

О.В. Кравченко

Вплив поляризованого світла на імунний і цитокіновий статус хворих на бронхіальну астму на фоні імунотерапії бронхомуналом

Исследовано влияние поляризованного полихроматического света (БИОПТРОН-света) на иммунокомпетентные клетки больных бронхиальной астмой в комплексе с иммуномодулятором бактериального происхождения бронхомуналом. Представлены данные про содержание основных цитокинов, принимающих участие в развитии воспалительных реакций. Выявлено, что под влиянием БИОПТРОН-света повышается количество Т-лимфоцитов, нормализуется соотношение субпопуляций Т-лимфоцитов и содержание сывороточного фактора некроза опухоли (ФНО-α), а содержание интерлейкина-4 достигает такового у здоровых лиц. Установлено значительное повышение содержания сывороточного интерферона-γ под влиянием комбинированного применения бронхомунала и БИОПТРОН-света.

ВСТУП

В останні роки особлива увага приділяється патогенетичному підходу до лікування хворих на бронхіальну астму (БА) [2, 5, 17]. Нині експериментально та клінічно доведено, що бронхіальна астма – імунозалежне захворювання, у патогенезі якого особливе значення мають порушення як клітинної, так і гуморальної ланки імунної системи, а також зміни місцевого імунітету дихальних шляхів [1, 8–10].

Враховуючи те, що при бронхіальній астмі відмічають порушення багатьох показників імунітету, під впливом запалення, що персистує, може відбутися ще більш глибоке пригнічення імунної відповіді. Через існування можливості рецидиву збільшується небезпека переходу захворювання у хронічну форму. У зв'язку з цим доречно проводити імунотерапію (ІТ) з використанням бактеріальної вакцини бронхомуналу (БМ), яка містить лізат бактерій, котрі у більшості випадків є збудниками захворювань бронхо-легеневої системи.

Останнім часом на фоні ІТ широко використовуються наступні немедикаментозні методи лікування БА, які направлені на корекцію імунного статусу: голкорексфлексотерапія, дециметрова хвильова терапія, спелеотерапія тощо.

Слід приділити особливу увагу впливу поляризованого світла (БІОПТРОН-світла) на імунологічну активність організму. БІОПТРОН-світло (БС) являє собою електромагнітні хвилі, котрі осцилюють у паралельних площинах та охоплюють довжини хвиль від 480 до 3400 нм (інакше кажучи, це видиме холодне світло та певна частина інфрачервоного спектра), але не захоплюють ультрафіолетове випромінювання.

Поляризоване світло збільшує енергетичну активність клітинної мембрани, змінюючи пропорції мембранних жирних кислот. Це, в свою чергу, активує метаболічні процеси, збільшуючи продукцію ензимів клітиною і, таким чином, підвищує енергетичні резерви.

Праці, присвячені вивченню впливу поляризованого поліхроматичного світла на імунокомпетентні клітини хворих на БА, не зустрічалися у доступній нам літературі.

Патогенетичні механізми запалення вимагають поглибленого вивчення з урахуванням кооперативної взаємодії клітин імунної системи, які забезпечують секрецію і рецепцію цитокінів [19, 21]. Цитокіни містять велику кількість ендogenous біологічно активних сполук (описано близько двох десятків інтерлейкінів, інтерферонів, колонієстимулювальних факторів, факторів некрозу пухлин тощо) [3, 19]. У формуванні запалення бере участь велика кількість медіаторів запалення, функції яких багато в чому взаємозалежні [20], але головну роль відіграють лише деякі. До них відносяться інтерферон-гамма (ІФН- γ), фактор некрозу пухлин альфа (ФНП- α), інтерлейкін 1-альфа (ІЛ-1 α), інтерлейкін 4 (ІЛ-4) [6].

