

П.Д. НОВИКОВ  
Витебский государственный  
медицинский университет,  
Витебск, Беларусь

УДК 616.233-002-053.21.6

## ИЗОТИПИЧЕСКИЙ СПЕКТР АНТИТЕЛ К STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE ПРИ БРОНХИТАХ У ДЕТЕЙ

За последние годы сведения о роли иммунопатогенетических механизмов в развитии бронхолегочной патологии у детей значительно расширились. По данным литературы при бронхитах у детей обнаруживаются различные изменения со стороны иммунной системы: снижается фагоцитарная активность лейкоцитов, отмечаются дисиммуноглобулинемии, снижается уровень Т-лимфоцитов, отмечается дисбаланс их субпопуляций [5,9]. Описаны дефициты классов и субклассов иммуноглобулинов [12,13], дефекты синтеза антител к полисахаридным и белковым антигенам [10,11].

Несмотря на то, что иммунофенотипические маркеры при патологии органов дыхания интенсивно изучаются [14,15], их значение при различных формах бронхитов требует дальнейшего исследования.

**Целью данной работы** было определить клиническое значение динамики изотипического спектра антител классов IgG, IgM, IgA к *Streptococcus pneumoniae* у детей, больных разными формами бронхитов.

**Материал и методы.** *Обследовано 137 детей с острым бронхитом (ОБ), острым обструктивным бронхитом (ООБ), рецидивирующим бронхитом (РБ), рецидивирующим обструктивным бронхитом (РОБ) и 35 здоровых детей в возрасте от 7 до 14 лет. Диагноз бронхита ставился на основании клинического и рентгенологического обследования, оценки функции внешнего дыхания, общих анализов крови и мочи, биохимического анализа крови.*

*Материалом для исследования служили клетки периферической крови, сыворотка крови и слюна больных с различными формами бронхитов, взятые в период разгара болезни и в фазу реконвалесценции.*

*Определение изотипического спектра антител классов G, M, A и sIgA к белковым антигенам пневмококка проводилось методом иммуноферментного анализа с применением тест-сис-*

*тем для определения антител к пневмококку (производства фирмы "Илья Мечников" совместно с НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, РАМН, г. Москва) в нашей модификации с тремя конъюгантами (антисыворотки к IgG, M и A человека, меченные пероксидазой хрена).*

*Выявление изотипоспецифических антител к пневмококку проводилось в одном разведении в двух повторях. Для выбора исследуемых разведений была проведена статистическая обработка кривых титрования 25 проб сывороток для антител классов G, M, A и sIgA к белковым антигенам пневмококка в результате которой было установлено разведение, при котором значения исследуемого параметра с известной вероятностью попадают на средний участок кривой титрования, где измерение наиболее достоверно. Данные условия совпадают при использовании одних и тех же антигенов пневмококка, а также одинаковых сорбционных свойств планшеты для иммуноферментного анализа и конъюгатов не отличающихся по своей ферментативной активности, афинности и авидности связи антиген-антитело.*

*При исследованиях в настоящей работе использовались планшеты LIBRO (США), в качестве конъюгата - моноспецифические сыворотки к IgG, M, A, меченные пероксидазой хрена и индикатор ортофенилендиамин (ОФД). Регистрацию активности иммуноферментной реакции проводили на иммуноферментном фотоэлектрическом анализаторе АИФ-ц-01с производства ПО "Витязь" г.Витебск, при длине волны 492 нм.*

*Для получения сопоставимых результатов различных серий опытов и исключения зависимости от активности компонентов иммуноферментной реакции, результаты ИФА выражали в условных единицах (EU, Elisa Units), рассчитанных по формуле (Pedersen P.K., Henrichsen J., 1982 в модификации Пандюкова Л.Н., 1993)[3].*

Для качественной оценки ИФА использовали определение соотношения  $P/N$ , где  $P$  - регистрируемая оптическая плотность для исследуемой пробы, а  $N$  - оптическая плотность для отрицательной контрольной сыворотки.  $P/N$ , превышающее единицу свидетельствовало о наличии специфических антител. С учетом ошибок анализа

исследуемую пробу считали положительной при  $P/N$  большей или равной 2, при условии, что оптическая плотность положительной контрольной сыворотки также превышала оптическую плотность отрицательной контрольной сыворотки в 2 и более раз в соответствующем разведении.

