

УДК 616.988.7-036.11-036.87-097-053.4/.5:612.017.1

ЧЕРНИШОВА Л.І., ЯКИМОВИЧ С.А., ЧЕРНИШОВ А.В., ДОНСЬКОЇ Б.В., СТАМБОЛІ Л.В.  
Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, м. Київ  
Київська дитяча клінічна лікарня № 1

## ФАКТОРИ ВРОДЖЕНОГО ТА АДАПТИВНОГО МІСЦЕВОГО ІМУНІТЕТУ В ДІТЕЙ ІЗ ПЕРВИННИМИ ДЕФІЦИТАМИ АНТИТІЛОУТВОРЕННЯ

**Резюме.** У 40 дітей із різними варіантами первинних імунодефіцитів (ПІД) антитілоутворення вивчалися фактори місцевого імунітету в слині. Установлено, що в слині всіх дітей із ПІД антитілоутворення порівняно з імунокомпетентними дітьми концентрація факторів адаптивного імунітету суттєво знижена. Недостатність адаптивного імунітету при ПІД антитілоутворення деякою мірою компенсується збільшеним рівнем факторів вродженого імунітету на слизових оболонках — вільного  $Sc$ , а також лактоферину при вибірковому імунодефіциті  $IgA$ . При ПІД антитілоутворення спостерігається збільшення рівня  $TNF-\alpha$  в слині, що може свідчити про персистенцію місцевого запалення на слизових оболонках респіраторного тракту.

**Ключові слова:** первинні дефіцити антитілоутворення, мукозальний імунітет,  $TNF-\alpha$ , слина, діти.

### Вступ

Основним проявом первинних (вроджених) імунодефіцитів є підвищена схильність до інфекцій. При імунодефіцитах антитілоутворення найбільш характерними є синопульмональна локалізація інфекцій. Найважливішими вхідними воротами для проникнення патогенних мікроорганізмів в організм людини є слизова оболонка верхніх дихальних шляхів. Вона забезпечена комплексною ефективною системою захисту, що перешкоджає розмноженню мікроорганізмів та їх проникненню в тканини. Захист від мікробів починається з реакції вродженого імунітету, пізніше приєднується відповідь адаптивного імунітету. Адаптивний імунітет стимулюється інфекційними агентами, після чого організм здатний розпізнавати й реагувати на велику кількість мікробів. Ключова роль в адаптивному імунітеті слизових оболонок відіграє імуноглобулін А, його ізотип, що не має запальних властивостей. Він виробляється мукозальними В-клітинами у відповідь на  $IgA$  індукуючі сигнали, що надходять від мукозальних Т-клітин, дендритних й епітеліальних клітин. При первинних імунодефіцитах (ПІД) антитілоутворення не тільки не синтезуються антитіла або виробляються в дуже малій кількості, але й можуть бути відсутні В-клітини, що їх виробляють. Не дуже зрозуміло, як при повному дефіциті  $IgA$  (вибірково,

селективний імунодефіцит  $IgA$ ) багато пацієнтів не відрізняються стосовно захворюваності від імунокомпетентних дітей. Не виключається можливість підвищення вироблення факторів вродженого імунітету, щоб компенсувати низькі титри антитіл [1, 2]. Уроджений (природний) імунітет складається з клітинних та біохімічних захисних факторів, які знаходяться на місці ще до інфекції і готові швидко реагувати на інфекцію [3, 4]. Основними компонентами вродженого імунітету є фізичні і біохімічні бар'єри, фагоцити і НК-клітини, білки крові, у тому числі такі, які діють на пептидоглікани мікробної стінки грампозитивних бактерій, викликаючи їх лізис [5, 6]. Висловлюється думка, що лізоцим може бути одним із факторів, який підвищує захист слизових оболонок від грампозитивних бактерій у пацієнтів із тяжкими порушеннями імунної відповіді [6].

Важливим антимікробним фактором місцевого вродженого імунітету є лактоферин [7].