Очевидно, що вторгнення в організм антигена активує макрофаг і таким чином подальше виділення ІЛ-1 α , який стимулює проліферацію Т-клітин і їхній розвиток. Отже, медіатор ІЛ-1 α має першорядне значення у місцевій запальній реакції за умов будь-якого типу запалення [13, 16]. Доведено, що ІЛ-1 α здатний підвищувати активність Т-хелперів-1 (Th-1), стимулюючи секрецію ними ІФН- γ [17]. У нормі домінуючою секреторною функцією Th-1 у людини є продукція ІЛ-1 α , і практично весь ІЛ-1 α залишається всередині клітин у зв'язаному з цитоплазматичною мембраною стані [8]. За різних патологічних станів спостерігається підвищення вмісту ІЛ-1 α в інтерстиціальній рідині ІЛ-1 α [3,8]. Таким чином, при патологічному процесі велику інформативність може нести дослідження секреторної форми ІЛ-1 α у біологічних середовищах організму. Встановлено, що у хворих на БА недостатність Th-1 призводить до зниження синтезу ІФН- γ . Крім цього, активація макрофагів при вираженому запаленні може призвести до підсилення синтезу ними фактора гіпореактивності, що в свою чергу пригнічує синтез імунного ІФН [4]. У зв'язку з цим, перевага субпопуляцій Т-хелперів-2 (Th-2), котрі відповідають за диференціювання В-лімфоцитів у плазматичні клітини, та зниження фізіологічного інгібуючого

впливу ІФН- γ та ІЛ-4 на синтез імуноглобуліну Е (IgE), призводять до його гіперпродукції. Цитокинопосередкована гіперпродукція IgE відіграє важливу роль у патогенезі імунної стадії алергічного запалення [1, 2, 4, 14]. Саме IgE, на думку багатьох авторів [2, 6, 7, 9, 10, 12, 18–20], є основною патогенетичною ланкою у механізмі розвитку будь-яких запальних реакцій при всіх формах БА [11].

Паралельно з активацією макрофагальної ланки імунітету, взаємодія антигена, котрий надійшов, з уже існуючими фіксованими на мембранах опасистих клітин антитілами класу Е, призводить до активації синтезу медіаторів запалення, до числа котрих входить ФНП- α , ефекти якого у багатьох випадках подібні до дії ІЛ-1 α . При запаленні ФНП- α також контролює інфільтрацію нейтрофілами стінок бронхів, бере активну участь у регуляції експресії молекул адгезії [14, 15, 21], відповідальних за вибірккову адгезію еозинофілів у центрі запалення, тобто є медіатором, який бере участь у розвитку пізньої фази алергічної реакції. Існує припущення, що ФНП- α , який впливає на деякі серйозні метаболічні ефекти, є речовиною, котра відповідає за синхронізацію запалення [4].

Таким чином, дані літератури свідчать про те, що комплексне визначення вмісту в сироватці крові ІЛ-1 α , ІЛ-4, ФНП- α і ФНП- γ у хворих на БА може бути маркером ступеня запальної реакції, який визначає глибину патологічного процесу, а також є важливим критерієм, який дозволяє індивідуально підійти до призначення БМ у комплексі з БС.

Метою роботи було вивчення імунного статусу хворих на БА до та після впливу поляризованого світла в комплексі з БМ на фоні традиційної терапії ІТ БМ.

МЕТОДИКА

Обстежено 137 хворих з діагнозом БА в різноманітних формах.

Залежно від отриманої терапії хворі були розподілені на наступні групи: до I групи

ввійшли пацієнти, які отримували лікування БС на фоні традиційної терапії – 38 осіб; II група – 29 осіб – пацієнти, які отримували БМ на фоні традиційної терапії; III група – 35 осіб, котрі лікувалися БС на фоні специфічної імунотерапії БМ; IV група – 35 хворих на БА, які отримували тільки базову терапію. Контрольну групу склали 20 практично здорових людей, донорів крові. Для вивчення субпопуляції Т-лімфоцитів (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺), В-лімфоцитів (CD20⁺), IgG та IgE сироватку крові досліджували за допомогою імуноферментного аналізу – ІФА (“Протейновий профіль”, Росія).

