

МЕСТНЫЙ ИММУНИТЕТ И КОНЦЕПЦИЯ ДИАГНОСТИКИ ИММУННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НА ОСНОВЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ ЗАЩИТНЫХ БЕЛКОВ В СЕКРЕТАХ

Мельников О. Ф., Заболотная Д. Д.

Институт отоларингологии им. проф. А. И. Коломийченко АМН Украины

На основе анализа 1000 иммунограмм больных хроническими рецидивирующими воспалительными заболеваниями верхних дыхательных путей и 150 иммунограмм практически здоровых лиц группы сравнения, установили, что в основной группе низкий уровень секреторного иммуноглобулина А в слюне и слезной жидкости встречается в несколько раз чаще, чем сывороточная гипоглобулинемия, селективный дефицит IgA, а также отклонения в количественных характеристиках Т и В – лимфоцитов в периферической крови и структурах лимфоузлов.

Постулируется, что оценка состояния степени иммунодефицита при инфекционно-воспалительной патологии верхних дыхательных путей обязательным и главным компонентом иммунодиагностического алгоритма должна включать определение уровня секреторных иммуноглобулинов в секретах верхних дыхательных путей. Предполагается универсальность изменений содержания защитных белков во всех секретах организма человека при иммунной недостаточности.

Ключевые слова: иммунограмма, верхние дыхательные пути, секреторные иммуноглобулины.

Большинство аллергических и инфекционно-воспалительных заболеваний связано с развитием патологических процессов в слизистой оболочке, которая, например, в области верхних дыхательных путей задерживает и элиминирует около 70% поступающего извне инертного и агрессивного антигенного материала. Нарушение в механизмах резистентности слизистой, включая структурные отклонения в ее сложном морфо-функциональном аппарате приводит к развитию различных патологических процессов. Значительная контактная поверхность слизистых оболочек 200–330 кв.м и более предполагает постоянную и основную агрессию со стороны макро- и микромира и защиту от нее благодаря наличию защитных механизмов специфического и неспецифического характера и специализированных структур [1].

На протяжении последних десятилетий сложилось мнение, что основными гуморальными факторами защиты слизистых оболочек являются секреторные иммуноглобулины классов А и М и ряд белково-углеводных соединений – протеазы и антипротеазы слюны, лизоцим, лактоферрин, гликопротеиды слизи [3, 4, 8–11, 20]. Клеточные защитные ряды представлены прежде всего эпителиальными клетками, а их в слизистых в настоящее время насчитывают 5 разновидностей: мигрирующие Т-гамма-дельта лимфоциты, макрофаги, тканевые базофилы, дендритные клетки. Вторая «линия обороны» может быть представлена сывороточными иммуноглобулинами, фагоцитирующими клетками, Т_{γδ} и НК-лимфоцитами [1, 6, 19].

Имуноглобулины как основная диагностическая компонента

Недостаточность образования антител, как основного специфического защитного фактора иммунитета, как правило, является следствием и интегральным выражением нарушения количественных и функциональных характеристик взаимодействия в процессах иммуногенеза клеток лимфоидного и нелимфоидного рядов, включая цитокиновую регуляцию [15]. В связи с этим, определение уровня иммуноглобулинов различных классов и антител к отдельным антигенам в сыворотке крови, выявление количественных характеристик отдельных групп клеток часто является решающим фактором в установлении иммунодефицитного состояния [5, 16].

Наиболее частым клиническим проявлением селективного иммунодефицита IgA или длительной гипоглобулинемии являются рецидивирующие инфекционно-воспалительные заболевания респираторного тракта и среднего уха – хронические риносинуситы, гнойные отиты, бронхиты, воспалительная патология лимфоидных структур глотки и зубодесневой системы [2, 5, 14]. Наряду с этим, в иммунологической характеристике ОВИН, больных с рецидивирующими воспалительными и аллергическими процессами верхних дыхательных путей определению секреторного IgA в слюне и других секретах верхних дыхательных путей отводится второстепенное значение.

Целью работы стала проверка гипотезы о возможности диагностики состояния иммунной недостаточности организма неинвазивным методом

по определению иммуноглобулинов и других защитных белков в секретах организма прямо или косвенно, контактирующих с внешней средой.

