

СОДЕРЖАНИЕ IgAs, IL-4 И BAFF В НАЗАЛЬНЫХ СЕКРЕТАХ И ЭКСПРЕССИЯ CD20⁺ НА В-КЛЕТКАХ В ГЛОТОЧНОЙ МИНДАЛИНЕ У ДЕТЕЙ С ТРАНЗИТОРНОЙ ГИПОГАММАГЛОБУЛИНЕМИЕЙ ДЕТСКОГО ВОЗРАСТА

© 2018 г. В. В. Климов, А. В. Климов

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск, Россия

Поступила: 04.05.2018. Принята: 08.06.2018

Обследовано 24 ребёнка в возрасте от 6 месяцев до 4 лет с частыми воспалительными инфекциями верхних дыхательных путей и 12 детей того же возраста, страдающих транзиторной гипогаммаглобулинемией (ТГД). При ТГД зарегистрировано статистически значимое снижение IgAs, BAFF в назальном секрете и экспрессии CD20⁺ на В-клетках глоточной миндалины.

Ключевые слова: дети, транзиторная гипогаммаглобулинемия, секреторный IgA, цитокины, В-клетки

DOI: 10.31857/S102872210002403-8

Адрес: 634050 Томск, ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России; Климов Владимир Васильевич.

Тел.: +79069506335, E-mail: klimov@mail.tomsknet.ru

Авторы:

Климов В. В., д. м. н., профессор, зав. кафедрой иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Томск, Россия;

Климов А. В., к. м. н., ассистент кафедры отоларингологии ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Томск, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из малых аномалий иммунной системы является транзиторная гипогаммаглобулинемия детского возраста (ТГД), которая не представляет собой фатальную форму первичного иммунодефицита и при которой до сих пор не описаны какие-либо генетические мутации [1, 2]. В клинико-иммунологическом аспекте для ТГД характерны: 1) снижение на 2 SD уровня IgG без или с уменьшением уровней IgM и IgA у детей в возрасте старше 6 месяцев до 2–6 лет, 2) сохранение гуморального ответа на вакцинации [2, 3]. В плане дифференциальной диагностики при ТГД, естественно, должны исключаться другие, более серьёзные в аспекте прогноза и выбора стратегии лечения формы первичных иммунодефицитов [4].

Точные этиология и иммунопатогенез ТГД до настоящего времени не известны [2]. С одной стороны, предполагается [5], что в связи со снижением экспрессии части корецепторного комплекса В-клеток (CD19) при сохранении другой части (CD21/CD81) после распознавания антигенов через BCR/HLA II первоначально нарушаются сигналинг и активация В-клеток, а в последующем – переключение синтеза IgM на продукцию IgG и далее Ig A. С другой стороны, отмечен факт сдерживания формирования и нарастания с возрастом числа В-клеток памяти с фенотипом IgD-IgM+IgG+IgA+CD27+ [6]. Однако оба процесса являются транзиторными и нивелируются по мере взросления ребёнка.

Целью настоящей работы было определение содержания IgAs, IL-4 и BAFF в назальных секретах и оценка экспрессии CD20⁺ на В-клетках в глоточной миндалине у детей с транзиторной гипогаммаглобулинемией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на базе Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск). Работа была одобрена локальным этическим комитетом, родители всех участников исследования подписывали информированное согласие на добровольное участие в научном исследовании.

Нами обследовано 12 детей в возрасте от 6 месяцев до 4 лет, страдающих рецидивирующими пиогенными инфекциями, у которых были снижены сывороточные иммуноглобулины ниже диагностических критериев: IgG < 5 г/л, IgM < 0,4 г/л, IgA < 0,2 г/л. При исключении у этих детей других, тяжёлых форм первичных иммунодефицитов, им был поставлен диагноз ТГД. В группу сравнения были включены 24 ребёнка того же возраста, страдающих повторными респираторными инфекциями, без доказанного первичного иммунодефицитного состояния. Контрольную группу составили 16 здоровых детей того же возраста.

