

На правах рукописи

Рамазанова Зарема Керимовна

**СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ, ИНТЕРФЕРОНОГЕНЕЗ
И ПРОДУКЦИЯ ЦИТОКИНОВ У ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ ДЕТЕЙ И
ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ
ЗАБОЛЕВАНИЯ.**

14.00.36 – Аллергология и иммунология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2007

Работа выполнена в ФГУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора.

Научный руководитель: доктор медицинских наук
Бляхер Мария Сергеевна

Официальные оппоненты: доктор биологических наук
Куралесова Альбина Ивановна

доктор медицинских наук
Пухальский Александр Леонидович

Ведущая организация: ГУ «Научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии
им. Н.Ф.Гамалеи» РАМН

Защита состоится «___» _____ 2007г. в ___ часов
на заседании диссертационного совета К 208.046.01 при ФГУН МНИИЭМ
им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора (125212, Москва, ул. Адмирала
Макарова, д.10).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУН МНИИЭМ
им. Г.Н. Габричевского, г. Москва

Автореферат разослан «_____» _____ 2007г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат медицинских наук

Л.И.Новикова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы.

Бронхиальная астма - одно из серьезнейших заболеваний, которое, начинаясь у детей, продолжается в зрелом возрасте и часто приводит к инвалидности и преждевременной смерти [Балаболкин И.И., 2005; Пыцкий В.И., 2000].

Согласно современным представлениям морфологической основой бронхиальной астмы является хроническое воспаление бронхиальной стенки с повышением количества активных эозинофилов, тучных клеток, Т-лимфоцитов в слизистой оболочке бронхов; это воспаление впоследствии приводит к гиперреактивности бронхов и к бронхообструктивному синдрому. Изучение патогенеза бронхиальной астмы дало возможность установить ряд факторов риска её возникновения у детей, из которых наиболее важными являются следующие: наследственная предрасположенность к атопии, воздействие неблагоприятных условий среды на организм матери в периоде беременности, нерациональное питание беременной и ребенка, респираторные инфекции у детей [Балаболкин И.И., 2003; Кирдей Е.Г., 2003; Шелудько Я.С., 2003].

Современная теория бронхиальной астмы исходит из того, что среди CD4+-лимфоцитов активность Т-хелперов 2 типа (Тх2) преобладает над функциональной активностью Т-хелперов 1 типа (Тх1) [Зайцева О.В., 2001; Мамонтова Т.В., 2005; Renzi P.M.1999]. Нарушения нормального баланса между Т-хелперами 1 и 2 типа регистрируют по продуктам секреции этих клеток [Балоболкин И.И.,2003; Филянская Е.Г.2003; Simon H.U., 2003]. Тх1 продуцируют ИЛ-2, ИФН γ , ФНО α (провоспалительные цитокины), тогда как Тх2 - ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10, ИЛ-13 (противовоспалительные цитокины) [Ройт А, 2000; Хаитов М.Р.,2004].

Дети, страдающие бронхиальной астмой, нередко относятся к группе детей часто и длительно болеющих респираторными инфекциями, которые часто сопровождаются появлением у них внутриклеточных патогенов –

микоплазм и хламидий (Кузьменко Л.Г., 1999; Меркулова В.Ю., 2005). Проводимые исследования иммунной системы у часто болеющих детей (ЧБД) и сравнение этих данных с данными детей, страдающих бронхиальной астмой, возможно, выявят определенные закономерности и покажут причины перехода ребенка из статуса часто болеющего в статус больного бронхиальной астмой.

В связи с вышесказанным представляется актуальным изучение состояния иммунной системы, продукции цитокинов, инфицированности внутриклеточными патогенами у детей с бронхиальной астмой и сравнение этих показателей с аналогичными показателями часто болеющих детей.

Цель настоящего исследования

Целью настоящей работы было сравнение иммунного статуса, интерферогенеза и продукции цитокинов у детей с бронхиальной астмой в различные периоды заболевания и у часто болеющих детей.

Задачи исследования

1. Исследование изменений в состоянии иммунной системы, интерферогенеза и продукции цитокинов у детей с бронхиальной астмой в разные периоды заболевания.
2. Сравнение состояния показателей иммунной системы и интерферогенеза у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой в разные периоды заболевания.
3. Сравнение содержания в сыворотке крови и индуцированной продукции ИФН γ и ИЛ-4 у детей с бронхиальной астмой и часто болеющих детей.
4. Исследование влияния инфицированности внутриклеточными микроорганизмами на состояние иммунной системы, интерферогенез и продукцию цитокинов у детей с бронхиальной астмой и часто болеющих детей.

5. Изучение влияния иммуномодулятора Виферон на иммунный и интерфероновый статус детей, страдающих бронхиальной астмой.

