

УДК 618.1:616.921.5:616.24-0022]612.017.1

СОСТОЯНИЕ МЕСТНОЙ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ И КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У ЖЕНЩИН ДЕТОРОДНОГО ВОЗРАСТА ПРИ ГРИППЕ А(H1N1) SWL, ОСЛОЖНЕННОМ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙТ.Е.Тальченкова¹, И.Н.Гориков², В.И.Резник³¹Амурская областная клиническая больница, 675028, г. Благовещенск, ул. Воронкова, 26²Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения РАН, 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22³Центр гигиены и эпидемиологии в Хабаровском крае, 680013, г. Хабаровск, ул. Владивостокская, 9**РЕЗЮМЕ**

Проведено изучение местной неспецифической защиты и клеточного иммунитета при гриппе А(H1N1) swl у 50 женщин детородного возраста. У 20 пациенток была диагностирована внебольничная пневмония (основная группа), у 30 женщин на момент обследования отсутствовали острые инфекционные заболевания и обострения хронической соматической и гинекологической патологии (контрольная группа). Верификация вируса гриппа А(H1N1) swl осуществлялась в парных сыворотках крови, полученных у больных при поступлении в стационар и через 10 дней при установлении четырехкратного роста титра антител к возбудителю в реакции торможения гемагглютинации. Изучение содержания секреторного иммуноглобулина А (sIgA) в сыворотке крови проводилось с помощью иммуноферментного анализа, процентного содержания популяций и субпопуляций лимфоцитов – методом проточной цитофлуориметрии. Установлено, что грипп А(H1N1) swl, осложненный внебольничной пневмонией, характеризуется выраженным интоксикационным синдромом, который определяет изменение иммунологической резистентности женского организма. У больных основной группы по сравнению с контрольной регистрировалось падение уровня sIgA ($2,6 \pm 0,29$ и $4,8 \pm 0,58$ мг/л, соответственно, $p < 0,001$), что указывало на более низкий уровень местной иммунной защиты их верхних дыхательных путей и трахеобронхиального дерева. В основной группе наблюдалось снижение относительного количества Т-лимфоцитов (CD3+) до $65,6 \pm 1,57\%$ (в контроле – $71,2 \pm 1,63\%$, $p < 0,05$) преимущественно за счет Т-супрессоров (CD8+) – $18,1 \pm 1,05\%$ (в контроле – $23,7 \pm 0,66\%$, $p < 0,001$) при отсутствии достоверного изменения числа натуральных киллеров (CD16+56+), что может снижать эффективность противовирусного иммунитета. При этом у женщин в основной группе по сравнению с контрольной возрастало процентное содержание В-лимфоцитов (CD19+) до $18,8 \pm 0,68\%$ (в контроле – $14,6 \pm 0,73\%$, $p < 0,001$), участвующих в гуморальном иммунном ответе женского организма на вирусную агрессию на фоне выраженного интоксикационного синдрома.

Ключевые слова: местная и общая иммунная защита, женщины детородного возраста, грипп А(H1N1) swl, внебольничная пневмония.

SUMMARY**THE STATE OF LOCAL SPECIFIC PROTECTION AND CELLULAR IMMUNITY IN WOMEN OF CHILDBEARING AGE AT INFLUENZA A(H1N1) SWL COMPLICATED WITH COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA**Т.Е.Tal'chenkova¹, I.N.Gorikov², V.I.Reznik³¹Amur Regional Clinical Hospital, 26 Voronkova Str., Blagoveshchensk, 675028, Russian Federation²Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration of Siberian Branch RAMS, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation³Khabarovsk Region Center of Hygiene and Epidemiology, 9 Vladivostokskaya Str., Khabarovsk, 680013, Russian Federation