Материалом для исследования были назальные секреты [7] и ткань глоточной миндалины. Ватный тупфер после введения в носовые ходы для сбора назального секрета, помещали в пробирку с физиологическим раствором и выдерживали 30 мин. Затем центрифугировали в течение 10 мин при 3000 об/мин. Супернатант по 0,2 мл разливали в эппендорфы и замораживали при температуре -72°C . В этом назальном секрете исследовались концентрации IgAs, IL-4 и BAFF методом твёрдофазного иммуноферментного анализа с пересчётом в пг/на 1 г белка секрета, определяемого микробиуретовым способом. Для определения IgAs и IL-4 использовались наборы «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия), а для BAFF – «R&D Systems, Inc.» (США).

Биопсию из центральной части аденоидных вегетаций производили непосредственно во время эндоскопической аденотомии под общей анестезии. Иммуногистохимическое исследование представляло собой выявление CD20⁺ маркёров В-клеток памяти в глоточной миндалине (аденоидах). Использовались моноклональные анти-

тела к CD20 фирмы «Thermo Scientific» (США). Производился подсчет клеток со специфической коричневой окраской на 1 мкм² фолликула, межфолликулярной и подэпителиальной зонах. На микроскопе МИКМЕД-5 (ЛОМО, Россия, Санкт-Петербург) (объектив 40×7) осуществляли подсчет клеток со специфической окраской в 12–20 полях зрения с использованием сетки Автандилова.

Для проведения статистической обработки полученных в ходе исследований результатов использовали статистический пакет «Statistica» версии 6.0 для Windows. Первоначально осуществлялась проверка количественных показателей на нормальность распределения. Поскольку оказалось, что данные не подчинялись нормальному закону распределения, применялись непараметрические критерии. Анализ количественных результатов проводили сравнением независимых выборок с помощью критерия Манна-Уитни (Mann – Whitney U-test). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в исследовании принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В среднем концентрации иммуноглобулинов у детей с ТГД на фоне, свободном от инфекций, были следующими: IgG 3,0 (1,2–4,5) г/л, IgM 0,3 (0,1–1,0) г/л, IgA 0,12 (0,09–0,33). Концентрации у детей без ТГД соответствовали возрастным нормам.

Полученные результаты исследования IgAs, IL-4 и BAFF в назальных секретах при ТГД отражены в **таблице 1**. Как видно из таблицы, у детей с ТГД зарегистрировано статистически значимое снижение IgAs и BAFF и отсутствие достоверных колебаний IL-4 как по отношению к контролю,

Таблица 1. Содержание IgAs, IL-4 и BAFF в назальном секрете при транзиторной гипогаммаглобулинемии детского возраста

Группа	IgAs (мг/г)	IL-4 (пг/г)	BAFF (пг/г)
Здоровые дети (n=16)	38,3 (27,48–62,47)	0,5 (0,01–1,9)	4,39 (1,83–7,02)
Дети с частыми эпизодами респираторных инфекций, без ТГД (n=24)	22,08 (17,85–33,15) p1	0,7 (0,2–1,3)	2,81 (1,74–5,23)
Дети с ТГД (n=12)	0,07 (0,005–0,092) p1, p2	0,5 (0,02–1,2)	1,12 (1,31–1,75) p1, p2

Примечание: Me – медиана, Q1–1-й квартиль, Q3–3-й квартиль; p1 – достоверность по отношению к здоровым детям, p2 – по сравнению с группой детей с частыми респираторными инфекциями, без ТГД

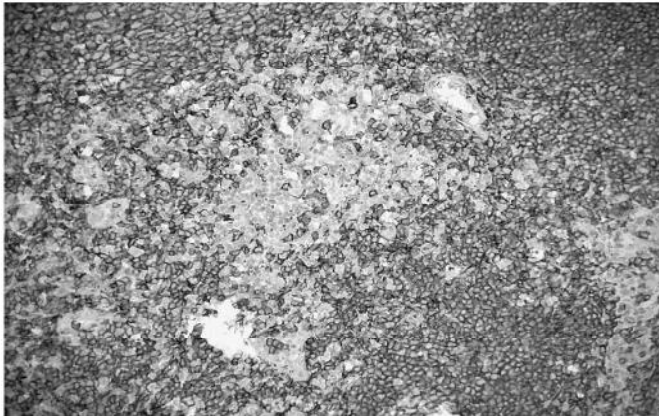


Рис. 1. Экспрессия CD20⁺ на В-клетках в лимфоидной ткани глоточной миндалины у ребенка с транзиторной гипогаммаглобулинемией детского возраста. Визуализация с помощью стрептавидина-биотина. x200.

