В. Г. ЧЕРНУСКИЙ, Н. Н. ПОПОВ, А. В. ЛЕТАГО, О. Л. ГОВАЛЕНКОВА

ВЛИЯНИЕ ИНДУКТОРА ИНТЕРФЕРОНА (ЦИКЛОФЕРОНА) НА НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ И ГУМОРАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ ИММУНИТЕТА ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ У ДЕТЕЙ

Кафедра педиатрии (зав. – проф. В. Г. Чернуский) медицинского факультета
Харьковского национального университета им. В. Н. Каразина <annalet@ukr.net>

Бронхиальная астма (БА) остаётся одной из наиболее актуальных проблем современной педиатрии. Частота этой патологии увеличивается ежегодно и, по данным ВОЗ, около 300 млн в мире болеют БА. Несмотря на современные достижения в диагностике и лечения БА, получить полный контроль за течением БА не удалось. Цель исследования – оценить влияние иммуномодулирующей терапии на неспецифический и гуморальный иммунитет у детей, больных БА, путём включения в стандартную базисную схему терапии индуктора интерферона (циклоферона). Под наблюдением было 120 детей, больных БА, в возрасте от 5 до 14 лет, средний возраст – $(11,6 \pm 1,5)$ года. Для установления диагноза и эффективности терапии использовали международную классификацию болезней 10-го пересмотра, протокол диагностики и лечения бронхиальной астмы у детей (приказ Минздрава Украины № 767 от 27.12.2005 г.), GINA, 2011. В основную группу ($n = 60$) вошли дети, которые, кроме базисной терапии, получали дополнительно индуктор интерферона (циклоферон) по схеме: 150 мг на 1-, 2-, 4-, 6- и 8-й день терапии (№ 5) и далее по 150 мг через 72 ч (№ 5) (всего 1500 мг). В группу сравнения вошли дети ($n = 60$), которые получали только базисную терапию в зависимости от степени тяжести заболевания. Группу контроля составили 25 здоровых детей. Методом иммуноферментного анализа определяли уровень сывороточного интерферона, вирусиндуцированную продукцию интерферона- α (ИФН- α), митогенстимулированную продукцию интерферона- γ (ИФН- γ); уровень общего сывороточного IgE. Оценивали фагоцитарную активность нейтрофильных гранулоцитов (НГ), определяли циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК), иммуноглобулины (Ig) A, M и G в сыворотке крови методом реакции иммунодиффузии. Установлено, что дополнительное применение циклоферона оказывало иммунокорректирующее действие на фагоциты, и это приводило к повышению синтеза ИФН- α и ИФН- γ , снижению выраженности аллергического компонента за счёт снижения уровня IgE и циркулирующих иммунных комплексов, к нормализации синтеза IgA, IgM, IgG, что способствовало в дальнейшем развитию длительной клинической ремиссии заболевания.

Ключевые слова: бронхиальная астма; дети; фагоцитарная активность; индукторы интерферона; иммуноглобулины.

Введение. Бронхиальная астма (БА) остаётся одной из наиболее актуальных проблем современной педиатрии. Частота этой патологии увеличивается ежегодно и, по данным ВОЗ, около 300 млн в мире болеют БА. Кроме того, повышение частоты БА является и социальной проблемой, поскольку патология приводит к ухудшению качества жизни больных, увеличению инвалидизации и смертности [2, 3]. С учётом новых подходов к рассмотрению механизмов формирования БА [2, 4, 6] в настоящее время предложены схемы терапии БА, приведённые в Глобальной стратегии лечения и профилактики БА (GINA 2009, 2011), которые позволяют в определённой степени улучшить состояние больного и течение болезни. Однако данные терапевтические методы показывают недостаточную эффективность относительно решения вопросов о множественных нарушениях в иммунном гомеостазе и не могут охватить всю многогранность вовлечения тех или иных звеньев иммунитета в патогенез БА. Поэтому, несмотря на достигнутые успехи в

диагностике и лечении данного заболевания, получить полный контроль за течением БА не удалось [5, 7, 8].

