и IgE составил +0,76. При сочетании аллергического ринита и бронхиальной астмы в период клинической ремиссии корреляционная связь IL-13 и IgE в назальном секрете равнялась +0,71, в сыворотке крови показатели составили $110,50 \pm 19,4$ пг/мл и $683,82 \pm 37,66$ МЕ/мл соответственно при $r = +0,76$.

Мониторинг цитокинового профиля у детей с аллергическими заболеваниями выявил нарушения регуляторных цитокиновых индексов $K_{\text{IFN}\gamma/\text{IL-4}}$ и $K_{\text{IFN}\gamma/\text{IL-13}}$, прямую корреляционную взаимосвязь содержания IgE и IL-13 ($r = 0,56 - 0,82$) и зависимость от периода болезни. Средние значения $K_{\text{IFN}\gamma/\text{IL-4}}$ при различных формах аллергических заболеваний в сыворотке крови колебались от $0,39 \pm 0,06$ до $0,86 \pm 0,04$. Уровень общего IgE в сыворотке здоровых был несколько ниже у детей младшего возраста и выше у школьников (табл. 2). При аллергических заболеваниях отмечалось высокое содержание IgE, превышавшее уровень у здоровых в десятки раз (до $386,10 \pm 62,16$ МЕ/мл). При тяжелом течении бронхиальной астмы сывороточное содержание в период обострения IgE было $496,4 \pm 62,12$ МЕ/мл, IL-13 — $1295,41 \pm 29,8$ пг/мл, IgE в постприступном периоде — $590,46 \pm 56,42$ МЕ/мл, а в период фармакологической ремиссии — $484,8 \pm 60,14$ МЕ/мл.

В процессе реализации различных форм аллергических заболеваний у детей наблюдается повышение продукции IL-4, IL-13 и IgE, нарастающее к 7–8 годам в сочетании со снижением уровня IFN γ . Динамика цитокинового профиля является диагностическим и прогностическим критерием развития аллергических заболеваний в дошкольном возрасте. Выявлены корреляционные связи и изменения регуляторных цитокиновых коэффициентов у детей с бронхиальной астмой, аллергическим ринитом, atopическим дерматитом и при различных сочетаниях данных заболеваний.

Литература

1. Булина О.В., Горланов И.А., Калинина Н.М. Параметры цитокинового звена иммунитета у детей старшего возраста при atopическом дерматите // *Аллергология*. 2004. № 1. С. 27–30.
2. Демьянов А.В., Котов А.Ю., Симбирцев А.С. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике // *Цитокины и воспаление*. 2003. Т. 2, № 3. С. 20–25.
3. Козлов В.А. Некоторые аспекты проблемы цитокинов // *Цитокины и воспаление*. 2002. Т. 1, № 1. С. 5–8.
4. Коненков В.И., Ракова И.Г., Авдошина В.В., Гельфгат Е.Л. Комплексная оценка уровня спонтанной продукции цитокинов в культуре мононуклеарных клеток периферической крови здорового человека // *Цитокины и воспаление*. 2005. Т. 4, № 2. С. 33–37.
5. Останин А.А., Черных Е.Р. Сравнительная оценка уровня 17 цитокинов в сыворотке и цельной крови здоровых доноров методом проточной флуориметрии // *Цитокины и воспаление*. 2005. Т. 4, № 2. С. 25–32.
6. Симбирцев А.С. Цитокины — новая система регуляции защитных реакций организма // *Цитокины и воспаление*. 2002. Т. 1, № 1. С. 9–16.
7. Тотолян А.А., Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы. СПб.: Наука, 2000. 232 с.
8. Хаитов Р.М., Акимов В.С. Генетическая предрасположенность к развитию бронхиальной астмы и аллергии. Подходы к идентификации новых генов, ассоциированных с развитием бронхиальной астмы и atopии // *Рос. аллергол. журнал*. 2004. № 3. С. 67–74.
9. Ярилин А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и патологии // *Иммунология*. М.: Медицина, 1997. С. 7–13.
10. Abbas A., Murphy K., Sher A. Functional diversity of helper T-lymphocytes // *Nature*. 1996. Vol. 383. P. 787–793.
11. Dabbagh K., Dahl M. E., Stepick-Bick P., Lewis D.B. Toll-like receptor 4 is required for optimal development of Th-2 immune responses: role of dendritic cells // *J. Immunol*. 2002. Vol. 168. P. 4524–4530.
12. Neavill W., Tisler G., Bhattacharya A. et al. Development of cytokine response profiles and clinical and immunologic expression of atop during the first year of life // *J. Allergy Clin. Immunol*. 2003. Vol. 112. P. 740–746.

Поступила в редакцию 11.02.2008.

DYNAMICS IN CYTOKINE PROFILE OF INFANTS WITH ALLERGIC DISEASES

E.V. Prosekova^{1,2}, V.V. Derkach^{1,2}, T.N. Shestovskaya^{2,3}, S.Yu. Netesova^{2,3}, Yu.V. Ivanova^{1,2}, O.V. Shchegoleva^{1,3}

¹Vladivostok State Medical University (2 Ostryakov Av. Vladivostok 690950 Russia), ²Far Eastern Research Centre of Scientific Research Institute of Clinical Immunology, RAMS, Siberian Branch (27 Ostryakova Av. Vladivostok 690027 Russia), ³Children's Municipal Clinical Hospital (27 Ostryakov Av. Vladivostok 690002 Russia)

Summary — The authors have monitored dynamics in local and system synthesis of cytokines, IgE immunoglobulin E and cytokine regulation in progression of allergic inflammation of 200 infants suffered from various forms of allergic diseases (bronchial asthma, atop dermatitis, allergic rhinitis, combination of bronchial asthma with allergic rhinitis, other combinations). Progression of children's allergic diseases showed increase in production of interleukins 4 and 13 as well as IgE immunoglobulin E, which was growing by the age of 7–8 years old, coupled with decrease in interferon level. They detected correlation relationships of and changes in regulatory content numbers of IgE immunoglobulin E, interleukins 4 and 13 during bronchial asthma, allergic rhinitis, atop dermatitis and at various combinations of such diseases. They draw an inference that dynamics in cytokine profile is a diagnostic and prognostic criterion for progression of allergic diseases at preschool age.

Key words: cytokines, infants, allergic diseases.

Pacific Medical Journal, 2009, No. 4, p. 20–22.