

ДОСЛІДЖЕННЯ РЕГУЛЯТОРНИХ ІМУННИХ МЕХАНІЗМІВ У ДІТЕЙ, ЩО ЧАСТО ХВОРІЮТЬ, ТА МОЖЛИВОСТЕЙ ЇХ КОРЕКЦІЇ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна

Мета: оцінити вплив симбіотика «Флувір®» на регуляторні показники імунної системи дітей молодшого шкільного віку, що часто хворіють (ДЧХ), у період нестійкої ремісії респіраторних захворювань.

Пацієнти і методи. Під стереженням знаходилися 40 дітей віком 6–11 років (26 (65%) хлопчиків і 14 (35%) дівчаток), які на основі даних анамнезу, результатів клінічного, інструментального, лабораторного обстеження були віднесені до диспансерної групи ДЧХ. Препарат «Флувір®» (дитячий) призначався усім хворим по одному саше два рази на день перед прийомом їжі курсом один місяць.

Результати. Застосування «Флувір®» протягом одного місяця сприяло покращанню загального стану та регресії клінічних проявів у 70% пацієнтів; посиленню мукозального, протийнфекційного, у т.ч. противірусного імунітету, та регуляторної здатності адаптивної імунної відповіді; стабілізації антигенпрезентуючих процесів, зменшенню активності запального процесу та аутоімунної настороженості захисних систем організму.

Висновки. Ступінь ефективності «Флувір®» при лікуванні ДЧХ можна оцінити як помірний з позитивною динамікою вивчених показників імунної системи.

Ключові слова: діти, що часто хворіють, регуляторні імунологічні механізми, мукозальний імунітет, симбіотик «Флувір®».

Вступ

Проблема частотої захворюваності дітей на гострі респіраторні інфекції не втрачає актуальності. Встановлено, що у дітей, які часто хворіють (ДЧХ), має місце порушення процесів росту, розвитку, дозрівання функціональних систем; відбувається формування хронічної патології ЛОР-органів, легенів, нирок, травного тракту, нервової системи; розвиваються алергічні, аутоімунні, імунопроліферативні захворювання тощо. У таких дітей часто формується резистентність до препаратів, які входять до традиційних схем лікування. Окрім медичних аспектів, проблема ДЧХ має серйозні соціально-економічні наслідки. Переконливо доведено, що у таких пацієнтів часто виникає соціальна дезадаптація, знижується шкільна успішність, порушується якість життя, як самої дитини, так і членів її родини [2,12,14].

У даний час ДЧХ відносять до особливої групи диспансерного спостереження, до якої входять в середньому 15–18% дітей нашої країни [15,19]. У деяких регіонах України частка ДЧХ досягає 25–65%. Близько 20% осіб з диспансерної групи ДЧХ хворіють на гострі респіраторні захворювання (ГРЗ) майже щомісяця [11,13,16,17]. Особливу увагу необхідно звернути не те, що значна частка ДЧХ реєструється серед дітей молодшого віку [8].

Спеціалісти стверджують, що «дитина, яка часто хворіє» — це не нозологічна форма і не діагноз, а особлива група диспансерного спостереження, яка включає дітей з частими респіраторними інфекціями, проявами алергічного характеру, що виникають через транзиторні імунodefіцитні порушення, а підвищена сприйнятливість до респіраторних інфекцій у них не пов'язана з природженими хворобами імунної системи. У зарубіжній літературі використовується термін «пацієнти з рекурентними ГРЗ». При цьому, наприклад, у Великобританії та США до цієї групи відносять дітей, які хворіють на ГРЗ понад 8 разів протягом року, а у Франції — понад 10 разів [15,27].

При повторних ГРЗ поряд з інфікуванням новими мікроорганізмами відбувається активація латентних, пер-

систуючих інфекцій вірусного, грибкового та бактерійного генезу, що ускладнює перебіг основного захворювання, сприяє хронізації патологічного процесу, посилює порушення в імунній системі. Сьогодні серед дитячого населення найчастіше спостерігається активація герпесвірусної інфекції, передусім Епштейн–Барра, інфекції, викликані вірусами герпесу 6 і 7 типів, та інших імунотропних інфекцій.

За останні роки вітчизняними та зарубіжними вченими накопичений значний матеріал, що стосується вивчення факторів ризику та причин формування частих захворювань у дітей, принципів лікування, реабілітації та профілактики. Однак немає єдиності щодо причин частотої захворюваності. На нашу думку, це пов'язано з недостатнім вивченням особливостей імунологічних порушень, насамперед місцевого мукозального імунітету, у таких дітей. Відсутня систематизація вже отриманих даних з урахуванням як динаміки регуляторних адаптивних процесів, так і зміни екологічної ситуації, оточуючого мікропейзажу, структури інфекційних захворювань, домінуючої ролі вірусної інфекції, а особливо інфекцій, асоційованих з імунною системою, впливу інших епігенетичних факторів (зокрема харчових) на стан імунної системи дітей тощо.

Одним з найважливіших патогенетичних механізмів формування імунопатології у ДЧХ є порушення мукозального імунітету. Його оцінка практикуючими лікарями в сучасних умовах є недостатньою. У першу чергу досліджуються стан локального захисту систем MALT, NALT, BALT та їх взаємовідносини з мікробіотою.

Зниження активності факторів місцевого імунітету значною мірою сприяє розвитку вірусно-бактерійних інфекцій, персистенції збудників і ремоделюванню уражених тканин. У той час як доведено, що антигени, які потрапили у шлунково-кишковий тракт, контактують з В-лімфоцитами та різними імунорегуляторними Т-лімфоцитами лімфоїдної тканини GALT. Дозрілі, підготовлені до продукції sIgA, В-лімфоцити залишають GALT і через лімфатичну дренажну систему та селезінку розселяються у власну пластинку слизових оболонок різних орга-

нів — слинних залоз, бронхів, сечостатевого шляху, травного каналу, кон'юнктиву тощо, «озброюючи» велику кількість слизових поверхонь проти антигенів, які знаходяться у навколишньому середовищі (в т.ч. мікроорганізмів, алергенів) [9,18].