Склад сироватки досліджуваних цитокінів вивчали спектрофотокolorиметричним методом з використанням наборів реактивів для ІФА, який розроблено на базі Державного НДІ особливо чистих біопрепаратів (Санкт-Петербург, Росія) і розроблених фірмою “Протейновий профіль”, на основі “сендвіч”-методу твердофазного ІФА з використанням пероксидази хрому, який є індикаторним ферментом. Даний метод це - твердофазний ензимозв’язаний імуносорбентний аналіз (ELISA), який оснований на принципі “бутерброда”. Мікрочастинки покриті антитілами, направленими на антигенну детермінанту (частина антигена, яка реагує з антитілом) молекули антигена (ІФН γ , ІЛ-1 α , ІЛ-4, ФНП- α). Аліквоти сироватки крові пацієнтів інкубуються у частинках, покритих первинними антитілами, і будь-який наявний досліджуваний антиген зв’яжеться з цим антитілом. Біостиньльоване вторинне антитіло, спрямоване в іншу частину молекули антигена, зв’яжеться з ним, утворивши “сендвіч”. Далі додається кон’югант стрептовідинпероксидази, котрий формує комплекс з біотином, який залишається на стінці лунок. Після додання розчину субстрату ТМФ (ферментний субстрат) інтенсивність забарвлення стане пропорційною концентрації антигена в пробі. Змінені значення оптичної щільності для стандартів використовуються для побудови калібровочної кривої, відносно якої обчислюють невідомі проби. Використовували довжину хвилі

450 нм. Вимір здійснювали з дублюванням стандартів, а для побудови калібровочних кривих використовували метод регресивного аналізу. Отримані результати опрацьовані із застосуванням методів варіаційної статистики. Обробку матеріалу проведено на ПЕОМ PC Pentium 1-233 MMX із застосуванням комп’ютерного пакета MICROSOFT EXCEL 9.0.

Традиційна терапія включала бронхолітики, симпатоміметики, ксантинові похідні, кортикостероїди в інгаляційній формі, муколітичні препарати.

Світлову терапію здійснювали впливом поляризованого світла на проекцію за грудинної залози (грудина) протягом 2 діб по 5-10 хв з подальшою аплікацією на проекцію кореня легені і на ділянку грудини протягом 10-14 діб.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Після проведення досліджень індивідуальної чутливості Т-лімфоцитів до БМ виявилось, що 88,7 % хворих чутливі до середньотерапевтичної дози. Це було використано нами для лікування.

За оцінкою результатів проведеного лікування спочатку визначали його ефективність з огляду на клінічні прояви хвороби. У хворих на БА, котрі приймали БМ на фоні світлотерапії, відмічено 20 % позитивних результатів – ефективність лікування 5 балів, напади ядухи та дихального дискомфорту не спостерігалися, працездатність не порушилася. У 58 % пацієнтів відмічено гарний ефект – 4 бали – напади ядухи зникли в період лікування, але періодично турбував незначний сухий кашель, легка задишка з утрудненим видихом, що вимагало застосування β_2 -агоністів короткої дії та відхаркувальних препаратів. Працездатність хворих збереглася повністю. Задовільний ефект – 3 бали – визначений у 30 % хворих – напади ядухи спостерігались, але стали більш легкими та рідкими, вимагали прийому бронхолітичних препаратів, профілактичних курсів лікування

кромоглікатом або недокромілом натрію, прийому відхаркувальних препаратів. Працездатність збереглася. У пацієнтів контрольної групи, яким на фоні базового лікування не призначали БС тільки в 10 % випадків були отримані відмінні результати та в 40 % спостерігався позитивний ефект, а задовільний – у 50 % хворих на БА, що й підтверджує доцільність використання поліхроматного світла при лікуванні хворих на БА.

Результати аналізу змін стану клітинного імунітету у хворих свідчать про більш низький рівень відносного числа Т-лімфоцитів ($CD3^+$) у пацієнтів дослідних груп порівняно з контролем (рис. 1).