Научная новизна

В работе впервые комплексно проанализировано в динамике по многим иммунологическим параметрам (иммунный статус, интерфероновый статус, продукция цитокинов, фагоцитарная активность нейтрофилов) состояние детей, страдающих бронхиальной астмой, в разные периоды заболевания и детей, часто и длительно болеющих респираторными инфекциями.

Выявлено, что у детей в приступном периоде бронхиальной астмы (БА) наблюдается дефицит клеточного иммунитета и нарушение интерфероногенеза. В послеприступном периоде эти показатели приходят к норме примерно через три месяца.

Впервые показано, что у ЧБД имеются более выраженные нарушения в клеточном звене иммунитета, чем у детей с приступом бронхиальной астмы. Так, у ЧБД отмечалось статистически достоверное снижение процента и абсолютного количества CD3+, CD4+, CD19+клеток по сравнению с нормой и показателями детей с БА.

Было выявлено, что при бронхиальной астме дети, серопозитивные по *Chlamydia pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae* (*C.pneum.* и *M.pneum.*), встречаются в 2 раза чаще, чем в группе часто болеющих детей.

Предложена оригинальная совокупная оценка продукции цитокинов ИЛ-4 и ИФН γ для каждого индивидуума, которая дала возможность выявить, что у часто болеющих детей, не страдающих БА, высокая продукция ИЛ-4 сопровождается высокой продукцией ИФН γ , а у детей в приступном периоде БА при высокой продукции ИЛ-4 продукция ИФН γ снижена.

У детей, находящихся в приступном периоде БА, дисбаланс соотношения Тх1 и Тх2 более выражен, чем у часто болеющих детей, страдающих бронхиальной астмой и находящихся в периоде ремиссии, т.е. в межприступном периоде.

Новыми являются данные о том, что иммуномодулятор Виферон способствует увеличению сниженной численности субпопуляций лимфоцитов и нормализации интерферонового статуса у детей в приступном периоде БА.

Практическая значимость работы связана с обоснованием необходимости нормализации показателей иммунного статуса, интерфероногенеза и продукции цитокинов у часто болеющих детей, что, вероятно, позволит снизить риск возникновения у них бронхиальной астмы.

Внедрение результатов работы

Материалы диссертации включены в курс практических занятий кафедры иммунологии РГМУ и вошли в медицинскую технологию «Использование иммуномодуляторов для коррекции показателей иммунной и цитокиновой систем при оздоровлении детей, часто болеющих острыми респираторными и вирусными заболеваниями верхних дыхательных путей».

Положения, выносимые на защиту

1. Изменения в состоянии иммунной системы детей с бронхиальной астмой и часто болеющих детей имеют одну направленность, но разную выраженность – численность субпопуляций лимфоцитов изменена более значительно у ЧБД, продукция интерферонов снижена у обеих групп детей, но у ЧБД в большей степени подавлена продукция ИФНа.
2. Инфицированность внутриклеточными патогенами детей с бронхиальной астмой и ЧБД мало влияет на численность субпопуляций лимфоцитов, но приводит к подавлению продукции ИФНа. Активность Тх1 и Тх2 у часто болеющих детей и больных с приступом БА различна.
3. У часто болеющих детей, не страдавших бронхиальной астмой, высокая продукция ИЛ-4 в культуре клеток крови сопровождается высокой продукцией ИФН γ , а у детей в приступном периоде

бронхиальной астмы при высокой продукции ИЛ-4 продукция ИФН γ снижена.

Апробация материалов диссертации

Результаты работы доложены и обсуждены на международной конференции «Пробиотики, пребиотики, синбиотики и функциональные продукты питания. Современное состояние и перспективы» (Москва, июнь 2004г.), на Всероссийском научном симпозиуме «Цитокины. Стволовая клетка. Иммунитет» (Новосибирск, июль 2005г.), на конгрессе «Дни Иммунологии в Санкт-Петербурге 2006».

Апробация диссертационной работы проведена на заседании Секции Ученого Совета ФГУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского "Общая и прикладная иммунология " 10 апреля 2006 г.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 136 страницах и состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы», главы «Результаты собственных исследований», обсуждения результатов, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 10 рисунками и 17 таблицами. В список литературы вошли 157 работ отечественных и зарубежных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Исследование было проведено в лаборатории по изучению клеточных и молекулярных основ иммунитета ФГУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского в сотрудничестве с врачами кафедры детских болезней РУДН (зав. кафедрой-профессор Л.Г. Кузьменко).

Материалы исследования

Основными объектами исследования служили взятые у детей лимфоциты периферической крови, сыворотка крови, супернатанты стимулированных культур лейкоцитов периферической крови.