так и уровню данных показателей у детей с частыми респираторными инфекциями без ТГД. Но в этой группе детей найдено достоверное снижение IgAs по отношению к контролю.

При иммуногистохимическом исследовании обнаружено преимущественное расположение CD20⁺ В-клеток (см. **рисунок 1**) внутри фолликула, однако они встречались и в межфолликулярном пространстве, и подэпителиальной зоне. Иммуногистохимическое исследование показало, что достоверно большим количеством CD20⁺-клеток ($p < 0,001$) отличались фолликулы миндалин у детей без ТГД (6773,0 (6432,0–7899,0)) по сравнению с детьми с ТГД (3578,0 (3141,5–4135,0)).

ОБСУЖДЕНИЕ

IL-4, наряду с IL-21, относится к числу главных цитокинов, регулирующих течение В-клеточных иммунных ответов и переключение изотипов иммуноглобулинов. Полученные нами результаты могут соответствовать о том, что на локальном уровне не удалось выявить значимого влияния IL-4 на продукцию IgAs. С учётом биологической роли В-лимфоцитарного активационного фактора (BAFF), имеющего В-клеточное происхождение [8], обнаруженное нами снижение BAFF в назальном секрете может играть роль в недостаточной активности локальных Т-независимых механизмов диф-

ференцировки В-клеток. Обнаружение более низкой экспрессии CD20⁺ на В-клетках в глоточной миндалине у детей с ТГД может свидетельствовать и о более низком проценте В-клеток памяти у них [5, 9].

Полученные нами данные имеют известный интерес, так как предполагают потребность в более глубоких исследованиях механизмов секреции IgAs и других иммуноглобулинов при ТГД, а также количества IgD-IgM+IgG+IgA+CD27+ В-клеток памяти в лимфоидной ткани носоглотки, которая наиболее подвержена рецидивирующим инфекциям и при ТГД, и у детей раннего возраста в целом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Oliveira J.B., Fleisher T.A. Laboratory evaluation of primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol* 2010, 125 (2), 297–305.
2. Ovidia A., Dalal I. Transient hypogammaglobulinemia of infancy. *LymphoSign Journal* 2014, 1 (1), 1–9.
3. Whelan M.A., Hwan W.H., Beausoleil J. et al. Infants presenting with recurrent infections and low immunoglobulins: characteristics and analysis of normalization. *J. Clin. Immunol* 2006, 26, 7–11.
4. Bukowska-Strakova K., Kowalczyk D., Baran J. et al. The B-cell compartment in the peripheral blood of children with different types of primary immunodeficiency. *Pediatr Res* 2009, 66, 28–34.
5. Artac H., Kara R., Gokturk B., Reisli I. Reduced CD19 expression and decreased memory B cell numbers in transient hypogammaglobulinemia of infancy. *Clin Exp Med* 2013, 13(4), 257–263.
6. Huck K., Feyen O., Ghosh S., Beltz K., Bellert S., Niehues T. Memory B-cells in healthy and antibody-deficient children. *Clin. Immunol* 2009, 131 (1), 50–59.
7. Климов А. В., Деев И. А., Климов В. В. Содержание IgAs, IL-10 и BAFF в назальных секретах у детей с транзиторной гипогаммаглобулинемией детского возраста. *Российский иммунологический журнал* 2016, 10 (19) (3), 279–280. [Klimov A. V., Deev I. A., Klimov V. V. IgAs, IL-10 and BAFF in nasal fluid in transient hypogammaglobulinemia of infancy. *Russian Journal of Immunology* 2016, (19) (3), 279–280].
8. Henley T. B-cell responses to B-cell activation factor of the TNF family (BAFF) are impaired in the absence of PI3K delta. *Eur J Immunol* 2008, 38 (12), 3543–3548.
9. Çipe F.E., Doğu F., Güloğlu D. et al. B-cell subsets in patients with transient hypogammaglobulinemia of infancy, partial IgA deficiency, and selective IgM deficiency. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2013, 23 (2), 94–100.