Стан факторів вродженого та адаптивного місцевого імунітету в дітей із первинними дефіцитами антитілоутворення залишається маловивченим.

© Чернишова Л.І., Якимович С.А., Чернишов А.В., Донської Б.В., Стамболі Л.В., 2013

© «Здоров'я дитини», 2013

© Заславський О.Ю., 2013

Метою нашої роботи було вивчення особливостей вродженого та адаптивного місцевого імунітету у дітей із первинними дефіцитами антитілоутворення.

### Матеріал та методи обстеження

Під спостереженням знаходилися 40 дітей із первинними дефіцитами антитілоутворення, які залежно від типу імунологічних порушень були розподілені на 4 групи. До першої групи включені 9 дітей із парціальною недостатністю IgA, до другої — 11 дітей із вибірковою дефіцитом IgA, третю групу становили 12 дітей із транзитornoю гіпогаммаглобулінемією, четверту — 8 дітей із спадковою гіпогаммаглобулінемією. Групу порівняння становили 30 практично здорових дітей, які не мали порушень антитілоутворення та хворіли на респіраторні захворювання не частіше ніж 4 рази на рік. Установлення діагнозу первинного імунодефіциту антитіл проводилося визначенням імуноглобулінів у сироватці крові та В-тирозинкінази (Btk) при підозрі на спадкову гіпогаммаглобулінемію (хвороба Брутона).

Фактори місцевого імунітету вивчали в слині, яку отримували без стимуляції в період, спокійний від респіраторних захворювань, до та після закінчення курсу інгаляцій ІРС-19. Зразки слини зберігалися в морозильній камері при температурі  $-20^{\circ}\text{C}$ . Визначення імунологічних показників у слині робили всім дітям в одній постановці, однаковими реактивами. Визначення рівнів IgA, IgG, sIgA проводилося методом радіальної імунодифузії в гелі за Манчіні з використанням антисироваток до окремих класів

імуноглобулінів. Рівень лізоциму визначався мікрометодом радіальної імунодифузії з використанням сухого порошку культури *Micrococcus lysodeiticus*, запропонованим Н.С. Мотавкіною та співавторами у 1979 році [8]. Мір1 $\alpha$  визначали методом імуноферментного аналізу з використанням тест-систем Invitrogen Hu Мір1 $\alpha$  виробництва Carlsbad, Каліфорнія, США. Лактоферин визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу із застосуванням поліклональних антитіл до лактоферину з використанням тест-систем «Вектор-Бест», Росія. TNF- $\alpha$  визначали методом імуноферментного аналізу з використанням тест-систем Invitrogen Hu TNF $\alpha$  (Carlsbad, Каліфорнія, США).

На обстеження та використання його результатів було отримано інформовану згоду батьків або опікунів.

Для статистичної обробки отриманих результатів використовували методи описової та порівняльної статистики. Відмінності вважали значущими при  $p < 0,05$ .

### Результати та їх обговорення

Рівні окремих факторів вродженого та адаптивного імунітету в слині дітей з первинними дефіцитами антитілоутворення та дітей без виявлених імунологічних порушень наведено в табл. 1.

Основний фактор місцевого імунітету — секреторний IgA, що є димером у зв'язку з білком — секреторним компонентом, які виробляють епітеліальні клітини. Одномірний IgA не визначався в

**Таблиця 1. Порівняльна характеристика концентрації окремих факторів мукозального імунітету в слині у пацієнтів із первинними дефіцитами антитілоутворення та дітей без виявлених імунологічних порушень**