Материал и методы

Материалом для анализа были иммунологические исследования у 1000 больных инфекционно-воспалительными заболеваниями верхних дыхательных путей в возрасте от 8 до 50 лет и 150 практически здоровых доноров, проведенные в ходе плановых работ Института отоларингологии им. проф. А. И. Коломийченко АМН Украины. Среди 16 параметров, характеризующих состояние системного и местного иммунитета, для анализа были отобраны следующие :

– число Т, В- лимфоцитов и НК в перифериче-

ской крови ;

– уровень иммуноглобулинов сыворотки классов М, G, А, Е;

– концентрация секреторной формы иммуноглобулина А в ротоглоточном секрете и слезной жидкости;

– концентрация лактоферрина в ротоглоточном секрете и сыворотке;

– концентрация интерлейкина-1β в ротоглоточном секрете.

Определение количественных характеристик трех основных популяций лимфоцитов было осуществлено преимущественно с использованием метода моноклональных антител (Сорбент, Москва) и люминесцентной микроскопической техники, выявляющих Т (CD3), В (CD20), НК (CD56) клетки среди смешанной популяции лимфоци-

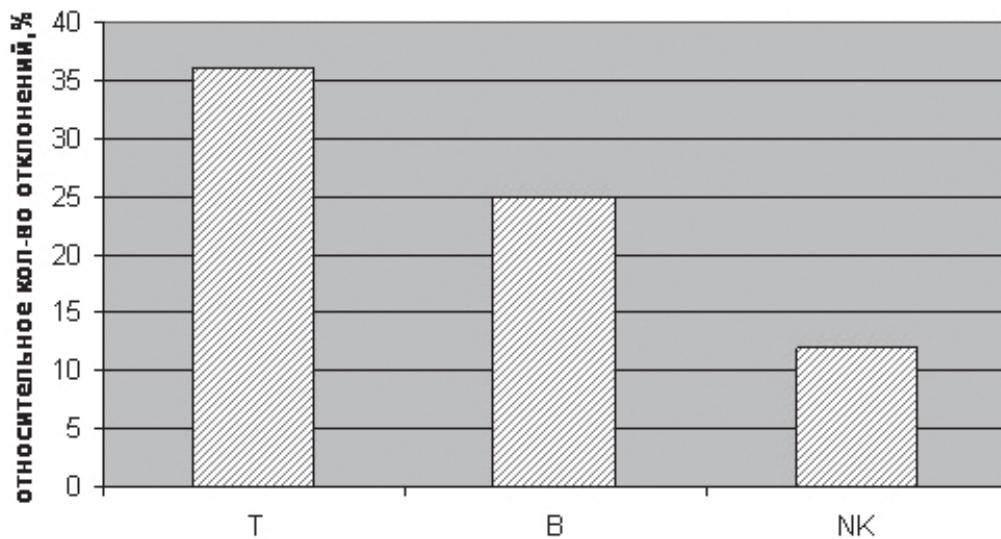


Рис. 1. Частотно-интегральная характеристика отклонений в содержании основных типов лимфоцитов у больных с инфекционно-воспалительной патологией верхних дыхательных путей

