

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
АЗЕРБАЙДЖАНСКОЙ РЕСПУБЛИКИ**

**АЗЕРБАЙДЖАНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**

*На правах рукописи*

**ГЮЛЬНАРА ПАРВИЗ КЫЗЫ АХМЕДОВА**

**«ВЛИЯНИЕ УРОВНЯ АПОПТОЗА НА  
ИММУНОКОМПЕТЕНТНОСТЬ ЛИМФОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ  
С АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ РАЗЛИЧНОЙ  
СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ»  
32.20.01-ПЕДИАТРИЯ**

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертация на соискание ученой степени доктора философии  
медицинских наук

**Баку - 2013**

Диссертационная работа была выполнена на кафедре детские болезни  
II Азербайджанского Медицинского Университета

Научные руководители:

Д.м.н. Профессор  
заслуженный деятель науки

А.А. Эюбова

Д.м.н. Профессор  
заслуженный врач республики

Л.И. Аллахвердиева

Официальные оппоненты:

Д.м.н.

А.Г. Гасанов.

К.м.н. доцент

Р.Я. Мамедова

ВЕДУЩЕЕ УЧЕРЕЖДЕНИЕ : Научно Исследовательский Институт  
Педиатрии имени К.Я. Фараджевой, отделение Пульмонологии.

Защита состоится « \_\_\_\_ » апреля 2013 г. в \_\_\_\_ час на заседании  
Диссертационного Совета FD.03.012 при Азербайджанском  
Медицинском Университете ( Баку, AZ 1022, ул. Бакиханова, 23)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Азербайджанского  
Медицинского Университета

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2013 г

Ученый секретарь

Диссертационного совета FD 03/012

Доктор медицинских наук, профессор,

Засл. деятель науки

И.И. Исаев

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы:** Проблема аллергических заболеваний остается актуальной несмотря на огромное количество исследований посвященной этой патологии. Сегодня аллергические заболевания по своей распространенности занимают третье место после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний, а в некоторых странах даже выходят на первое место [Дрожжев М.Е и др. 2002, Баранов А.А. и др 2006]. Эпидемиологические исследования, проведенные в последние годы, показали, что около 3% человечества страдает атопической бронхиальной астмой (АБА) [Эюбова А.А. и др 2002; Эюбова А.А., Аллахвердиева Л.И. и др. 2005; Богданова А.В. и др. 2004; Лютина Е.И. и др. 2005; Казначеева Л.Ф. и др 2010; Martel M.J. et all 2009]. Огромный экономический и моральный ущерб, который наносит обществу бронхиальная астма, делает ее одной из важнейших и первоочередных задач современной медицины. Несмотря на многочисленное количество исследований механизмы ее патогенеза, методы диагностики, профилактики и лечения до конца не расшифрованы. Исходя из этого, разработка эффективных способов борьбы с бронхиальной астмой немыслима без расшифровки механизмов развития реакций гиперчувствительности. Согласно современным представлениям, в иммунопатогенезе АБА ведущую роль играют нарушения регуляции гуморальных и клеточных реакций иммунной системы на специфический антиген. Однако единого взгляда на конкретные механизмы развития дисрегуляции пока не существует.

В последние годы активно изучается роль апоптотического механизма иммуносупрессии. Повышенный интерес обусловлен концепцией, согласно которой в основе иммунных заболеваний лежит чрезмерная активация иммунокомпетентных клеток, которая приводит к накоплению аутореактивных клонов. Тонкие механизмы контроля и индукции апоптоза в иммунокомпетентных клетках при АБА мало известны. В имеющихся на сегодня работах представлены особенности экспрессии небольшого количества маркеров, полученные данные противоречивы, а иногда и противоречат друг другу. Кроме того, остается открытым вопрос о том, как меняется апоптоз в зависимости от стадии, степени тяжести и длительности заболевания.

**Цель исследования:** Изучить влияние апоптоза лимфоцитов на реактивность иммунокомпетентных клеток у детей с atopической бронхиальной астмой различной степени тяжести и определить клиническую эффективность иммуномодулирующей терапии препаратом Имунорикс.

**Задачи исследования:**

1. Изучить показатели иммунного статуса и маркер апоптоза у больных АБА в зависимости от периода, тяжести и длительности заболевания.
2. Рассмотреть влияние комплексного противовоспалительного лечения на состояние иммунной, цитокиновой системы и маркер апоптоза у больных АБА.
3. Определить клиническую эффективность и отдаленные результаты лечения больных АБА иммуномодулятором Имунорикс.

**Научная новизна работы.** Впервые в Азербайджане проведено сравнительное изучение состояния иммунокомпетентных клеток и маркера апоптоза при АБА у детей в зависимости от стадии, тяжести и длительности заболевания, а так же выявлены особенности фенотипического спектра лимфоцитов периферической крови. Установлено, что одной из причин обострения и хронизации воспалительного процесса в бронхолегочной системе является повышение числа клеток, вступающих на путь апоптоза.

Показано, что с увеличением длительности заболевания процесс апоптоза замедляется. Выявлено, что в состоянии ремиссии заболевания сохраняются высокие показатели мембранного рецептора CD95, но на более низком уровне, чем при обострении заболевания.

Доказано, что эффект комплексной противовоспалительной и иммуномодулирующей терапии реализуется через снижение уровня апоптоза лимфоцитов и положительные сдвиги в иммунной системе, что наиболее полно отражается в отдаленные сроки лечения. В зависимости от степени тяжести течения болезни дана детальная характеристика исследуемых субпопуляций лимфоцитов в приступный период заболевания и после иммуномодулирующей терапии препаратом имунорикс. Установлена положительная динамика показателей экспрессии маркера апоптоза CD95 в процессе терапии имунориксом.

