



УДК 616.248:[612.42+612.112.93]

ПОКАЗАТЕЛИ ФЕНОТИПА ЛИМФОЦИТОВ И БАЗОФИЛОВ У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Е.Г. Асирян

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет», Витебск, Беларусь

Аннотация. Цель исследования — изучение фенотипа лимфоцитов и базофилов у детей с бронхиальной астмой.

Материалы и методы. Обследовано 150 детей в возрасте от 5 до 18 лет: 130 пациентов с бронхиальной астмой, 20 детей контрольной группы. Определяли уровень следующих показателей лимфоцитов и базофилов: $CD3^+$, $CD4^+$, $CD4^+CD25^+$, $CD19^+CD23^+$, $CD203c^+CD63^+$, $CD203c^+IgE$.

Результаты. При изучении показателей фенотипа лимфоцитов установлено, что уровень $CD4^+$, $CD4^+CD25^+$, $CD19^+$ лимфоцитов не имел статистически значимых отличий от показателя детей контрольной группы ($p > 0,05$). Относительный уровень $CD3^+$ лимфоцитов статистически значимо отличался от уровня контрольной группы ($p < 0,05$), однако находился в пределах референтных значений. Уровень $CD203c^+CD63^+$ базофилов, $CD203c^+IgE$ базофилов достоверно выше у детей с бронхиальной астмой, чем у детей контрольной группы ($p < 0,01$), в то же время абсолютный уровень $CD203c^+$ базофилов не имел достоверных отличий.

Заключение. Полученные в ходе исследования результаты свидетельствуют о том, что у детей с бронхиальной астмой уровень активированных базофилов статистически значимо выше, что свидетельствует об их участии в развитии заболевания.

Ключевые слова: фенотип, бронхиальная астма, базофилы, лимфоциты.

Вводная часть. Бронхиальная астма — это хроническое воспалительное заболевание бронхов, при котором наблюдается обратимая обструкция, которая приводит к приступам удушья [1]. Нарушение функции иммунной системы является основой патогенеза бронхиальной астмы. Известно, что при данном заболевании наблюдается дисбаланс в системе Т-хелперов, при этом преобладают Т-хелперов 2-го типа, снижается активность Т-хелперов 1-го типа [2; 3]. Одной из главных структур, расположенных на поверхности зрелых Т-лимфоцитов является $CD3^+$ -рецептор. Лимфоциты, несущие на своей поверхности $CD4^+$ -рецепторы, на-

зывают Т-лимфоциты-хелперы/индукторы, выполняющие, главным образом, хелперную функцию. $CD4^+$ лимфоциты помогают В-клеткам превращаться в антителопродуцирующую плазматическую клетку, а также $CD8^+$ лимфоцитам — в зрелую цитотоксическую Т-клетку. Для В-лимфоцитов характерна способность дифференцироваться в плазматические клетки и продуцировать антитела, а также играть роль антигенпредставляющих клеток [4].

В последние годы активно изучается роль базофилов в иммунной защите, а также их значение в патогенезе аллергических заболеваний. Од-



ним из новых методов выявления аллергии является определение количества активированных базофилов [5; 6]. Общепризнанным маркером базофилов крови, наиболее часто используемым для их идентификации, является CD203c. Дегрануляция базофилов сопровождается появлением активационных молекул — CD203c и CD63 [7—9].

Материалы и методы. В ходе работы обследовано 130 детей в возрасте от 5 до 18 лет, находившихся на лечении в аллергологическом отделении УЗ «Витебский областной детский клинический центр». Все дети наблюдались по поводу бронхиальной астмы. Диагноз заболевания установлен и подтвержден в стационаре на основании международных рекомендаций, обоснован данными анамнеза, клиническими проявлениями заболевания [10]. Определяли уровень следующих показателей лимфоцитов и базофилов: CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺CD25⁺, CD19⁺CD23⁺, CD203c⁺CD63⁺, CD203c⁺IgE. Контрольную группу составили 20 здоровых детей обоих полов 5—18 лет, не имеющие аллергических заболеваний.

Фенотипирование клеток проводили на точном цитометре Cytomics FC 500 (Beckman Coulter Inc., США) с использованием моноклональных антител производства ОДО «НИКП РЕСАН», Беларусь. Для лизиса эритроцитов использовали лизирующий раствор OptiLyse C.

Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартного пакета прикладных программ «Statistica 6.0». Для принятия решения о виде распределения количественного признака использовали критерий Шапиро-Уилка. Для описания признака распределение, которого отличается от нормального, использовали медиану и интерквартильный интервал. Использовались непараметрические методы статистического исследования, различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. Уровень лейкоцитов, а также относительное и абсолютное количество лимфоцитов у детей с бронхиальной астмой не имел статистически значимых отличий с показателями

детей контрольной группы. Количество Т-лимфоцитов (CD3⁺) у пациентов с бронхиальной астмой составило 74,6% [70,60—77,40%], что статистически отличалось от показателей контрольной группы, где уровень CD3⁺ лимфоцитов составил 70,65% [68,70—72,60%] ($p < 0,05$). Однако следует отметить, что в обеих группах показатели не выходили за пределы референтных значений (56—84%).

Уровень CD4⁺ лимфоцитов у детей с бронхиальной астмой составил 40,85% [36,8—45,0%], достоверных отличий с контрольной группой не установлено ($p > 0,05$). Однако при детальном анализе следует отметить, что у 32 (24,62%) детей уровень CD4⁺ лимфоцитов был меньше 37%, что ниже референтных значений (37—50%).

Уровень клеток, несущих на своей поверхности CD4⁺CD25⁺ рецептор, статистически значимо не отличался от контрольной группы и составил 0,70% [0,30—1,30%]. У 27 (20,77%) детей выявлен высокий уровень этого показателя. Уровень CD4⁺CD25⁺ лимфоцитов у этих пациентов превышал референтные значения (< 2% от Т-лимфоцитов), составил 4,6% [2,8—8,9%], что статистически выше уровня детей контрольной группы ($p < 0,001$). Абсолютный уровень CD4⁺CD25⁺ лимфоцитов у детей с бронхиальной астмой достоверно не отличался от показателя контрольной группы ($p > 0,05$). У пациентов с высоким относительным уровнем CD4⁺CD25⁺ лимфоцитов абсолютный уровень равен 173,19 кл/мкл [114,54—321,76 кл/мкл], что достоверно выше, чем у детей, не имеющих аллергопатологии ($p < 0,001$).

Относительный и абсолютный уровень В-лимфоцитов (CD19⁺) у детей с бронхиальной астмой статистически значимо не отличался от уровня детей контрольной группы ($p > 0,05$). Количество CD19⁺CD23⁺⁺ лимфоцитов в группе детей с бронхиальной астмой составило 31,90% [11,60—51,90%], что достоверно выше уровня детей контрольной группы ($p < 0,0001$). Абсолютный уровень этого показателя также статистически значимо отличался от показателя контрольной группы ($p < 0,0001$).



Таблица 1

**Абсолютное и относительное содержание субпопуляций лимфоцитов
у детей с бронхиальной астмой**

Показатели	Единицы измерения	Me [LQ—UQ]	
		Дети с БА (n = 130)	Контрольная группа (n = 20)
Лейкоциты	$\times 10^9$	7,22 [6,20—8,80]	7,05 [6,50—7,80]
Лимфоциты	%	42,00 [36,00—48,00]	39,00 [34,00—44,00]
	$\times 10^9$	3,02 [2,48—3,83]	2,68 [2,52—3,22]
CD3 ⁺	%	74,6 [70,60—77,40]	70,65 [68,70—72,60]*
	кл/мл	2,18 [1,81—2,86]	1,94 [1,80—2,29]
CD4 ⁺	%	40,85 [36,80—45,00]	42,95 [39,80—44,60]
	кл/мл	1,22 [0,97—1,54]	1,17 [1,00—1,23]
CD4 ⁺ CD25 ⁺	% от лимфоцитов	0,50 [0,20—1,00]	0,55 [0,30—0,80]
	кл/мл	16,18 [6,05—31,46]	17,09 [10,49—19,74]
CD19 ⁺	%	14,20 [12,70—16,40]	13,50 [11,40—14,60]
	кл/мл	442,67 [330,72—554,85]	372,56 [286,82—435,25]
CD19 ⁺ CD23 ⁺⁺	% от CD19 ⁺ лимфоцитов	31,90 [11,60—51,90]	3,45 [2,10—4,20]**
	кл/мл	124,73 [52,48—221,89]	10,83 [8,37—15,50]**

Примечание: * — достоверные отличия между группами с $p < 0,05$; ** — достоверные отличия между группами с $p < 0,0001$.