Цель исследования – оценить влияние иммуномодулирующей терапии на состояние неспецифического и гуморального звеньев иммунитета у детей, больных БА, путём включения в стандартную базисную схему терапии индуктора интерферона (циклоферона).

Материалы и методы. Исследование выполняли в рамках научно-исследовательской темы ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им. И. И. Мечникова НАМН Украины» «Исследование иммунологических аспектов течения хронических воспалительных процессов верхних дыхательных путей». Под наблюдением было 120 детей, больных БА, в возрасте от 5 до 14 лет, средний возраст – $(11,6 \pm 1,5)$ года. Для установления диагноза использовали международную классификацию болезней 10-го пересмотра, протокол диагностики и лечения бронхиальной астмы у детей (приказ Минздрава Украины № 767 от 27.12.2005 г.), а при оценке терапевтического эффекта назначенной терапии – программу «Глобальная инициатива по бронхиальной астме» (GINA, 2011). Выделены три исследуемые группы. В основную группу ($n = 60$) вошли дети, которые, кроме базисной терапии, получали дополнительно индуктор интерферона (циклоферон) по схеме: 150 мг на 1-, 2-, 4-, 6- и 8-й день терапии (№ 5) и далее по 150 мг через 72 ч (№ 5) (всего 1500 мг). В группу сравнения вошли дети ($n = 60$), которые получали только базисную терапию в зависимости от степени тяжести заболевания. Группу контроля составили 25 здоровых детей.

Методом иммуноферментного анализа (ИФА) определяли уровень сывороточного интерферона, вирусиндуцированную продукцию интерферона- α (ИФН- α), митогенстимулированную продукцию интерферона- γ (ИФН- γ); уровень общего сывороточного IgE устанавливали с использованием тест-системы фирмы «Labodia» (Швейцария). Оценивали фагоцитарную активность нейтрофильных гранулоцитов (НГ) по их способности поглощать инактивированные клетки односуточной культуры стафилококков, а также спонтанную и индуцированную активность НГ по реакции хемилюминесценции с помощью хемилюминометра Bio-Orbit (Pribiri-Oy). Методом преципитации в 3,75 % растворе полиэтиленгликоля по Haskova (1978) определяли циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК). Состояние гуморального звена иммунитета оценивали по определению иммуноглобулинов (Ig) классов A, M и G в сыворотке крови методом реакции иммунодиффузии по Mancini (1963).

Исследование проведено с учётом основных положений и согласно этическим и морально-правовым требованиям Украинской ассоциации по биоэтике и нормам GCP (1992), GLP (2002), принципам Хельсинкской декларации прав человека, Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине.

При статистической обработке полученных данных вычисляли среднюю арифметическую (M), ошибку абсолютной величины (m). Для подтверждения нормальности распределения для всех изучаемых показателей рассчитывали коэффициент асимметрии и эксцесса по методу Г. Ф. Лакина (1990). Достоверность различий определяли по значениям t -критерия Стьюдента при уровне достоверности $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В результате проведённого исследования установлено, что уровень сывороточного интерферона, а также вирусиндуцированного ИФН- α и митогенстимулированного ИФН- γ у детей группы сравнения был существенно ниже по сравнению с показателями основной и контрольной групп (таблица).

Анализ показателей интерферонового статуса в зависимости от вида терапевтической тактики показал, что на фоне использования рекомендованных GINA препаратов базисной линии терапии отмечаются достоверно низкие уровни ИФН- α ($P < 0,05$) и ИФН- γ ($P < 0,05$). При этом чем тяжелее течение, тем слабее синтез лейкоцитами данных интерферонов ($P < 0,05$ при всех степенях тяжести БА), что указывало на слабую элиминационную способность и противовирусную защиту,

Содержание факторов неспецифического и гуморального иммунитета у детей, больных бронхиальной астмой, на фоне проводимой терапии в зависимости от степени тяжести ($M \pm m$)