The study of local non-specific protection and cellular immunity at influenza A(H1N1) swl in 50 women of childbearing age was done. 20 patients were diagnosed to have a community-acquired pneumonia (the main group), 30 women at the moment of examination did not have any acute infectious diseases and the exacerbation of chronic somatic and gynecological pathology (the control group). The verification of influenza virus A(H1N1) swl was conducted in the paired blood sera obtained from the patients at the moment of their getting into the in-patients hospital and in 10 days after that at the four-times growth of antibodies titer to the pathogen in the reaction of hemagglutination inhibition. The study of secretory immunoglobulin A (sIgA) content in the blood serum was carried out with the immune-enzyme analysis, the percentage of populations and subpopulations of lymphocytes was done with the flow cytometry method. It was found out that the influenza A(H1N1) swl complicated with community-acquired pneumonia is characterized with the intensive intoxication syndrome which determines the changes of immunologic resistance of a female organism. The patients of the main group in comparison with the control group were registered to have the fall of sIgA level (2.6 ± 0.29 and 4.8 ± 0.58 mg/l, respectively, $p < 0.001$), which proved a lower level of the local immune protection of their upper airways and the tracheobronchial tree. In the main group there was a decrease of a relative quantity of T-lymphocytes (CD3+) till $65.6 \pm 1.57\%$ (in the control group it was till $71.2 \pm 1.63\%$, $p < 0.05$) predominantly due to T-suppressors (CD8+) it was till

18.1±1.05% (in the control group it was till 23.7±0.66%, p<0.01) at the absence of a reliable change of a number of natural killers (CD16+56+), which may reduce the effectiveness of antiviral immunity. At the same time the women from the main group in comparison with the women from the control group had an increase of B-lymphocytes (CD19+) till 18.8±0.68% (in the control group it was till 14.6±0.73%, p<0.001) which participate in the humoral immune response of the female organism to the virus aggression against intensive intoxication syndrome.

Key words: local and general immune protection, women of the childbearing age, influenza A(H1N1) sw1, community-acquired pneumonia.

Известно, что гриппозная инфекция оказывает негативное влияние на обменно-метаболические процессы в женском организме [2, 3, 7]. Однако до настоящего времени не проводилась оценка местной и общей иммунной защиты у пациенток с гриппом А(H1N1) sw1 в период эпидемии 2009/2010 гг.

Целью работы явилось изучение местной специфической защиты и клеточного иммунитета при гриппе А(H1N1) sw1, осложненном внебольничной пневмонией, у женщин детородного возраста.

Материалы и методы исследования

Нами изучены основные симптомы интоксикации, эпидемиологические особенности внебольничной пневмонии, уровень секреторного иммуноглобулина А (sIgA) и клеточный иммунитет у 50 женщин, обследованных в Дальневосточном научном центре физиологии и патологии дыхания СО РАМН, в городской клинической больнице г. Благовещенка и в лаборатории вирусологии Центра гигиены и эпидемиологии в Хабаровском крае.

Все женщины были разделены на две группы. В основную группу вошли 20 пациенток с гриппом А(H1N1) sw1 и внебольничной пневмонией. Состояние средней степени тяжести отмечалось у 12 женщин, удовлетворительное – у 8 пациенток. При лечении на догоспитальном этапе жаропонижающие препараты использовались у 12 больных, антипиретики и антибиотики – у 8 пациенток. Длительность догоспитального периода у больных составила от 3,5 до 4,5 суток.

Контрольную группу составили 30 женщин в возрасте от 18 до 23 лет, у которых в анамнезе отсутствовали хронические соматические и гинекологические заболевания, а также признаки нарушения полового развития.

Верификация вируса гриппа А(H1N1) sw1 осуществлялась в парных сыворотках крови, полученных у больных при поступлении в стационар и через 10 дней [4] при установлении четырехкратного роста титра антител к возбудителю в реакции торможения геммагглютинации (тест-системы ООО «Предприятие по производству диагностических препаратов НИИ гриппа, г. Санкт-Петербург») в лаборатории вирусологии Центра гигиены и эпидемиологии в Хабаровском

крае, кроме того возбудителя инфекции выделяли из назофарингеального мазка с помощью ПЦР-анализа [6].

Исследование содержания sIgA в сыворотке крови (мг/л) осуществлялось с помощью тест-систем «IgA секреторный – ИФА – Бест» (Вектор-Бест, Новосибирск). Изучение процентного содержания популяций и субпопуляций лимфоцитов (CD3+, CD4+, CD8+, CD19+ и CD16+56+) проводилось методом проточной цитофлуориметрии с помощью моноклональных антител на аппарате BD FACS Canto II (Becton Dickinson, США).