Потребує також удосконалення тактика лікувально-реабілітаційних заходів, насамперед скерованих на нормалізацію функціонування місцевого імунітету, складові якого першими вступають у боротьбу з інфекційними агентами. Все це диктує необхідність розробки нових підходів до діагностики, лікування та реабілітації таких пацієнтів з використанням препаратів комплексної етіопатогенетичної дії, які посилюють місцевий імунітет, чинять імунорегуляторний вплив, володіють високою ефективністю і є безпечними при застосуванні у педіатричній практиці.

Останнім часом, з метою зменшення частоти та тяжкості перебігу ГРЗ, дослідники зосередили увагу на застосуванні пробіотиків, пребіотиків та симбіотиків. Застосування симбіотиків виявляється більш ефективним, оскільки їх пребіотичні компоненти призводять до більш швидкої та стійкої інтеграції та колонізації пробіотичними штамми слизової кишкової людини. Результати проведених рандомізованих плацебо-контрольованих досліджень показали, що застосування цих препаратів на 27–31% зменшувало частоту всіх інфекційних захворювань, у тому числі частоту ГРЗ, а також сприяло: 1) підвищенню фагоцитарної активності фагоцитів завдяки посиленню експресії на поверхні цих клітин рецепторів CR1, CR3, FcγRIII та FcαR, що полегшувало розпізнавання ними патогенів [22,23]; 2) підвищенню продукції ІЛ-12 та ІЛ-15, які є ключовими цитокінами для дозрівання та активації натуральних кілерів [26,28]; 3) підвищенню рівня сироваткового ІgА через вплив пробіотичної флори на лімфоїдну тканину GALT; 4) зниженню активності CD4⁺-лімфоцитів та продукції прозапальних цитокінів, у тому числі фактору некрозу пухлин α (ФНП-α) [30–32].

Результати цих досліджень показують, що застосування пробіотичних бактерій, з одного боку, чинить імуностимулюючий вплив на імунітет, з іншого — пригнічує імунну відповідь у разі її гіперактивності, тобто вони мають імунорегуляторну дію, працюючи з різними видами імунокомпетентних клітин. Кишкова мікробіота активно впливає на перебіг різних патологічних станів, у тому числі на швидкість досягнення стійкої ремісії при частих рецидивних захворюваннях.

Найбільш важливою серед регуляторних клітин є унікальна лінія регуляторних Т-лімфоцитів (Трег), які контролюють запальну реакцію та специфічну імунну відповідь на інфекційний агент [1,3,20,21]. Описано дві субпопуляції Трег-клітин: 1) природні (натуральні) антиген-неспецифічні Трег-клітини тимусного походження; 2) адаптивні антигенспецифічні Трег-клітини, які виникають у процесі імунної відповіді. Природні антиген-неспецифічні CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Трег-клітини відіграють ключову роль у контролі толерантності до власних антигенів через пригнічення аутореактивних Т-лімфоцитів, попередженні аутоімунних процесів, обмежують активацію CD4⁺- і CD8⁺-Т-лімфоцитів тощо. Індуковані антигеном CD4⁺ Трег-клітини різняться між собою умовами активації, фенотипом і механізмами супресивного впливу. Серед цієї субпопуляції виділяють: 1) адаптивні CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Трег-клітини, які за фенотипом і механізмом впливу на клітини-мішені не відрізняються від природних Трег; 2) Трег 1 — CD4⁺CD25⁺Foxp3⁻ — володіють дистанційним супресивним впливом на клітини-мішені через синтез ІЛ-10;

3) Трег 2 — CD4⁺CD25⁻Foxp3⁻ (раніше позначалися як Th3) — володіють дистанційним супресивним впливом на клітини-мішені через синтез ТФР-β. Отже, імунна відповідь проти збудників інфекції знаходиться під контролем спочатку натуральних CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺, які априорі присутні в організмі, а згодом — індукованих у ході адаптивної імунної відповіді CD4⁺CD25⁻Foxp3⁻ [24,34,36,37].

До симбіотиків, що застосовуються у дітей від народження, належить «Флувір®» у вигляді саше. Одне саше симбіотика «Флувір®» містить: *Lactobacillus rhamnosus* LR04 (2,5 млрд), *Lactobacillus rhamnosus* LR05 (2,5 млрд), *Bifidobacterium lactis* BS01 (5 млрд), *Lactobacillus plantarum* LP01 (2,5 млрд), *Lactobacillus plantarum* LP02 (2,5 млрд), фруктоолігосахариди (ФОС). Симбіотик «Флувір® для дітей» містить половинні концентрації зазначених елементів [4]. Пребіотична складова ФОС є синергістом, що прискорює колонізацію кишки та закріплення в ній пробіотичних бактерій, які входять до складу «Флувір®». Важливо, що кожен з компонентів симбіотика чинить позитивний вплив на основні ланки імунної системи. Доведено, що вживання *L. rhamnosus* підвищувало активність фагоцитозу макрофагів та нейтрофілів на 19% та активність натуральних кілерів на 71%. Вказані ефекти дещо слабшали після відміни терапії, проте тривалий час залишалися вищими за вихідний рівень [35].

Мета дослідження — оцінити вплив «Флувір®» на регуляторні показники імунної системи дітей молодшого шкільного віку, що часто хворіють, у період нестійкої ремісії респіраторних захворювань.

Матеріал і методи дослідження

Під стереженням знаходилися 40 дітей молодшого шкільного віку (6–11 років), які на основі даних анамнезу, результатів клінічного, інструментального, лабораторного обстеження були віднесені до диспансерної групи ДЧХ з частотою ГРЗ більше 8 разів на рік. Серед обстежених було 26 (65%) хлопчиків і 14 (35%) дівчаток. Усі хворі знаходилися на амбулаторному лікуванні у Західноукраїнському Центрі клінічної імунології та алергології протягом 2013 року.

У дітей було діагностовано: синдром лімфаденопатії — у 19 (47,5%) осіб, синдром хронічної втоми — у 32 (80,0%), тривалий субфебрилітет — у 4 (10,0%), синдром дисбіозу — у 3 (7,5%), синдром респіраторних імунодефіцитних порушень з проявами хронічного тонзиліту, отиту, риносинуситу — у 19 (47,5%); алергопатологію з проявами ІgE-залежного атопічного дерматиту, алергічного риніту — у 5 (12,5%). У 17 (68%) пацієнтів спостерігалась асоціація вищевказаних синдромів.

