УДК 616-095

FAS-FASL ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ВЫЗЫВАЕТ ИММУНОДЕФИЦИТ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ С ГРИБКОВОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИЕЙ

Н. В. Купцова, З. В. Рябинина, О. В. Тютчева, Г. В. Порядин, Ж. М. Салмаси, А. Н. Казимирский, А. А. Терентьев

ГОУ ВПО «Российский государственный медицинский университет», г. Москва

Обследование двух групп детей, больных атопической бронхиальной астмой с сенсибилизацией к аллергенам домашней пыли, и детей с поливалентной сенсибилизацией к грибковым аллергенам показало развитие иммунодефицита у больных с грибковой сенсибилизацией. Все пациенты не получали кортикостероидных гомонов, цитостатиков, антибиотиков широкого спектра действия в период обследования. У больных детей с поливалентной сенсибилизацией нашли иммунологическое нарушение в виде увеличения экспрессии CD95 и CD95L антигенов. Механизм выявленного иммунодефицита, по-видимому, связан с усилением активационного апоптоза лимфоцитов у этих больных.

Ключевые слова: CD95, CD95L (CD178), грибковая сенсибилизация, иммунодефицит.

FAS-FASL INTERACTION CAUSES AN IMMUNODEFICIENCY IN CHILDREN WITH A FUNGI SENSITIZATION OF ATOPIC BRONCHIAL ASTHMA

N. V. Kuptsova, Z. V. Ryabinina, O. V. Tyutcheva, G. V. Porjadin, Z. M. Salmasi, A. N. Kazimirsky, A. A. Terentyev.

Russian state medical university, Moscow

We are observed of two groups of children with the atopic bronchial asthma with the sensitization to allergens of a house dust and the children with a polyvalent sensitization to fungi allergens has shown development of an immunodeficiency in patients with a fungi sensitization. All patients did not receive corticosteroids hormones, cytostatics and antibiotics during immunological study. Atopic bronchial asthma children with a polyvalent sensitization including fungi sensitization demonstrated immunological disturbance the increasing of expression CD95 and CD95L antigens. The mechanism of the revealed immunodeficiency, apparently, is connected with strengthening lymphocytes activation apoptosis at these patients.

Keywords: CD95, CD95L (CD178), fungoid sensibilization, immunodeficiency.

В последние годы отмечается неуклонный рост числа аллергических заболеваний. По прогнозам ВОЗ, в XXI веке они займут ведущее место в структуре общей заболеваемости. Формирование аллергической реактивности человека часто начинается в детском возрасте. В связи с высокой проницаемостью гистогематических барьеров спектр потенциальных аллергенов у детей очень широк. Поэтому респираторная поливалентная аллергия у детей является актуальной проблемой современной педиатрии [7]. Среди различных видов сенсибилизации при заболеваниях легких у детей существенное значение имеет грибковая, связанная с гиперчувствительностью к грибам родов Aspergillus, Alternaria, Candida, Penicillium и др. Наряду с дерматофагоидным клещем плесневые грибы являются одним из основных аллергенных компонентов домашней пыли. В группе больных, имеющих сенсибилизацию к домашней пыли, сочетание аллергии к домашней пыли с аллергией к грибам обнаруживается в 74%.

Для бронхиальной астмы, сопровождающейся грибковой сенсибилизацией, характерны непрерывно-рецидивирующий характер и тяжелое течение заболевания, причем во многих случаях выявляется сочетание грибковой сенсибилизации с сенсибилизацией к другим группам аллергенов [1, 5, 8].

Цель исследования

Определить популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов с учетом маркеров активации в периферической крови детей, больных атопической бронхиальной астмой с грибковой сенсибилизацией.

Методы исследования

Клиническая характеристика пациентов с бытовой и грибковой сенсибилизацией. В исследование было включено 67 пациентов, из них 17 детей в возрасте 4-6 лет, 24 ребенка от 7-11 лет, 26 детей в возрасте от 12-14 лет с бронхиальной астмой и аллергическим ринитом, обусловленных аллергией к бытовым и грибковым аллергенам, с длительностью заболевания от 1 года до 5 лет. Диагноз бронхиальная астма и определение ее степени тяжести проводили на основании критериев GINA 2006, диагноз аллергический ринит — на основании критериев ARIA, 2001. Из 67 пациентов у 19 детей диагностирована бронхиальная астма средней тяжести, контролируемого течения. У 49 пациентов бронхиальная астма сочеталась с аллергическим ринитом, у 10 пациентов диагностирован изолированный круглогодичный аллергический ринит. Длительность заболевания у пациентов с бронхиальной астмой в сочетании с аллергическим ринитом составила от 1 года до 5 лет. Отдельную группу сравнения составили 12 больных бронхиальной астмой с моносенсибилизацией к домашней пыли.