Показник	I група (ПН IgA), n = 9	II група (ВД IgA), n = 11	III група (ТГ), n = 12	IV група (СГ), n = 8	Група порівняння	P (різниця)
	1	2	3	4		
<b>Фактори адаптивного імунітету</b>						
Sc/sIgA, г/л	0,200 $\pm$ 0,003	0,12 $\pm$ 0,02	0,20 $\pm$ 0,03	0,76 $\pm$ 0,14	0,41 $\pm$ 0,06, n = 30	P1,2 < 0,01 P1,5 < 0,03 P2,5 < 0,005 P3,5 < 0,02 P4,5 < 0,01
IgA, г/л	0,028 $\pm$ 0,003	0	0,030 $\pm$ 0,004	0	0,05 $\pm$ 0,01, n = 30	P1,5 < 0,02 P3,5 < 0,03
IgG, г/л	0,030 $\pm$ 0,006	0,040 $\pm$ 0,005	0,040 $\pm$ 0,004	0,056 $\pm$ 0,030	0,070 $\pm$ 0,016, n = 30	P1,5 < 0,01 P3,5 = 0,07
<b>Фактори вродженого імунітету</b>						
Лізоцим, г/л	0,008 $\pm$ 0,002	0,0024 $\pm$ 0,0005	0,0075 $\pm$ 0,0009	0,010 $\pm$ 0,005	0,010 $\pm$ 0,002, n = 30	P2,5 < 0,01
TNF- $\alpha$ , пг/мл	9,8 $\pm$ 2,2	7,54 $\pm$ 3,00	11,97 $\pm$ 10,00		2,97 $\pm$ 1,17, n = 12	P1,5 < 0,02 P2,5 = 0,08
Мір1 $\alpha$ , нг/мл	1,24 $\pm$ 0,45	2,7 $\pm$ 1,1	0,96 $\pm$ 0,80		2,46 $\pm$ 0,91, n = 12	
Лактоферин, нг/мл	204,0 $\pm$ 39,8	404,9 $\pm$ 2,2	155,93 $\pm$ 65,40	154,0 $\pm$ 63,2	346,45 $\pm$ 103,00, n = 12	P1,2 < 0,01 P2,3 < 0,01 P2,5 < 0,001

**Примітки:** ПН IgA — парціальна недостатність IgA; ВД IgA — вибірковий дефіцит IgA; ТГ — транзитorno гіпогаммаглобулінемія; СГ — спадкова гіпогаммаглобулінемія.

слині дітей із спадковою гіпогаммаглобулінемією і вибірковою дефіцитом IgA, рівень його був зниженим при парціальному дефіциті IgA і при транзиторній гіпогаммаглобулінемії порівняно з імунокомпетентними дітьми. Рівень IgG у слині дітей також мав тенденцію до зниження при ПІД антитілоутворення. При ПІД антитілоутворення рівень Sc/sIgA був суттєво зниженим порівняно з групою імунокомпетентних дітей, за винятком спадкової гіпогаммаглобулінемії, при якій його рівень був вищим, ніж у слині в імунокомпетентних дітей. З огляду на повну відсутність IgA в слині дітей із спадковою гіпогаммаглобулінемією можна пояснити високі рівні Sc/sIgA компенсаторним збільшенням синтезу секреторного компонента епітеліальними клітинами при цьому імунодефіциті. Вважається, що секреторний компонент (Sc) сам по собі має захисні властивості, утворюючи антисептичне покриття, що захищає слизові оболонки, його можна віднести до факторів вродженого імунітету [9]. Його синтез регулюється INF- $\gamma$ , IL-1, IL-4. Показано, що збільшення кількості Sc позитивних клітин і вільного Sc у секретах може залежати і від підвищеного рівня TNF- $\alpha$  [10]. Тобто одним із компенсаторних механізмів неспецифічного захисту слизових оболонок при відсутності секреції імуноглобулінів є вироблення фактора вродженого імунітету — секреторного компонента.