Определение достоверности различий средних значений сравниваемых параметров между разными выборками проводилось с использованием непарного критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

Клиническое исследование показало, что при внебольничной пневмонии гриппозной этиологии в период разгара заболевания головная боль отмечалась у 50% пациенток, температура от 37,5 до 38,4°C – у 70%, боль при движении глазных яблок – у 15%, боли в мышцах у 40%, боли в грудной клетке при дыхании и кашле – у 35% женщин. У всех больных регистрировались малопродуктивный кашель и чувство нехватки воздуха. При изучении эпидемиологического анамнеза среди обследованных пациенток не выявлялись лица с вакцинацией. 45,0% женщин не контактировали с больными острыми респираторными вирусными инфекциями, а 20,0% выезжали за пределы Амурской области, в том числе в Китайскую Народную Республику. У 35,0% пациенток отмечались контакты с больными членами семьи и с коллегами на работе. В 100% случаев при диагностике внебольничной пневмонии использовался рентгенологический метод исследования. Средняя продолжительность лечения в стационаре равнялась 12,2±0,52 суток.

Установлено, что у больных гриппом А(H1N1) sw1, осложненным внебольничной пневмонией, по сравнению со здоровыми женщинами, регистрировалось падение уровня sIgA (2,6±0,29 и 4,8±0,58 мг/л, соответственно, p<0,001), что указывало на угнетение его синтеза в слизистой оболочке воздухоносного тракта при контакте с возбудителем и более низкий уровень местной иммунной защиты верхних дыхательных путей и трахеобронхиального дерева.

Из представленной таблицы следует, что у пациенток с гриппом А(H1N1) sw1, осложненным внебольничной пневмонией, в сравнении со здоровыми женщинами в сыворотке крови отмечалось статистически достоверное падение содержания Т-лимфоцитов (CD3+) преимущественно за счет Т-супрессоров (CD8+), наблюдалось увеличение иммунорегуляторного индекса (CD4+/CD8+) и числа В-лимфоцитов (CD19+) на фоне отсутствия статистически значимых изменений процентного содержания натуральных киллеров (CD16+56+).

Таблица

Состояние клеточного иммунитета у женщин в изучаемых группах (M±m)

Показатели, %	Группы		p
	Контрольная	Основная	
CD3+	71,2±1,63	65,6±1,57	<0,05
CD4+	45,1±1,24	42,4±1,61	>0,05
CD8+	23,7±0,66	18,1±1,05	<0,001
CD4+/CD8+	1,95±0,06	2,48±0,17	<0,01
CD19+	14,6±0,73	18,8±0,68	<0,001
CD16+56+	12,4±0,66	13,9±0,65	>0,05

CD19+ является ранним маркером В-клеток, который не зависит от уровня их созревания, но исчезает при их трансформации в плазматические клетки. Увеличение содержания CD19+ в крови у больных может быть связано с повышением их роли в гуморальном иммунном ответе на вирус гриппа А(Н1N1) sw1, с которым впервые контактировали лица женского пола в возрасте 18-23 лет. Важно отметить, что поражение иммунокомпетентных клеток при гриппозной инфекции обычно связывают с разрушением рецепторного аппарата лимфоцитов и макрофагов [5].

При оценке клинической иммунограммы у больных достоверно не изменялось процентное содержание CD16+56+, принимающих участие в процессе интерферонообразования [8]. Как известно, натуральные киллеры являются лимфоцитами, обладающими способностью уничтожать клетки-мишени, которые подвергаются вирусному метаморфозу. Они обнаруживаются в очаге воспаления до появления Т-лимфоцитов и, таким образом, ограничивают распространение инфекционно-воспалительного процесса [7]. Существуют несколько наиболее распространенных способов воздействия натуральных киллеров на клетки-мишени. Первый способ заключается в запуске механизма программированной клеточной гибели при наличии в клетках рецепторов апоптоза (Fas или APO-1). При втором способе натуральные киллеры выделяют литические гранулы, содержащие перфорин и гранзимы. При наличии перфорина гранзим В достигает клеточного ядра, в котором он активирует каспазы и индуцирует гибель клетки [1].

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что грипп А(Н1N1) sw1, осложненный внебольничной пневмонией, приводит к более выраженному падению уровня sIgA, к угнетению Т-клеточного звена иммунитета и росту процентного содержания В-клеток, участвующих в формировании гуморального иммунного ответа при вирусных заболеваниях.