В ходе работы было обследовано 165 детей в возрасте от 3 до 7 лет.

Первая группа состояла из 59 детей, госпитализированных в стационар с диагнозом «бронхиальная астма средней тяжести, приступный период».

Вторую группу составили часто болеющие дети (106 человек), поступившие в санаторий «Кратово» для прохождения курса реабилитационно-оздоровительных мероприятий. У 21 ребенка имелась бронхиальная астма в фазе ремиссии, 85 детей не имели этого заболевания.

Контрольную группу (норма) составили 47 здоровых детей в возрасте 3 – 7 лет, ранее обследованных теми же методами в лаборатории по изучению клеточных и молекулярных основ иммунитета ФГУН МНИИЭМ им. Г.Н.Габричевского.

Наблюдения проводились в динамике - при поступлении в стационар (санаторий) и через 20 дней. 15 детей с БА были обследованы через 3 месяца после госпитализации.

В качестве иммуномодулятора был использован препарат Виферон в ректальных суппозиториях (рег.№000017/01-2000). Виферон состоит из рекомбинантного ИФН α 2 β в комплексе с антиоксидантами: α -токоферола ацетат (витамин Е) и аскорбиновой кислоты (витамин С) в терапевтических дозах.

Виферон включался в комплексное лечение детей с бронхиальной астмой в приступном периоде. Дети получали Виферон в течение 10 дней, один раз в сутки.

Методы исследования

Имунофенотипирование CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, CD16+ - лимфоцитов осуществляли иммунофлюоресцентным методом с использованием моноклональных антител фирмы «Сорбент» (Россия).

Определение интерферонового статуса человека проводили микрометодом в цельной гепаринизированной крови по методике С.С. Григорян (Григорян С.С.,1989; Ершов Ф.И.,1996). Определяли уровень интерферона в сыворотке крови, способность лейкоцитов периферической крови к спонтанной продукции интерферонов и под действием индукторов ИФН α (вирус болезни Ньюкасла, штамм Канзас, любезно предоставленный сотрудниками ГУ «Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им.Н.Ф.Гамалеи» РАМН, Москва) и ИФН γ (фитогемагглютинин Р, «DIFCO», США).

Фагоцитарную активность нейтрофилов определяли по их способности к поглощению и перевариванию *Staphylococcus aureus* по методу А.Н. Маянского с небольшими модификациями (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1989).

Определение концентрации IgA, IgM и IgG в сыворотке крови было выполнено методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини (Чернохвостова Е.В., Герман Г.П., 1984; Manchini G.et al., 1964).

Серологическую диагностику микоплазменной и хламидийной инфекции проводили иммуноферментным методом с использованием тест-систем фирмы "Savyon" (Израиль).

Определение цитокинов ФНО α , ИЛ-4 и ИФН γ в сыворотках и супернатантах культуры клеток цельной крови проводилось иммуноферментным методом с помощью коммерческих наборов фирмы "Вектор-Бест" (Россия).

Статистическая обработка результатов была выполнена с помощью пакета программ Microsoft Excel. Статистически достоверное различие определялось с использованием t-критерия Стьюдента и критерия Манна-Уитни.

Результаты исследования и их обсуждение

Было проведено исследование состояния иммунного, интерферонового и цитокинового статуса часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой в разные периоды заболевания.

При сравнении показателей иммунного статуса детей, больных БА, в приступном периоде, в послеприступном периоде (через 3 недели после госпитализации) и в ремиссии были получены следующие результаты. При приступе бронхиальной астмы наблюдалось снижение процента и абсолютной численности лимфоцитов, Т-хелперов (CD4+лимфоцитов), а также снижение абсолютной численности Т-клеток (CD3+лимфоцитов) по сравнению с возрастной нормой.

Спустя три недели после приступа бронхиальной астмы эти показатели оставались также сниженными. Через три месяца после приступа у этих же детей отмечалась некоторая положительная динамика: содержание CD3+- клеток нормализовалось. Сохранялось низкое содержание Т-хелперов, что вообще свойственно больным БА. Содержание В-клеток по сравнению