При проведенні клінічного огляду хворих пальпувалися передньо-, задньошийні та підщелепові лімфатичні вузли, діаметром до 1,5 см, м'якоеластичні, рухомі, дещо болочі при пальпації у шести хворих. У 25 (62,5%) пацієнтів виявлена гіперемія слизової задньої стінки глотки та мигдаликів, які у 17 (68,0%) дітей були гіпертрофованими.

Препарат «Флувір®» (дитячий) призначався усім хворим по одному саше два рази на день перед прийомом їжі. Курс лікування становив один місяць. Пацієнти не отримували іншої супровідної терапії. Дослідження проводилися до початку та після закінчення лікування «Флувір®» (через місяць). Окрім загального аналізу крові, проводилися імунологічні дослідження. Оцінювалися функціональні показники імунної системи, рівень секреторного ІgА (sІgА) у слині, концентрація у сироватці крові α-інтерферону (α-ІНФ), імуноглобулінів ІgА та ІgЕ,

Таблиця 1

Кількість регуляторних та активованих лімфоцитів у крові ДЧХ до та після лікування «Флувір®» (M±m)

Показник		1 візит (до лікування)	2 візит (після лікування)
лейкоцити	Г/л	5,79±0,18	6,11±0,19
лімфоцити	%	43,23±0,76	38,03±0,75**
CD25 ⁺	%	13,75±1,10	8,33±0,74**
	abs	349,06±32,52	188,51±17,22**
CD3 ⁺ /HLA-DR ⁺	%	6,45±0,60	6,73±0,51
	abs	161,12±16,88	151,79±10,80
CD3 ⁻ /HLA-DR ⁺	%	13,90±0,75	14,43±0,77
	abs	347,83±22,52	336,84±25,22
CD4 ⁺ /CD25 ⁺	%	8,30±0,81	5,58±0,54*
	abs	201,31±18,98	125,50±11,49**
CD4 ⁺ /CD25 ⁻	%	28,85±1,28	32,78±1,29*
	abs	715,91±39,19	756,69±38,59

Примітка: *p<0,05, **p<0,01 – достовірність різниці показників до та після лікування.

інтерлейкіна-17 (ІЛ-17); число активованих лімфоцитів з маркерами CD25⁺, CD4⁺CD25⁺, CD4⁺CD25⁻, CD3⁺/HLA-DR⁺, CD3⁺/HLA-DR⁻.

Для оцінки кількості регуляторних та активованих лімфоцитів використовували метод проточної цитофлуориметрії та моноклональні антитіла (Bekton Dickenson, США). Концентрацію α-ІНФ, ІЛ-17, ІgА загального у крові і ІgА секреторного у слині досліджували методом імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням тест-систем фірми «Вектор Бест», а рівень ІgЕ в крові – на тест-системах фірми «Гранум» (Харків, Україна).

Оцінка ефективності досліджуваного препарату проводилася лікарем на основі скарг пацієнта, ступеня регресії клінічних проявів захворювання, показників клітинного і гуморального імунітету.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Statistika for Windows 6.0, використовуючи критерій Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення

Після місячного курсу лікування «Флувір®» у всіх хворих з субфебрилітетом температура нормалізувалася. Загальна слабкість та підвищена втомлюваність зменшились на 68,8% і після лікування спостерігалися тільки у 10 хворих; явища риніту зменшилися на 77,0%; біль та десь у горлі – на 75,0%. Аналогічно (на 76,0%) зменшилася гіперемія задньої стінки глотки й мигдаликів у 19 пацієнтів. Через один місяць спостереження та лікування у 10 (25,0%) ДЧХ відбулося зменшення лімфатичних вузлів, насамперед підщелепових. Гіпертрофія мигдаликів мала лише тенденцію до зменшення у двох хворих.

Отже, 20 (50,0%) пацієнтів вказували на значне покращання загального стану, причому у 10 (25,0%) з них спостерігалася повна регресія клінічних проявів на тлі відсутності скарг; 8 (20,0%) пацієнтів вказували на незначне покращання, а 5 (12,5%) – на відсутність ефекту. У 7 (17,5%) пацієнтів спостерігалося погіршення стану через супутню патологію: у трьох – ГРВІ з гарячкою; в одного – гострий тонзиліт; в одного – краснуха, у двох – харчова токсикоінфекція.

Таким чином, одномісячний курс лікування «Флувір®» сприяв покращанню загального стану та регресії клінічних проявів у 70% пацієнтів; позитивний ефект був відсутнім у 30,0% хворих. Основними побажаннями пацієнтів, які приймали «Флувір®», особливо тих, у яких були діагностовані алергічні хвороби, було випускати препарат без запаху і смаку.

Важливими даними, які можуть вказувати на ефективність лікування препаратом «Флувір®», є дані лабора-

торних аналізів, насамперед дослідження показників імунної системи. За даними загального аналізу крові було встановлено, що після лікування «Флувір®» у пацієнтів вірогідно збільшилася абсолютна кількість сегментоядерних нейтрофілів (до лікування – 45,95±0,83%, після лікування – 50,20±0,79%, p<0,01) та вірогідно зменшилося абсолютне число лімфоцитів (до лікування – 43,23±0,76%, після лікування – 38,03±0,75%, p<0,01). Також було проведено дослідження кількості активованих та регуляторних лімфоцитів до та після лікування. Як видно з даних таблиці 1, кількість лімфоцитів пізньої стадії активації (CD3⁺/HLA-DR⁺ і CD3⁻/HLA-DR⁺) була незмінною, як до, так і після лікування (p>0,05). Кількість Т-регуляторних лімфоцитів (CD4⁺/CD25⁺) вірогідно зменшувалася, як у відносних (до лікування – 8,30±0,81%, після лікування – 5,58±0,54%, p<0,05), так і в абсолютних величинах (до лікування – 201,31±18,98, після лікування – 125,50±11,49, p<0,01). Натомість кількість Т-хелперів CD4⁺/CD25⁻ вірогідно збільшувалася, передусім у відносних величинах (до лікування – 28,85±1,28%, після лікування – 32,78±1,29%, p<0,05). Число інших активованих Т-лімфоцитів (CD25⁺) також вірогідно знижувалося (до лікування – 13,75±1,10% /349,06±32,52, після лікування – 8,33±0,74% /188,51±17,22 (p<0,01).