Все дети по результатам кожного тестирования имели положительные тесты с аллергеном из домашней пыли, у 60 детей из 67 наблюдались положительные результаты кожных проб с пыльцевыми аллергенами и аллергенами из плесневых грибов. Данная группа детей не получала кортикостероидных гомонов, цитостатиков, антибиотиков широкого спектра действия. Из 67 больных 34 детей жили на последних и первых этажах зданий, у 39 на стенах в ваннах комнатах была плесень. Почти все дети страдали приступами удушья, заложенностью носа

в старых жилых помещениях, в сырую погоду поздней осенью, при уборке опавших листьев, ранней весной во время таяния снега, у 19 детей наблюдалась лекарственная аллергия на пенициллиновые антибиотики. Из 67 детей у 52 отмечалась отягощенная наследственность по аллергическим заболеваниям. У 50% детей в дальнейшем при постановке прик-тестов с аллергенами плесневых грибов наблюдались положительные результаты, практически у всех детей с грибковой сенсибилизацией отмечалась умеренно или сильно выраженная сенсибилизация к аллергену из домашней пыли и пыльцевым аллергенам.

При оценке значимости разных видов грибов в сенсибилизации детей было показано, что в старшей возрастной группе частота сенсибилизации к грибам родов Aspergillus встречается примерно с одинаковой частотой. В то же время у детей младших возрастных групп сенсибилизация к грибам рода Aspergillus встречается чаще.

Иммунологические методы исследования. Лимфоциты больных выделяли в градиенте плотности фиколл-верографина по методу Boyum. Определение относительного содержания в периферической крови лимфоцитов, экспрессирующих антигены CD3, CD4, CD8, CD16, CD56, CD20, CD72, CD23, CD25, CD54, CD71, HLA-DR, CD95, CD178, мембранные иммуноглобулины mIgM и mIgG, с помощью отечественных моноклональных антител ЛТ и ИКО в реакции непрямой иммунофлюоресценции.

Результаты исследования

Развитие клинических проявлений атопии в значительной степени связано с природой этиологического фактора. Наибольшее значение в развитии бронхиальной астмы имеет сенсибилизация к аллергенам домашней пыли Dermatophagides pternyssinus и Dermatophagides farinae. С увеличением возраста детей возрастает значение пыльцевой сенсибилизации. В то же время несомненна и роль других факторов в развитии атопий у детей. В последние годы все большее внимание привлекает сенсибилизация к микроскопическим грибам. С одной стороны, компоненты плесневых грибов и их спор обладают высокой сенсибилизирующей активностью [3, 7]. С другой стороны, продукты жизнедеятельности грибов и их споры обладают выраженным действием на клетки иммунной системы, вызывая изменение реактивности организма [8]. Это, в свою очередь, может привести к усилению синтеза IgE и, как следствие, способствовать развитию сенсибилизации и на другие аллергены. Следовательно, можно предположить, что наличие поливалентной сенсибилизации, включающей сенсибилизацию к антигенам грибов, может вызвать существенные изменения в иммунной системе по сравнению с атопиями с сенсибилизацией только к аллергенам домашней пыли.

Для проверки данного предположения мы провели сравнение поверхностно фенотипа лимфоцитов периферической крови 2 групп больных: атопической бронхиальной астмой с сенсибилизацией к домашней пыли и атопической бронхиальной астмой с поливалентной сенсибилизацией. В качестве контроля оценивали иммунологические параметры группы практически здоровых детей.

Оценка популяционного состава Т-лимфоцитов показала, что для всех ато-

пий характерна тенденция к снижению содержания в крови цитотоксических лимфоцитов CD8+ (табл. 1). Это объясняется изменением баланса активности Th1/Th^2 лимфоцитов и, как следствие, снижением синтеза основного медиатора Th-1 лимфоцитов γ-интерферона, являющегося стимулятором цитотоксических лимфоцитов.

В то же время у больных с поливалентной сенсибилизацией наблюдается достоверное снижение содержания в крови Т-лимфоцитов, связанное, в первую очередь, со снижением содержания в крови Т-хелперов.