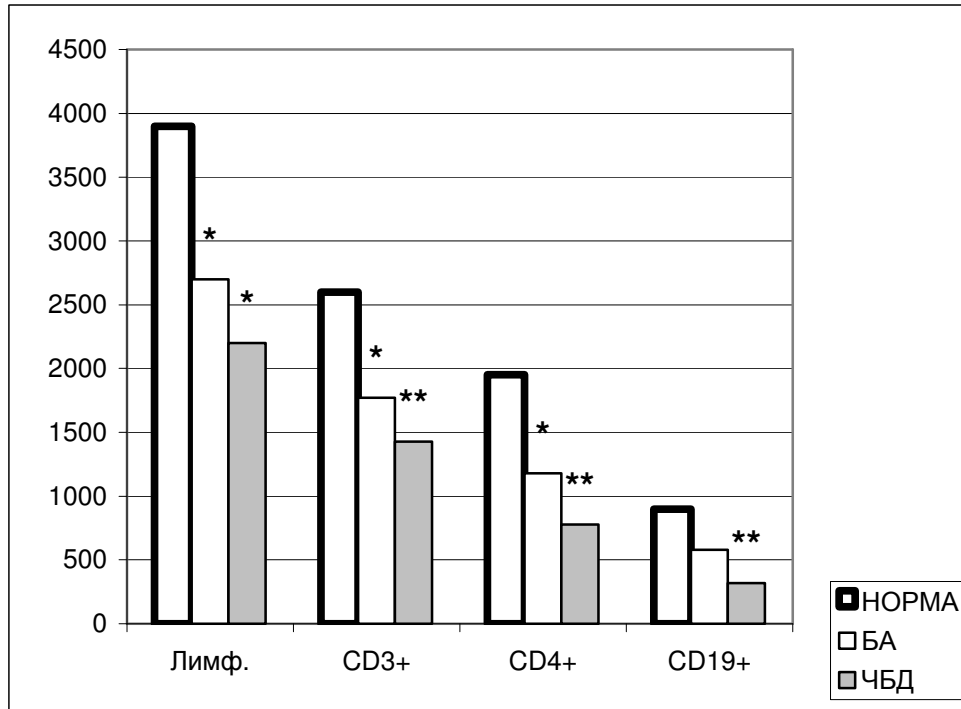
с приступным периодом уменьшилось и стало значимо ниже возрастной нормы.

У 75 процентов детей в приступном периоде БА было сниженное количество В-клеток. У этих детей было также снижено содержание в сыворотке крови IgG ($9,9 \pm 0,6$ мг/мл) по сравнению с возрастной нормой ($12,3 \pm 1,8$ мг/мл).

Фагоцитарная активность нейтрофилов в разные периоды заболевания БА значимо не менялась и не отличалась от возрастной нормы.

Так как приступ бронхиальной астмы у находившихся под наблюдением детей провоцировался ОРЗ, состояние их иммунной системы было целесообразно сравнить с состоянием часто болеющих детей, не страдающих астмой, но перенесших очередное ОРЗ.

Рис. 1. Численность некоторых субпопуляций лимфоцитов у часто болеющих детей и у детей, находящихся в приступном периоде БА.



По оси ординат – количество лимфоцитов в 1 мкл крови

*-значимо отличается от нормы ($p \leq 0,05$).

** -значимо отличается от приступного периода БА ($p \leq 0,05$).

Показано, что у ЧБД снижение процента и абсолютного количества CD3+, CD4+, CD19+лимфоцитов было выражено сильнее, чем у детей с БА в приступном периоде, т.е. иммунодефицитное состояние у ЧБД более выражено, чем у детей с БА.

Анализ результатов исследования интерферонового статуса детей показал, что в приступном периоде БА подавляющее большинство детей имели сниженную способность клеток цельной крови к продукции как ИФН α , так и ИФН γ . Способность к спонтанной продукции интерферона и содержание его в сыворотке крови были в пределах нормы.

Через три недели после приступа БА продукция ИФН α приходила к норме, а способность к продукции ИФН γ оставалась сниженной. Однако уже через 3 месяца у этих же детей показатели интерферонового статуса значительно улучшались и достигали пределов возрастной нормы.

Табл. 1. Индуцированная продукция интерферонов у детей с бронхиальной астмой в разные периоды заболевания (ед/мл, среднее и 95%-ный доверительный интервал).

ИФН	Бронхиальная астма			Норма
	Приступный период	Послеприступный период		
		3нед.	3мес.	
ИФН α	130 * (102 – 162)	165 (123 – 214)	202 (152 – 265)	188 (146 – 241)
ИФН γ	17* (13 – 21)	16* (12 – 23)	27 (17 – 41)	30 (20 – 45)
Количество больных	n=56	n=35	n=15	n=13

*- значимо отличается от нормы ($p \leq 0,05$).

Поскольку большая часть детей поступила в стационар с диагнозом «бронхиальная астма, приступный период, спровоцированный ОРЗ», мы

сочли целесообразным проследить влияние ОРЗ на продукцию интерферонов у детей с БА и ЧБД (табл.2).

Дети, госпитализированные в стационар в приступном периоде бронхиальной астмы, имели сниженную продукцию ИФН α и ИФН γ . Через три недели от начала лечения отмечалось увеличение уровня стимулированной продукции ИФН α , а продукция ИФН γ не изменялась.

Далее была сделана попытка проследить наличие разницы в выше описанных показателях у ЧБД с БА или без неё.

