

В.Б.Гервазиева, Т.И.Петрова, С.Л.Кожевникова, Т.М.Желтикова, С.Н.Жирова

РОЛЬ КЛЕЩЕЙ *CHORTOGLYPHYS ARCUATUS* (сем. *GLYCYPHAGIDAE*) В ФОРМИРОВАНИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

НИИ вакцин и сывороток им.И.И.Мечникова, РАМН, Москва;
Чувашский государственный университет им.И.Н.Ульянова, Чебоксары

A ROLE OF CHORTOGLYPHUS ARCUATUS MITE FOR DEVELOPMENT OF BRONCHIAL ASTHMA

V.B.Gervazieva, T.I.Petrova, S.L.Kozhevnikova, T.M.Zheltikova, S.N.Zhirova

Summary

Ten children aged 7 to 14 have been observed for 4 years in Cheboksary city: 4 children had bronchial asthma (BA) and 6 ones had bronchial asthma combined with allergic rhinitis (AR). The bronchial asthma occurred early in all the patients (before 5-year age). Clinical course of the disease was characterized by polyorgan injury and its exacerbation did not contemporize to periods of existence of the Pyroglyphidus mites. Skin tests results and allergen-specific IgE-antibody levels revealed the prevalent sensitizing role of *Ch.arquatus*. This fact provided more detailed research of acarofauna of home dust in these children. Monthly monitoring of the mite account inside the flats for 2 yrs found dynamics of its number. The *Ch.arquatus* persists at the region round-the-year and its account grows from March to September. The mite number at the flats correlated to the level of allergen-specific IgG4-antibodies. So, severe torpid course of the allergic diseases with frequent exacerbations is thought to be relevant to permanently high account of the mites and its exposure to the children.

Резюме

В течение двух лет в Чебоксарах проводилось наблюдение за 10 детьми в возрасте от 7 до 14 лет: 4 с бронхиальной астмой (БА) и 6 с бронхиальной астмой в сочетании с аллергическим ринитом (АР). Все дети имели БА, которая сформировалась рано (до 5-летнего возраста), клиническое течение заболевания характеризовалось полиорганностью поражения, а обострения не всегда совпадали с сезонностью встречаемости пироглифидных клещей. Как по результатам кожного тестирования, так и по уровню аллергенспецифических IgE-антител ведущими в сенсibilизации были аллергены синантропных клещей *Ch.arquatus*, что и послужило поводом для более глубокого изучения акарофауны домашней пыли у этих детей. Ежемесячный мониторинг численности этих клещей в течение 2 лет в модельных квартирах позволил установить динамику численности клещей. *Ch.arquatus* в регионе присутствует круглогодично, его численность нарастает с марта по сентябрь. Численность клещей в исследуемых квартирах коррелировала с уровнем аллергенспецифических IgG4-антител. Таким образом, тяжелое торпидное течение аллергических заболеваний с частыми обострениями, по-видимому, связано с постоянной высокой численностью клещей *Ch.arquatus* и экспозицией этих клещевых аллергенов в непосредственном окружении детей.

По данным эпидемиологических исследований распространенность аллергических заболеваний у детей постоянно увеличивается [1,11,13,14]. Причина аллергии многофакторная и зависит от наследственно обусловленной восприимчивости детей, экспозиции аллергенов и воздействия других неспецифических факторов [1,9,11].

Структура экспозиции аллергенов имеет региональные особенности и может изменяться в зависимости от климатогеографических и социально-экономических условий. Среда, формирующаяся в непосредственном окружении больного — в его доме, может играть даже большую роль, если не определяющую, в

развитии аллергических заболеваний. Высокая концентрация бытовых аллергенов (клещи, тараканы, плесневые грибы и т.д.) в доме новорожденных детей может увеличить шансы развития аллергии в последующие годы [8]. В настоящее время установлена ведущая роль пироглифидных клещей (сем. *Pyroglyphidae*) в патогенезе аллергических заболеваний [3,6]. Однако нередко случаи, когда большую часть акарофауны домашней пыли составляют другие виды клещей, в первую очередь амбарно-зернового комплекса сем. *Acaridae* и *Glycyphagidae*. Так, во Вьетнаме более 80% обнаруживаемых клещей составляют представители сем. *Glycyphagidae*, а именно