У детей с бронхиальной астмой уровень CD203c⁺ базофилов составил 4,00 кл/мл [3,00—7,00 кл/мл], что достоверно не отличалось от пациентов контрольной группы ($p > 0,05$). Относительный уровень CD203c⁺CD63⁺ базофилов у детей с бронхиальной астмой достоверно выше, чем у детей контрольной группы ($p < 0,0001$). Абсолютный уровень базофилов, несущих на своей поверхности активационный рецептор CD203c⁺, у детей с бронхиальной астмой статистически значимо выше, чем в контрольной группе ($p < 0,0001$) (табл. 2).

Относительный уровень CD203c⁺IgE базофилов составил 35,55% [21,70—46,80%], абсолютный уровень равен 1,43 кл/мл [0,75—2,30 кл/мл]. Оба показателя статистически значимо выше уровня детей контрольной группы ($p < 0,01$) (табл. 2). Низкий уровень CD203c⁺IgE базофилов ($< 30\%$) имели 49 (37,69%) детей, при этом у 4 детей установлен низкий уровень CD203c⁺CD63⁺ базофилов, а 45 (34,62%) пациентов имели высокий уровень CD203c⁺CD63⁺ рецептора (табл. 2).

Таблица 2

Фенотипирование базофилов у детей с бронхиальной астмой

Показатели	Единицы измерения	Me [LQ—UQ]	
		Дети с БА (n=130)	Контрольная группа (n=20)
CD203c ⁺	кл/мл	4,00 [3,00—7,00]	3,00 [2,00—4,00]
CD203c ⁺ CD63 ⁺	%	66,70 [46,70—80,40]	14,20 [12,90—15,80]**
	кл/мл	2,30 [1,30—4,62]	0,45 [0,43—0,55]**
CD203c ⁺ IgE	%	35,55 [21,70—46,80]	20,35 [17,50—24,00]*
	кл/мл	1,43 [0,75—2,30]	0,63 [0,48—0,89]*

Примечание: * — достоверные отличия между группами с $p < 0,01$; ** — достоверные отличия между группами с $p < 0,0001$.

Выводы

Результаты, полученные в исследовании, выявили особенности иммунного статуса у детей с бронхиальной астмой. Относительный уровень CD3⁺ лимфоцитов, относительный и абсолютный уровень CD4⁺ лимфоцитов, CD4⁺CD25⁺ лимфоцитов, CD19⁺ лимфоцитов не имели достоверных отличий в сравнении с уровнем детей контрольной группы. Относительный уровень CD3⁺ лимфоцитов статистически значимо отличался от контрольной группы. В тоже время относительный и абсолютный уровень CD203c⁺CD63⁺ базофилов, CD203c⁺IgE базофилов статистически значимо отличался от контрольной группы, показатели были значительно выше. Таким образом, установленные данные свидетельствуют об участии базофилов в развитии бронхиальной астмы, определение этих клеток является необходимым для оценки иммунного статуса детей с данным заболеванием.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жерносек В.Ф. Диагностика и лечение аллергических болезней у детей. Минск: РИВШ, 2013.
2. Agrawal D. K., Shao Z. Pathogenesis of allergic airway inflammation // *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2010. Vol. 10. № 1. P. 39-48.
3. Matusovsky O.S., Nakada E.M., Kachmar L., Fixman E.D., Lauzon A.M. CD4⁺ T cells enhance the unloaded shortening velocity of airway smooth muscle by

altering the contractile protein expression // *J. Physiol.* 2014. № 15; 592. P. 2999—3012.

4. Новиков Д.К., Новиков П.Д. Клиническая иммунопатология: руководство. М.: Мед. лит. 2009.

5. Kang M.G., Song W.J., Park H.K., Lim K.H., Kim S.J., Lee S.Y., Kim S.H., Cho S.H., Min K.U., Chang Y.S. Basophil Activation Test with Food Additives in Chronic Urticaria Patients // *Clinical Nutrition Research.* 2014. № 3. P. 9—16.

6. Синельникова Н.А., Бычкова Н.В., Калинина Н.М. Особенности иммунного ответа и активации базофилов у детей с хронической крапивницей // *Медицинская иммунология.* 2015. Т. 17. № 1. С. 39—46.