Выводы

1. Грипп А(Н1N1) sw1, осложненный внебольничной пневмонией, характеризуется выраженным интоксикационным синдромом, который определяет изменение иммунологической резистентности женского организма.

2. У больных внебольничной пневмонией гриппозной этиологии по сравнению со здоровыми женщинами регистрируются более низкие показатели сывороточного sIgA, указывающие на снижение местной иммунной защиты их верхних дыхательных путей и трахеобронхиального дерева.

3. Развитие острой внебольничной пневмонии при гриппе А(Н1N1) sw1 сопровождается снижением относительного количества Т-лимфоцитов (CD3+) преимущественно за счет Т-супрессоров (CD8+) при отсутствии достоверного изменения числа натуральных киллеров (CD16+56+), что может снижать эффективность противовирусного иммунитета. При этом возрастает относительное количество В-лимфоцитов, участвующих в гуморальном иммунном ответе женского организма на вирусную агрессию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Наглядная иммунология / Г.-Р.Бурместер [и др.]; пер. с англ. М.: БИНОМ, 2009. 320 с.
2. Гориков И.Н. Патогенез изменений кровотока в маточных артериях и ультразвуковой картины хориона при гриппе А(Н3N2) у женщин в I триместре беременности // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2012. Вып.44. С.79–84.
3. Гориков И.Н. Изменение маточного кровотока и ультразвуковой структуры фетоплацентарного комплекса при гриппе А(Н3N2) у женщин во II триместре беременности // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2012. Вып.45. С.74–78.
4. Грипп. Руководство для врачей / под ред. Г.И.Карпухина. СПб.: Гиппократ, 2001. 360 с.
5. Иммунология гриппа / под ред. Я.С.Шварцмана. Алма-Ата: Наука, 1985. 144с.
6. Выявление пандемического вируса гриппа А(Н1N1) sw1 и других возбудителей респираторных инфекций у детей с пневмонией в эпидемический сезон 2009-2010 г. / О.В.Островская [и др.] // Дальневост. мед. журн. 2011. №1. С.51–54.
7. Пруткина Е.В., Цыбиков Н.Н., Исакова Н.В., Сепп А.В. Взаимоотношения ферментов нейтрофилов и их ингибиторов в патогенезе острого респираторного дистресс-синдрома на фоне гриппозной пневмонии // Мед. иммунол. 2012, Т.14, №3. С.227–232.
8. Урсаки Л.П., Маджидов А.В., Лаврухина Л.А., Савицкий Г.И. Естественные киллеры и интерферон при осложненном гриппе и других острых респираторных вирусных инфекциях // Вопр. вирусол. 1985. Т.30, №6. С.680–684.

REFERENCES

1. Burmester G.-R., Pezzutto A., Ulrichs T., Aicher A. Color atlas of immunology. Berlin, Germany: Thieme; 2002.

2. Gorikov I.N. *Bülleten' fiziologii i patologii dyhaniyâ* 2012; 44:79–84.

3. Gorikov I.N. *Bülleten' fiziologii i patologii dyhaniyâ* 2012; 45:74–78.

4. Karpukhin G.I., editor. *Gripp* [Influenza]. St. Petersburg: Gippokrat; 2001.

5. Shvartsman Ya.S., editor. *Immunologiya gripa* [The immunology of influenza]. Alma-Ata: Nauka; 1985.

6. Ostrovskaya O.V., Kholodok G.N., Reznik V.I., Morozova N.V. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal* 2011; 1:51–54.

7. Prutkina E.V., Tsybikov N.N., Isakova N.V., Sepp A.V. *Meditsinskaya immunologiya* 2012; 14(3):227–232.

8. Ursaki L.P., Madzhidov A.V., Lavrukhina L.A., Savitskiy G.I. *Voprosy virusologii* 1985; 30(6):680–684.

Поступила 26.04.2013

Контактная информация

*Татьяна Евгеньевна Тальченкова,
заведующая лабораторией клинической иммунологии,
Амурская областная клиническая больница,
675028, г. Благовещенск, ул. Воронкова, 26.*

E-mail: aokb@rambler.ru

Correspondence should be addressed to

*Tat'yana E. Tal'chenkova,
MD, Head of Laboratory of Clinical Immunology,
Amur Regional Clinical Hospital,*

26 Voronkova Str., Blagoveshchensk, 675028, Russian Federation.

E-mail: aokb@rambler.ru