Установлено, что использование в комплексном лечении АБА синтетического иммуномодулятора имунорикс сокращает длительность периода обострения, уменьшает частоту, как дневных, так и ночных приступов к концу курса лечения, а так же снижает потребность в  $\beta_2$ -агонистах короткого действия. Показано, что по степени выраженности клинический эффект комплексного лечения с включением Имунорикса значительно превосходит стандартную базисную терапию.

**Практическая значимость работы:** Установлены количественные параметры изменений абсолютного и относительного содержания различных субпопуляций лимфоцитов периферической крови у пациентов с БА различной степени тяжести, что способствует улучшению диагностики данного заболевания.

Установление уровня спонтанного апоптоза в лимфоцитах периферической крови, может служить в качестве контрольных показателей при определении уровня апоптоза у пациентов с atopической БА в клинической практике.

Изучение механизмов апоптоза лимфоцитов у больных АБА дает важную информацию для понимания иммунного гомеостаза и позволяет разработать принципиально новые подходы к патогенетически обоснованному лечению заболевания. На основании полученных результатов выявлены новые возможности для разработки информативно-прогностических критериев с целью определения эффективности проводимой терапии.

Установленный нами факт влияния иммуномодулирующей терапии на процесс активации апоптоза определяет необходимость включения препарата Имунорикс в комплексное лечение больных АБА

### **Основные положения диссертации выносимые на защиту:**

1. Приступный период АБА сопровождается повышением содержания В-лимфоцитов и цитотоксических Т -лимфоцитов (CD8), а так же снижением хелперных клеток (CD4). Происходит повышение индукции Fas-опосредованного апоптоза CD95 -лимфоцитами периферической крови.

2. Значения иммунологических показателей в послеприступном периоде заболевания указывают на нормализацию содержания Т- и В-лимфоцитов, а так же снижение интенсивности апоптоза, который

независимо от периода АБА, ее тяжести и длительности превышает таковой у здоровых людей.

3. Использование в комплексном лечении АБА синтетического иммуномодулятора имунорикс оказывает положительное влияние на клинические и функциональные проявления заболевания и по выраженности эффекта превосходит стандартную базисную терапию. Под влиянием проводимой терапии отмечается более выраженное уменьшение частоты дневных и ночных приступов БА к концу курса лечения, снижается потребность в  $\beta$ 2-агонистах короткого действия, нормализуются показатели функции внешнего дыхания.

4. Эффективность иммунотерапии зависит от своевременности ее влияния на механизм апоптоза лимфоцитов. У больных с отличным/хорошим эффектом комплексной терапии с имунориксом снижение показателя CD95 наблюдается уже к середине курса лечения и достигает максимального эффекта через 6 месяцев после лечения. У больных с удовлетворительным эффектом комплексной терапии достоверные изменения показателя апоптоза отсутствуют.

**Внедрение результатов исследования:** Результаты проведенных исследований внедрены в практику работы Детского аллергологического центра при Детской клинической больнице №6 г.Баку.

**Апробация работы:** На научной конференции сотрудников кафедры «Детские болезни-II» и курса «Клинической аллергологии и иммунологии» Азербайджанского Медицинского Университета

**Результаты работы доложены:** на заседание Азербайджанского общества аллергологов, иммунологов и иммунореабилитологов (Баку, 2010), на международном конгрессе по реабилитации в медицине иммунореабилитации (ОАЭ, Дубай, 2009), на XVI международном конгрессе по реабилитации в медицине и иммунореабилитации (Франция, Париж, 2011).

**Публикации:** По основным научным результатам исследования опубликовано 9 печатных работ (6 статей и 3 тезиса).

**Объем и структура диссертации:** Диссертация изложена на 144 страницах, состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 241 источник.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящая работа включает в себя результаты анамнестического, аллергологического, клинико-лабораторного и функционального обследования 70 больных детей с АБА в возрасте от 3 до 17 лет. Из них мальчиков - 41, девочек 29.

Обследование детей и клинико-лабораторное исследование проводились на базе аллергологического отделения детской клинической больницы №6 г.Баку и кафедры детских болезней II Азербайджанского медицинского университета. Исследования проводились в период обострения и в период ремиссии основного заболевания. Средний возраст детей с АБА составил  $9,7 \pm 0,5$  лет. Диагноз устанавливали при выявлении симптоматики характерной для данного заболевания, соответствующих объективных признаков, в первую очередь нарушения бронхиальной проходимости. Форму (атопическая), степень тяжести заболевания (легкая персистирующая, среднетяжелая персистирующая, тяжелая персистирующая) и период (приступный и послеприступный) определяли на основании критериев классификации бронхиальной астмой - GINA (2007).

В работе применялись следующие методы исследования: Определение общего IgE в сыворотке крови; иммунологическое обследование; Определение маркера апоптоза CD95; Определение цитокинов ИЛ2, ИЛ4, TNF $\alpha$ ; Пикфлоуметрия; Спирометрия; Статистические методы обработки полученных результатов

Все пациенты были разделены на группы в зависимости от степени тяжести течения заболевания:

На момент исследования у всех включенных в обследование пациентов было зарегистрировано обострение АБА. Степень тяжести заболевания определялась на основании данных о частоте симптомов и степени выраженности нарушения функции легких, полученных в результате анализа клинико-анамнестических данных и инструментальных методов обследования.