В группе часто болеющих детей, страдающих бронхиальной астмой, при ОРЗ отмечается значительное снижение продукции ИФН α . В группе часто болеющих детей, не страдающих бронхиальной астмой, при ОРЗ также отмечается значимое снижение продукции ИФН α .

Создается впечатление, что уровень ИФН α в обследованных группах снижен за счет ОРЗ, которое истощает его продукцию (табл.2). Во всех группах у детей без ОРЗ продукция ИФН α была выше (значимо или в виде тенденции), чем у детей с ОРЗ. В тоже время γ -интерфероногенез одинаково снижен у больных бронхиальной астмой и ЧБД независимо от наличия или отсутствия ОРЗ у ребенка – это выявлено и в группах детей больных бронхиальной астмой, и в группах часто болеющих детей.

Табл. 2. Влияние ОРЗ на индуцированную продукцию ИФН α и ИФН γ у детей с бронхиальной астмой и часто болеющих детей.

(ед/мл, среднее и 95 %-ный доверительный интервал).

ИФН	при приступе БА после ОРЗ		У ЧБД, страдающих БА		у ЧБД, не страдающих БА		Норма
	в приступ ном периоде	через 3 недели после приступа	ОРЗ	без ОРЗ	ОРЗ	без ОРЗ	
ИФН α	117* (85–162)	151 (112– 204)	49* (30–81)	79* (42–151)	79* (65–98)	120 (87–166)	188 (146–241)
ИФН γ	13*	17*	17*	16	22*	17*	30

	(10 – 19)	(12 – 23)	(12–26)	(6 – 45)	(8– 27)	(13 – 23)	(20 – 45)
Количество детей	33	31	14	6	54	31	13

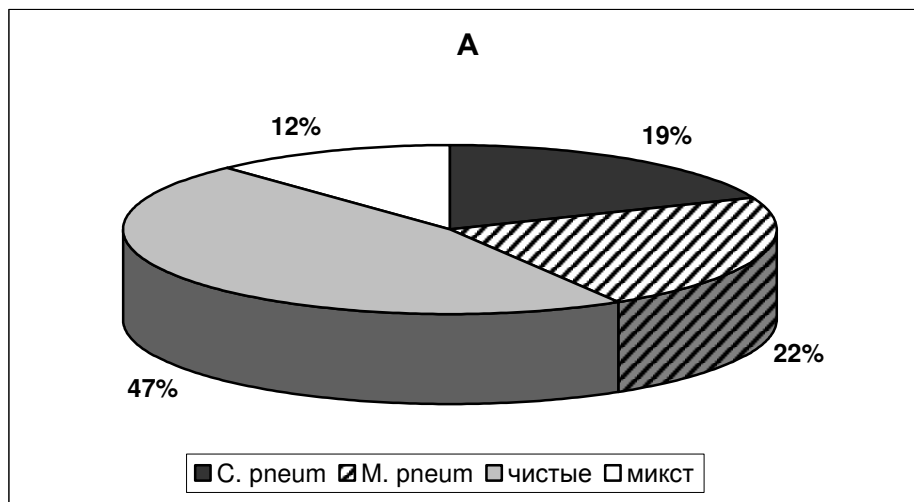
* - значимое отличие от возрастной нормы

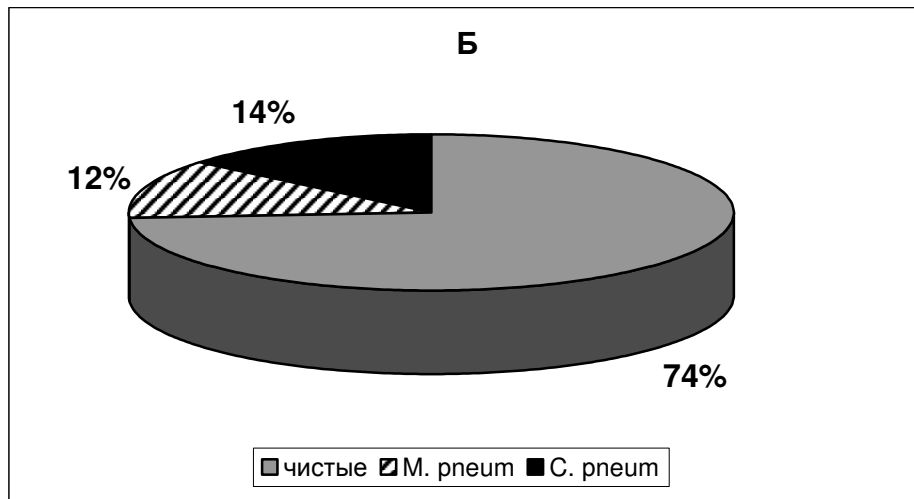
Считается, что у людей, инфицированных внутриклеточными патогенами, страдает система интерферогенеза и повышается риск возникновения приступов БА.