Таблица 1

Сравнительная характеристика популяций и субпопуляций Т-лимфоцитов у детей с поливалентной сенсибилизацией и атопическими реакциями на домашнюю пыль

Маркеры	Здоровые дети, n=10	Больные с сенсибилизацией к домашней пыли, n=12	Больные с поливалентной сенсибилизацией, n=14
	Содержание лимфоцитов в %		
CD3	64,83±2,98	61,75±1,75	55,32±1,66*
CD4	38,08±1,49	38,03±1,12	33,10±1,58*
CD8	28,1±1,45	25,81±1,62	25,04±2,43

*Примечание: *-p<0,05; достоверность различий указана между группами атопических больных*

При оценке субпопуляций NK-клеток было выявлено достоверное снижение содержания в крови больных с поливалентной сенсибилизацией CD16+-лимфоцитов. Если у больных с сенсибилизацией к домашней пыли этот показатель составил 16,03±4,06%, то у больных с поливалентной сенсибилизацией — 9,59±1,58%.

Оценка состояния популяции В-лимфоцитов у обследуемых больных показала, что при сенсибилизации к домашней пыли содержание этих клеток в крови достоверно увеличено, в то время как при поливалентной сенсибилизации этот показатель ниже, чем у здоровых людей (p<0,05). Содержание в крови лимфоцитов, несущих поверхностные IgM и IgG, было увеличено во всех группах больных, однако у больных

Таблица 2

Сравнительная характеристика популяций и субпопуляций В-лимфоцитов у детей с поливалентной сенсибилизацией и атопическими реакциями на домашнюю пыль

Маркеры	Здоровые дети n=10	Больные с сенсибилизацией к домашней пыли, n=12	Больные с поливалентной сенсибилизацией, n=14
	Содержание лимфоцитов в %		
CD20	17,00±1,26	21,72±1,13	13,39±1,87*
CD72	11,16±1,17	12,15±0,79	10,03±1,37
IgM	5,25±0,43	13,02±1,05	8,33±2,31*
IgG	6,21±1,23	15,55±0,99	9,54±1,87*

*Примечание: *-p<0,05; достоверность различий указана между группами атопических больных*

с поливалентной сенсибилизацией оно было достоверно ниже, чем у больных с сенсибилизацией к домашней пыли (табл. 2). Сравнение содержания основных популяций и субпопуляций лимфоцитов в периферической крови больных с сенсибилизацией к домашней пыли и поливалентной сенсибилизацией позволяет сделать вывод о наличии у больных с поливалентной сенсибилизацией изменений в крови, характерных для иммунодефицитного состояния. Это проявляется одновременным снижением содержания в крови Т-лимфоцитов (CD3+), В-лимфоцитов (CD20+) и NK-клеток (CD16+).

Ранее проведенные исследования показали, что при сенсибилизации к домашней пыли, к пыльце растений и эпидермису животных наблюдается активация В-клеточного звена иммунной системы [9]. Аналогичные результаты приведены и в литературе [6, 2]. Эти данные позволяют связать наблюдаемое развитие иммунодефицита у обследуемых больных с поливалентной сенсибилизацией с наличием сенсибилизации к плесневым грибам. Поэтому следующим этапом наших исследований стало изучение содержания в крови обследуемых больных лимфоцитов, экспрессирующих поверхностные активационные антигены (табл. 3). Содержание в крови лимфоцитов, экспрессирующих низкоафинный рецептор для IgE CD23, было повышено в обеих группах больных. Количество лимфоцитов, экспрессирующих ранние маркеры активации CD25 и CD71 у больных с сенсибилизацией к домашней пыли, не превышало показателей здоровых детей, что отражает отсутствие процессов активации лимфоцитов у этих детей в стадию ремиссии (табл. 3). У больных с поливалентной сенсибилизацией, несмотря на клиническую ремиссию, содержание CD25+ и CD71+ было достоверно повышено ($p<0,05$).

Содержание в крови лимфоцитов, экспрессирующих рецептор адгезии CD54

Таблица 3

Сравнительная характеристика поверхностных активационных маркеров лимфоцитов у детей с поливалентной сенсибилизацией и атопическими реакциями на домашнюю пыль

Маркеры	Здоровые дети n=106	Больные с сенсибилизацией к домашней пыли, n=12	Больные с поливалентной сенсибилизацией, n=14
	Содержание лимфоцитов в %		
CD23	6,00±0,95	13,49±0,86	10,07±2,43
CD25	5,91±1,49	5,30±0,87	10,24±2,29*
CD71	5,66±1,41	3,91±1,43	10,09±2,14*
HLA-DR	13,80 ±1,73	10,74 ± 2,93*	14,57±1,39
CD54	5,46±1,39	11,77±4,02	12,30±2,76
CD95	9,20 ±0,82	5,13 ± 2,52	9,57±1,55*
CD178	5,30±0,96	4,82±2,34	16,66±2,44*