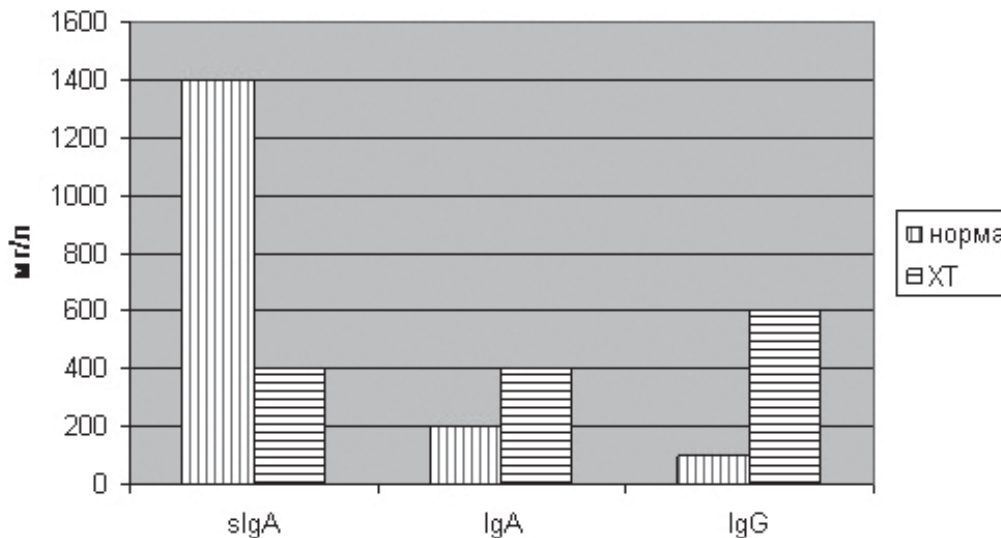


Рис. 2. Соотношение различных классов иммуноглобулинов в ротоглоточном секрете у здоровых людей и у больных хроническим тонзиллитом

тов крови [12]. Иммуноглобулины сыворотки, слюны и слезной жидкости определяли методом радиальной иммунодиффузии в геле по Mancini в модификации Simmons [21], а также в ряде случаев с помощью ИФА (Вектор-Бест, Новосибирск и Укрмедсервис, Донецк).

Статистическая обработка и анализ полученных результатов выполнялись с использованием непараметрических критериев и метода углового преобразования по Фишеру [17].

Результаты и обсуждение

От 25 до 35% больных хроническими рецидивирующими заболеваниями верхних дыхательных путей имели отклонения в содержании всех трех типов лимфоцитов. Наиболее рельефным было снижение числа В- лимфоцитов менее 0,3 Т/л у тонзиллактомированных больных с явлениями хронического атрофического фарингита. При этом относительное снижение основных типов лимфоцитов (Т, В, НК) при различных патологических процессах среди обследованных больных было в пределах 20–40% для Т- лимфоцитов, 30–45% для В и 5–17% для НК (рис. 1)

При анализе уровня иммуноглобулинов в сыворотке крови учитывали отсутствие всех или одного из классов иммуноглобулинов, снижение суммарного количества $Ig(M+G+A) < 7$ г/л

или секреторного иммуноглобулина А в ротоглоточном секрете ($sIgA$) $< 0,8$ мг/мл и слезной жидкости менее чем 0,5 мг/мл. Было установлено (табл. 1), что агаммаглобулинемия при данных заболеваниях не была выявлена ни в одном случае, селективный дефицит IgA сыворотки обнаружен в одном случае у больных хроническим тонзиллитом на 110 человек и в одном при хроническом гнойном отите на 57 больных. Гипоиммуноглобулинемия выявлена от 8,9 до 17% при различных заболеваниях верхних дыхательных путей.

Наиболее рельефными и значимыми были отклонения в содержании секреторной формы иммуноглобулина А как в слюне, так и слезной жидкости – практически при всех заболеваниях отмечено снижение этого белка более чем на 50%.

Колебания в содержании лактоферрина в ротоглоточном секрете, по всей вероятности, связаны с остротой процесса – содержание этого белка было повышенным при обострениях воспалительных процессов и более низким, чем в контроле при ремиссии. Содержание провоспалительного цитокина ИЛ-1 также было повышенным в ротоглоточном секрете при обострениях процесса (табл. 2).

Существенное значение имели средние значения иммуноглобулинов класса А-мономерной

Таблица 1

Частота агаммаглобулинемии, селективного дефицита IgA, сывороточной гипоглобулинемии и пониженного уровня секреторного иммуноглобулина А у больных с хроническими заболеваниями верхних дыхательных путей

Заболевание	Агаммаглобулинемия, %	Селективный иммунодефицит IgA, %	Гипоглобулинемия, %	Снижение sIgA, слюна/слеза, %
Тонзиллит	0	0,9	13,6*	55,2* / 44,8*
Аденоидит	0	0	11,3*	67,5* / 62,1*
Синуиты	0	0	17,1*	64,5* / –
Отиты	0	1,7	14,0*	59,3* / 32,5*
Фарингит	0	0	8,9*	68,8* / 55,5*
Пародонтит	0	0	15,8*	75,5* / 35,6*
Контроль	0	0	0	2,5 / 5,0

Таблица 2

Содержание лактоферрина и цитокина интерлейкина-1β в ротоглоточном секрете в норме, при обострении воспалительного процесса и клинической ремиссии

Клинические группы	Лактоферрин, пг/мл	Интерлейкин-1β, пг/мл
Контрольная	500,5±70,2	9,7±2,4
ХТ (обострение)	940,0±106,6*	85,1±16,2*
ХТ (ремиссия)	322,6±50,6	29,8±7,3*
ХРС (обострение)	1020,0±66,6*	77,6±11,2*
ХРС (ремиссия)	240,5±33,8*	22,1±6,6

Примечание: ХТ – хронический тонзиллит, ХРС – хронический риносинусит.