Показатель	Контроль	Дети, получающие базисную терапию и индуктор интерферона				Дети, получающие базисную терапию			
		лёгкая	средняя	тяжёлая	тяжёлая	лёгкая	средняя	тяжёлая	тяжёлая
Сывороточный интерферон, МЕ/мл	$8,2 \pm 3,3$	$8,0 \pm 3,1$	$7,3 \pm 1,5$	$6,4 \pm 1,7^*$	$6,4 \pm 1,7^*$	$7,6 \pm 2,4$	$6,1 \pm 2,2$	$4,4 \pm 1,2^*$	
Вирусиндуцированный ИФН- α , МЕ/мл	$32,0 \pm 7,8$	$31,6 \pm 6,5$	$28,1 \pm 4,8$	$17,6 \pm 3,5^{**}$	$17,6 \pm 3,5^{**}$	$22,3 \pm 4,8^*$	$16,4 \pm 3,5^*$	$9,1 \pm 1,6^{**}$	
Митогенстимулированный ИФН- γ , МЕ/мл	$38,0 \pm 9,6$	$36,7 \pm 6,4$	$25,6 \pm 4,7^*$	$19,7 \pm 3,5^*$	$19,7 \pm 3,5^*$	$24,8 \pm 5,8^*$	$16,7 \pm 6,2^*$	$6,5 \pm 1,8^*$	
Фагоцитарная активность НГ, %	$58,0 \pm 6,8$	$57,6 \pm 5,7$	$49,5 \pm 6,3$	$25,7 \pm 5,3^*$	$25,7 \pm 5,3^*$	$54,8 \pm 6,1$	$32,5 \pm 4,4^*$	$10,3 \pm 2,9^{**}$	
Спонтанная активность НГ, усл. ед.	$2,61 \pm 0,80$	$2,48 \pm 0,40$	$1,98 \pm 0,50$	$1,61 \pm 0,20^*$	$1,61 \pm 0,20^*$	$2,49 \pm 0,40$	$1,86 \pm 0,30$	$1,4 \pm 0,4^*$	
Индукцированная активность НГ, усл. ед.	$29,76 \pm 8,20$	$28,8 \pm 6,1$	$24,3 \pm 4,8$	$16,5 \pm 4,2^{**}$	$16,5 \pm 4,2^{**}$	$28,3 \pm 7,1$	$19,6 \pm 4,8^*$	$11,3 \pm 2,8^*$	
ЦИК, ед. опт. пл.	$30,3 \pm 2,4$	$41,3 \pm 3,1$	$63,4 \pm 4,7^*$	$71,3 \pm 5,4^*$	$71,3 \pm 5,4^*$	$111,70 \pm 6,85^*$	$128,40 \pm 7,58^*$	$159,20 \pm 9,82^*$	
IgM, г/л	$1,53 \pm 0,03$	$1,52 \pm 0,03$	$1,43 \pm 0,08$	$1,35 \pm 0,06^*$	$1,35 \pm 0,06^*$	$1,31 \pm 0,23$	$1,21 \pm 0,14$	$1,11 \pm 0,16^*$	
IgA, г/л	$1,24 \pm 0,05$	$1,18 \pm 0,06$	$1,32 \pm 0,08$	$1,67 \pm 0,11^*$	$1,67 \pm 0,11^*$	$1,25 \pm 0,09$	$1,34 \pm 0,16$	$1,20 \pm 0,11$	
IgG, г/л	$13,20 \pm 0,39$	$12,70 \pm 1,43$	$12,30 \pm 1,64$	$11,20 \pm 1,49^*$	$11,20 \pm 1,49^*$	$11,90 \pm 1,18$	$8,00 \pm 1,12^*$	$7,80 \pm 1,21^*$	
IgE, КЕ/л	$53,36 \pm 3,21$	$64,20 \pm 4,23$	$79,60 \pm 6,13^*$	$134,8 \pm 11,5^*$	$134,8 \pm 11,5^*$	$80,4 \pm 6,88^*$	$151,1 \pm 11,6^{**}$	$171,30 \pm 10,16^{**}$	

* $P < 0,05$ – различия показателей первой и второй групп по сравнению с группой контроля. ** $P < 0,05$ – различия показателей средней и тяжёлой степени тяжести течения БА по сравнению с лёгким течением заболевания.