Действительно, по нашим данным 53% детей, госпитализированных с приступом БА, оказались серопозитивными по *S. pneumoniae* и (или) *M. pneumoniae*. Среди ЧБД таких детей было меньше - лишь 26% от общего числа (рис.2).

Рис. 2. Частота инфицированности *S. pneumoniae* и *M. pneumoniae* детей с обострением бронхиальной астмы (А) и часто болеющих детей (Б).

Представлялось важным узнать, как влияет инфицированность этими внутриклеточными патогенами на иммунный и интерфероновый статус детей.





Сравнение численности субпопуляций лимфоцитов инфицированных и неинфицированных детей (как с БА, так и ЧБД) показало, что дефицит лимфоцитов основных иммунологических субпопуляций у инфицированных детей несколько более выражен, чем у неинфицированных.

Интерфероновый статус неинфицированных детей с БА ближе к норме, чем у инфицированных. При одинаково сниженной продукции ИФН γ , способность к продукции ИФН α у них находилась в пределах возрастной нормы, тогда как у инфицированных детей она была снижена. У ЧБД продукция ИФН α и ИФН γ была снижена одинаково как у инфицированных, так и у неинфицированных (табл.3). Складывается впечатление, что у детей с бронхиальной астмой, помимо основной патологии, на снижение способности к продукции интерферонов влияет инфицированность *C. pneum.* и *M. pneum.* Вероятно, можно сделать вывод о том, что за счет инфицированности происходит дополнительное угнетение интерферогенеза.

Табл. 3. Индуцированная продукция ИФН α и ИФН γ у детей с БА и ЧБД в зависимости от инфицированности *C. pneum.* и *M. pneum.* (ед/мл, среднее и 95%-ный доверительный интервал)

ИФН	БА не инфиц.	БА инфиц.	ЧБД не инфиц.	ЧБД инфиц.	Норма

ИФН α	145 (106 – 197)	118* (81 – 170)	94* (81 – 110)	86* (63– 118)	188 (146 – 241)
ИФН γ	17* (13 – 23)	14* (10 – 20)	20* (16 – 24)	18* (12 – 28)	30 (20 – 45)
Количество больных	n=28	n=27	n=50	n=18	n=13

*- значимо отличается от нормы ($p \leq 0,05$).

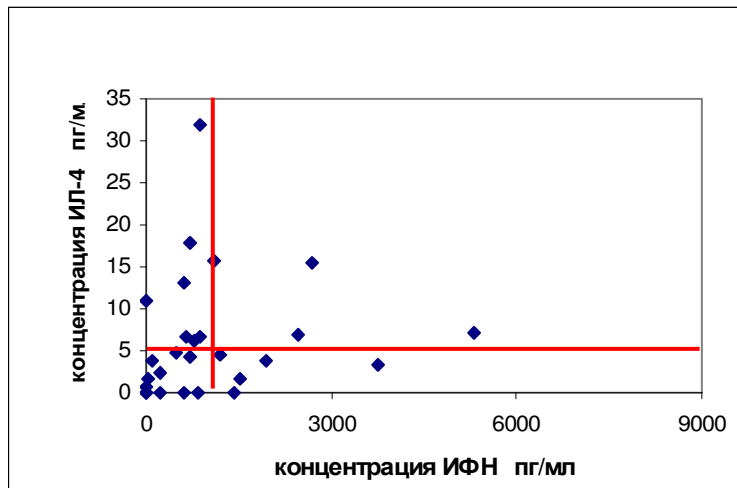
Следующий раздел работы был посвящен исследованию продукции цитокинов у обследованных контингентов детей.

При анализе продукции цитокинов и их содержания в сыворотке основным затруднением являлся большой разброс данных, из-за чего при сравнении средних арифметических значений разница между ними бывала недостоверной. Осуществлена попытка индивидуального сопоставления концентрации ИЛ-4 и ИФН γ на графиках, предварительно отделив линиями зоны незначительных концентраций цитокинов.

Для сывороток крови такими границами являлись 50 пг/мл (ИФН γ) и 5 пг/мл (ИЛ-4). Для оценки продукции ИФН γ в клеточной культуре мы выбрали границу в 1000 пг/мл, а для ИЛ-4 - 5 пг/мл.

На следующих 3-х рисунках по оси абсцисс – концентрация ИФН γ в исследуемых образцах, по оси ординат – концентрация ИЛ-4. Каждая точка внутри точечной диаграммы характеризует эти два показателя у обследованного ребенка. Границы незначительных концентраций проведены параллельно осям координат.