* – достоверно по отношению к показателям контрольной группы, $P < 0,05$

(сывороточной) и димерной (секреторной) форм, а также IgG, который считается провоспалительным фактором, поскольку в комплексе с антигеном способен фиксировать компоненты компонента и вызывать деструкцию тканей. При хронических процессах и наличии системной недостаточности иммунитета, как правило, имеет место снижение уровня секреторного IgA, повышение уровня мономерного IgA, а также IgG. В условиях нормы в секретах ротоглотки и слезе концентрации IgA и IgG не превышают 0,2 г/л, тогда как при рецидивирующих хронических воспалительных процессах верхних дыхательных путей эти показатели увеличиваются в несколько раз. На рисунке 2 приведено соотношение содержания различных иммуноглобулинов в ротоглоточном секрете больных хроническим тонзиллитом и у практически здоровых лиц.

Проведенные исследования по определению клеточных и гуморальных факторов иммунитета местного и системного иммунитета свидетельствуют о том, что в оценке состояния иммунологической недостаточности, связанной с дефицитом антителообразования, возможно, в том числе и ОВИН, снижение содержания секреторных иммуноглобулинов А в ротоглоточном секрете и слезной жидкости следует рассматривать как проявление определенного дефекта в дифференцировке В-лимфоцитов в индуктивных зонах, прежде всего в структурах лимфоглоточного кольца. По данным Brandtzaeg (1996), содержание В-IgA-дифференцирующихся лимфоцитов в ткани небных миндалин при хроническом тонзиллите снижается более, чем в 2,5 раза по сравнению с нормой [13]. При рецидивирующих отитах, ринофарингитах и синуситах по данным ряда авторов в лимфаденоидной ткани кольца Пирогова-Вальдейера также снижен уровень секреторных иммуноглобулинов и В-лимфоцитов, дифференцирующихся в направлении их синтеза, в слюне соответственно уровень секреторной формы иммуноглобулина А [3, 7, 8, 22].

Учитывая тот факт, что сывороточные иммуноглобулины имеют период полураспада от 2,5 до 28 дней [18], а секреторные выводятся в свя-

занном виде из зон активного взаимодействия в течение 1–2 суток [20], то можно полагать, что количественная «задействованность» лимфоидных и нелимфоидных клеток, участвующих в продукции секреторных иммуноглобулинов, значительно превосходит таковую при продукции сывороточных. Анализ показывает, что количество секретов, омывающих и защищающих поверхность всех слизистых оболочек человека приближается к 10 л в сутки и практически ежедневно требует смены иммуноглобулинового состава, в основном секреторного IgA, тогда как сыворотка крови, имеющая объемную характеристику в 2–3 л, содержит медленно обновляющийся иммуноглобулиновый компонент. Это дает основания полагать, что количество необходимого секреторного иммуноглобулина А в здоровом организме значительно превосходит этот показатель для всех классов сывороточных иммуноглобулинов. Ориентировочный расчет содержания белка в секретах и сыворотке представлен в таблице 3.

Выводы

Таким образом, в оценке состояния иммунитета при инфекционно-воспалительной патологии дыхательных путей, связанных с инфекционно-аллергическими воспалительными процессами в слизистой оболочке, определение уровня секреторных иммуноглобулинов в слюне, слезной жидкости или ротоглоточном секрете является важнейшим компонентом как в характеристике, так и диагностике иммунодефицитных состояний, включая ОВИН. Исследования уровня sIgA, а при необходимости лактоферрина и цитокинов с разно направленным характером влияния при патологических процессах на слизистой дыхательных путей является более простым, безопасным, экономичным и информативным тестом, нежели выявление количественных характеристик иммунокомпетентных клеток и уровня иммуноглобулинов различных классов в крови.