Для більш детальної характеристики регуляторної захисної системи організму було проведено дослідження концентрації ІЛ-17, а для визначення стану мукозальної системи – sІgА, ІgЕ, ІgА, противірусного захисту – ІНФ-α.

Як видно з рис. 1, у пацієнтів після лікування «Флувір®» спостерігалося зменшення рівня ІЛ-17 у 1,2

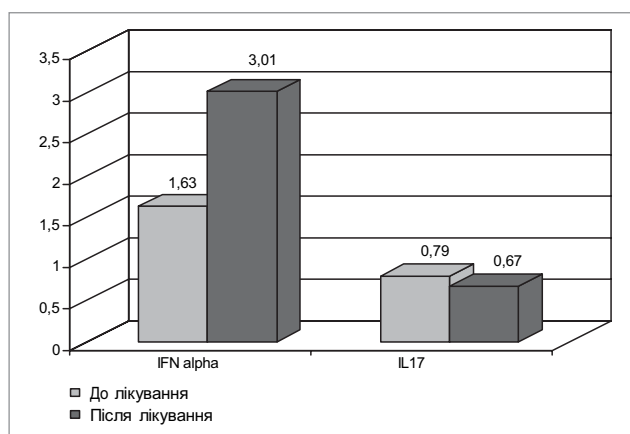


Рис. 1. Особливості сироваткових рівнів ІНФ-α та ІЛ-17 у ДЧХ до та після лікування «Флувір®»

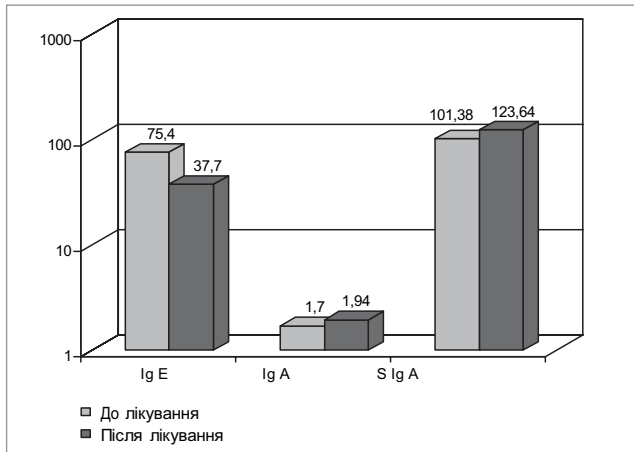


Рис. 2. Особливості сироваткових рівнів IgE і IgA та sIgA в слині ДЧХ до та після лікування «Флувір®»

разу, однак без вірогідної різниці ($p > 0,05$). Після лікування спостерігалось також вірогідне підвищення ІНФ- α (до лікування – $1,63 \pm 0,12$ пг/мл, після лікування – $3,01 \pm 0,64$ пг/мл, $p < 0,05$).

Основний фактор захисту слизових секреторний IgA (sIgA) також вірогідно підвищувався після лікування (до лікування – $101,38 \pm 0,97$ мг/л, після лікування – $123,64 \pm 2,49$ мг/л, $p < 0,01$) (рис. 2). Концентрація іншого захисника слизових оболонок IgE вірогідно зменшилася удвічі після лікування (до лікування – $75,40 \pm 17,19$ МО/мл, після лікування – $37,70 \pm 4,83$ МО/мл), однак без вірогідної різниці ($p < 0,05$). Слід зазначити, що у чотирьох пацієнтів концентрація цього імунoglobуліну знаходилася на рівні верхньої межі норми, а у п'яти пацієнтів з atopією рівень IgE перевищував вікові норми і коливався в межах 130–480 МО/мл. Рівень сироваткового IgA дещо збільшився, однак невірогідно ($p > 0,05$).

У дослідженні спостерігалось зменшення абсолютноного числа $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ клітин у 10 (25,0%) пацієнтів, що може стати причиною зниження локального і системного захисту, підвищення ризику формування хронічного імунозалежного запалення з наступним розвитком аутоімунних хвороб. Натомість після лікування відносна кількість адаптивних антигенспецифічних $CD4^+CD25^+Foxp3^-$ Treg-клітин збільшилася у середньому на 14% у 27 (67,5%) пацієнтів ($p > 0,05$). Як уже зазначалося, ці клітини володіють дистанційним супресивним впливом. Однак на основі існуючих гіпотез науковці допускають, що при зустрічі з інфекційними мікроорганізмами активність цих Treg-клітин може бути пригнічена для проведення успішної елімінації збудника з організму [3,21]. Тому отримані дані можуть вказувати на зниження супресивної та підвищення кілерної здатності T-лімфоцитів, зменшення побічного пошкоджуючого впливу Th1-відповіді, ослаблення патофізіологічних проявів запальної реакції та розвитку більш раціональної імунної відповіді.

Антигенам HLA-DR відводиться ключова роль у регуляції активності антигенпрезентуючих клітин. Вони асоціюють з T-клітинною активацією, відповідальні за презентацію антигенів T-лімфоцитам та здатність цих клітин до активації, проліферації та диференціації. Після лікування Флувіром кількість $CD3^+/HLA-DR^+$ лімфоцитів була стабільною у 7 (17,5%) пацієнтів і знижувалася у 19 (47,5%) дітей і в середньому становила (до лікування $6,45 \pm 0,60\%$, після лікування – $6,73 \pm 0,51\%$, $p > 0,05$). Дослідженнями останніх років доведено наявність асоційовано-

го зв'язку Treg-клітин з антигенами HLA-DR. Доведено, що на $CD4^+CD25^+$ -лімфоцитах наявна висока експресія антигенів HLA-DR [3]. Результати наших досліджень показують, що після проведеного лікування на тлі стабільного числа $CD3^+/HLA-DR^+$ -лімфоцитів число клітин $CD4^+CD25^+$ вірогідно знижувалося, що може вказувати на стабілізацію інфекційного процесу та зменшення ризику розвитку інфекційних ускладнень.