Первую группу составили больные с легкой персистирующей астмой (14 (20,0%) детей) . На момент включения в исследование, у обследованных больных, было наличие одного или более следующих признаков: дневные симптомы чаще 1 раза в неделю, но реже 1 раза в день; ночные симптомы – чаще 2х раз в месяц; вариабельность ПСВ (ОФВ1) от 20 до 30%, при этом ОФВ1 или ПСВ, больше или равно

80% от должного (ОФВ, -объем форсированного выдоха за 1-ую сек, ПСВ-пиковая скорость выдоха);

Вторая группа – больные со среднетяжелой персистирующей астмой (31 ребенок (44,3%)). Для них были характерны : ежедневные дневные симптомы; ночные симптомы чаще 1 раза в неделю; ежедневное использование короткодействующих  $\beta$ -агонистов; вариабельность ПСВ (ОФВ1,) более 30%, при этом ПСВ (ОФВ1) 60-80% от должного.

Третья группа (25 (35,7%) детей) – больные с тяжелой персистирующей бронхиальной астмой. На момент включения в исследование у наблюдаемых больных было от одного или более из следующих признаков: ежедневные симптомы; частые ночные симптомы; ограничение физической активности и нарушение сна; частые обострения; ПСВ (ОФВ1) меньше 60% от должного, вариабельность ПСВ (ОФВ1) более 30%.

Для лечения больных детей использовались следующие фармакотерапевтические режимы:

В 1-ой группе (14 больных легкой персистирующей БА) использовались ингаляционные глюкокортикостероиды (ИГКС) (фликсотид) в низких дозах, а так же кромоны (интал, тайлед). Быстродействующие  $\beta$ 2-агонисты (сальбутамол, беротек, беродуал, атровент) применялись по потребности.

Во 2-ой группе (12 больных среднетяжелой персистирующей БА) использовались средние и высокие дозы ИГКС, а так же их комбинации с  $\beta$ 2-агонистами длительного действия (если имелась необходимость увеличить дозу ИГКС свыше 400 мкг). В таком случае предпочтение отдавалось препаратам с фиксированной комбинацией ИГКС с  $\beta$ 2-агонистами пролонгированного действия (серетид, симбикорт). Так же использовались по необходимости  $\beta$ 2-агонисты короткого действия, но не чаще 3-4 раз в сутки.

В 3-ей группе (10 больных тяжелой персистирующей БА) использовались ИГКС в высоких дозах (флексотид, будесонид) и пролонгированные бронходилататоры. В качестве базисной терапии больные использовали комбинированные препараты с фиксированной комбинацией ИГКС и  $\beta$ 2-агонистов пролонгированного действия (флутиказон пропионат+сальметерол – серетид, будесонид +форматерол – симбикорт), что было предпочтительнее, чем просто увеличение дозы ИГКС. Кроме того, использовались

антилейкотриеновые препараты - монтелукаст натрия (сингуляр). По необходимости так же использовались  $\beta_2$ -агонисты короткого действия.

В ходе исследования больные, как второй, так и третьей группы были разделены на две подгруппы каждая. В одну из подгрупп второй группы вошли 19 больных среднетяжелой персистирующей БА, а в одну из подгрупп третьей группы вошли 15 больных тяжелой персистирующей БА, которые наравне с базисной терапией получали иммуномодулятор Имунорикс в дозе 400мг/сутки на протяжении 30 дней

Контрольную группу составили 10 практически здоровых детей аналогичной возрастной группы.

Критериями включения в контрольную группы были: возраст пациентов от 3х до 17и лет; отрицательные кожные аллергопробы; количество общего IgE < 100 МЕ/мл; отсутствие аллергических заболеваний у обследуемых детей на момент включения и в анамнезе; пациенты, не получавшие (в течение последнего месяца) глюкокортикостероиды (системные, топические), антилейкотриеновые препараты, пролонгированные теофиллины, пролонгированные  $\beta_2$  – агонисты, кромоны (кромогликат натрия, недокромил натрия); пациенты, не имевшие острых респираторных заболеваний.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Для выявления характер иммунных изменений при АБА, мы подвергли изучению циркулирующие в крови лимфоциты, несущие поверхностные рецепторы. У больных бронхиальной астмой оценивали содержание в периферической крови основных популяций лимфоцитов и НК-клетки.

Проведение сравнительного анализа показало, что у детей, находившихся в приступном периоде АБА, отмечалось значимое повышение относительного количества лимфоцитов, при этом у больных со среднетяжелым и тяжелым персистирующим течением заболевания лимфоцитоз был более выраженный. Также отмечалось достоверное повышение абсолютного числа  $CD3^+$  и  $CD8^+$ -лимфоцитов во всех группах больных по сравнению с контрольными показателями ( $p < 0,001$ ). У больных с тяжелым персистирующим

течением БА относительное содержание CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов было достоверно снижено и составило в среднем 29,4±1,4%, что было ниже контрольных значений в 1,3 раза. У всех наблюдаемых больных также отмечалось достоверное повышение абсолютного содержания CD19<sup>+</sup>-лимфоцитов по отношению к контролю (p<0,001). В группе детей с тяжелым персистирующим течением заболевания было достоверно повышено как относительное, так и абсолютное количество CD16/56<sup>+</sup>-лимфоцитов по отношению к контролю (p<0,001).