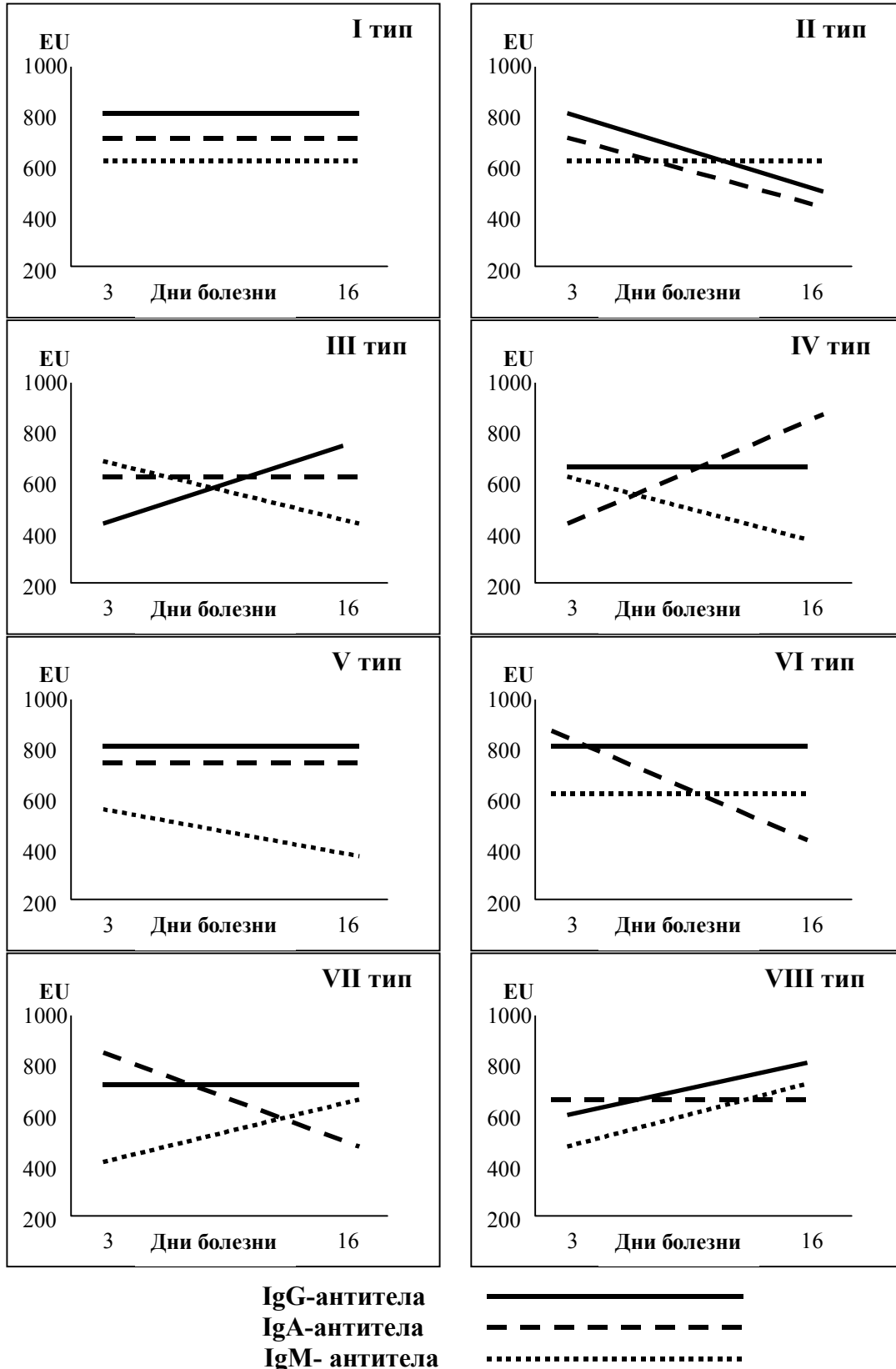


Рис. 1. Динамика изотипоспецифических антител к пневмококку

## Результаты

При изучении динамики антител к белковым антигенам пневмококка в сыворотке крови нами было обнаружено 8 основных типов динамики иммунного ответа к *Streptococcus pneumoniae* в сыворотке крови больных бронхитами (рис.1).

