

Е. А. Гуринович, Д. А. Соловьёв
**ПОКАЗАТЕЛИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА
В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ
КУРЯЩИХ И НЕКУРЯЩИХ ПАЦИЕНТОВ
С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ**
Научный руководитель ассист. А. Г. Кадушкин
Кафедра биологической химии,
Белорусский государственный медицинский университет, Минск

Резюме. В статье приведены результаты количественного определения доли В-лимфоцитов в общей популяции лимфоцитов, уровня иммуноглобулинов А (IgA), IgE, IgG, IgM в периферической крови 4 исследуемых групп: некурящих пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ), курящих пациентов с ХОБЛ, некурящих здоровых людей и здоровых курильщиков. Полученные данные свидетельствуют о патогенетическом значении IgA, IgE и IgG при ХОБЛ.

Ключевые слова: иммуноглобулины, ХОБЛ, гуморальный иммунитет, курение.

Resume. The article presents the results of a quantitative changes of B-lymphocytes percentage in the total lymphocyte population, the levels of immunoglobulin A (IgA), IgE, IgG, IgM in the peripheral blood of 4 studied groups: non-smoking patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD), smoking patients with COPD, healthy non-smokers and healthy smokers. The findings reveal the pathogenetic significance of IgA, IgE and IgG in COPD.

Keywords: immunoglobulins, COPD, humoral immunity, smoking.

Актуальность. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) в настоящее время занимает четвертое место среди причин смерти в промышленно развитых странах мира, причем к 2030 году по этому показателю ХОБЛ переместится на третье место, а общее число умерших от нее составит более 4,5 млн. человек [1]. Во всем мире насчитывается порядка 3 млн. пациентов с ХОБЛ, в Беларуси – до 60 тыс. человек [2].

На протяжении длительного периода времени считалось, что главной причиной развития данного заболевания является курение. Однако обследования населения в разных странах мира показали, что до 68,6 % пациентов, страдающих ХОБЛ, никогда не курили [2, 3]. К факторам риска развития ХОБЛ у некурящих людей относят тяжёлые респираторные инфекции в детском возрасте или частые инфекции дыхательных путей в зрелом возрасте, вдыхание дыма биоорганического топлива, производственной пыли и химикатов, перенесённый туберкулёз легких, бронхиальная астма.

Терапия ХОБЛ не позволяет замедлить естественное прогрессирование заболевания. Даже на фоне оптимального лечения наблюдается постепенная нарастающая обструкция дыхательных путей. Поэтому продолжают изучать патогенез этого заболевания. Несмотря на значительные успехи в изучении Т-клеточного звена иммунного ответа при ХОБЛ, на сегодняшний день мало изученным является состояние гуморального иммунитета у пациентов с ХОБЛ.

Известно, что в реализации гуморального ответа участвуют антиген-презентирующие клетки (АПК), Т-хелперы, В-лимфоциты, В-клетки памяти,

плазмоциты, система комплемента, цитокины и иммуноглобулины. АПК поглощают антигены (АГ) и презентуют их на своей поверхности в составе молекулы главного комплекса гистосовместимости II класса. Посредством связывания с этими молекулами активируются Т-хелперы, последние начинают активно секретировать воспалительные цитокины: интерлейкин 1 (ИЛ-1), ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, фактор некроза опухолей, γ -интерферон. В результате происходит последовательная активация, пролиферация и дифференцировка В-лимфоцитов в плазматические клетки. Данные клетки секретируют антитела (АТ), способные специфически связываться с исходным АГ. Образовавшийся комплекс АГ-АТ фагоцитируется и элиминируется макрофагами.

Для определения В-клеток используется определение В-клеточного рецепторного комплекса (BCR), в состав которого входит CD20 - интегральный гликозилированный белок-корцептор, участвующий в активации и пролиферации клеток. Данный белок присутствует на всех В-клетках, но отсутствует на плазматических клетках [4]. В-клеткам также свойственна экспрессия на своей поверхности CD19, CD21, CD22, CD23.