а также на вероятность обострения БА [4].

В основной группе детей, которые, кроме базисной терапии, получали индуктор интерферона, достоверное снижение исследуемых показателей интерферонового статуса отмечалось только при тяжёлом течении ($P < 0,05$). При лёгкой и средней степени тяжести БА уровни сывороточного интерферона, ИФН- α и ИФН- γ существенно не отличались от группы контроля, что могло свидетельствовать о существенном уменьшении вероятности ухудшения течения заболевания. Роль гранулоцитов в течении БА, особенно в процессе развития обострения, подчёркивают многие исследователи [1, 6]. В этих исследованиях отмечается дисфункция фагоцитарного звена у больных БА, особенно в период обострения. Авторы указывают, что гранулоциты секретируют ряд биологически активных веществ, в том числе и оксид азота, которые способны разрушать и собственные клетки, поддерживая тем самым гиперактивность и хроническое воспаление слизистой оболочки бронхального дерева. По нашим данным, активность гранулоцитов прямо зависела от степени тяжести течения БА и была в разы ниже при тяжёлом течении по сравнению с контролем и лёгкой степенью ($P < 0,05$). Данная тенденция была особенно заметна у детей группы сравнения, получающих только базисную терапию, включающую глюкокортикостероиды. В основной группе детей показатели активности гранулоцитов приближались к таковым группы контроля и даже при тяжёлом течении значения фагоцитарной ($25,7 \pm 5,3$ против $10,3 \pm 2,9$; $P < 0,05$) и индуцированной ($16,5 \pm 4,2$ против $11,3 \pm 2,8$; $P < 0,05$) активности были существенно выше, что, очевидно, связано с иммуномодулирующим свойством циклоферона.

Известно, что важным составляющим патогенеза БА является переключение продукции иммуноглобулинов разных классов В-клетками в направлении IgE и развитии IgE-опосредуемых аллергических реакций [7, 9, 10]. Нами показано, что при БА у детей, особенно при тяжёлом течении, отмечалось существенное повышение уровня IgE. На фоне введения циклоферона имела место тенденция к снижению концентрации IgE ($P < 0,05$) и ЦИК ($P < 0,05$), что отчётливо проявлялось при течении БА при средней степени тяжести и тяжёлой у детей основной группы. Кроме того, результатом переключения в направлении продукции IgE было выраженное снижение уровня других иммуноглобулинов, которое нарастало с тяжестью течения заболевания ($P < 0,05$). На фоне применения циклоферона отмечалось снижение уровня IgE, ЦИК и тенденция к нормализации синтеза IgA, IgM, IgG, что свидетельствовало о позитивном влиянии циклоферона на неспецифические и гуморальные факторы иммунитета, а также на уменьшение выраженности аллергического компонента течения БА.

Выводы. Таким образом, включение в базисную терапию, предложенную GINA (2009, 2011), индукторов интерферона (циклоферона) у детей с различной степенью тяжести течения БА обеспечивает иммуномодулирующий эффект. Это проявлялось усилением синтеза ИФН- α и ИФН- γ , фагоцитарной активности гранулоцитов, снижением выраженности аллергического компонента за счёт уменьшения продукции IgE и ЦИК. Также имела место тенденция к нормализации синтеза IgA, IgM, IgG, особенно при течении заболевания средней тяжести и тяжёлом.