I тип характеризовался постоянством уровня антител. При нем наблюдались уровни IgG, IgA, IgM-антител не отличающиеся достоверно от средних величин у здоровых детей.

Также как у здоровых наблюдались либо высокие, либо низкие титры антител. Это постоянство уровня антител указывает на отсутствие этиологической значимости антигенов пневмококка в развитии заболевания.

Для II типа показательно резкое снижение IgG и IgA-антител и отсутствие изменений со стороны IgM-антител. Возможно это указывает на ингибицию иммунного ответа к пневмококку.

При III типе динамики IgG-антитела возрастали с 420+50 EU, до 710+80 EU с одновременным снижением IgM-антител с 700+90 EU до 520+80 EU. IgA антитела оставались на уровне активности 600+100 EU. Увеличение IgG-антител ретроспективно указывало на этиологическое значение пневмококка в возникновении заболевания.

Характерным для IV типа было повышение IgA-антител с активности 400+110 EU до 800+180 EU, с одновременным снижением IgM-антител с 500+90 EU до 310+70 EU. IgG-антитела оставались в пределах активности иммуноферментной реакции 680+140 EU. Согласно классическим представлениям развития иммунного ответа он указывает на переключение синтеза антител на IgA изотип.

V тип динамики антител характеризовался неизменностью уровней IgG (700+210 EU) и IgA-антител (810+190 EU) и снижением IgM-антител с 520+110 EU до 300+80 EU. Вероятно этиологическая роль пневмококка у больных с такой динамикой была несущественной.

При VI типе уровень IgG-антител оставался стабильным (800+170 EU). Концентрация IgA-антител падала с 900+200 EU до 290+50 EU, а уровень IgM-антител оставался неизменным. Это указывало на ингибицию или дефицит синтеза IgA-антител.

VII тип характеризовался неизменным уровнем активности IgG-антител (как и при VI типе), однако уровень IgA-антител снижался до 480+140

EU, а IgM-антитела увеличивались с 300+110 EU до 680+140 EU. Возможно, подъем IgM-антител указывал на недавнее инфицирование пневмококком.

VIII тип характеризовался одновременным увеличением IgG-антител с 500+110 EU до 800+160 EU и IgM-антител с 300+70 EU до 680+115 EU. Вероятнее всего он характеризует нормальный иммунный ответ в течении первых двух недель на антигенную стимуляцию.

Сравнение доверительных интервалов средних величин уровней активности иммуноферментной реакции к стрептококку пневмонии у больных с бронхитами и у здоровых достоверных отличий не обнаружило, за исключением спектра антител больных РБ. У 37% этих больных на всем протяжении болезни имелся достоверно ( $p < 0.05$ ) низкий титр антител классов IgG, IgA и sIgA (в слюне) к пневмококку по сравнению со здоровыми детьми, т.е. диагностирован дефицит этих антител.

Необходимо отметить, что несмотря на разнообразие типов динамики антител их частота встречаемости была неодинаковой при *разных формах бронхитов*. Поэтому, для определения различий и сходства иммунопатогенеза при разных формах бронхитов мы использовали сравнение частоты встречаемости типов динамики антител (табл.1).

Из представленных данных видно учащение изменений уровня антител к стрептококку пневмонии при рецидивирующих формах бронхитов, что говорит о значимости его роли в патогенезе рецидивирующих форм бронхитов.

Так, II тип динамики антител встречался при рецидивирующих формах с частотой 20,7% при РБ и 9% при РОБ. III тип, который характеризовался повышением титра IgG-антител, снижением IgM-антител и неизменным уровнем IgA-антител, чаще встречался при остром бронхите (18,2%), но также имел место при рецидивирующих формах (18,1% при РБ и 16,7% при РОБ). IV тип при котором IgA-антитела повышались, IgM - снижались, а IgG-антитела не изменялись, чаще встречался при обструктивном бронхите (18,2%). VI тип динамики, характеризующийся снижением IgA-антител и неизменным уровнем IgG и IgM - антител, в основном обнаруживался при РОБ (25%). VII тип - отмечался только при ООБ (27,3%). VIII тип с повышением IgG и IgM - антител встречался в основном при РБ (29,1%).