**IgAs, IL-4, AND BAFF IN NASAL FLUID AND CD20⁺ B CELLS
IN NASOPHARYNGEAL TONSIL IN TRANSIENT
HYPOGAMMAGLOBULINAEMIA OF INFANCY**

© 2018 V. V. Klimov, A. V. Klimov

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Received: 04.05.2018. **Accepted:** 08.06.2018

24 children at the age from 6 months to 4 years with recurrent respiratory infections and 12 children at the same age with transient hypogammaglobulinaemia of infancy (THI) were examined. An essential decrease in IgAs and BAFF in nasal fluid and the CD20⁺ expression on nasopharyngeal tonsil's B cells in children with THI has registered.

Key words: children, transient hypogammaglobulinaemia, secretory IgA, cytokines, B cells

Authors:

Klimov V. V., ✉ MD, ScD, PhD, Professor, Head of Immunology and Allergy Dept, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia;

634050 Tomsk, Siberian State Medical University. Phone: +79039520022, **E-mail:** pavel_isaev80@mail.ru;

Klimov A. V., MD, PhD, Assistant Professor of Otolaryngology Dept, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia.

МЕТОДЫ КОРРЕКЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ ФАГОЦИТОВ И ЛОКАЛЬНЫХ ПРОЯВЛЕНИЙ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ПОЛОСТИ НОСА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ КАВИТАЦИИ

© 2018 г. А. М. Коркмазов, М. Ю. Коркмазов

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации, Челябинск, Россия

Поступила: 28.05.2018. Принята: 30.06.2018

Представлены результаты изучения эффективности применения ультразвуковой кавитационной терапии у больных с искривлением носовой перегородки в раннем послеоперационном периоде. Методы исследования: микробиологические, иммунологические (оценка активности и интенсивности фагоцитоза, тест восстановления нитросинего тетразолия), биохимические (исследование интенсивности липопероксидации по уровню первичных, вторичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов: диеновых конъюгатов, кетодиенов и сопряженных триенов, оснований Шиффа в липидном экстракте), статистические. Показана положительная динамика функциональной и биохимической активности нейтрофильных гранулоцитов в назальных смывах у лиц, перенесших ринохирургическое вмешательство после ультразвуковой кавитационной терапии, что свидетельствует о наличии качественных и количественных изменений нейтрофильных гранулоцитов назального секрета, регистрируемых в реакциях кислородзависимого метаболизма, свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты при использовании метода ультразвуковой кавитационной терапии в раннем послеоперационном периоде.

Ключевые слова: риносептопластика, носовая перегородка, врожденный иммунитет, антиоксидантная защита

DOI: 10.31857/S102872210002404-9

Адрес: 454092, Челябинск, ул. Воровского, 64, ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Коркмазов Мусос Юсуфович.
Тел.: +89193194604, **E-mail:** korkmazov74@gmail.com

Авторы:

Коркмазов М. Ю., д. м. н., профессор, заведующий кафедрой ЛОР болезней ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Челябинск, Россия;

Коркмазов А. М., ассистент кафедры ЛОР болезней ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Челябинск, Россия.

ВЕДЕНИЕ

На долю оперативных вмешательств полости носа приходится более трети всей хирургии ЛОР органов, а число послеоперационных рецидивов воспалительного генеза остается на высоком уровне [1]. В этом контексте, эффективность лечения определяется не только техническим мастерством выполнения хирургом операции,

но и течением послеоперационного периода [2]. В ответ на хирургическую альтерацию слизистой оболочки полости носа происходит дополнительный выброс медиаторов воспаления [3]. Возникающий при этом отек слизистой и подслизистого слоя, с дальнейшей экссудацией тканей и микроциркуляторным дисбалансом приводят нарушению основного механизма санации дыхательных путей — мукоцилиарного транспорта, риску вторичного инфицирования [4]. В настоящее время подтверждено облигатное возникновение у пациентов в послеоперационном периоде нарушений антимикробной защиты и иммунного гомеостаза, которое может быть восстановлено комплексными мерами терапии с применением ультразвукового кавитированного физиологического раствора.

Цель исследования — изучить состояние факторов антимикробной, антиоксидантной защиты, вариабельность процессов липопероксидации