Кількість $CD3^+/HLA-DR^+$ -лімфоцитів можуть охарактеризувати функціональну активність B-лімфоцитів, які здатні продуктивно працювати в ефекторній ланці імунної відповіді, як у ролі продуцентів антитіл, так і клітин з природною кілерною активністю. Такі активовані B-лімфоцити продукують не тільки різні типи цитотоксичних антитіл, але й широкий спектр медіаторів з цитотоксичними властивостями, що дозволяє цим клітинам здійснювати імунологічний нагляд, тобто виявляти цитотоксичну дію на клітини-мішені [7,10]. У нашому дослідженні після лікування кількість цих клітин підвищувалася у 19 (47,5%) пацієнтів, знижувалася – у 18 (45,0%).

Кількість лімфоцитів, які експресували на своїй поверхні рецептор CD25 до α -ланцюга ІЛ-2, у 33 (82,5%) ДЧХ була вірогідно зниженою у відносних і абсолютних значеннях відповідно в 1,7 і 1,9 рази. Ці зміни опосередковано можуть вказувати на зниження активності запального процесу та аутоімунної настороженості захисних систем організму, посилення фізіологічної регуляції специфічної імунної відповіді.

ІЛ-17 відіграє важливу роль у захисті організму від грамнегативних бактерій, грибів (типу *Candida*) та здатний викликати розвиток аутоімунних та алергічних захворювань [5,28]. У результаті наших досліджень було встановлено, що після одномісячного курсу лікування Флувіром синтез цього цитокіну вірогідно не відрізнявся від вихідних показників (до лікування – $0,79 \pm 0,07$ пг/мл, після лікування – $0,67 \pm 0,08$ пг/мл, $p > 0,05$). Однак індивідуальний аналіз отриманих даних вказував, що після лікування у 16 (40,0%) пацієнтів його рівень був стабільним, а у 12 (30,0%) знижувався у 1,4–14 разів.

Таким чином, під впливом «Флувір®» у 70% пацієнтів спостерігалась стабілізація різних запальних, у тому числі аутоімунних, реакцій, а в деяких випадках спостерігалось посилення противірусного імунітету, що так важливо для ДЧХ.

Дослідженнями було доведено, що різні субпопуляції ефекторних T-хелперів перехресно регулюють кількість і функціональну активність один одного. Цікаву взаємодію демонструють між собою T-регуляторні клітини і Th17 [6,29,33]. Регуляторні взаємовідносини показані й нашими дослідженнями: концентрація ІЛ-17 асоціювала з підвищеною кількістю адаптованих Treg-клітин, кількість яких, на нашу думку, пов'язана з інтенсивною продукцією ТФР- β , що підтверджується вірогідним підвищенням синтезу sIgA. Вказані зміни імунологічних показників сприяли не лише посиленню мукозального імунітету, але й активації специфічного клітинного захисту.

На мембрані $CD4^+CD25^+$ T-лімфоцитів експресовані Toll-like-рецептори (TLR-4, TLR-5, TLR-7, TLR-8), які розпізнають консервативні структури на поверхні бактерій і вірусів, здійснюють регуляцію функціонального імунітету проти цих збудників, пригнічуючи патологічну імунну відповідь. Повторні інфекції, які спостерігалися у наших пацієнтів, не тільки можуть посилювати імунітет, поповнюючи пул T-лімфоцитів, але й підвищувати супресивну активність $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ [1,21]. Особливо важлива роль цих клітин у мукозальній імунній системі шлунково-кишкового тракту, через який в організм над-

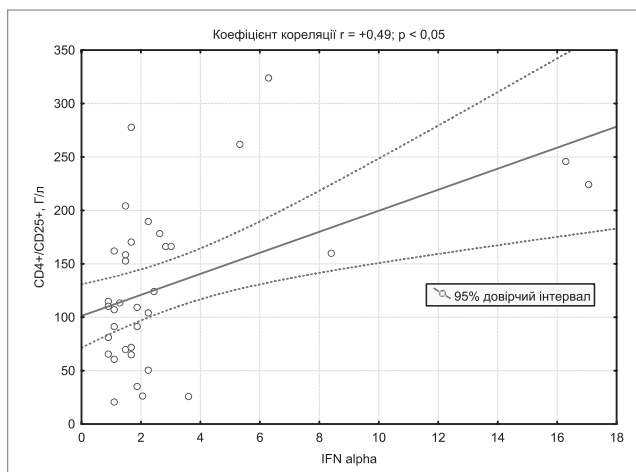


Рис. 3. Взаємозв'язок абсолютної кількості CD4+CD25+ - лімфоцитів та рівня ІНФ-α у хворих після лікування «Флувір®»

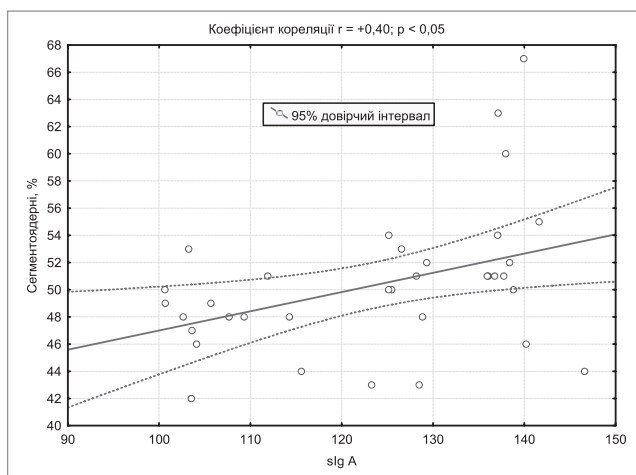


Рис. 4. Взаємозв'язок відносної кількості сегментоядерних нейтрофілів та рівня sIgA у хворих після лікування «Флувір®»

ходить значна кількість чужорідних речовин, у тому числі алергенів. Результати нашого дослідження показали, що застосування одномісячного курсу «Флувір®» асоціювало з вірогідним ($p < 0,01$) збільшенням продукції секреторного sIgA на 23% у 35 (87,5%) хворих, що вказувало на посилення активності мукозального захисту. Що стосується сироваткового IgA, його рівень також збільшувався або був стабільним у 28 (70,0%) дітей, однак без вірогідної різниці ($p > 0,05$).