**Частота встречаемости типов динамики антител  
к стрептококку пневмонии при разных формах бронхитов**

Типы динамики антител	Острый Бронхит	Острый обструктивный бронхит	Рецидивирующий бронхит	Рецидивирующий обструктивный бронхит
I	60,2%	36,4%	25,2 %	25 %
II	3,4 %	-	20,7 %	9 %
III	18,2%	-	16 %	16,7 %.
IV	9,1%	18,2%	-	-
V	9,1%	9,1%	-	16%
VI	-	9,1%	9 %	25%
VII	-	27,3%	-	-
VIII	-	-	29,1%	8,3%

### Обсуждение

Вопрос об изотипическом спектре антител к пневмококку остается мало изученным, как у больных с бронхолегочной патологией так и у здоровых, хотя отдельные работы имеются [3,10,11]. Л.Н. Пандюков [3] исследовал уровень IgG - антител в сыворотке крови и IgA- антител в слюне к полисахариду и белковому антигену пневмококка у здоровых лиц и больных пневмококковой инфекцией. Им выявлены особенности иммунного ответа при пневмококковой инфекции: постепенное нарастание количества антител; сохранение относительно низких и относительно высоких концентраций; случаи снижения первоначально высокого уровня антител к пневмококку [3]. В отдельных работах [10,11] большое внимание уделяется изучению антительного ответа на антигены пневмококка, гемофильной палочки. Обнаружен селективный дефицит антител к капсулярному полисахариду *Haemophilus influenzae* типа В при вакцинации у детей с рецидивирующими бронхолегочными заболеваниями. Однако большинство работ посвящены исследованию преимущественно одного класса антител (в основном IgG).

Результаты собственных исследований позволяют считать целесообразным вышеописанный подход анализа динамики антител классов IgG, IgA, IgM как метод оценки иммунного статуса. Так I тип, который характеризовался отсутствием изменений уровней антител классов IgG, IgM, IgA был самым распространенным при всех формах бронхитов. По-видимому, высокий или низкий титр антител к пневмококку зависит от того был ли контакт иммунной системы организма с данным видом микроорганизма или не было, а

если был то в какой период развития организма и с какими последствиями. Следует заметить, что в контрольной группе здоровых детей преобладал именно I тип динамики антител (91%). Все остальные, обнаруженные нами, типы динамики антител так или иначе отражали их участие в каком-либо звене иммунопатогенеза болезни.

Хотя интерпретация значения того или иного типа динамики антител, найденных в ходе исследования, неоднозначна, анализ изотипоспецифического спектра антител выявил иммунодефицитные варианты динамики иммунного ответа к *Streptococcus pneumoniae*.

Так, III,IV и VIII типы динамики антител скорее всего являются звеньями нормального иммунного ответа к антигенам пневмококка, а разница между ними говорит о разном времени прошедшем с момента антигенной стимуляции и, возможно, о различии между первичным и вторичным иммунным ответом. Кроме того, ретроспективно они указывают на этиологическую роль пневмококка в данном периоде или эпизоде болезни.

II, VI и VII типы, по нашему мнению, следует относить к иммунодефицитным вариантам динамики изотипического спектра антител. Характерно, что эти варианты динамики в основном встречались при рецидивирующих бронхитах, которые являются одной из клинических масок иммунодефицитного состояния. Необходимо также отметить, что корреляционный анализ обнаружил прямую связь между уровнем активности IgA-антител сыворотки крови и sIgA-антител слюны в иммуноферментной реакции у больных рецидивирующими формами бронхитов ( $r = 0,7568$ ,  $p < 0,01$ ). Кроме того, проведенное нами в течении

2-х лет катамнестическое наблюдение за детьми болевшими острыми формами бронхитов и имевшими данные типы динамики антител, обнаружило высокий индекс рецидивности – 68,3%. Иначе говоря, более чем половине детей с острыми формами бронхитов в дальнейшем был поставлен диагноз - рецидивирующий бронхит.

VII тип динамики, по видимому, является близким к VI и говорит о реинфекции на фоне ингибции синтеза IgA – антител. Он наблюдался только у больных с острым обструктивным бронхитом. Интересно то, что уровень общего IgE у больных с данным типом динамики был достоверно ( $p < 0,05$ ) выше ( $186,5 + 31,4 \text{ кЕ/л}$ ), чем у остальных больных острым обструктивным бронхитом, у которых наблюдались другие типы динамики антител. Возможно, это говорит о переключении синтеза антител с класса иммуноглобулина А, на класс иммуноглобулина Е, как на “вторую линию защиты”.