Целью нашего исследования явилось определение доли В-лимфоцитов в общей популяции лимфоцитов крови и оценить концентрацию иммуноглобулинов А, Е, G, М в плазме крови у курящих и некурящих пациентов с ХОБЛ.

Материал и методы. Обследованы 21 некурящий пациент с ХОБЛ, 20 курящих пациентов с ХОБЛ, 20 некурящих здоровых людей и 21 здоровый курильщик. К некурящим мы относили людей, которые выкурили менее 100 сигарет за жизнь.

Критерии включения в исследование: возраст старше 40 лет, соответствие критериям GOLD, отсутствие симптомов обострения ХОБЛ в течение последних 2 месяцев до взятия крови. Из исследования были исключены пациенты с наличием в анамнезе бронхиальной астмы, атопии, аллергического ринита, принимавшие системные глюкокортикостероиды как минимум за 2 месяца до настоящего исследования, пациенты, неспособные правильно выполнить дыхательный маневр при тестировании функции внешнего дыхания.

Анализ популяций лимфоцитов проводили на 5-канальном проточном цитометре Cytomics FC500 с использованием программного обеспечения СХР («Beckman Coulter», США). Для каждой пробы учитывали не менее 50 000 клеток.

По показателям прямого (FSC) и бокового (SSC) светорассеивания выделяли регион лимфоцитов. В пределах этого региона по маркеру CD20 рассчитывали процент В-клеток в общей популяции лимфоцитов.

У всех пациентов также определяли уровень IgA, IgE, IgG, IgM («Вектор-Бест», Российская Федерация) в плазме крови методом иммуноферментного анализа на иммуноферментном анализаторе «StatFax 3200» («Awareness Technology», США).

Статистическую обработку проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 8.0. Оценка взаимосвязи двух исследуемых групп проводилась вычислением коэффициента корреляции по Спирмену (*Spearman R*). Достоверными считались различия при уровне значимости p менее 0,05.

Результаты и их обсуждение. В результате проведенного исследования не удалось зафиксировать статистически значимых отличий процента В-клеток среди всех исследуемых групп (рис. 1).

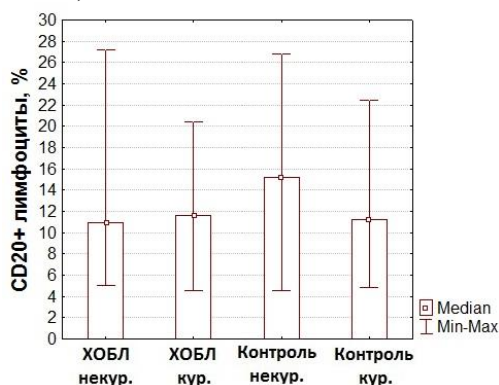


Рисунок 1 – Доля CD20+ лимфоцитов периферической крови у пациентов с ХОБЛ

Концентрация IgA повышалась в плазме крови курящих пациентов с ХОБЛ по сравнению со здоровыми курящими людьми (табл. 1). Уровень IgA также повышался у некурящих пациентов с ХОБЛ по сравнению с некурящими людьми без ХОБЛ.

Таблица 1. Концентрация иммуноглобулинов в плазме крови курящих и некурящих пациентов с ХОБЛ

Цитокин	Некурящие		Курящие	
	ХОБЛ	Контроль	ХОБЛ	Контроль
IgA, мг/мл	2,3 (1,7–3,8)*	1,6 (1,3 – 2,2)	2,4 (1,7 – 2,8) [#]	1,8 (1,6 – 2,0)
IgE, МЕ/мл	560,0 (285,0 – 740,0)*	257,5 (175,0 – 535,0)	490,0 (285,0 – 940,0) [#]	285,0 (245,0 – 420,0)
IgG, мг/мл	16,3 (14,5 – 19,5)	15,8 (13,1 – 18,3)	16,9 (13,8 – 20,6) [#]	12,5 (10,5 – 16,0)
IgM, мг/мл	1,5(1,3 – 1,9)	1,4 (0,8 – 2,1)	1,3 (0,9 – 2,2)	1,0 (1,0 – 1,6)

Примечание: данные представлены как медиана (25% - 75%); * - $p < 0,05$ по сравнению со здоровыми некурящими людьми; # - $p < 0,05$ по сравнению со здоровыми курящими людьми.