В послеприступном периоде у больных как среднетяжелой, так и тяжелой персистирующей АБА, также как и в приступном периоде заболевания, отмечалось повышение общего количества Т-лимфоцитов. Показатели субпопуляции хелперных Т-лимфоцитов в послеприступном периоде приближались к показателям контрольной группы. Субпопуляция цитотоксических Т-лимфоцитов, повышенная в приступном периоде, несколько снижалась в послеприступном периоде заболевания (p<0,01). Следствием изменений, происходящих в Т-клеточном звене иммунной системы при АБА, явилась тенденция к росту иммунорегуляторного соотношения (СД4/СД8) с 1,26±0,05 в приступном периоде до 1,50±0,06 в послеприступном периоде при среднетяжелой персистирующей и от 1,20±0,07 до 1,36±0,08 при тяжелой АБА у детей.

Полученные результаты показали, что у больных в период приступа заболевания было отмечено повышение в среднем в 2,3-3,3 раза количества CD95-положительных лимфоцитов в циркуляции, причем их уровень при средней степени тяжести заболевания составил 48,8±2,2%, при тяжелой – 67,9±1,7% (в контроле – 20,6±1,1%, p<0,001).

В послеприступном периоде болезни величина показателя CD95<sup>+</sup> также достоверно превышала нормальные показатели (p<0,001) и была прямо пропорциональна тяжести заболевания.

Результаты наших исследований свидетельствуют, что основные иммунные изменения при АБА, а так же Fas опосредованного апоптоза формируются уже в первый год ее становления. По мере увеличения длительности болезни при тяжелом ее течении происходит некоторое снижение количества лимфоцитов, экспрессирующих CD 95-антиген и наблюдается

тенденция к незначительному снижению апоптоза лимфоцитов. Необходимо добавить, что замедление темпов апоптоза наблюдается лишь при продолжительности бронхиальной астмы от 5 лет и выше и, повидимому, может играть роль в дальнейшей пролонгации заболевания.

При анализе уровня ИЛ4 в сыворотке крови у детей с АБА, мы выявили его достоверное повышение по сравнению с его содержанием у здоровых детей (среднетяжелая степень –  $6,51 \pm 1,08$  пг/мл; тяжелая степень –  $7,93 \pm 1,36$  пг/мл; здоровые –  $1,19 \pm 0,43$  пг/мл,  $p < 0,001$ ). Кроме того, у детей с тяжелой степенью АБА отмечались более высокие показатели ИЛ4 по сравнению с детьми имеющими легкую и среднюю степень тяжести заболевания. В послеприступном периоде концентрация ИЛ4 в сыворотке крови при среднетяжелом течении БА составила  $1,99 \pm 0,47$  пг/мл, при тяжелом течении заболевания –  $2,81 \pm 0,62$  пг/мл, что также имело достоверные различия по отношению к контрольной группе здоровых детей, так и в сравнении с приступным периодом болезни ( $p < 0,001$ ).

Согласно полученным нами результатам, содержание ИЛ2 было понижено у детей со среднетяжелым и тяжелым течением АБА в приступном периоде заболевания по сравнению с его концентрацией у здоровых детей ( $0,39 \pm 0,083$  пг/мл и  $0,43 \pm 0,057$  пг/мл против  $1,07 \pm 0,39$  пг/мл в контроле,  $p < 0,001$ ). Уровень ИЛ2 у обследованных нами детей в послеприступном периоде заболевания при среднетяжелом течении БА составил  $5,87 \pm 0,54$  пг/мл, при тяжелом течении заболевания –  $6,56 \pm 0,98$  пг/мл, что имело достоверные различия по отношению к контрольной группе здоровых детей, так и в сравнении с приступным периодом ( $p < 0,001$ ).

Исследование содержания TNF $\alpha$  в сыворотке крови у детей с atopической бронхиальной астмой выявило повышение его средних значений как в приступном, так и в послеприступном периоде заболевания по сравнению со здоровыми детьми ( $p < 0,01$ ). У детей со среднетяжелой степенью течения БА в приступном периоде уровень TNF $\alpha$  в сыворотке крови составил  $13,56 \pm 2,92$  пг/мл, у детей с тяжелым течением болезни –  $11,04 \pm 2,33$  пг/мл (контроль  $-1,04 \pm 0,34$ ,  $p < 0,001$ ). В период после приступа БА содержание TNF $\alpha$  в

сыворотке крови составило  $2,83 \pm 0,96$  пг/мл, у детей с тяжелым течением болезни –  $4,65 \pm 0,87$  пг/мл ( $p < 0,001$ ).

В процессе исследования нами использовалась процедура проведения корреляционного анализа, для оценки силы и направленности взаимосвязи между количественными признаками исследуемых цитокинов и показателя апоптоза  $CD95^+$ , который выявил прямую зависимость между уровнями маркера апоптоза  $CD95^+$  и ИЛ2 ( $\rho = 0,90$ ;  $p < 0,05$ ), а также  $CD95^+$  и  $TNF\alpha$  ( $\rho = 0,84$ ;  $p < 0,05$ ), что характеризует патогенетические взаимосвязи этих показателей в процессе развития аллергического воспаления при АБА у детей. Для IL-4 значение коэффициента корреляции составило 0,37, что расценивалась как слабая функциональная связь ( $p < 0,05$ ).

Включение в патогенетическую терапию АБА регуляторных олигопептидов, проявляющих свое стимулирующее действие только в условиях ослабленного иммунитета, позволяет получить более быстрый и стабильный лечебный эффект. Примером иммуномодулирующего препарата, относящегося к группе регуляторных олигопептидов, является имунорикс (пидотимод).