V тип динамики антител представляет возможность двойного суждения о его значимости: с одной стороны, возможно, это вариант нормального иммунного ответа с замедленным снижением уровня IgM-антител, что говорит о антигенной стимуляции пневмококком более чем за 2 недели до начала заболевания; с другой стороны, возможно, это дефицит синтеза IgM-антител к анти-

генам пневмококка. Его более частая встречаемость при рецидивирующем обструктивном бронхите может свидетельствовать в пользу как первого, так и второго предположения. Несомненно одно – для более точной интерпретации результатов требуется дальнейшее детальное исследование изотипического спектра антител как к пневмококку, так и к другим часто встречающимся микроорганизмам.

### Выводы

1. У здоровых детей и у детей больных различными формами бронхитов как в острый период, так и в фазу реконвалесценции выявляются естественные антитела к белковым антигенам пневмококка. Их титр отражает напряженность иммунитета организма к пневмококку.

2. Уровни антител классов IgG, IgM, IgA к антигенам пневмококка в сыворотке крови у здоровых детей и у большинства детей болеющих острыми бронхитами в течении 14-16 дней не изменяются, что указывает на отсутствие этиологической роли данного микроба.

3. Обнаружены иммунодефицитные типы динамики антител к пневмококку, (снижение уровней IgG, IgA-антител или их отсутствие), которые встречались чаще при рецидивирующих бронхитах.

### Литература

1. Иммунология инфекционного процесса: Руководство / Под. ред. Покровского В.И., Гордиенко С.П., Литвинова В.И. - М.: Медицина, 1994. - 305 с.
2. Новиков Д.К., Новикова В.И. Оценка иммунного статуса. - М.-Витебск: Медицина, 1996.- 281с.
3. Пандюков Л.Н. Иммунохимическая диагностика пневмококковой инфекции: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.- М., 1993.- 51 с.
4. Ройт А. Основы иммунологии: Пер. с англ. - М.: Мир, 1991. - 327 с.
5. Стефани Д.В., Вельтищев Ю.Е Иммунология и иммунопатология детского возраста . - М.: Медицина, 1996. - 382с.
6. Ambrosino D.A., Umetsu D.T., Siber G.P. Selective defect in an antibody response to Haemophilus influenzae type B in children with recurrent infections and normal serum IgG subclass levels // J. Allerg. Clin. Immunol. -1988. -Vol.81. -P.1175-1179. Donna M.,
7. Ambrosino G., Siber R. An immunodeficiency characterized by impaired antibody response to polysaccharides // N. Engl. J. Med. - 1987. - Vol.316, №13. - P.790 -793.
8. Herrod H.G., Gross S., Insel R. Selective antibody deficiency to Haemophilus influenzae type B capsular polysaccharide vaccination in children with recurrent respiratory tract infection // J. Clin. Immunol. -1989. -Vol.9. -P.429-434.
9. Rylander E., Persson U., Eriksson M. Lymphocyte subsets in infants with wheezy bronchitis // Acta. Pediatr. - 1994. -Vol. 83. - P. 333 -334.
10. Sanders L.A., Rijkers G.T., Tenbergen-Meeke A.J. Defective anti-polysaccharide antibody response in children with recurrent respiratory tract infection // Progress in immune deficiency III. London. Royal society of Medicine. -1991. -P.115-118.
11. Sanders L.A., Rijkers G.T., Kuis W. Defective antipneumococcal polysaccharide antibody response in children with recurrent respiratory tract infections. // J. Allergy Clin. Immunol. - 1993. -Vol. 91.- P. 110-119.
12. Soderstrom T., Soderstrom R., Avanzini A. Immunoglobulin G subclass deficiencies. // Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. -1987. -Vol.82. -P.476-480.

13. Stanley P.J., Gorbo G., Cole P.J. Serum IgG subclasses in chronic and recurrent respiratory infections // *Clin. Exp. Immunol.* -1984. -Vol.58. -P.703-708.
14. Tainio V.M. Lymphocyte subclass in infants: Relationship to feeding, atopy and atopic heredity and infections // *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*-1985. -Vol.78. -P.305-310.
15. Young J.W., Steinman R.M. Dendritic cells stimulate primary human cytolytic lymphocyte responses in the absence of CD4+ helper T-cell // *J. Exp. Med.* – 1990. – Vol.171. – P.1315-1332.