Исследование общего IgE в плазме крови выявило достоверное увеличение концентрации этого показателя в группе курящих пациентов с ХОБЛ по сравнению с курящими здоровыми людьми.

При проведении корреляционного анализа у курящих пациентов с ХОБЛ обнаружена положительная корреляционная связь средней силы между уровнем общего IgE в плазме крови и индексом курения. Напомним, что индекс курящего человека (ИКЧ) — основной показатель, используемый для расчёта частоты табакокурения, рассчитывается как стаж курения (годы)×количество выкуренных сигарет в день/20. Наличие обнаруженной взаимосвязи предполагает, что у курящих пациентов с ХОБЛ с увеличением стажа и интенсивности курения происходит нарастание в крови уровня общего IgE. Это косвенно указывает на то, что у пациентов с ХОБЛ курение усиливает секрецию IgE плазматическими клетками [5].

Как показали полученные нами результаты, уровень IgG был выше у курящих пациентов с ХОБЛ, чем у здоровых курящих людей. У некурящих пациентов подобные изменения этого иммуноглобулина отсутствовали. Различия уровня IgM отсутствовали как в группе курящих, так и в группе некурящих пациентов с ХОБЛ по сравнению с соответствующими группами здоровых людей.

Заключение.

Проведенное исследование позволило выявить неоднозначный характер изменения показателей гуморального иммунитета в периферической крови пациентов с ХОБЛ:

- независимо от фактора курения повышена концентрация IgA и IgE;
- только у курящих больных имеет место более высокий уровень IgG;
- ни ХОБЛ, ни курение не сопровождаются каким-либо сдвигом уровня IgM и доли В-лимфоцитов;
- у курящих пациентов с ХОБЛ установлена положительная корреляционная связь средней силы между уровнем общего IgE в плазме крови и индексом курения, что косвенно указывает на то, что у пациентов с ХОБЛ курение усиливает секрецию IgE плазматическими клетками.

Информация о внедрении результатов исследования. По результатам настоящего исследования опубликовано 3 статьи в сборнике материалов, 1 тезис доклада, 1 статья в журнале, получен 1 акт внедрения в образовательный процесс (кафедра биологической химии Белорусский государственный медицинский университет).

K. A. Hurinovich, D. A. Solov'ov

HUMORAL IMMUNITY PARAMETERS IN THE PERIPHERAL BLOOD OF PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

Tutor assistant A. H. Kadushkin

*Department of Biological chemistry,
Belarusian State Medical University, Minsk*

Литература

1. Wanger J., Clausen J.L., Coates A. et al. Standardisation of the measurement of lung volumes. *Eur. Respir. J.* 2005; 26 (3): 511–522.
2. Кадушкин А.Г., Таганович А.Д., Лаптева И.М. Эпидемиологические особенности хронической обструктивной болезни легких у городских жителей Республики Беларусь. *Здравоохранение* 2013; 7: 21–25.
3. Salvi, S. S. Chronic obstructive pulmonary disease in non-smokers / S. S. Salvi, P. J. Barnes // – *Lancet* – 2009. – №374. – P. 733-743.
4. Хайдуков, С. В. Цитометрический анализ в клинической иммунологии / С. В. Хайдуков, А. В. Зурочка, В. А. Черешев – Екатеринбург: УрО РАН, 2011. – 220 с.
5. Inflammatory cells and mediators in bronchial lavage of patients with chronic obstructive pulmonary disease / A. Pesci [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 1998. – Vol. 12. – P. 380-386.