Анализ полученных результатов показал, что под влиянием проводимой терапии у больных, получавших в комплексном лечении имунорикс, происходила более быстрая положительная динамика клинических проявлений АБА, по сравнению с группой больных, находившихся на базисном лечении. При этом у больных, получавших патогенетическое лечение с включением имунорикса, отмечалось более выраженное уменьшение частоты как дневных, так и ночных приступов БА к концу курса лечения.

Катамнестическая оценка влияния терапии имунориксом на длительность межприступного периода у обследованных больных в отдаленном периоде показала, что у больных группы сравнения базисная противовоспалительная терапия незначительно влияла на длительность ремиссии (25 дней до настоящего лечения против 35 дней после настоящего лечения,  $p > 0,05$ ). Наряду с этим, в основной группе больных, получавших комбинированное лечение, отмечалось статистически достоверное удлинение периода ремиссии в среднем до 126 дней ( $p < 0,05$ ).

Анализ клинической эффективности проводимой терапии показал, что в группе больных, получавших базисное лечение в

комбинации с иммунотерапией имунориксом, итоговый результат лечения был оценен как «очень хороший» у 24 (70,5%) больных (отсутствие приступов), а у 10 (29,5%), как «хороший» (снижение ситуационной потребности в  $\beta_2$ -агонистах короткого действия). У больных регистрировалось снижение потребности в  $\beta_2$ -агонистах короткого действия, сохраняющееся на протяжении всего периода наблюдения. При этом состояние выраженной клинической ремиссии в этой группе больных наблюдалось на протяжении более 18 недель.

У 17 (77,3%) больных находившихся на базисной терапии, результаты лечения оценивались как «удовлетворительные» (потребность в  $\beta_2$ -агонистах сохраняется), а у 5 (22,7%) больных – «без изменений» (наличие дневных и ночных приступов).

При анализе показателей функции внешнего дыхания было установлено, что терапия АБА у больных с включением имунорикса приводила к улучшению пикфлоуметрических результатов. Динамические показатели функции внешнего дыхания у больных, получавших имунорикс, изменялись однонаправленно, достоверно возрастая к 6-й неделе лечения и сохраняясь на достигнутом уровне в течение следующих недель после отмены препарата. Так, в основной группе больных показатель объема форсированного выдоха за первую секунду ( $ОФВ_1$ ), составивший в начале исследования в среднем  $64,8 \pm 7,5\%$  от должного уровня, увеличился к 12-ой неделе наблюдения до  $80,7 \pm 6,1\%$  при среднетяжелой и  $76,4 \pm 4,7\%$  при тяжелой бронхиальной астме. Показатель форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ) – с  $77,8 \pm 7,3\%$  до  $94,8 \pm 6,1\%$  и  $91,5 \pm 4,6\%$  соответственно при среднетяжелой и тяжелой степени заболевания, что свидетельствует об улучшении жизненной емкости легких.

Проведенный нами иммунологический мониторинг позволил выявить иммуномодулирующее действие имунорикса в группе больных среднетяжелой и тяжелой АБА.

Некоторая степень активности вступления клеток в состояние апоптоза соответствует тяжести течения заболевания и влияет на прогрессирование воспалительного процесса в бронхолегочной системе при АБА. Проведенные нами исследования показали, что традиционная патогенетическая терапия АБА не приводит к достоверному изменению уровня  $CD95^+$ -лимфоцитов в

циркулирующей крови. Напротив, включение в комплексное лечение иммуномодулятора имунорикса оказывает влияние на количество CD95-положительных лимфоцитов и приводит к устойчивости лимфоцитов к апоптозу.

В частности, оценивая динамику CD95-положительных лимфоцитов следует отметить, что у больных со среднетяжелым течением АБА, получавших только базисную терапию, в период лечения не происходило достоверного изменения уровня CD95<sup>+</sup> (49,2±1,1% до лечения против 44,7±2,1% после лечения,  $p>0,05$ ). Базисная противовоспалительная терапия у больных с тяжелым персистирующим течением заболевания вела к незначительному снижению CD95<sup>+</sup> лимфоцитов до 65,2±2,1% (до лечения -67,9±1,1% ,  $p>0,05$ ) (табл. 1).

В то же время комплексная терапия с включением имунорикса у больных со среднетяжелым течением АБА приводила к снижению величины CD95<sup>+</sup> до 32,9±1,8% ( $p<0,001$ ). У больных с тяжелым течением заболевания, так же получавших имунорикс в комплексе с базисной терапией, отмечались более значимые изменения уровня Fas-рецептора, при этом относительное содержание CD95<sup>+</sup>-лимфоцитов снижалось в 2,0 раза (67,9±1,1% до лечения против 33,3±2,5% в динамике лечения,  $p<0,001$ )

Мы связываем это с выявленной во время иммунологического мониторинга способностью имунорикса нормализовать показатели клеточного звена иммунитета. Изучение дифференцировочных антигенов показало, что у больных со среднетяжелым течением заболевания происходило снижение до относительно нормальных показателей Т-лимфоцитов (маркер CD3) – 61,9±1,5% против 62,7±2,6% в контроле ( $p>0,05$ ) и 66,1±1,3% до лечения ( $p<0,01$ ). При этом относительное содержание субпопуляций Т-лимфоцитов было без изменений по отношению к показателям до лечения. Напротив, значимые изменения отмечались в абсолютном содержании Т-хелперов и Т-супрессоров в группе больных, получавших комплексное лечение с включением имунорикса ( $p<0,05$ ), что отражалось на содержании иммунорегуляторного индекса (1,46±0,06 против 1,26±0,05 до лечения,  $p<0,05$ ). Нормализовалось также относительное количество В-лимфоцитов (14,8±1,1% против 16,4±1,1% до лечения,  $p<0,05$  и 14,6±1,2% в контроле,  $p>0,05$ ).