За результатами проведеного дослідження також було встановлено, що такий фактор вродженого імунітету, як лізоцим, у слині дітей при всіх формах первинних імунодефіцитів антитілоутворення зберігався на рівні здорових імунокомпетентних дітей, окрім вибіркового імунодефіциту IgA. При вибіркового імунодефіциті IgA рівень лізоциму в слині був суттєво нижчим порівняно з імунокомпетентними пацієнтами. При цьому його рівень був у 3 рази нижчим, ніж у дітей із парціальним (частковим, транзиторним) дефіцитом IgA, хоча різниця не досягала статистичної вірогідності. Дані про відсутність компенсаторного збільшення лізоциму в слині дітей із первинними імунодефіцитами отримані й іншими авторами [2].

Рівень лактоферину в слині дітей був суттєво вищим при вибіркового імунодефіциті IgA, ніж у групі порівняння та інших формах імунодефіцитів антитіл. Це може свідчити про деякий компенсаторний механізм вродженого імунітету при недостатності адаптивного імунітету у дітей з вибірковою імунодефіцитом IgA. При інших варіантах ПІД антитілоутворення цей показник був зниженим порівняно з імунокомпетентними дітьми, але не суттєво.

Рівні такого хемокину, як Mip1 $\alpha$ , що також має опосередковану противірусну активність, у слині дітей із ПІД суттєво не відрізнялися від групи порівняння. Рівень TNF- $\alpha$  в слині дітей з усіма різновидами ПІД антитілоутворення був суттєво вищим, ніж в імунокомпетентних дітей. Зважаючи на те, що TNF- $\alpha$  належить до прозапальних цитокінів, не можна виключити, що в дітей із ПІД антитілоутворення персистує запалення на слизових оболонках респіраторного тракту. З іншого боку, оскільки при

нормальній відповіді на будь-який інфекційний агент основним завданням TNF- $\alpha$  є захист організму від чужорідного антигену шляхом стимуляції ендотелію та макрофагів, підвищення його концентрації в дітей із дефіцитами антитілоутворення може свідчити про компенсаторну активацію TNF- $\alpha$  для захисту слизових оболонок.

Отже, рівень уроджених факторів місцевого імунітету при ПІД антитілоутворення зберігається на рівні імунокомпетентних дітей. При вибіркового імунодефіциті IgA недостатність антитіл деякою мірою компенсується підвищеним умістом у слині лактоферину — глікопротеїну, що має протимікробну дію, переважно через властивість зв'язувати іони заліза, які необхідні для життєдіяльності бактерій.

## Висновки

1. Для первинних імунодефіцитів антитілоутворення характерне зниження факторів місцевого адаптивного імунітету.
2. Недостатність адаптивного імунітету при ПІД антитілоутворення деякою мірою компенсується збільшеним рівнем факторів вродженого імунітету на слизових оболонках — вільного Sc, а також лактоферину при вибіркового імунодефіциті IgA.
3. При ПІД антитілоутворення спостерігається збільшення рівня TNF- $\alpha$  в слині, що може свідчити про персистенцію місцевого запалення на слизових оболонках респіраторного тракту.