Проведенные исследования уровня иммуноглобулинового состава других секретов и выде-

Таблица 3

Соотношение количества секреторных и сывороточных иммуноглобулинов в течение месяца у здорового человека

Сыворотка крови	Секреты слизистых оболочек и желез
(2,5–3 л) Имуноглобулины классов : M,G,A,E,D ~ 40 г 45% в сосудистом русле Время полураспада – 5–70 суток	~ 10 л в сутки Секреторные иммуноглобулины: А (90%), М, D ~12 г Содержатся в секретах Время выведения – 1–1,5 суток
Необходимое количество в месяц – 40–50 г	Необходимость в месяц – 250–300 г

лений (желчи, кала) показало сходство отклонений в векторе и количественной характеристике защитных белков при патологии милиарной системы и колитах, что позволяет предполагать универсальность характера изменений в содержании иммуноглобулинов в секретах различных отделов организма при наличии иммунной недостаточности.

Предлагаемая концепция

Основу концепции составляет гипотеза о том, что для организма человека наиболее важным моментом является сохранение равновесного состояния слизистых оболочек с макромиром и

микроорганизмами и для этого требуется больше продукции «локальных» защитных белков, чем сывороточных. Из многих известных гуморальных механизмов защиты слизистых оболочек наиболее эффективными на сегодня признаны иммуноглобулины (антитела) класса А, прежде всего полимерные формы. Отклонение (как правило снижение) в концентрации их основных форм, а также изменения в соотношении между представителями отдельных классов иммуноглобулинов и других защитных белков, например, лактоферрина и лизоцима, могут быть основанием для диагностики иммунной недостаточности (вторичного иммунодефицита).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Беляков И. М. Иммунная система слизистых // Иммунология. – 1997. – № 4. – С. 7–13.
2. Борисова А. М. Проблемы иммунотерапии общей вариабельной иммунной недостаточности у взрослых // Intern. J. Immunorehabilitation. – 1998. – № 10. – С. 118–125.
3. Быкова В. П. Структурные основы мукозального иммунитета верхних дыхательных путей // Рос. ринология. – 1999. – № 1. – С. 5–11.
4. Быкова В. П., Антонова Н. А., Юнусов А. С., Архангельская И. Н. Клинико-морфологический анализ аденонидный вегетаций // Вестник оториноларингологии. – 2000. – № 5. – С. 9–12.
5. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология. – Киев.: Полиграф-Плюс, 2006. – 480 с.
6. Кайдашев И. П., Волошина Л. И., Караснюк О. А., Шинкевич В. И. и др. Роль дендритных клеток в обеспечении локального иммунитета полости рта // Украинский стоматологический альманах. – 2001. – № 5. – С. 80–87.
7. Кищук В. В. Клініко-імунологічні підходи до оцінки функціонального стану піднебінних мигдаликів для діагностики та лікування хворих на хронічний тонзиліт: Автореф... дис. докт. мед. наук: 14.01.19/ Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка АМН України. – Київ. – 2001. – 35 с.
8. Мельников О. Ф., Заболотный Д. И., Потапов Э. В. Иммунотропное действие тиотриазолина на клетки глоточной миндалины in vitro // Ж. вушн., нос., горлових хвороб. – 2002. – № 1. – С. 29–33.
9. Мельников О. Ф., Заболотный Д. И. Диагностика иммунодефицитов при патологии слизистой оболочки на основе определения иммуноглобулинов в секретах. – Киев.: Институт отоларингологии им. проф. А.И. Коломийченко АМН Украины. – 2003. – 31 с.
10. Мельников О. Ф., Веремеенко К. М., Тимченко С. В., Кизим О. І. та інші. Імуно-біохімічна характеристика ротоглоткового секрету у хворих на запальні захворювання ЛОР-органів // Тез доп. 6-ої науково-практичної конференції, Київ 26–27 травня 2006 р. – Імунологія та алергологія. – 2006. – С. 110.
11. Пискунов С. З. Физиология и патофизиология носа и околоносовых пазух // Рос. Ринология. – 1993. – № 1. – С. 19–39.
12. Сидоренко С. П. Поверхностные антигена клеток человека, систематизированные международными рабочими совещаниями по дифференцированным антигенам лейкоцитов человека // Імунологія та алергологія. – 1998. – № 3. – С. 16–38.
13. Brandtzaeg P. The B-cells Development in Tonsillar Lymphoid follicles // Acta Otolaryngol (Stockh). – 1996. – suppl. – 523. – P. 55–59.
14. Cuningham-Ruddles C. Clinical and immunological analysis of 103 patients with common variable immunodeficiency // J. Clin. Immunol. – 1989. – № 10. – P. 22–23.
15. Dinarello C. A. IL-18: inducing proinflammatory cytokine and new member of the IL-1 family // Allerg. Clin. Immunol. – 1999. – b. 103. – № 1. – P. 11–24.
16. Dobre V. The characteristics of bacterial respiratory infections in patients with humoral immunodeficiency // Pnumophiziologia. – 1992. – b. 42. – № 2–3. – P. 143–146.
17. Glantz S. Медико-биологическая статистика. – 1999 – М.: Практика (пер. с англ.). – 460 с.
18. Jeske D. D., Capra D. Иммуноглобулины: строение и функции // в кн. Иммунология. – М.: Мир, 1987. – т. 1. – С. 204–254.
19. Kato Y., Kondo N., Ozawa T., Motoyoshi F., Agata H. Kinetics of hypoglobulinemia in patient with common variable immunodeficiency // Acta Pediatr. – 1993. – b. 82. – N 9. – P. 739–743.
20. Lamm M. How epithelial transport IgA antibodies related to host defense // Amer. J. Physiol. – 1998. – № 4. – P. 614–616.
21. Simmons P. Quantitation of plasma proteins in low concentrations using RID // Clin. Chim. Acta. – 1971. – b. 35. – P. 53–57.
22. Zanin C., Perrin Ph., Bene M., Perruchet A., Faure G. Antibody – producing cells in peripheral blood and tonsils after oral treatment of children with bacterial ribosomes // Intern. J. Immunopharmacol. – 1994. – vol. 16. – № 7. – P. 497–505.