Glycyphagus domesticus [12], в Бразилии в 79,5% встречается *Blomia tropicalis* [15]. Преобладание клещей сем. *Glycyphagidae* отмечено и на территории нескольких регионов Литвы, Западной Украины [4]. В Узбекистане *Glycyphagus cadaverum* является одним из доминирующих видов [7]. Данные литературы свидетельствуют о региональных особенностях акарофауны домашней пыли и необходимости выявления роли клещей амбарно-зернового комплекса в формировании аллергических заболеваний.

В связи с вышеизложенным, сформулирована цель настоящего исследования: изучить влияние экспозиции аллергенов клещей *Chortoglyphus arcuatus* на формирование бронхиальной астмы у детей.

Материал и методы

В течение 2 лет в Чебоксарах проводилось наблюдение за 10 детьми в возрасте от 7 до 14 лет: 4 с бронхиальной астмой (БА) и 6 с бронхиальной астмой в сочетании с аллергическим ринитом (АР). Эти дети были отобраны для исследования в связи с тем, что клиническое течение заболевания характеризовалось полиорганностью поражения, обострения не всегда совпадали с сезонностью встречаемости пироглифидных клещей, наиболее часто встречающихся в регионе. Комплексное обследование включало сбор анамнеза, общее клиническое обследование, кожное тестирование, определение общего IgE и аллергенспецифических IgE- и IgG4-антител в ИФА [2]. Одновременно в течение года ежемесячно брали пробы пыли в квартирах этих больных для мониторинга акарофауны домашней пыли жилищ [5].

Аллергенные экстракты для проведения ИФА получали методом водно-солевой экстракции из лабораторных культур клещей сем. *Pyroglyphidae* (*D. pteronyssinus*, *D. farinae*), сем. *Acaridae* (*T. putrescentiae*), сем. *Glycyphagidae* (*Ch. arcuatus*), которых выращивали в термостате при температуре $26 \pm 2^\circ\text{C}$ и относительной влажности воздуха $75 \pm 2\%$. Сырые (тела, личинные шкурки, метаболиты клещей) предварительно обезжиривали и гомогенизировали. Гомогенат из сырья экстрагировали в 0,05 М буферном растворе бикарбоната аммония (pH 8,2) с добавлением 0,25% фенола. Полученный экстракт центрифугировали при 3500 об/мин при температуре 4°C в течение 40 мин, фильтровали. Диализ проводили в течение 18 ч, при 2-кратной смене буферного раствора, которым служил 0,005 М раствор бикарбоната аммония (pH 8,0). Затем проводили стерилизующую фильтрацию, используя фильтры "Millipore" и при необходимости лиофильную сушку. Высушенный экстракт хранили при температуре -18°C .

Результаты и обсуждение

Все дети имели БА, которая сформировалась рано — до 5-летнего возраста. Наследственность была отягощена у всех детей. Изменения в биологическом

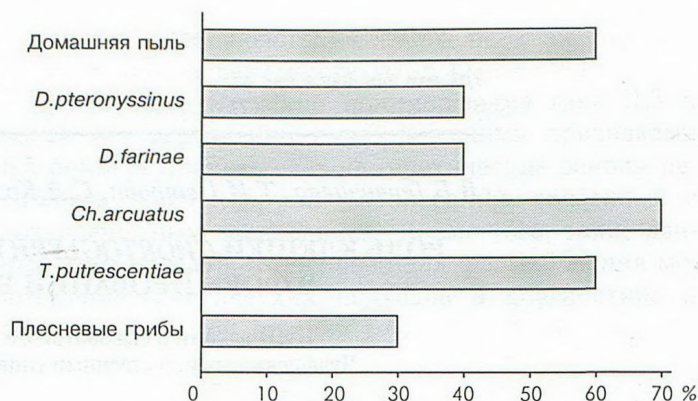


Рис.1. Результаты кожного тестирования с бытовыми аллергенами.