Рис. 3. Соотношение количества ИЛ-4 и ИФН γ в сыворотке крови у детей с приступом БА

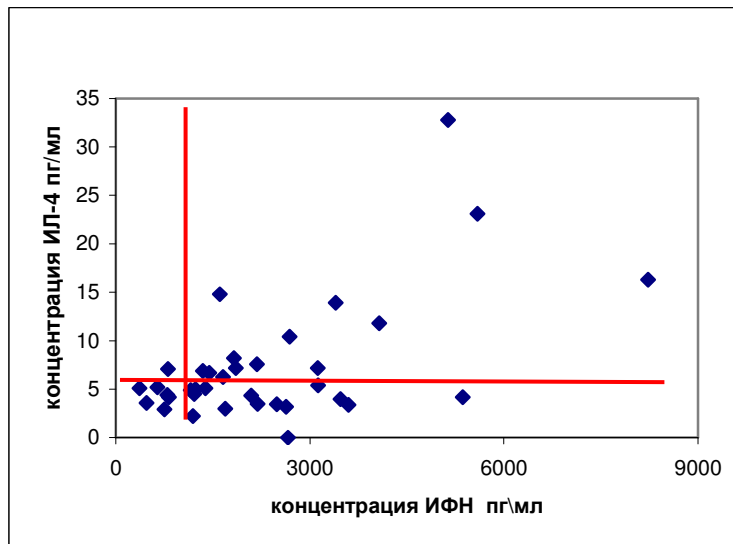


При сравнении баланса между индуцированной продукцией ИЛ-4 и ИФН γ у детей с приступом БА, спровоцированным ОРЗ, и у ЧБД, не страдающих БА, но перенесших очередное ОРЗ, были получены следующие данные.

Если на фоне ОРЗ развивается приступ БА, то несмотря на проводимую терапию повышается активность Тх2, что находит отражение в их способности продуцировать ИЛ-4. Иммуный ответ на возбудителя ОРЗ, спровоцировавшего приступ, отходит на второй план и иммунопатологические механизмы, обеспечивающие развитие БА, преобладают в общей картине цитокинового статуса. Это состояние возникает только в приступном периоде БА (рис.4).

У ЧБД через 5-14 дней после очередного ОРЗ типичным является сочетание высокой продукции ИЛ-4 и ИФН γ в культуре лимфоцитов. Повышение индуцированной продукции ИЛ-4 на фоне угнетения продукции ИФН γ практически не наблюдается (рис. 5).

Рис. 5. Соотношение количества ИЛ-4 и ИФН γ в культуральном супернатанте у часто болеющих детей при ОРЗ



У ЧБД, страдающих БА и находящихся в стадии ремиссии, после очередного ОРЗ активность Тх1 не была угнетена. Большая часть показателей была локализована в зоне высокой продукции ИФН γ . Если у части детей и возникало повышение активности клеток продуцентов ИЛ-4, то оно компенсировалось нормальной активностью Тх1 типа, то есть баланс между Тх1 и Тх2 выглядел так же, как при обычном ОРЗ.

Поскольку в ходе обследования были выявлены пациенты со сниженной способностью лейкоцитов периферической крови продуцировать ИФН γ и ИФН α , для части детей в состав комплексной терапии был введен Виферон.

В зависимости от получаемого лечения больные подразделялись на следующие группы.

- терапия без Виферона
- терапия с Вифероном

Виферон вводили в суппозиториях один раз в сутки, в течение 10 дней. Оценка воздействия препарата на состояние численности субпопуляций лимфоцитов и интерферогенез проводилась как на момент выписки из стационара (20 дней), так и на отдаленных сроках (через три месяца).

До начала лечения численность субпопуляций лимфоцитов у детей всех групп была значимо ниже возрастной нормы.

При использовании в курсе лечения препарата Виферон исходно сниженная численность субпопуляций увеличивалась, хотя и не доходила до возрастной нормы. Ни базисная терапия, ни ее сочетание с антибиотиками такого эффекта не давали (табл.4).

Табл. 4. Изменение численности субпопуляций лимфоцитов у детей с бронхиальной астмой по окончании лечения в стационаре.

Вид лечения	Численность субпопуляций лимфоцитов (в % к исходному уровню)						
	Лейк	Лимф	CD3+	CD4+	CD8+	CD19+	CD16+
Базисная терапия без Виферона	78	103	101	102	91	84	107
Базисная терапия + Виферон	103	126*	137*	136*	136*	120*	138*

*- значимо отличается от исходных показателей ($p \leq 0,05$).

Использование Виферона в терапии бронхиальной астмы положительно влияло как на продукцию ИФН α , так и на продукцию ИФН γ .