У всіх обстежених був достатньо низький рівень $CD4^+$ ($23,7 \% \pm 0,8 \%$) та особливо $CD8^+$ ($18,4 \% \pm 1,4 \%$) до лікування. У результаті проведеного лікування вищевказані показники нормалізувалися під впливом БМ і БС, а в групі хворих, які отримували звичайну терапію, відмічено тенденцію до поліпшення показників, однак рівня здорових осіб вони не досягли.

Клінічно це проявлялося більш швидким поліпшенням загального стану хворих – не таким частим застосуванням симпатоміметиків, зменшенням дози інгаляційних кортикостероїдів, покращенням спірометричних показників.

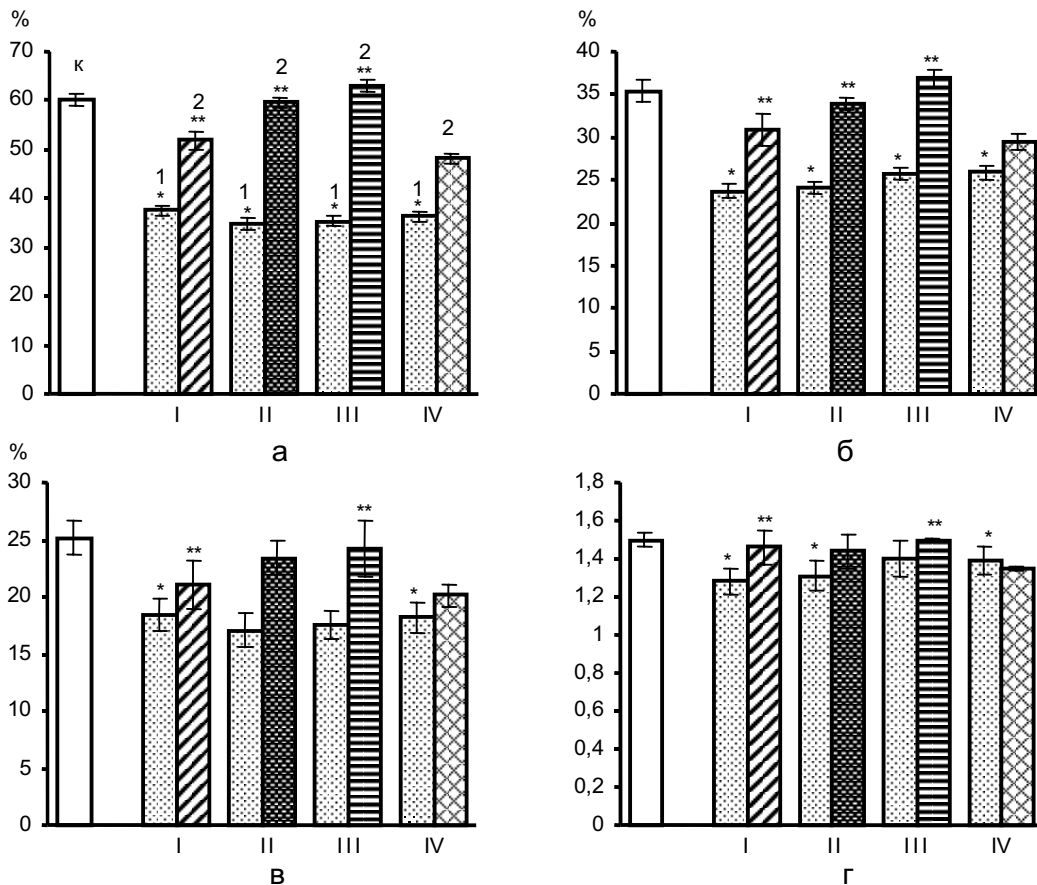


Рис. 1. Субпопуляційний склад лімфоцитів $CD3^+$ (а), $CD4^+$ (б), $CD8^+$ (в) та співвідношення $CD4^+/CD8^+$ (г) у хворих на бронхіальну астму до (1) та після (2) лікування: аплікацією БІОПТРОН-світлом - I, бронхомуналом - II, бронхомуналом та БІОПТРОН-світлом - III та при базовому лікуванні - IV в порівнянні з контролем (к).