Показатели иммунной системы при различных схемах лечения  
больных среднетяжелой АБА(М и пределы колебаний)

Таблица 1

| Показатели   | Больные среднетяжелой<br>атопической бронхиальной<br>астмой |                                                         | Комплексная<br>терапия с<br>имунориксом<br>(n=19) | Контроль<br>(n=10)           |
|--------------|-------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|------------------------------|
|              | До лечения<br>(n=31)                                        | Базисная<br>противовоспал<br>ительная<br>терапия (n=12) |                                                   |                              |
| Лимфоциты, % | 60,1±2,8<br>(27-81)***                                      | 51,0±2,5<br>(36-63)***^                                 | 47,4±2,2<br>(30-66)***^                           | 28,0±1,7                     |
| CD3, %       | 66,1±1,3<br>(52-79)                                         | 65,2±1,9<br>(49-72)                                     | 61,9±1,5<br>(54-79) ^^                            | 62,7±2,6<br>(52-75)          |
| CD4, %       | 33,5±1,1<br>(26-47)                                         | 37,7±1,0<br>(32-42) ^^                                  | 36,8±1,4<br>(22-47)                               | 37,3±1,0<br>(32-42)          |
| CD8, %       | 27,3±0,8<br>(21-40)                                         | 25,3±0,7<br>(19-28)                                     | 25,4±0,9<br>(18-33)                               | 25,4 ±2,0<br>(16-36)         |
| IRI          | 1,26±0,05<br>(0,68-1,68)*                                   | 1,50±0,06<br>(1,25-1,95) ^                              | 1,46±0,06<br>(1,00-1,94) ^                        | 1,55±0,13<br>(1,08-<br>2,31) |
| CD19, %      | 16,4±1,1<br>(9-31)                                          | 16,2±1,3<br>(9-26)                                      | 14,8±1,1<br>(7-23) ^                              | 14,6±1,2<br>(9-20)           |
| CD16/56, %   | 16,5±1,4<br>(4-30)*                                         | 15,2±1,4<br>(5-21)*                                     | 14,0±1,2<br>(4-26)*                               | 11,4±0,8<br>(9-15)           |
| CD95, %      | 49,2±1,1<br>(35-60)***                                      | 44,7±2,1<br>(36-56)***                                  | 32,9±1,8<br>(20-45)***<br>^^^                     | 20,6±1,1<br>(16-26)          |

Примечание: статистически значимая разница с показателями:

- контрольной группы: \* –  $p<0,05$ ; \*\* –  $p<0,01$ ; \*\*\* –  $p<0,001$ ;
- до лечения: ^ –  $p<0,05$ ; ^^ –  $p<0,01$ ; ^^ –  $p<0,001$ ;

В группе больных с тяжелым персистирующим течением БА существенной динамики при лечении имунориксом в показателях иммунного статуса не отмечалось (табл. 2).

Показатели иммунной системы при различных схемах лечения  
больных тяжелой АБА(М и пределы колебаний)

Таблица 2

| Показатели   | Больные тяжелой атопической<br>бронхиальной астмой |                                                         | Комплексная<br>терапия с<br>имунориксом<br>(n=15) | Контроль<br>(n=10)       |
|--------------|----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|--------------------------|
|              | До лечения<br>(n=25)                               | Базисная<br>противовоспалит<br>ельная терапия<br>(n=10) |                                                   |                          |
| Лимфоциты, % | 67,4±2,7<br>(35-82)***                             | 59,6±1,7<br>(51-68)***^                                 | 50,6±2,4<br>(36-68)*** ^^                         | 28,0±1,7                 |
| CD3, %       | 62,4±1,3<br>(53-74)                                | 64,6±2,1<br>(49-69)                                     | 60,9±1,0<br>(58-71)                               | 62,7±2,6<br>(52-75)      |
| CD4, %       | 29,4±1,4<br>(18-51)**                              | 33,0±1,8<br>(20-42)*^                                   | 31,7±1,6<br>(22-43)*                              | 37,3±1,0<br>(32-42)      |
| CD8, %       | 25,5±0,9<br>(16-33)                                | 24,5±0,7<br>(19-28)                                     | 26,1±0,9<br>(22-33)                               | 25,4 ±2,0<br>(16-36)     |
| IRI          | 1,20±0,07<br>(0,55-2,22)*                          | 1,36±0,08<br>(0,77-1,68)                                | 1,23±0,07<br>(0,70-1,79)*                         | 1,55±0,13<br>(1,08-2,31) |
| CD19, %      | 17,0±0,8<br>(12-23)                                | 16,8±1,7<br>(9-26)                                      | 15,2±1,1<br>(8-21)                                | 14,6±1,2<br>(9-20)       |
| CD16/56, %   | 20,8±1,3<br>(10-38)***                             | 17,4±1,7<br>(5-22)* ^                                   | 16,1±1,9<br>(4-28)*                               | 11,4±0,8<br>(9-15)       |
| CD95, %      | 67,9±1,1<br>(56-76)***                             | 65,2±2,1<br>(51-74)***                                  | 33,3±2,5<br>(20-53)*** ^^                         | 20,6±1,1<br>(16-26)      |