МІСЦЕВИЙ ІМУНІТЕТ І КОНЦЕПЦІЯ ДІАГНОСТИКИ ІМУННОЇ НЕДОСТАТНОСТІ НА ОСНОВІ ВИЗНАЧЕННЯ РІВНЯ ЗАХИСНИХ БІЛКІВ У СЕКРЕТАХ

Мірошників О. Ф., Заболотна Д. Д.

Інститут отоларингології ім. проф. О. С. Коломійченка АМН України

На основі аналізу 1000 імунограм хворих на хронічні рецидивуючі запальні захворювання верхніх дихальних шляхів і 150 імунограм практично здорових осіб групи порівняння, встановлено, що в основній групі низький рівень секреторного імуноглобуліну А в слині й слізній рідині зустрічається в кілька разів частіше, ніж сироваткова гіпоглобулінемія, селективний дефіцит ІgА, а також відхилення в кількісних характеристиках Т і В – лімфоцитів у периферичній крові й структурах лімфоноутворювального кільця.

Встановлено, що оцінка стану ступеню імунодефіциту при інфекційно-запальній патології верхніх дихальних шляхів обов'язковим і головним компонентом імунодіагностичного алгоритму повинна включати визначення рівня секреторних імуноглобулінів у секретах верхніх дихальних шляхів. Зроблено припущення про універсальність змін вмісту захисних білків у всіх секретах організму людини при імуноній недостатності.

Ключові слова: імунограма, верхні дихальні шляхи, секреторні імуноглобуліни.

LOCAL IMMUNITY AND THE DIAGNOSTIC CONCEPT OF THE IMMUNE INSUFFICIENCY BASED ON DETECTING THE PROTECTIVE ALBUMENS VOLUME IN SECRETS

Melnikov O., Zabolotnaya D.

Otolaryngology institute of MSA of Ukraine

On the basis of analysis of 1000 immunograms of patients by the chronic inflammatory diseases of overhead respiratory tracts, 150 practically healthy persons of group of comparison, set that low level of secretory immunoprotein And in saliva and tear liquid meets in once or twice more frequent, than when hypoglobulinemia selective deficit of IGA, and also rejections in quantitative descriptions of T and In – lymphocytes in peripheral blood and structures of lympharyngeal ring.

It is proved that estimation of the state of degree of immunodeficit at infectious-inflammatory pathology of overhead respiratory tracts must include determination of level of secretory immunoproteins the obligatory and main component of immunodiagnostic algorithm in the secrets of overhead respiratory tracts. Universality of changes of maintenance of protective albumens is assumed in all secrets of organism of man at immune insufficiency.

The key words: immunograms, respiratory tract, secretory immunoprotein.