* вірогідність відмінностей порівняно з показниками в осіб контрольної групи ($P < 0,05$); ** вірогідність порівняно з даними до лікування ($P < 0,05$).

Стан гуморального імунітету представлено на рис. 2. Кількість В-лімфоцитів у хворих достовірно не відрізнялася від норми. У всіх хворих вміст ІgЕ до лікування був значно підвищеним і тільки після лікування БС у комплексі з БМ знизився до норми (див. рис. 2).

Вище було зазначено, що в даному дослідженні головним було вивчення значень певних імунологічних показників до та після проведення лікування БС з БМ. При обстеженні хворих до лікування визначені наступні зміни в групі цитокінів (рис. 3.): концентрація ФЛ-1α у сироватці крові у хворих на БА, які були проліковані БС на фоні базової терапії, достовірність була точно збільшена порівняно зі здоровими людьми (P<0,05).

До лікування показники ІЛ-1α, ІЛ-4, ФНП-α, ІНФ-γ у всіх групах досліджуваних хворих достовірно не відрізнялися. Після проведеного лікування поряд зі згаданою позитивною динамікою клінічної симптоматики було визначено зміни цитокінового профілю. Отже, вміст ІЛ-4 у сироватці крові

пацієнтів, котрих лікували БС, достовірно зменшився порівняно з таким самим до лікування і не відрізнявся від показників у здорових осіб. Сироватковий вміст ІНФ-γ до лікування у всіх групах хворих був достовірно нижче, ніж у здорових осіб. Після лікування у групах хворих, які отримували БМ і БС, відмічалось значне підвищення вмісту ІНФ-γ, причому найбільш інтенсивно - під впливом поєднаного застосування БМ і БС. Беручи до уваги отримані нами дані про зниження вмісту ІНФ-γ у період загострення БА, з точки зору його значення у патогенезі запалення, ми вважаємо, що в період загострення БА можливе порушення і ІЛ-1-опосередкованої продукції ІНФ-γ Тh1-клітинами, яке в числі інших чинників призводить до недостатнього синтезу даного цитокіна клітинами-продуцентами. Активація макрофагальної складової імунітету, яка спостерігається при загостренні БА, може сприяти підвищенню продукції макрофагами речовин, які інгібують синтез ІНФ-γ. Про наявність запальних явищ у гострому періоді БА з певною