Примечание: статистически значимая разница с показателями:

- контрольной группы: \* –  $p<0,05$ ; \*\* –  $p<0,01$ ; \*\*\* –  $p<0,001$ ;
- до лечения: ^ –  $p<0,05$ ; ^^ –  $p<0,01$ ; ^^ –  $p<0,001$ ;

Результаты наших исследований свидетельствуют о положительном влиянии имунорикса на цитокиновый статус, что проявлялось достоверным снижением содержания в крови IL-4 и TNF $\alpha$ , а также повышением уровня IL-2 по отношению к показателями до лечения ( $p<0,01$ ) в группе больных со среднетяжелым течением заболевания. Мы считаем, что эти изменения связаны с нормализующим влиянием имунорикса на функциональное состояние макрофагов и синтез ими цитокинов.

В группе больных с тяжелым обострением заболевания значимые изменения также касались концентрации всех изученных цитокинов сыворотки крови больных на фоне проводимой иммунотерапии: IL-2 (7,43±0,48 пг/мл против 0,43±0,94 пг/мл до

лечения,  $p<0,01$ ), IL-4 ( $3,39\pm0,58$  пг/мл против  $8,12\pm1,11$  пг/мл до лечения,  $p<0,01$ ) и TNF $\alpha$  ( $4,28\pm0,98$  пг/мл против  $11,28\pm1,56$  пг/мл до лечения,  $p<0,01$ ).

## ВЫВОДЫ

1. Развитие АБА сопряжено с нарушением реализации программируемой гибели иммунокомпетентных клеток периферической крови, что проявляется повышением апоптоза лимфоцитов, патогенетически значимым в развитии аллергического воспаления. Степень увеличения апоптоза при бронхиальной астме зависит от тяжести течения и периода заболевания.

2. У больных со среднетяжелой и тяжелой персистирующей БА приступный период заболевания характеризуется повышением маркера апоптоза - количества CD95-положительных лимфоцитов до  $48,8\pm2,2\%$  и  $67,9\pm1,7\%$  соответственно. Для послеприступного периода БА по сравнению с приступным периодом характерно снижение процентного содержания CD95-клеток, однако, величина этого показателя достоверно превышает нормальные значения и ведет к его хронизации.

3. Количественными критериями для определения периода АБА и прогнозирования ее обострения, являются понижение в сыворотке крови среднего уровня IL-2 и повышение TNF $\alpha$ , с одновременным увеличением показателя клеточного рецептора апоптоза лимфоцитов – CD95<sup>+</sup>. Установлены корреляционные взаимосвязи между уровнями маркера апоптоза CD95<sup>+</sup> и IL-2 ( $\rho=0,90$ ), CD95<sup>+</sup> и TNF $\alpha$  ( $\rho=0,84$ ), а также CD95<sup>+</sup> и IL-4 ( $\rho=0,37$ ).

4. Имунорикс является эффективным иммуномоделирующим препаратом, оказывающим положительное влияние на динамику основных клинических симптомов при АБА у детей; способствует снижению числа дневных и ночных приступов заболевания, а так же потребности в  $\beta_2$ -агонистах короткого действия; удлиняет период ремиссии в среднем до 126 дней, что позволяет рекомендовать его применение в педиатрической практике.

5. Традиционная патогенетическая терапия АБА не приводит к достоверному изменению уровня CD95- лимфоцитов в циркулирующей крови. Включение в комплексное лечение имунорикса приводит к снижению величины CD95<sup>+</sup> до  $32,9\pm1,8\%$  при

среднетяжелой персистирующей и до  $33,3 \pm 2,5\%$  при тяжелой персистирующей atopической бронхиальной астме.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Для получения объективной и полной картины состояния иммунной системы у больных АБА кроме стандартных методов обследования рекомендуется использовать исследование экспрессии цитокинов.
2. В качестве прогностического критерия тяжести АБА, а также оценки эффективности проводимой терапии целесообразно определение уровня мембранного маркера апоптоза CD95.
3. При лечении среднетяжелой и тяжелой АБА рекомендуется проведение комплексной терапии с длительным использованием иммуномодулятора имунорикс.

### **Список опубликованных работ по теме диссертации**

1. Показатели CD95 лимфоцитов у детей с atopической бронхиальной астмой различной степени тяжести // Международный журнал по иммунореабилитации, май 2010, Дубай, том 12, №2, стр 303
2. Апоптоз в патогенезе бронхиальной астмы у детей // журнал Metabolizm, 2010, №, стр 3-10
3. Показатели иммунного статуса и апоптоза лимфоцитов при atopической бронхиальной астме у детей // журнал Sağlamlıg, 2010, №5, стр 68-72
4. Влияние иммуномоделирующей терапии на показатели иммунитета и апоптоза у детей с atopической бронхиальной астмой // журнал Иммунология, Москва, Том 32, №3, 2011, стр 160-163
5. Цитокиновая реакция апоптоза у больных atopической бронхиальной астмы // Uşaqlarda allergik xəstəliklərin müasir aspektləri, Bakı 2011, s 7-8
6. Результаты использования иммунорегулятора Имунорикса в терапии atopической БА различной степени тяжести, International Journal On Immunorehabilitation, Paris, France, April 2011, Volume 13, Number 1, p 278
7. Изменения в цитокиновом статусе детей с atopической бронхиальной астмой и влияние на него иммунотерапии //

