

Л. В. Маслова

## ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ СУБЛИНГВАЛЬНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ С РЕСПИРАТОРНОЙ АЛЛЕРГИЕЙ

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

*Рост заболеваемости аллергической астмой и ринитом во всем мире – медицинская, социальная и экономическая проблема. Только специфическая иммунотерапия (СИТ) является патогенетической. Сублингвальная иммунотерапия (СЛИТ) является наиболее доступной и безопасной. Механизм ее действия до конца не изучен. Проведено исследование внутриклеточных цитокинов: ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13, ИЛ-17 и IFN- $\gamma$  у 30 пациентов с респираторной аллергией к пыльце и 30 – к клещевым/плесневым аллергенам до и после 2 лет СЛИТ. Полученные результаты убедительно продемонстрировали фенотипическую коррекцию иммунного ответа от доминирующих при аллергическом процессе Т хелперов 2-го типа (Th2) к Th1.*

**Ключевые слова:** сублингвальная иммунотерапия, аллергены, респираторная аллергия, цитокины.

**L. V. Maslova**

### **IMMUNOMODULATION BY SUBLINGUAL IMMUNOTHERAPY IN PATIENTS WITH RESPIRATORY ALLERGY**

*The prevalence of allergic asthma and rhinitis is increasing worldwide and is a growing medical, social and economic problem. Only specific immunotherapy (SIT) targets the underlying allergic disease. Sublingual immunotherapy (SLIT) is the most accessible and safe for its implementation. Its mechanism of action isn't fully studied. Intracellular cytokines: interleukin-4 (IL-4), IL-5, IL-13, IL-17 and IFN- $\gamma$  in 30 patients with pollens respiratory allergy and 30 patients with pollens and mites/moulds respiratory allergy before and after 2 years of sublingual immunotherapy has been assessed. These results clearly demonstrated the phenotypic correction of the immune response by patients with respiratory allergy after 2 years of sublingual immunotherapy from predominantly by allergy T helper (Th2) to Th1.*

**Key words:** sublingual immunotherapy, allergens, respiratory allergy, cytokines.

Аллергические заболевания являются проблемой общественного здравоохранения пандемических масштабов. Только в Европе ими страдает более 150 миллионов человек. Самыми частыми и тяжелыми проявлениями этой патологии являются такие респираторные болезни как аллергический ринит и бронхиальная астма. В настоящее время установлено, что вплоть до 30 % европейцев страдает аллергическим ринитом или конъюнктивитом, в то время как до 20 % страдает бронхиальной астмой. В настоящее время специфическая иммунотерапия (СИТ) является единственным методом лечения, который предлагает возможность снижения многолетних затрат и дискомфорта, вызванного аллергией, изменяя естественный ход заболевания [1–3]. До сих пор окончательно не изучены и продолжают уточняться механизмы СИТ, которая остается единственным методом лечения, модифицирующим течение аллергических заболеваний. Крайне мало экспериментальных данных

по использованию нескольких неродственных лечебных аллергенов в лечении одного больного. В то же время, в большинстве случаев, у взрослых пациентов отмечается полисенситизация, так как с течением времени в случае отсутствия адекватной терапии спектр причинно-значимых аллергенов расширяется. Цель исследования – оценить иммунологические механизмы сублингвальной иммунотерапии (СЛИТ) одной и двумя неродственными лечебными аллерговакцинами у пациентов с аллергическими заболеваниями дыхательных путей.

#### **Материалы и методы**

В группе 1 из 30 человек у 17 пациентов сезонная респираторная аллергия манифестировала в первую половину лета, у других 13 человек – во вторую половину лета.

В группе 2 из 30 человек у 17 пациентов сезонная респираторная аллергия манифестировала в первую половину лета, у других 13 че-

ловек – во вторую половину лета. Кроме сезонных проявлений аллергии у всех лиц данной группы отмечались выраженные круглогодичные респираторные симптомы, манифестирующие в домашних условиях. У 15 человек этой группы этиологически значимыми оказались клещи аллергенов домашней пыли. Другие 15 пациентов проживали в условиях воздействия сырости и плесени, и сенсбилизация к домашним грибковым аллергенам была доказана *in vivo* и *in vitro*. Группой контроля явились 30 здоровых пациентов. Лечение проводилось стандартизированными алерговакцинами для сублингвального приема («Sevapharma», Чешская Республика) в течение 2-х лет.