анамнезе выявили почти у 90% детей. Отягощающие факторы были многообразными, одни наслаивались на другие и утяжеляли течение заболевания. Все дети проживали в частных деревянных домах с отсутствием централизованного отопления и вентиляции, с повышенной влажностью и непостоянной температурой в помещении. БА у 2/3 детей характеризовалась торпидным рецидивирующим течением с частыми круглогодичными обострениями.

При кожном тестировании у всех обследуемых детей выявили преимущественно бытовую сенсibilизацию к синантропным клещам домашней пыли (рис.1). Чаще всего наблюдали сенсibilизацию к клещам амбарно-зернового комплекса *Ch.arquatus* (70%), *T.putrescentiae* (60%), а также к пироглифидным клещам *D.pteronyssinus* (40%), *D.farinae* (40%). В 30% случаев у больных определялась также сенсibilизация к плесневым грибам (рис.1).

Уровень общего IgE был повышен у всех детей и колебался от 140 до 250 КЕ/л. Результаты исследования IgE-антител свидетельствовали о том, что аллергенспецифические IgE-антитела 2-го и 3-го класса чаще всего выявляли к *Ch.arquatus* (40 и 40% соответственно), реже к *T.putrescentiae* (20%). Уровень аллергенспецифических IgE-антител 2-го и 3-го класса к пироглифидным клещам был выявлен у 20 и 10% соответственно (рис.2).

Следовательно, как по результатам кожного тестирования, так и по уровню аллергенспецифических



Рис.2. Частота выявления (в %) аллергенспецифических IgE-антител у обследованных детей.

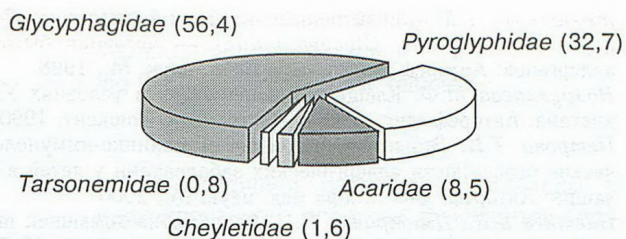


Рис.3. Удельное обилие (в %) различных клещей в домашней пыли обследованных домов.

IgE-антител ведущими в сенсibilизации были аллергены синантропных клещей, что и послужило поводом для более глубокого изучения акарофауны домашней пыли у этих детей. В результате исследования установили, что доминирующими в пыли этих домов были клещи амбарно-зернового комплекса сем. *Glycyphagidae*, а на 2-м месте — сем. *Pyroglyphidae* (рис.3).

В пыли обследованных квартир *Ch.arcuatus* был зарегистрирован на протяжении всего года и абсолютно доминировал по численности и удельному обилию. Ежемесячный мониторинг позволил установить периоды подъема и спада численности *Ch.arcuatus* в модельных квартирах: в январе отмечена минимальная средняя численность по всем обследованным квартирам — 258 экз/г пыли, к июню численность возросла в 4 раза и составила 1060 экз/г пыли (рис.4). Численность клещей в исследуемых квартирах коррелировала с уровнем аллергенспецифических IgG4-антител (см. рис.4).

За последние 20–30 лет произошли некоторые изменения в структуре акарокомплекса домашней пыли в регионе [4,8,10]. Так, по данным Б.Плетнева и Н.Дмитриевой [10], в 70-х годах прошлого века в жилых помещениях Чебоксар абсолютно доминировал

D.pteronyssinus, который встречался практически во всех обследованных домах, и его доля от общей численности всех клещей составляла 85%. Значительно реже (в 31% квартир) был зарегистрирован *D.chelidonis* (или *Hirstia chelidonis*) и еще реже — *D.farinae*, встречаемость которого составляла 21%, а доля от общей численности всего 0,9%. Среди амбарных клещей преобладали клещи сем. *Glycyphagidae*. *Ch.arcuatus* встречался в 3% обследованных домов и на его долю приходилось 5% от общей численности всех клещей [10]. В настоящее время в акарофауне Чебоксар доминируют *D.pteronyssinus* и *D.farinae*, встречаемость и обилие которых составляет 55, 20 и 56, 20% соответственно. Частота выявления *Ch.arcuatus* практически не изменилась, однако удельное обилие возросло до 12% [8]. В некоторых квартирах, где проводили мониторинг популяции *Ch.arcuatus*, его численность достигала 1510 экз/г пыли. Встречаемость и обилие *Ch.arcuatus* в квартирах Чебоксар близки к этим показателям в Москве [6]. Однако частота выявления специфических IgE-антител у больных Чебоксар почти в 6 раз выше, чем у аллергических больных Москвы.