С п и с о к л и т е р а т у р ы

1. Анисимова Н. Ю. Фенотип и фагоцитарная активность нейтрофилов крови больных бронхиальной астмой в периоде обострения // Иммунология. – 2012. – № 6. – С. 318–322.
2. Балаболкин И. И., Булгакова В. А. Бронхиальная астма у детей. – М.: МИА, 2015. – 144 с.
3. Генне Н. А. Актуальность проблемы бронхиальной астмы у детей // Педиатрия. – 2012. – Т. 91, № 3. – С. 76–82.
4. Кайдашев И. П. Т-клеточная регуляция при atopических заболеваниях // Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология. – 2011. – № 9. – С. 18–21.
5. Охотникова Е. Н. Бронхиальная астма у детей раннего возраста: особенности лечения // Там же. – 2014. – № 4. – С. 5–11.
6. Охотникова Е. Н. Патогенетические особенности бронхообструктивного синдрома у детей и современные возможности неотложной терапии // Астма и аллергия. – 2013. – № 2. – С. 52–61.
7. Чернышёва О. Е. Современные представления о патогенезе бронхиальной астмы у детей // Здоровье ребёнка. – 2014. – № 5. – С. 84–90.
8. Papadopoulos N. G., Arakawa H., Carlsen K. H. International consensus on (ICON) pediatric asthma // Allergy. – 2012. – Vol. 67. – P. 976–997.
9. Renz H. The central role of T-cells in allergic sensitization and Ig E regulation // Exp. Dermatol. – 2009. – Vol. 4. – P. 173–178.
10. Wang F., He X. Y., Baines K. J. et al. Different inflammatory phenotypes in adult and children with acute asthma // Eur. Respir. J. – 2011. – Vol. 57. – P. 643–648.
1. Anisimova N. Yu. Fenotip i fagocitarnaya aktivnost' nejtrofilov krovi bol'nyh bronhial'noj astmoj v periode obostreniya // Immunologiya. – 2012. – № 6. – P. 318–322.
2. Balabolkin I. I., Bulgakova V. A. Bronhial'naya astma u detej. – M.: MIA, 2015. – 144 p.
3. Geppe N. A. Aktual'nost' problemy bronhial'noj astmy u detej // Pediatriya. – 2012. – T. 91, № 3. – P. 76–82.
4. Kajdashev I. P. T-kletochnaya regulyaciya pri atopicheskix zabolevaniyah // Klin. immunologiya. Allergologiya. Infektologiya. – 2011. – № 9. – P. 18–21.
5. Ohotnikova E. N. Bronhial'naya astma u detej rannego vozrasta: osobennosti lecheniya // Tam zhe. – 2014. – № 4. – P. 5–11.
6. Ohotnikova E. N. Patogeneticheskie osobennosti bronhoobstruktivnogo sindroma u detej i sovremennye vozmozhnosti neotlozhnoj terapii // Astma i allergiya. – 2013. – № 2. – P. 52–61.
7. Chernyshyova O. E. Sovremennye predstavleniya o patogeneze bronhial'noj astme u detej // Zdorov'e rebyonka. – 2014. – № 5. – P. 84–90.

ВПЛИВ ІНДУКТОРА ІНТЕРФЕРОНУ (ЦИКЛОФЕРОНУ) НА НЕСПЕЦИФІЧНІ І ГУМОРАЛЬНІ ФАКТОРИ ІМУНІТЕТУ ПРИ БРОНХІАЛЬНІЙ АСТМІ У ДІТЕЙ

В. Г. Чернуський, М. М. Попов, Г. В. Леляго, О. Л. Говаленкова (Харків)