## Список літератури

1. Conley M.E., Stiehm E.R. *Immunodeficiency disorders: general considerations* // *Immunology Disorders in Infants and Children* / Stiehm E.R. ed. — 4th ed. — Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1996. — 202-52.
2. Kmiliauskis M.A., Palmeira P., Arslanian et al. *Salivary lysozyme levels in patients with primary immunodeficiencies* // *Allergol. Immunopathol. (Madr.)*. — 2005. — 33. — 65-8.
3. *Congenital and Acquired Immunodeficiencies. Cellular and Molecular Immunology* / Abbas A.K., Lichtmah A.H., eds. — 5th ed. — Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2003. — P. 453-76.
4. Cerutti A., Cols M., Gentile M., Cassis L. et al. *Regulation of mucosal IgA responses: lessons from primary immunodeficiencies*. Article first published online: 30 NOV 2011, DOI: 10.1111/j.1749-6632.2011.06266.x.
5. Porto M.H.O., Ribeiro M.A., Carvanha-Neto M. et al. *Amniotic fluid lysozyme activity in fetal distress* // *Braz. j. med. biol. Res.* — 1990. — 23(5). — 403-8.
6. Osserman E.F., Lawlor D.P. *Serum and urinary lysozyme (muramidase) in monocytic and monomyelocytic leukemia* // *Journal of Experimental Medicine*. — 1966. — 12, 124(5). — 921-52. DOI:10.1084/jem.124.5.921.
7. Arnold D., Di Biase A.M., Marchetti M., Pietrantonio A., Valenti P., Seganti L., Superti F. *Antiadenovirus activity of milk proteins: lactoferrin prevents viral infection* // *Antiviral Res.* — 2002. — 53(2). — 153-158.
8. Мотавкіна Н.С., Ковалев І.М., Шаронов А.С. *Микрометод количественного определения лизоцима* // *Лабораторное дело*. — 1979. — № 12. — С. 22-24.
9. Phalipon A., Cardona A., Kraehenbuhl J.-P. et al. *Secretory Component* // *Immunity*. — 2002. — V. 17(1). — P. 107-115.
10. Liu D.Y., Wang X.L., Liu P. *Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Up-regulates the Expression of Immunoglobulin Secretory Component* // *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* — 2007. — 17(2). — P. 101-106.

Отримано 04.09.13 □

Чернышова Л.И., Якимович С.А., Чернышов А.В.,  
Донской Б.В., Стамболи Л.В.  
Национальная медицинская академия последипломного  
образования имени П.Л. Шупика, г. Киев  
Киевская детская клиническая больница № 1

**ФАКТОРЫ ВРОЖДЕННОГО И АДАПТИВНОГО МЕСТНОГО  
ИММУНИТЕТА У ДЕТЕЙ С ПЕРВИЧНЫМИ ДЕФИЦИТАМИ  
АНТИТЕЛООБРАЗОВАНИЯ**

**Резюме.** У 40 детей с различными вариантами первичных иммунодефицитов (ПИД) антителообразования изучались факторы местного иммунитета в слюне. Установлено, что в слюне всех детей с ПИД антителообразования в сравнении с иммунокомпетентными детьми концентрация факторов адаптивного иммунитета существенно снижена. Недостаточность адаптивного иммунитета при ПИД антителообразования в некоторой степени компенсируется увеличением концентрации факторов врожденного иммунитета на слизистых оболочках — свободного Sc, а также лактоферрина при селективном иммунодефиците IgA. При ПИД антителообразования наблюдается увеличение уровня TNF- $\alpha$  в слюне, что может свидетельствовать о персистенции местного воспаления на оболочках респираторного тракта.

**Ключевые слова:** первичные дефициты антителообразования, мукозальный иммунитет, TNF- $\alpha$ , слюна, дети.

Chernyshova L.I., Yakymovych S.A., Chernyshov A.V.,  
Donskoy B.V., Stamboli L.V.  
National Medical Academy of Postgraduate Education  
named after P.L. Shupyk, Kyiv  
Kyiv Children's Clinical Hospital № 1, Kyiv, Ukraine

**FACTORS OF INNATE AND ADAPTIVE LOCAL IMMUNITY  
IN CHILDREN WITH PRIMARY DEFICIENCIES OF ANTIBODY  
FORMATION**

**Summary.** In 40 children with various types of primary immunodeficiencies (PID) of antibody formation we examined factors of local immunity in saliva. It is found that in the saliva of children with PID of antibody formation in comparison with immunocompetent children the concentration of factors of adaptive immunity is significantly reduced. Lack of adaptive immunity in the PID of antibody formation to some extent is compensated by increased concentrations of innate immune factors on the mucous membranes — the free Sc, as well as lactoferrin in selective immunodeficiency of IgA. At PID of antibody formation we observed increased TNF- $\alpha$  level in the saliva, which may indicate the persistence of local inflammation on the membranes of the respiratory tract.

**Key words:** primary deficiencies of antibody formation, mucosal immunity, TNF- $\alpha$ , saliva, children.