*Примечание: *-p<0,05; достоверность различий указана между группами больных атопиями*

(ICAM1), было повышено в обеих группах больных, что подтверждает изменение функционирования иммунной системы при аллергии и в стадии ремиссии. Наиболее интересные результаты были получены при изучении особенностей индукции Fas-зависимого апоптоза при аллергических состояниях. Содержание в крови лимфоцитов, экспрессирующих рецептор индукции апоптоза CD95 у больных с сенсибилизацией к домашней пыли, было достоверно снижено ($p<0,05$), в то время как в группе больных с поливалентной сенсибилизацией оно было близко к показателям здоровых детей. Напротив, содержание в крови CD178+-лимфоцитов, несущих Fas-лиганд, запускающих апоптоз в клетках, было резко повышено в группе больных с поливалентной сенсибилизацией.

Результаты исследования позволяют заключить, что у больных с поливалентной сенсибилизацией наблюдается высокое содержание в крови лимфоцитов, несущих рецептор для запуска Fas-зависимого апоптоза, и резкое повышение содержания в крови лимфоцитов, несущих Fas-лиганд, запускающих процессы апоптоза. Это позволяет нам предположить, что у больных с поливалентной сенсибилизацией интенсивность апоптоза лимфоцитов существенно выше, чем у больных с сенсибилизацией к домашней пыли. Поскольку по данным литературы сочетание сенсибилизации к пыльце растений, эпидермису животных и домашней пыли не дает кардинальных отличий в иммунограмме по сравнению с моносенсибилизацией на домашнюю пыль [10,4, 9], мы связали выявленное усиление апоптотического процесса в лимфоцитах с сенсибилизацией к плесневым грибам.

Таким образом, результаты проведенного изучения нарушений в иммунной системе больных с поливалентной сенсибилизацией выявили развитие иммунодефицитного состояния, проявляющегося снижением содержания в крови Т-, В- и NK-лимфоцитов. Механизм выявленного иммунодефицита, по-видимому, связан с усилением активационного апоптоза лимфоцитов у этих больных. По-видимому, ведущую роль в формировании развившихся нарушений играет развитие сенсибилизации к плесневым грибам.

Работа поддержана грантом РГНФ № 09-06-00241а.

Список литературы

1. Лебедева Т.Н. Патогенез аллергии к candida species // Проблемы медицинской микологии. — 2004. — Т. 6, №.1. — С. 3-8.

2. Baranova N..I, Kostina E.M. Parameters of the immune status in patients with allergic airway diseases with bacterial sensitization // Klin Lab Diagn. — 2009. — №8. — P. 21-23.

3. Corry D.B., Kheradmand F. Toward a comprehensive understanding of allergic lung disease // Trans Am Clin Climatol Assoc. — 2009. — Vol. 120. — P. 33-48.

4. Gaffin J.M., Phipatanakul W. The role of indoor allergens in the development of asthma // Curr Opin Allergy Clin Immunol. — 2009. — Vol. 9, №2. — P. 128-135.

5. Gruchalla R.S., Pongracic J., Plaut M., Evans R., Visness C.M., Walter M., Crain E.F., Kattan M., Morgan W.J., Steinbach S., Stout J., Malindzak G., Smartt E., Mitchell H. // J Allergy Clan Immunol. — 2005. — Vol. 115, №3. — P. 478-485.

6. Khan S., McClellan J. S., Knutsen A.P. Increased sensitivity to IL-4 in patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis // Int Arch Allergy Immunol. — 2000. — Vol. 123, №4. — P. 319-326.

7. Madani Y., Barlow A., Taher F. Severe asthma with fungal sensitization: a case report and review of literature // J Asthma. — 2010. Vol. 47, №1. — P. 2-6.

8. Pongracic J.A., O'Connor G.T., Muilenberg M.L., Vaughn B., Gold D.R., Kattan M., Morgan W.J., Gruchalla R.S., Smartt E., Mitchell H.E. // J Allergy Clin Immunol. — 2010. — Vol. 125, №3. — P. 593-599.

9. Poriadin G.V., Orshanko A.M., Salmasi Zh.M., Latysheva T.V., Kazimirskiĭ A.N. // Patol Fiziol Eksp Ter. — 2009. — №1. — P. 23-25.

10. Thunberg S., Akdis M., Akdis C.A., Grönneberg R., Malmström V., Trollmo C., van Hage M., Gafvelin G. // Clin Exp Allergy. — 2007. — Vol. 37, №8. — P. 1127-1136.