журнал Azərbaycan təbabətinin müasir nailiyyətləri, №2 2011,s  
116-119

8. Иммунные нарушения у детей с атопической бронхиальной астмой // журнал Sağlamlıg, №1, 2011, с 86-90
9. Результаты применения иммуномоделирующего препарата при лечении больных с атопической бронхиальной астмой // Azərbaycan Tibb Jurnalı, 2011, №3, с 36-39

**G. P. ƏHMƏDOVA**

**MÜXTƏLİF AĞIRLIQ DƏRƏCƏLİ BRONXİAL ASTMALI  
XƏSTƏLƏRDƏ LİMFOSİTLƏRİN İMMUNOKOMPETENTLİYİNƏ  
APOPTOZIN TƏSİRİ**

**XÜLASƏ**

BA-nın cəmiyyətə verdiyi böyük iqtisadi və mənəvi zərəri, onun müasir tibbdə əhəmiyyətli və aktual olmasını açıqlamış olur. Onun patoqenezinə, diaqnostik metodlarına, profilaktika və müalicəsinə dair çoxsaylı elmi tədqiqat işlərinin olmasına baxmayaraq açıqlanmayan mexanizmlərin qalması mövcuddur. Bu nöqteyi nəzərdən BA zamanı yaranmış hiperhəssas reaksiyanın mexanizminin tam öyrənilməməsi, xəstəliyə qarşı effektiv üsulların axtarılmasına şərait yaradır. Müasir nəzəriyələrə əsasən ABA-nın immunopatoqenezində spesifik antigenlərə qarşı həm humoral və həm də hüceyrə immün reaksiyalarının tənzimlənməsinin pozulması aparıcı rol oynayır. Ancaq hal-hazırkı dövrə qədər ABA zamanı immün sisteminin tənziminin pozulmasının inkişafını açıqlayan konkret mexanizmlərinə dair vahid baxış mövcud deyil. BA-a aid bir çox elmi tədqiqat işi müxtəlif antigenlərin ekspressiyasına cavab olaraq limfositlərin populyasiya və subpopulyasiyasındakı yaranmış çatışmazlıqlara həsr edilmişdir. Son illərdə məhz BA zamanı yaranmış immunosupressiyada apoptotik mexanizmlərin rolu araşdırılmaqdadır. İmmün xəstəlikləri əsasında autoreaktiv klonların yığılmasına gətirib çıxardan immunokompetent hüceyrənin həddən artıq aktivləşməsi konsepsiyası elmdə yüksək maraq yaradır. Bununla yanaşı ABA zamanı apoptozun nəzarətinin incə mexanizmi və induksiyası az öyrənilmişdir. Xəstəliyin ağırlıq dərəcəsinə və davam etmə müddətinə görə apoptozda yaranmış dəyişikliklər elmə aydın deyildir. Aparılan tədqiqatların böyük həcminə baxmayaraq, müxtəlif müəlliflər tərəfindən təqdim edilmiş nəticələr çoxmənalıdır və bəzi hallarda bir-birinə zidd olurlar.

**G. P. AKHMEDOVA**

**INFLUENCE OF THE APOPTOZ LEVEL ON THE  
IMMUNOKOMPETENTS OF LYMPHOCYTES AT ATOPIC  
BRONCHIAL ASTHMA OF VARYING SEVERITY.**

**SUMMARY**

The problem of allergic diseases remains actual despite a huge number of researches of devoted this pathology.

According to modern representations, in immunological pathogenesis of atopic bronchial asthma the leading role is played by violations of regulation of humoral and cellular reactions of immune system on specific the anti-gen. However the uniform view of concrete mechanisms of development of a disregulation doesn't exist yet.

In recent years the role of the apoptotichesky mechanism of an immunosuppression is actively studied. Keen interest is caused by the concept according to which at the heart of immune diseases excessive activation of cages responsible for immunity which leads to accumulation of jet clones lies. Thin mechanisms of control and induction apoptosis in immunological cages at atopic bronchial asthma are a little known. In works available for today features of an expression of a small amount of the markers are presented, the obtained data are various, and sometimes and contradict each other. Besides, there is open a question of how changes apoptosis depending on a stage, severity and disease duration. In the thesis results of research of 70 people of patients are stated to atopic bronchial asthma of varying severity. Comparative studying of the immune and sitokin status, and also dynamics of change of a apoptosis marker by CD95 depending on a phase of a disease, severity and process duration is carried out. Influence on apoptosis process at lymphocytes immunomodulation Imunorix is studied.



Azərbaycan Tibb Universitetinin  
mətbəəsində çap edilmişdir.

Ofset çap üsulu.  
Kağız formatı 60x84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>.  
Tiraj 100

**AZƏRBAYCAN RESPUBLİKASININ SƏHİYYƏ NAZİRLİYİ**

**AZƏRBAYCAN TİBB UNİVERSİTETİ**

*Əlyazması hüququnda*

**GÜLNARƏ PƏRVİZ QIZI ƏHMƏDOVA**

**MÜXTƏLİF AĞIRLIQ DƏRƏCƏSİ OLAN ATOPIK BRONXIAL  
ASTMALI XƏSTƏLƏRDƏ LİMFOSİTLƏRİN APOPTOZUN  
İMMUNOKOMPETENT HÜCEYRƏLƏRƏ TƏSİRİ**

**32.20.01 PEDIATRİYA**

Tibb üzrə fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi almaq üçün  
təqdim edilmiş dissertasiyanın

**AVTOREFERATI**

**Bakı - 2013**