Основна фізіологічна функція IgE — захист зовнішніх слизових оболонок організму шляхом локальної активації факторів плазми й ефекторних клітин завдяки індукції гострої запальної реакції. Інфекційні агенти, здатні прорвати лінію оборони, утворену sIgA, зв'язуються зі специфічними IgE на поверхні тучних клітин, у результаті чого останні отримують сигнал до вивільнення вазоактивних амінів, різних цитокинів, у т.ч. хемотаксичних факторів. У нашому дослідженні застосування «Флувір®» протягом одного місяця сприяло вірогідному зниженню IgE у два рази ($p < 0,05$). Після закінчення лікування «Флувір®» у трьох з чотирьох пацієнтів, у яких концентрація IgE зна-

ходилася на верхній межі норми, його рівень нормалізувався та відповідав віковій нормі. У двох з п'яти пацієнтів з atopією концентрація загального IgE зменшилася в середньому в 1,3 разу, однак залишалася вищою вікових норм. Отже, зниження рівня загального IgE спостерігалось у 58,6% пацієнтів, у яких концентрація цього імуноглобуліну перед лікуванням «Флувір®» була підвищеною.

На посилення захисних механізмів організму, у тому числі протівірусного імунітету, у наших пацієнтів також вказувала активація синтезу ІНФ-α, концентрація якого збільшилася в 1,9 разу у 20 (50%) обстежених після застосування «Флувір®». Виявлена пряма кореляційна залежність (рис. 4, 5) між абсолютною кількістю CD4+CD25+ -лімфоцитів і рівнем ІНФ-α ($r = +0,49$, $p < 0,05$) та між відносною кількістю сегментоядерних нейтрофілів і рівнем sIgA ($r = +0,40$, $p < 0,05$) у хворих після лікування «Флувір®».

Таким чином, на основі отриманих даних можна оцінити ступінь ефективності «Флувір®» при лікуванні ДЧХ як помірний з позитивною динамікою вивчених показників імунної системи в середньому у 58,6% пацієнтів. Незважаючи на проведене лікування, у дітей спостерігалось зниження кількості регуляторних CD4+/CD25+-лімфоцитів (25,0%) та підвищення концентрації ІЛ-17 (30%), що може бути предиктором розвитку аутоімунних хвороб. Тому ми рекомендуємо використовувати «Флувір®» протягом 2–3 місяців під контролем імунологічних досліджень.

Висновки

- Одномісячний курс лікування «Флувір®» сприяв:
 - покращанню загального стану та регресії клінічних проявів у 70% пацієнтів; погіршенню стану через супутню патологію: у трьох — ГРВІ з гарячкою; в одного — гострий тонзиліт; в одного — краснуха, у двох — харчова токсикоінфекція — у 17,5%; відсутність ефекту спостерігалась у 12,5% осіб;
 - покращанню показників регуляторних імунологічних механізмів на 58,6%, що розцінюється як помірна ефективність;
 - посиленню мукозального імунітету, на що вказувало збільшення sIgA в слині та сироваткового IgA у сироватці крові у 42,2% пацієнтів;
 - зниженню алергологічної настроєності, на що вказують стабілізація (44,4%) чи зниження синтезу IgE (у 55,6%);
 - посиленню протівірусного імунітету через індукцію синтезу ІНФ-α (40,0% випадків) та активацію CD3-/HLADR+-лімфоцитів з природною кілерною активністю (47,5%).
- Підвищення кількості CD4+/CD25-, зниження CD25+-лімфоцитів на тлі стабільної кількості CD3+/HLADR+-клітин свідчить про посилення регуляторної здатності адаптивної імунної відповіді, стабілізацію антигенпрезентуючих процесів, зменшення активності запального процесу та аутоімунної настроєності захисних систем організму.
- Виявлена пряма кореляційна залежність між абсолютною кількістю CD4+CD25+-лімфоцитів і рівнем ІНФ-α ($r = +0,49$, $p < 0,05$) та між відносною кількістю сегментоядерних нейтрофілів і рівнем sIgA ($r = +0,40$, $p < 0,05$) у хворих після лікування «Флувір®».



Представництво дієлова Марієн Промоушн АГ (Швейцарія) в Україні, 08132, м. Вінниця, вул. Чорномора, 41, тел. (044) 593-53-55.
На правах реклами. Не є лікарським засобом.



Fluvir®

Флувир®

**Біотерапевтичні технології

Знищить віруси та бактерії при застудних захворюваннях та зміцнить імунітет**

- Прискорює одужання
- Захищає від ускладнень
- Знижує частоту захворюваності

На основі біокомпонентів. Без побічної дії.

Дозволений до використання у дітей. Ефективність клінічно доведена.



- Сприяє підвищенню імунітету
- Підвищує опірність до інфекцій дихальних шляхів
- Попереджує дисбіоз після прийому антибіотиків
- 5 штамів бактерій

15 мільярдів життєздатних бактерій в 1 саше

10 саше

Для перорального застосування

Fluvir®/Fluvir® kids, probiоbіоs - товари знамен Дієлова Марієн Промоушн АГ (Швейцарія)/Дієлова Марієн Промоушн АГ (Швейцарія), біотерапевтичні технології - торговельна марка ProBio Swiss, (Італія/Франція), членів організації ProBio Swiss, (Італія/Франція).
**Дані отримані з дослідження: M. G. et al. (2008). Probiotic supplementation in children with upper respiratory tract infections: a randomized controlled trial. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 33, 25-32.
Pro Bio Swiss - це міжнародна організація, яка об'єднує виробників пробіотиків у всьому світі. (www.probioswiss.com)