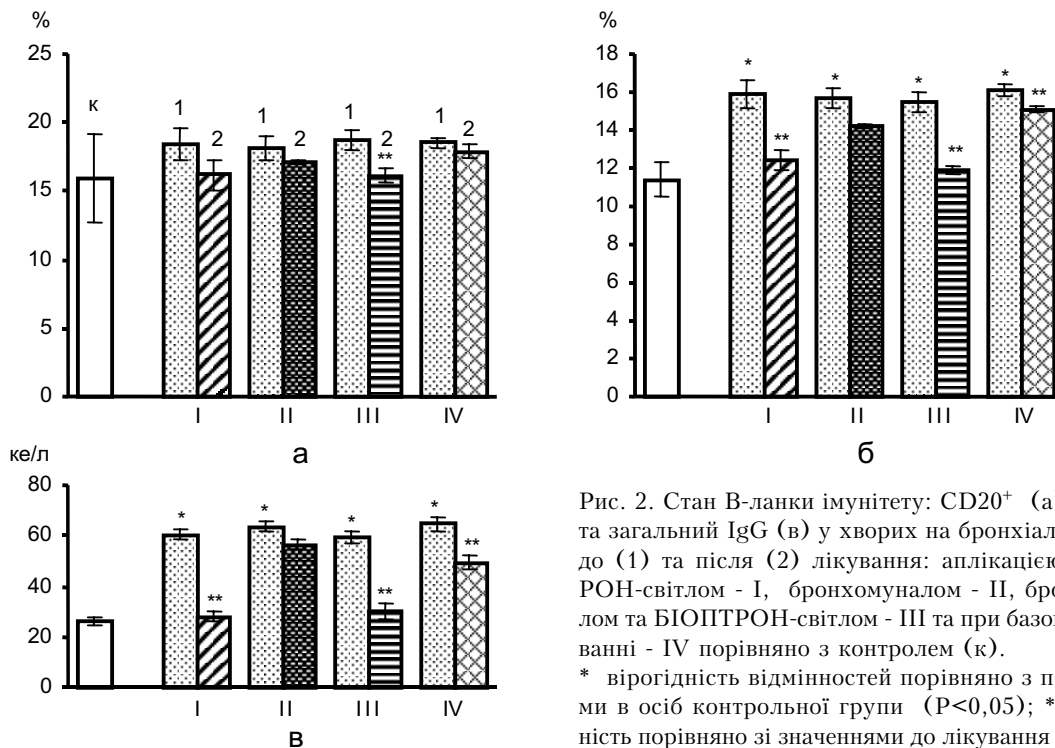


Рис. 2. Стан В-ланки імунітету: CD20⁺ (а), ІgG (б) та загальний ІgG (в) у хворих на бронхіальну астму до (1) та після (2) лікування: аплікацією БІОПТРОН-світлом - I, бронхомуналом - II, бронхомуналом та БІОПТРОН-світлом - III та при базовому лікуванні - IV порівняно з контролем (к).

* вірогідність відмінностей порівняно з показниками в осіб контрольної групи (P<0,05); ** вірогідність порівняно зі значеннями до лікування (P<0,05).

часткою ймовірності свідчить підвищення у сироватці крові типових запальних цитокінів ІЛ-1 α і ФНП- α , у той час як зниження вмісту ІФН- γ може свідчити про недостатність чинників, котрі обмежують реалізацію запалення. З цих позицій ефект ІФН- γ за умов запалення слід розцінювати як протизапальний.

ВИСНОВКИ

1. Застосування поляризованого поліхроматичного світла у комплексній терапії з бронхомуналом (БМ) хворих на бронхіальну астму (БА) сприяє нормалізації імунологічної реактивності організму.

2. Застосування БІОПТРОН-світла (БС) викликає збільшення кількості Т-лімфоцитів, нормалізацію співвідношення субпопуляцій Т-лімфоцитів.

3. Комплексна терапія БС та БМ виявила непрямі ознаки зниження активності Th-2-складової імунної системи, що свідчить про нормалізацію вмісту ІЛ-4 у сироватці крові.

4. Нормалізація вмісту сироваткового ФНП- α – одного з чинників, котрий дестабілізує опасисту клітину, може розглядатися як позитивний ефект лікування БС.

5. При лікуванні хворих на БА в комплексі з БС зберігається високий вміст спонтанної продукції ІЛ-1 α , можливо,