Бронхіальна астма (БА) залишається однією з найбільш актуальних проблем сучасної педіатрії. Частота цієї патології збільшується щорічно і, за даними ВООЗ, близько 300 млн в світі хворіють на БА. Незважаючи на сучасні досягнення в діагностиці та лікуванні БА, отримати повний контроль за перебігом БА не вдалося. Мета дослідження – оцінити вплив імуномодуючої терапії на неспецифічний і гуморальний імунітет у дітей, хворих на БА, шляхом включення до стандартні базисні схеми терапії індуктора інтерферону (циклоферону). Під наглядом було 120 дітей, хворих на бронхіальну астму, віком від 5 до 14 років, середній вік – $(11,6 \pm 1,5)$ року. Для встановлення діагнозу та ефективності терапії використовували міжнародну класифікацію хвороб 10-го перегляду, протокол діагностики та лікування бронхіальної астми у дітей (наказ МОЗ України № 767 від 27.12.2005 р.), GINA 2011. До основної групи ($n = 60$) увійшли діти, які, крім базисної терапії, отримували додатково індуктор інтерферону (циклоферон) за схемою: 150 мг на 1-, 2-, 4-, 6- і 8-й день терапії (№ 5) і далі по 150 мг через 72 год (№ 5) (всього 1500 мг). До групи порівняння увійшли діти ($n = 60$), які отримували тільки базисну терапію залежно від ступеня тяжкості захворювання. Групу контролю становили 25 здорових дітей. Методом імуноферментного аналізу визначали рівень сироваткового інтерферону, вірусіндуковану продукцію інтерферону- α (ІФН- α), мітогенстимульовану продукцію інтерферону- γ (ІФН- γ); рівень загальної сироваткового IgE. Оцінювали фагоцитарну активність нейтрофільних гранулоцитів (НГ), визначали циркулюючі імунні комплекси (ЦІК), імуноглобуліни (Ig) A, M і G в сироватці крові методом реакції імунодифузії. Встановлено, що додаткове застосування циклоферону мало імунокоригуючу дію на фагоцити, а це приводило до підвищення синтезу ІФН- α і ІФН- γ , зниження вираженості алергічного компонента за рахунок зниження рівня IgE і ЦІК та до нормалізації синтезу IgA, IgM, IgG, що сприяло в подальшому розвитку тривалої клінічної ремісії захворювання.

Ключові слова: бронхіальна астма; діти; фагоцитарна активність; індуктори інтерферону; імуноглобуліни.

INFLUENCE OF INTERFERON INDUCER (CYCLOPHERON) ON NONSPECIFIC AND HUMORAL IMMUNITY FACTORS IN BRONCHIAL ASTHMA IN CHILDREN

*V. H. Chernuskyi, M. M. Popov, H. V. Letiaho, O. L. Hovalenkova (Kharkiv, Ukraine)**V. N. Karazin Kharkiv National University*

Bronchial asthma (BA) remains one of the most pressing problems in modern pediatrics. The incidence of this pathology is increasing annually and, according to WHO, about 300 million people in the world suffer from asthma. Despite the recent advances in the diagnosis and treatment of asthma, complete control over the course of asthma has failed. The objective of the work was to evaluate the effect of immunomodulatory therapy on nonspecific and humoral immunity in children with BA by including interferon inducer (cycloferon) in a standard base therapy. There were 120 children with bronchial asthma aged 5 to 14 years, with an average age of (11.6 ± 1.5) years. To determine the diagnosis and effectiveness of therapy used the international classification of diseases of the 10th examination, protocol for the diagnosis and treatment of bronchial asthma in children (order of the Ministry of Health of Ukraine № 767 from 27.12.2005), GINA 2011. The main group ($n = 60$) included children, who, in addition to basic therapy, received in addition interferon inducer (cycloferon) according to the scheme: 150 mg on 1-, 2-, 4-, 6- and 8-th day of therapy (No. 5) and then 150 mg after 72 hours. (No. 5) (1500 mg total). The comparison group included children ($n = 60$) who received only basic therapy, depending on the severity of the disease. The control group consisted of 25 healthy children. The level of serum interferon, virus-induced production of interferon- α (IFN- α), mitogen-stimulated production of interferon- γ (IFN- γ), the level of total serum IgE were determined by the enzyme-linked immunosorbent assay. The phagocytic activity of neutrophils (NG) was evaluated. The circulating immune complexes (CECs), immunoglobulins (Ig) A, M and G in serum were determined by the immunodiffusion reaction method. It was found that the additional use of cycloferon had a corrective effect on phagocytes, which led to an increase in the synthesis of IFN- α and IFN- γ , a decrease in the severity of the allergic component due to the decrease in IgE and circulating immune complexes and a normalization of the synthesis of IgA, IgM, IgG with further development of long-term clinical remission of the disease.

Key words: bronchial asthma; children; phagocytic activity; interferon inducers; immunoglobulins.