Таким образом, тяжелое торпидное течение аллергических заболеваний с частыми обострениями, по видимому, связано с постоянной высокой численностью клещей *Ch.arcuatus* и экспозицией этих клещевых аллергенов в непосредственном окружении детей.

Выводы

1. В модельных квартирах Чебоксар на протяжении всего года выявлена высокая численность *Ch.arcuatus*, максимум которой приходился на июнь и достигал 1060 экз/г пыли.

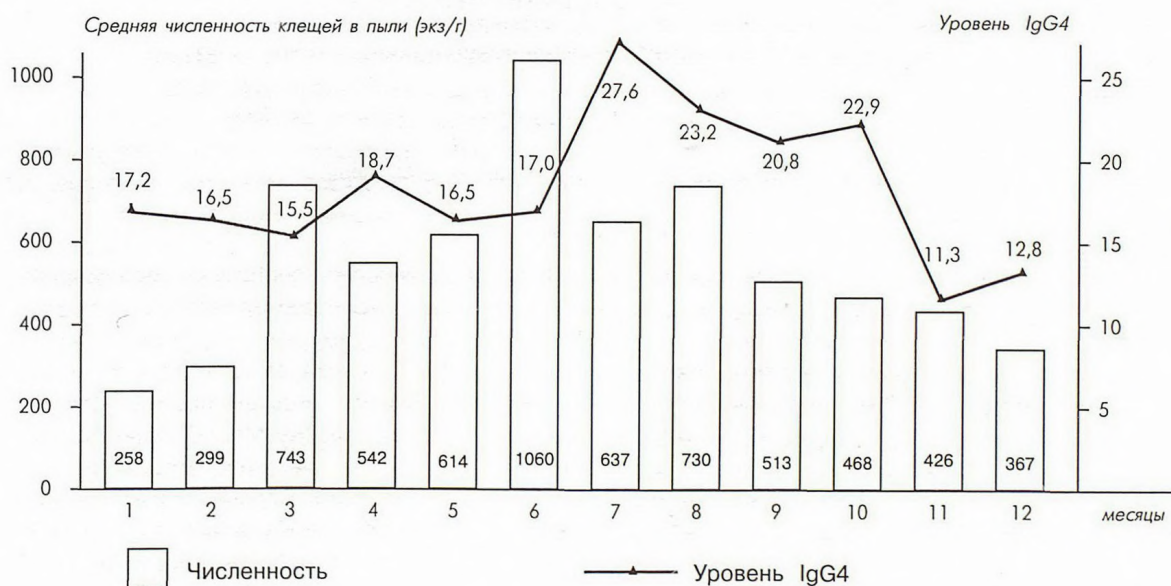


Рис.4. Сезонная динамика численности клещей *Ch.arcuatus* в домашней пыли и уровня аллергенспецифических IgG4-антител в сыворотке детей с БА.