ЛІТЕРАТУРА

1. Быковская С. Н. Роль дефектов иммуносупрессии в развитии аутоиммунных заболеваний / С. Н. Быковская, Е. Л. Насонов // Научн.—практ. ревматол. — 2005. — № 4. — С. 81—84.
2. Гаращенко Т. І. Оцінка ефективності Анаферон дитячого в неспецифічної профілактики ГРВІ у молодших школярів / Т. І. Гаращенко, Л. І. Ільєнко, М. В. Гаращенко // Лікуючий лікар. — 2006. — № 2. — С. 87—88.
3. Железнякова Г. Ф. Регуляторные Т-лимфоциты в иммунном ответе на инфекцию / Г. Ф. Железнякова // Журн. инфектол. — 2011. — Т. 3, № 1. — С. 6—12.
4. Інструкції з використання Симбіотиків Флувір® та Флувір® для дітей.
5. Кетлинский С. А. Семейство цитокинов IL-17 и его биологические функции / С. А. Кетлинский // Мед. академ. журн. — 2006. — № 2. — С. 12—27.
6. Кологривова И. В. Молекулярные аспекты функционирования Т-хелперов 17-го типа / И. В. Кологривова, Е. Н. Кологривова, Т. Е. Сулова // Бюл. сибирской медицины. — 2011. — № 4. — С. 93—99.
7. Новый препарат в лечении хронического гепатита С / Корнилина Е. М., Николаенко А. Н., Вовк А. Д. [и др.] // Вісн. фармакол. та фармацевції. — 2005. — № 5. — С. 24—27.
8. Маркова Т. П. Тривало та часто хворіючі діти [Електронний ресурс] / Т. П. Маркова, Д. Г. Чувіров // Педіатрія. — Режим доступу: i-medic.com.ua
9. Лазарева Т. С. Желудочно-кишечный тракт, микрофлора и иммунитет / Т. С. Лазарева, Ф. Ф. Жвания // Педиатрич. фармакол. — 2009. — Т. 6, № 1. — С. 46—49.
10. Ломакин М. С. В-лимфоциты: киллерные функции / М. С. Ломакин // Иммунол. — 1990. — № 6. — С. 4—7.
11. Намазова Л. С. Новые возможности иммуномодулирующей терапии часто болеющих детей / Л. С. Намазова // Практика педіатра. — 2008. — № 1. — С. 78—82.
12. Інтерферон- та імуноterapia в практиці лікування часто і тривало хворіючих дітей і дорослих / Нестерова І. В., Малиновська В. В., Тараканов В. А. [та ін.]. — М., 2004. — 160 с.
13. Робертсон Дж. Справочник для педиатров / Робертсон Дж., Шилковски Н.; пер. с англ. под ред. Н. А. Геппе. — М., 2008. — 1400 с.
14. Самсыгина Г. Часто болеющие дети: проблемы патогенеза, диагностики и терапии / Г. Самсыгина // Педиатрия. — 2005. — № 1. — С. 66—77.
15. Самсыгина Г. А. Часто болеющие дети: проблемы диагностики, патогенеза и терапии / Г. А. Самсыгина, Г. С. Коваль // Леч. Врач. — 2009. — № 1. — С. 10—15.
16. Таточенко В. К. Практическая пульмонология детского возраста: справ. / В. К. Таточенко. — М.: Медицина. — 442 с.
17. Часто болеющие дети / Альбицкий В. Ю., Баранов А. А., Камаев И. А. [и др.]. — Н. Новгород: НГМА, 2003.
18. Возрастные особенности иммунитета у детей. Лекция для врачей / Щеплягина Л. А., Чернова В. М., Круглова И. В., Делягин В. М. — М., 2008. — С. 38.
19. Юлиш Е. И. Факторы местного иммунитета при респираторных инфекциях и методы их активации / Е. И. Юлиш // Здоровье ребенка. — 2010. — № 5 (26). — С. 63—67.
20. Annacker O. On the ontogeny and physiology of regulatory T cells / O. Annacker, R. Pimenta-Araujo, O. Burlen-Defranoux // Immunol. Rev. — 2001. — Vol. 182. — P. 5—17.
21. Low frequency of CD4+CD25+ Treg in SLE patients: a heritable trait associated with CTLA4 and TGF β gene variants / Barreto M., Ferreira Ricardo C., Lourenço L. [et al.] // BMC Immunology. — 2009. — 10:5 doi:10.1186/1471-2172-10-5.
22. Boroja M. L. Anti-inflammatory effects of probiotic yohgurt in inflammatory bowel disease patients / M. L. Boroja, P. V. Kirjavagen, S. Hekmat // Clinical and experimental immunology. — 2007. — Vol. 149. — P. 470—479.
23. A formula containing galacto- and fructooligosaccharides prevents intestinal and extra-intestinal infections: an observational study / Bruzzese E., Volpicelli M., Squeglia V. [et al.] // Clinical Nutrition. — 2009. — Vol. 28. — P. 156—161.
24. Chabenuod I. Suppressor T-cells — they are back and critical for regulation of autoimmunity / I. Chabenuod, B. Salomon, J. Bluestone // Immunol. Rev. — 2001. — Vol. 182. — P. 149—163.
25. Effect of a probiotic formula on intestinal immunoglobulin A production in healthy children / Fukushima Y., Kawata Y., Hara H. [et al.] // International Journal of Food Microbiology. — 1998. — Vol. 42. — P. 39—44.
26. Kvaerner K. J. Upper respiratory morbidity in preschool children: a cross-sectional study / K. J. Kvaerner, P. Nafstad, J. J. Jaakola // Arch. Otolaryngol. Head. Neck. Surg. 2000. — 126, № 10. — 1201—1206.
27. Human milk probiotic Lactobacillus fermentum CECT5716 reduces the incidence of gastrointestinal and upper respiratory tract infections in infants / Maldonado J., Ca?abate F., Sempere L. [et al.] // Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. — 2012. — Vol. 54. — P. 55—61.
28. Mills K. H. Induction, function and regulation of IL-17-producing T cells / K. H. Mills // Eur. J. Immunol. — 2008. — Vol. 38 (10). — P. 2636—2649.
29. O'Connor W. The dual nature of Th17 cells: shifting the focus to function / W. O'Connor, L. A. Zenewicz, R. A. Flavell // Nature Immunology. — 2010. — Vol. 11, № 6. — P. 471—476.
30. Natural killer cell activities of synbiotic Lactobacillus casei ssp. casei in conjunction with dextran / Ogawa T., Asai Y., Tamai R. [et al.] // Clinical and Experimental Immunology. — 2006. — Vol. 143. — P. 103—109.
31. Incidence of infectious diseases in infants fed follow-on formula containing synbiotics: an observational study / Picaud J. C., Chapalain V., Paineau D. [et al.] // Acta Paediatrica. — 2010. — Vol. 99. — P. 1695—1700.
32. Interleukin-12 is involved in the enhancement of human natural killer cell activity by Lactobacillus casei Shirota / Takeda K., Suzuki T., Shimada S. I. [et al.] // Clinical and Experimental Immunology. — 2006. — Vol. 146. — P. 109—115.
33. Th17 cells in human disease? / Tesmer L. A., Lundy K., Sarkar S., Fox D. A. // Immunological Reviews. — 2008. — Vol. 223. — P. 87—113.
34. Sakaguchi S. Immunologic tolerance maintained by CD25+CD4+ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance / S. Sakaguchi, N. Sakaguchi, J. Shimizu // Immunol. Rev. — 2001. — Vol. 182. — P. 18—32.
35. Sheih Y. H. Systemic immunity-enhancing effects in healthy subjects following dietary consumption of the lactic acid bacterium Lactobacillus rhamnosus HN001 / Y. H. Sheih, B. L. Chiang, L. H. Wang // Journal of American College of Nutrition. — 2001. — Vol. 20. — P. 149—156.
36. Wood K. J. Regulatory T cells in transplant tolerance / K. J. Wood, S. Sakaguchi // Nat. Rev. Immunol. — 2003. — Vol. 3. — P. 199—210.
37. Umetsu D. T. Regulatory T cells control the development of allergic disease and asthma / D. T. Umetsu, O. Akbari, R. H. Dekruyff // J. Allerg. Clin. Immunol. — 2003. — Vol. 112. — P. 480—487.