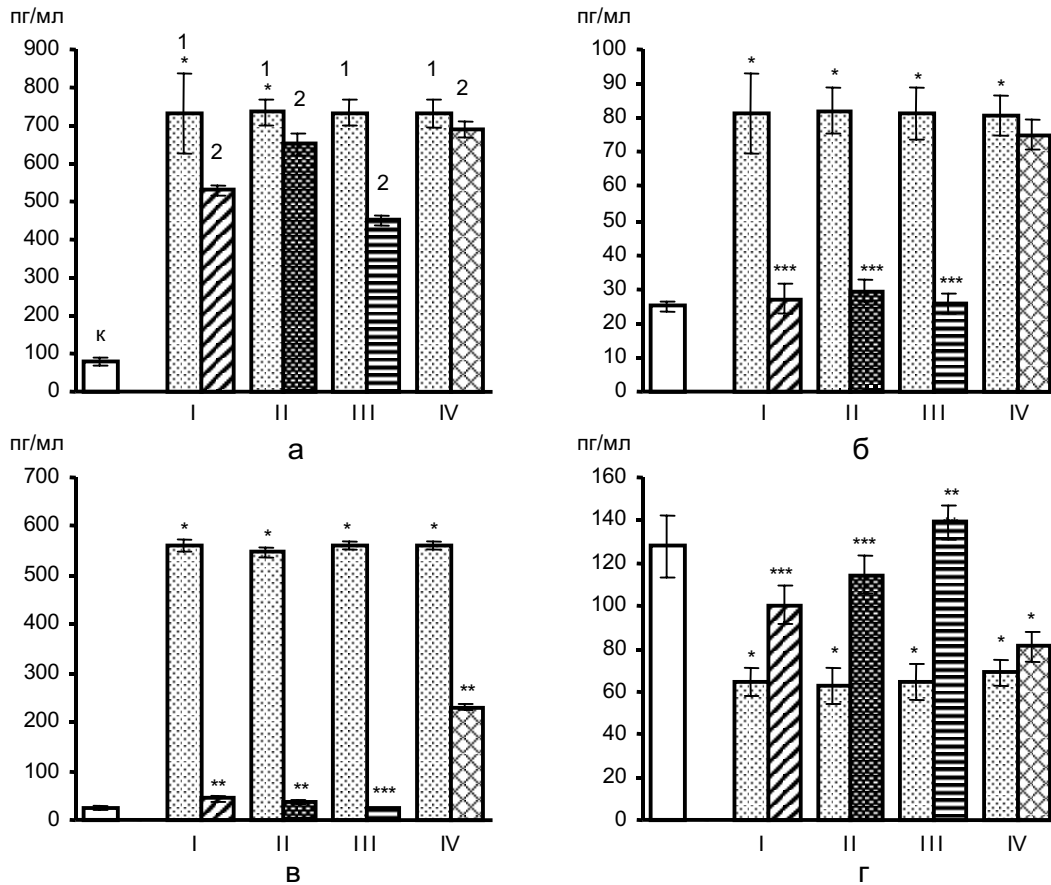


Рис. 3. Динаміка вмісту цитокінів: ІЛ-1 α (а), ІЛ-4 (б), ФНП- α (в), ІФН- γ (г) у хворих на бронхіальну астму до (1) та після (2) лікування: аплікацією БІОПТРОН-світлом - І, бронхомуналом - ІІ, бронхомуналом та БІОПТРОН-світлом - ІІІ та при базовому лікуванні - ІV порівняно з контролем (к).

* вірогідність відмінностей порівняно з показниками в осіб контрольної групи ($P < 0,05$); ** вірогідність відмінностей порівняно зі значеннями до і після лікування ($P < 0,05$); *** вірогідність відмінностей порівняно зі значеннями в осіб контрольної групи ($P < 0,05$).

у відповідь на тривале надходження алергенів.

6. Для гострого періоду БА характерно незалежне від ступеня тяжкості нападу зниження концентрації у сироватці крові ІФН- γ . Це може бути патогенетичною передумовою для використання препаратів ІФН- γ та його модуляторів для терапії хворих на БА.

7. Включення поляризованого світла в комплексне лікування захворювання призводить до скорочення строків перебування хворих у стаціонарі.

E.V.Kravchenko

THE INFLUENCE OF POLARIZED LIGHT ON IMMUNE AND CYTOKINES STATUS OF PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA AGAINST A BACKGROUND OF BRONCHOMUNAL IMMUNOTHERAPY

The influence of polarized polychromatic light on immunocompetent cells in complex with immunomodulated bronchomunal is studied. Data of content of the main cytokines taking part in development of inflammation are presented. It is cleared up that polarized light increases the number of T-lymphocytes, normalizes ratio of subpopulation of T-lymphocytes and level of serum FNO- α and level of interleukin-4 reaches the level of healthy people. It is ascertained that complex use bronchomunal and polarized polychromatic increases level of serum interferon- γ .