У детей, лейкоциты которых имели сниженную способность к продукции ИФН α , она значимо возрастала и достигала пределов возрастной нормы. Если продукция ИФН α исходно была нормальной, под влиянием Виферона она даже несколько повышалась. Исходно сниженная продукция ИФН γ также значимо увеличивалась при применении Виферона.

В группах, где данный препарат не был включен в терапию, были получены следующие данные. При исходно сниженной способности к

продукции ИФНа после курса базисной терапии отмечалась только тенденция к увеличению продукции данного цитокина; возрастная норма не достигалась. Исходно нормальная продукция ИФНа не изменялась.

Исходно сниженная способность к продукции ИФН γ в ходе проведения базисной терапии значительно улучшалась. Однако наблюдаемое увеличение не достигало возрастной нормы.

Полученные данные свидетельствуют о том, что включение в базисную терапию иммуномодулятора Виферон благоприятно влияет на интерферогенез.

ВЫВОДЫ.

1. В приступном периоде бронхиальной астмы у детей снижено содержание лимфоцитов, CD3+, CD4+-клеток и способность к продукции IgG. По выходе в ремиссию бронхиальной астмы приближение показателей к норме происходит не сразу, а в течение как минимум трех месяцев.
2. Численность субпопуляций лимфоцитов (CD3+, CD4+, CD19+) у часто и длительно болеющих детей ничем на момент обследования не болевших, была снижена сильнее, чем у детей с приступом бронхиальной астмы. У ЧБД, страдающих бронхиальной астмой и находящихся в ремиссии, все показатели несколько ниже, чем у ЧБД, не имеющих этого заболевания.
3. У детей в приступном периоде бронхиальной астмы и у ЧБД снижена способность лейкоцитов к индуцированной продукции как ИФНа, так и ИФН γ . Способность к продукции ИФНа восстанавливается уже через 3 недели после приступа бронхиальной астмы, а способность к продукции ИФН γ приходит к возрастной норме лишь через 3 месяца.
4. У ЧБД, не страдающих бронхиальной астмой, высокая продукция ИЛ-4 сопровождается высокой продукцией ИФН γ , а у детей в приступном периоде БА наблюдается высокая продукция ИЛ-4, но отсутствует

высокая продукция ИФН γ . У детей, обследованных в приступном периоде бронхиальной астмы, дисбаланс между Тх1 и Тх2 выражен существенно сильнее, чем у часто болеющих детей с БА в периоде ремиссии.

5. Среди детей с БА было в 2 раза больше инфицированных *S. pneumoniae* и *M. pneumoniae*, чем среди ЧБД. Инфицированность детей этими внутриклеточными патогенами подавляла у них α -интерфероногенез.
6. Применение Виферона при терапии приступа БА способствует увеличению сниженной численности субпопуляций лимфоцитов и нормализации интерферонового статуса.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Разные аспекты иммуномодулирующего действия препарата Ацилакт // Пробиотики, пребиотики, синбиотики и функциональные продукты питания. Современное состояние и перспективы. Сб. материалов международной конференции, Москва, 2–4 июня 2004, с. 93-94. (Бляхер М.С., Капустин И.В., Архипов С.Н., Лопатина Т.К., Федорова И.М., Рамазанова З.К., Карпова Н.В., Котелева С.И.)
2. Влияние вакцины ИРС 19 и препарата Ацилакт на продукцию некоторых цитокинов клетками периферической крови. // Russian Journal of Immunology, 2004, Vol. 9, supplement 1. (Федорова И.М., Капустин И.В., Архипов С.Н., Рамазанова З.К.)
3. Продукция TNF α нейтрофилами крови человека в процессе фагоцитоза стафилококка // Цитокины и воспаление, 2005, том 4, № 2, с. 77. (Федорова И.М., Капустин И.В., Рамазанова З.К., Котелева С.И.)
4. Состояние иммунной системы и продукция цитокинов у часто болеющих детей и у детей с бронхиальной астмой // Медицинская иммунология, 2005, т.7, № 2-3, с. 135. (Рамазанова З.К., Бляхер М.С., Капустин И.В., Архипов С.Н., Скирда Т.А.)

5. Ацилакт и оздоровление часто болеющих детей // Вестник Российской Академии Медицинских наук, 2005, №12, с.32-35. (Бляхер М.С., Федорова И.М., Лопатина Т.К., Архипов С.Н., Капустин И.В., Рамазанова З.К., Карпова Н.В., Иванов В.А., Шарапов Н.В.)
6. Изменения в иммунной и цитокиновой системах у детей в процессе перехода их от статуса часто болеющих к больным бронхиальной астмой // Медицинская Иммунология, 2006, том 8, № 2-3, с. 210. (Рамазанова З.К., Федорова И.М., Бляхер М.С., Лопатина Т.К., Лукашова И.В.)