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ ИММУННЫХ МЕХАНИЗМОВ У ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ ДЕТЕЙ И ВОЗМОЖНОСТЕЙ ИХ КОРРЕКЦИИ

В.В. Чопяк, Г.А. Потемкина, Л.Н. Билянская, И.И. Криль, М.В. Мзурак, К.А. Лищук-Якимович

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Украина

Цель: оценить влияние симбиотика «Флувир®» на регуляторные показатели иммунной системы часто болеющих детей (ЧБД) младшего школьного возраста в период нестойкой ремиссии респираторных заболеваний.

Пациенты и методы. Под наблюдением находились 40 детей в возрасте 6–11 лет (26 (65%) мальчиков и 14 (35%) девочек), которые на основании данных анамнеза, результатов клинического, инструментального, лабораторного обследования были отнесены к диспансерной группе ЧБД. Препарат «Флувир®» (детский) назначался всем больным по одному саше два раза в день перед приемом пищи курсом один месяц.

Результаты. Применение Флувира в течение месяца способствовало улучшению общего состояния и регрессии клинических проявлений у 70% пациентов; усилению мукозального, противои инфекционного, в т.ч. противовирусного, иммунитета, регуляторной способности адаптивного иммунного ответа; стабилизации антигенпрезентирующих процессов, уменьшению активности воспалительного процесса и аутоиммунной настороженности защитных систем организма.

Выводы. Степень эффективности Флувира при лечении ЧДХ можно оценить как умеренную с позитивной динамикой изученных показателей иммунной системы.

Ключевые слова: часто болеющие дети, регуляторные иммунологические механизмы, мукозальный иммунитет, симбиотик Флувир®.

EXAMINATION OF REGULATORY IMMUNE MECHANISMS IN FREQUENTLY ILL CHILDREN AND THEIR CORRECTABILITY

V.V. Chopyak, G.A. Potemkina, L.N. Bilyanskaya, I.I. Kril', M.V. Mzurak, K.A. Lishchuk – Yakimovitch

Danylo Galytskyi Lviv National Medical University, Ukraine

Objective: To evaluate the impact of «Fluvir» symbiotic on regulatory performance of the immune system of the frequently ill children (FIC) of the primary school age in the period of unstable remission of respiratory diseases.

Patients and methods. A total of 40 children in the age 6–11 years (26 (65%) boys and 14 (35%) girls) were under observation, who on the basis of anamnesis data, the results of clinical, instrumental and laboratory examination were assigned to the dispensary group of FIC. Preparation «Fluvir» (for kids) was administered to all patients by one sachet twice a day before meals by the course of one month.

Results. Fluvir application during the month allowed improving the general condition and the regression of clinical manifestations in 70 % of patients; enhancing mucosal, anti-infective, including antiviral, immunity, regulatory capacity of the adaptive immune response; stabilization of antigen-presenting processes, reduction of inflammatory process activity and autoimmune alarm of the protective systems of the body.

Conclusions. The level of effectiveness of Fluvir during the treatment of FIC can be assessed as moderate with the positive dynamics of the studied parameters of the immune system. In spite of carried out treatment in children observed reduction in the amount of regulatory CD4 + / CD25 +- lymphocytes (25.0 %) and increasing concentrations of IL -17 (30 %), which may be predictor of the autoimmune diseases development. Therefore, it is advisable to use Fluvir with in 2-3 months under the control of immunological parameters.

Key words: frequently ill children, regulatory immunological mechanisms, mucosal immunity, symbiotic Fluvir.

Сведения об авторах:

Чепяк Валентина Владимировна — д.мед.н., проф., руководитель Регионального медицинского центра клинической иммунологии и аллергологии, Председатель Проблемной комиссии НАМН Украины и МЗ Украины «Клиническая иммунология и аллергология», главный внештатный специалист МЗ Украины по специальности «Иммунология, клиническая иммунология, лабораторная иммунология», заслуженный врач Украины, зав. кафедры клинической иммунологии и аллергологии Львовского национального медицинского университета им. Д. Галицкого. Тел. (032) 275-61-42, факс (032) 276-76-03; e-mail: chopyakv@ukr.net

Потемкина Г.О. — к.мед.н., доц., ст. науч. сотр. кафедры клинической иммунологии и аллергологии, ответственная за научную работу и руководитель студенческого научного кружка Львовского национального медицинского университета им. Д. Галицкого. Тел. (032) 275-61-42, факс (032) 276-76-03

Криль И.И. — ст. лаборант Львовской областной детской клинической больницы «ОХМАТДЕТ»

Билянская Леся Николаевна — врач-иммунолог Львовского областного клинического диагностического центра, главный внештатный специалист Департамента охраны здоровья Львовской ОГА по иммунологии

Лищук-Якимович Х.О. — ассистент, к.мед.н., ответственная за научную работу кафедры клинической иммунологии и аллергологии Львовского национального медицинского университета им. Д. Галицкого. Тел. (032) 275-61-42, факс (032) 276-76-03

Статья поступила в редакцию 8.11.2013 г.