2. Численность клещей *Ch. arcuatus* в пыли коррелирует с уровнем аллергенспецифических IgG4-антител у больных БА, проживающих в этих квартирах.
3. Выявление сенсибилизации к аллергенам *Ch. arcuatus* методами *in vivo* и *in vitro* у больных, постоянно контактирующих с этими клещами, свидетельствует о существенной роли *Ch. arcuatus* в формировании БА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Студеникин М.Я., Балаболкин И.И. (ред.) Аллергические болезни у детей: Руководство для врачей М.: Медицина; 1998.
2. Гервазиева В.Б., Овсянникова И.Г., Воронкин Н.И. и др. Использование твердофазного иммуноферментного анализа для определения аллергенспецифических IgE-антител // Журн. микробиол. 1987; 9: 33–35.
3. Гольщикова Н.А. Диагностика аллергических заболеваний, вызванных сенсибилизацией к синантропным клещам: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 1991.
4. Дубинина Е.В., Плетнев Б.Д. Методы обнаружения и определения клещей домашней пыли. Л.: Наука, 1977.
5. Дубинина Е.В., Плетнев Б.Д. Акарофауна пыли жилищ человека. В кн.: Паразитология. Л.; 1978; т.28: 37.
6. Желтикова Т.М. Синантропные клещи (*Acariformes: Pyroglyphidae, Acaridae, Glycyphagidae*) — источник бытовых аллергенов: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М.; 1998.
7. Назруллаева М.Ф. Клещи домашней пыли в условиях Узбекистана: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ташкент; 1990.
8. Петрова Т.И. Эпидемиологические и клинко-иммунологические особенности аллергических заболеваний у детей в Чувашии: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.; 2000.
9. Плетнев Б.Д., Дмитриева Н.П. Акарофауна домашней пыли у больных atopическим дерматитом. Вестн. дерматол. 1977; 2: 32–36.
10. Пыцкий В.И., Адрианова Н.В., Артомасова А.В. Аллергические заболевания. 3-е изд. М.: Трида-Х; 1999.
11. Фан Куанг Доан. Специфические аллергологические методы в диагностике клещевой бронхиальной астмы. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 1991.
12. Чучалин А.Г., Черняк Б.А., Буйнова С.Н., Тяренькова С.В. Распространенность и клинко-аллергологическая характеристика бронхиальной астмы в Восточной Сибири. Пульмонология 1999; 1: 42–49.
13. Asher M., Keil V., Anderson H. et al. International study of asthma and allergies in childhood (ISAAC): Rationale and methods. Eur. Respir. J. 1995; 5: 483–491.
14. Burney P.J., Chinn S., Ronna P.J. Has the prevalence of asthma increased in children? Evidence from the National Study of Health and Growth, 1973–1986. Br. Med. J. 1990; 300: 1306–1310.
15. Rosa A.E., Flechman C.H.W. Mites in house dust Brasil. Int. J. Acarol. 1979; 5 (3): 195–198.

Поступила 17.09.01

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2003

УДК 616.248–07:616.155.32–092.18

С.В.Бойчук, И.Г.Мустафин, Р.С.Фассахов, Л.Мбаинаджи

АПОПТОЗ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

Кафедра патофизиологии Казанского государственного медицинского университета;
Республиканский центр по борьбе со СПИДом МЗ РТ;
кафедра аллергологии Казанской государственной медицинской академии;
кафедра биохимии Казанского государственного университета

APOPTOSIS IN BLOOD LYMPHOCYTES IN ATOPIC BRONCHIAL ASTHMA

S.V.Boichuk, I.G.Mustafin, R.S.Fassakhov, L.Mbainaji

Summary

The present work shows results of investigation of spontaneous and induced apoptosis in blood lymphocytes (L) in healthy donors and atopic asthma (AA) patients. Apoptosis was assessed by several parameters: changes of the mitochondrial potential (MP) and of phosphatidylserine (PS) expression level on the outer leaflet plasma membrane, forward and side scatter parameters and DNA fragmentation using the flow cytometry. We obtained that the DNA fragmentation in the AA patients' L incubated in a culture became later and less than in the donors. The delayed DNA fragmentation did not depend on the Mn^{2+} -DNAase activity. Spontaneous and induced reduction in the MP and increase in the PS expression were the earliest apoptosis markers which inversely interrelated and were observed even in optically intact cells. Changes of these parameters preceded the DNA fragmentation. There were no differences in the spontaneous changes of the MP and the PS levels between two study groups. Thus, the recognition of the apoptotic L in AA was not injured and a necessary factor for the apoptotic L elimination was their DNA fragmentation. The incubation of the donors' and AA patients' L with Ca^{2+} ionophore A23187 induced the similar changes of the MP and the PS expression and the DNA fragmentation. So, the spontaneous and induced types of apoptosis have common mechanisms