P.L.Shupik Academy of Post-Graduate Education

Ministry of Public Health of Ukraine

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Балаболкин И.И. Современные проблемы детской аллергологии // Педиатрия. - 1997. - №2. - С.5-7.
2. Гуляр С.А. Биоптрон – новая технология лечения // Цептер-новости, 1999. - №6. - С. 10-11.
3. Гуляр С.А., Лиманский Ю.Л., Тамарова З.А. Анальгетические эффекты Биоптрон-пайлер-света // Журн.практ. лікаря. – 1999. - №4. – С.21-23.
4. Гуцин И.С. Аллергическое воспаление и его фармакологический контроль.- М.:Фармарус принт., –1998.-252 с.
5. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., Воробьев А.А. Эндогенные иммуномодуляторы.- М.: Гиппократ., - 1992. - 256 с.
6. Порядин Г.В., Салмаси Ж.М., Макаров А.И. Молекулярные механизмы IgE опосредованной аллергии. - М.: РГМУ, 1996.- 123 с.
7. Потапнев М.П., Печковский Д.В. Молекулярные и клеточные механизмы иммунопатологии при бронхиальной астме // Пульмонология. - 1997. - № 3. - С. 74-81.
8. Пыцкий В.И., Адрианова Н.В., Артомасова А.В. Аллергические заболевания - М.: Триада-Х, 1999. - 470 с.
9. Симбирцев А.С. Биология интерлейкина –1 человека в норме и патологии: Автореф. дис. ...д-ра мед.наук. - М., 1993. - 25 с.
10. Тотолян А.А. Иммуноглобулин Е. Структура, продукция, биологические эффекты и диагностическое использование // Аллергология. - 1998. - № 2. – С. 4-7.
11. Тузанкина И.А., Синявская О.А., Шершнев В.Н. Иммунопатологические состояния в педиатрической практике. – Екатеринбург, 1998. - 135 с.
12. Федосеев Г.Б. Механизмы воспаления бронхов и противовоспалительная терапия. -М.: Нормед-Изд-во, 1998. - 688 с.
13. Ярилин А.А. Молекулярные основы межклеточной кооперации при иммунном ответе. – В кн.: Современные проблемы аллергологии, клинической иммунологии и иммунофармакологии. – М., 1998. – С. 59-80.
14. Aggarwal B.B., Eessalu T.E. Induction of receptors for tumor necrosis factor- α by interferons is not a major mechanism for their synergistic cytotoxic response // J. Biol. Chem. - 1987. - **262**. - P. 100-107.
15. Aggarwal B.B., Eessalu T.E., Hass P.E. Characterization of receptors for human tumor necrosis factor and their regulation by γ -interferon // Nature. - 1985. - **318**. - P. 665-667.
16. Bocher B.S., Chaflesworth E.N., Lichtenstein L.M. et al. Interleukin-1 is released at site of human cutaneous allergic reaction // J. Allergy Clin. Immunol. - 1990. - **86**. - P. 830- 836.
17. Candler R.V., Rouse B.T., Moore R.N. Regulation of interleukin-1 production by α - and γ -interferons: Evidence for both direct and indirect enhancement // J. Interferon Res. - 1985. - № 5. - P. 179-189.
18. Collart M.A., Belin D., Vassalli J.D. γ -interferon enhances macrophage transcription of the tumor necrosis factor/cachectin, interleukin 1 and urokinase genes, which are controlled by short-lived repressors // J.Exp. Mtd. - 1986. - P. 213-218.
19. Growth Factors, Differentiation Faktors and Cytokines (ed. A. Habenicht) // New-York. - 1990. - P.234-567.
20. Hadden J.W. T-cell adjuvancy response // Int. Immunofarmacol. - 1964. - **16**. - P. 703-710.

21. Kurt-Jones E.A., Beiler D.I., Mizel S.B., Unanue E.R. Identification of a membrane associated

interleukin 1 in macrophages // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1985. - **82**. - P. 1204-1208.

*Київ. мед. академія післядиплом. освіти ім.
П.Л.Шутика
М-ва охорони здоров'я України*

*Матеріал надійшов до
редакції 3.01.2002*