7. Янченко В.В., Величинская О.Г., Новиков Д.К. Фенотипирование базофилов крови IgE-связывающим пептидом при хронической крапивнице // *Имунопатология, аллергология, инфектология.* 2014. № 2. С. 19—22.

8. Siracusa M.C., Kim B.S., Spergel J.M., Artis D. Basophils and allergic inflammation Glossary // *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2013. Vol. 132. P. 789—801.

9. Konstantinou G.N., Asero R., Ferrer M., Knol E.F., Maurer M., Raap U., Schmid-Grendelmeier P., Skol P.S., Grattan C.E.H. EAACI taskforce position paper: evidence for autoimmune urticarial and proposal for defining diagnostic criteria // *Allergy.* 2013. Vol. 68. P. 27—36.

10. Pocket Guide for Asthma Management and Prevention (for Adults and Children than 5 Years) 2014 (update). The GINA reports are available on www.ginasthma.org.

INDICATORS PHENOTYPE LYMPHOCYTES AND BASOPHILS IN CHILDREN WITH ASTHMA

E.G. Asiryan

Educational institution «Vitebsk State Medical University», Vitebsk, Belarus

Annotation. To study the phenotype of lymphocytes and basophils in children with asthma.

Materials and methods. A total of 150 children aged 5 to 18 years: 130 patients with asthma, 20 children in the control group. Determines the level of the following indicators of lymphocytes and basophils: CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺CD25⁺, CD19⁺CD23⁺, CD203c⁺CD63⁺, CD203c⁺IgE.

Results. In the study of lymphocyte phenotype determined that the level of CD4⁺, CD4⁺CD25⁺, CD19⁺ lymphocytes had no statistically significant differences from the control group of children ($p > 0,05$). The relative level of CD3⁺ lymphocytes was significantly different from the control group level ($p < 0,05$), but was within the reference values. The level of CD203c⁺CD63⁺ basophils, CD203c⁺IgE was significantly higher in children with asthma than children in the control group ($p < 0,01$), while the absolute level CD203c⁺ basophils had no significant differences.

Conclusion. The findings of the study results suggest that children with asthma the level of activated basophils statistically higher, indicating their participation in the development of the disease.

Key words: phenotype, asthma, basophils, lymphocytes.



REFERENCES

1. Zhernosek V.F. Diagnosis and treatment of allergic diseases in children. Minsk: RIVSH. 2013. 120 p (in Russian).
2. Agrawal D.K., Shao Z. Pathogenesis of allergic airway inflammation. *Curr. Allergy Asthma Rep*, 2010, vol. 10, no. 1, pp. 39—48.
3. Matusovsky O.S., Nakada E.M., Kachmar L., Fixman E.D., Lauzon A.M. CD4+ T cells enhance the unloaded shortening velocity of airway smooth muscle by altering the contractile protein expression. *J. Physiol*, 2014, no. 15 (592), pp. 2999—3012.
4. Novikov D.K., Novikov P.D. Clinical immunopathology: manual. Moscow, Med. Lit, 2009.
5. Kang M.G., Song W.J., Park H.K., Lim K.H., Kim S.J., Lee S.Y., Kim S.H., Cho S.H., Min K.U., Chang Y.S. Basophil Activation Test with Food Additives in Chronic Urticaria Patients. *Clinical Nutrition Research*, 2014, № 3, pp. 9—16.
6. Sinelnikov N.A., Bychkova N.V., Kalinina N.M. Features of the immune response and basophil activation in children with chronic urticaria. *Medical immunology*. 2015, vol. 17, no. 1, pp. 39-46.
7. Yanchenko V.V., Velichinskaya O.G., Novikov D.K. Phenotyping blood basophils IgE-binding peptide in patients with chronic urticaria. *Immunopathology, Allergology, infectology*, 2014, no 2, pp. 19—22.
8. Siracusa M.C., Kim B.S., Spergel J.M., Artis D. Basophils and allergic inflammation Glossary. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2013, vol. 132, pp. 789—801.
9. Konstantinou G.N., Asero R., Ferrer M., Knol E.F., Maurer M., Raap U., Schmid-Grendelmeier P., Skol P.S., Grattan C.E.H. EAACI taskforce position paper: evidence for autoimmune urticarial and proposal for defining diagnostic criteria. *Allergy*. 2013, vol. 68, pp. 27—36.
10. Pocket Guide for Asthma Management and Prevention (for Adults and Children than 5 Years) 2014 (update). The GINA reports are available on www.ginasthma.org.