Кожное алерготестирование с диагностическими стандартизированными экстрактами пыльцевых (Д-АЛ pollens), клещевых (Д-АЛ mites), эпидермальных (Д-АЛ animal hair), грибковых (Д-АЛ мусо) аллергенов (Д-АЛ Прик-тест диагностический, «Севафарма», Чешская Республика) проводилось всем пациентам. Пациентам (n = 60) с положительным кожным тестом – размер папулы больше 3 мм в диаметре (в prick-тесте) и с результатом специфических IgE антител min класс 3 (т. е. от 3,5 IU/ml) был назначен курс СЛИТ причинно-значимыми аллергенами. У всех пациентов имелись показания и отсутствовали противопоказания к проведению СИТ и все они были распределены на 2 группы. Пациенты группы 1 (n = 30) имели четкую сезонность заболевания и получали сублингвальную специфическую монотерапию пыльцевыми аллергенами: смесью трав 1 (17 человек) и смесью полыни (13 человек). Группу 2 (n = 30) составили пациенты, у которых отмечалось круглогодичное течение респираторной аллергии, связанное с тем, что у них сенсбилизация к пыльцевым аллергенам сочеталась с сенсбилизацией к аллергенам клещей домашней пыли, аллергенам плесневых грибов. В связи с этим, им проводилась комбинированная СЛИТ. Все пациенты получали иммунотерапию пыльцевыми аллергенами (17 человек – смесью трав 1 и 13 человек – смесью полыни). Вторым лечебным аллергеном у 15 пациентов была смесь клещей домашней пыли, у других 15 – смесь плесневых грибов домашних. Всем пациентам до лечения и после 2-х лет СЛИТ оценивали CD4+ Т-хелперы, продуцирующие внутриклеточно цитокины: ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13, ИЛ-17 и ИФН-γ после стимуляции фобол-12-миристат-13-ацетатом и иономицином на протяжении 6 часов, используя коммерческие моноклональные антитела («R&D», США): ИЛ-13 (PE), ИЛ-5 (FITC), ИЛ-4 (FITC), ИФН-γ (PE),

ИЛ-17 (PerCP). Контрольную группу составили 30 пациентов, признанных здоровыми.

**Результаты и обсуждение.** Анализ содержания внутриклеточных цитокинов лимфоцитов выявил у пациентов групп сравнения следующие результаты. Установлены статистически значимые различия в содержании внутриклеточного ИЛ-4 у пациентов группы 1, группы 2 и пациентов контрольной группы (Kruskal-Wallis test:  $H = 7,80$ ;  $p = 0,02$ ). Повышение внутриклеточной продукции ИЛ-4 отмечалось как у пациентов группы 1 (Mann-Whitney test:  $z = 2,41$ ;  $p = 0,01$ ), так и у пациентов группы 2 (Mann-Whitney test:  $z = 2,40$ ;  $p = 0,01$ ) в сравнении с пациентами контрольной группы. Статистически значимых различий в содержании внутриклеточного ИЛ-4 у пациентов группы 1 и группы 2 не установлено. ИЛ-4 является фактором, стимулирующим В-лимфоциты. Этот цитокин продуцируется Th2-лимфоцитами, меньше – тучными клетками и В-лимфоцитами. ИЛ-4 усиливает выработку IgE, повышает секрецию CD23 для IgE на тучных клетках, поддерживает пролиферацию тучных клеток, обуславливает пролиферацию CD4<sup>+</sup> клеток в сторону Th2-лимфоцитов.

Внутриклеточная продукция ИФН-γ в группах сравнения статистически значимых различий не имела.

Исследование содержания внутриклеточного ИЛ-17 выявило статистически значимые различия у пациентов групп сравнения (Kruskal-Wallis test:  $H = 9,36$ ;  $p = 0,009$ ). Статистически значимое повышение внутриклеточной продукции ИЛ-17 выявлено как у пациентов группы 1 (Mann-Whitney test:  $z = 2,79$ ;  $p = 0,005$ ), так и у пациентов группы 2 (Mann-Whitney test:  $z = 2,28$ ;  $p = 0,02$ ) в сравнении с пациентами контрольной группы. Причем, статистически значимыми оказались различия в продукции ИЛ-17 у пациентов с респираторной грибковой аллергией и аллергией к клещам домашней пыли. Внутриклеточная продукция ИЛ-17 у пациентов с грибковой аллергией составила 0,77 (0,51–1,24), а у пациентов с аллергией к клещам домашней пыли – 0,22 (0,17–0,36).

Исследование содержания внутриклеточного ИЛ-5 выявило статистически значимые различия у пациентов групп сравнения (Kruskal-Wallis test:  $H = 30,58$ ;  $p < 0,001$ ). Внутриклеточная продукция ИЛ-5 была статистически значимо выше как у пациентов группы 1 (Mann-Whitney test:  $z = 5,17$ ;  $p < 0,001$ ), так и у пациентов группы 2 (Mann-Whitney test:  $z = 3,01$ ;  $p = 0,002$ ) в сравнении с пациентами контрольной группы. Статистически значимых различий в содержании

## □ Оригинальные научные публикации

внутриклеточного ИЛ-5 у пациентов группы 1 и пациентов группы 2 не установлена. ИЛ-5 в свою очередь является фактором дифференцировки В-лимфоцитов, фактором роста и дифференцировки эозинофилов, стимулирует выработку секреторного IgE. Продуцентом ИЛ-5 являются Th2-лимфоциты.

Исследование внутриклеточной продукции ИЛ-13 у пациентов групп сравнения также выявило статистически значимые различия (Kruskal-Wallis test:  $H = 16,09$ ;  $p = 0,0003$ ). Установлено статистически значимое повышение последнего и у пациентов группы 1 (Mann-Whitney test:  $z = 3,50$ ;  $p = 0,0004$ ), и у пациентов группы 2 (Mann-Whitney test:  $z = 3,42$ ;  $p = 0,0006$ ) в сравнении с пациентами контрольной группы. Причем, продукция ИЛ-13 статистически значимо ( $p < 0,001$ ) была выше у пациентов с бронхиальной астмой, чем у лиц с аллергическим ринитом. У пациентов с бронхиальной астмой содержание ИЛ-13 составило 8,18 (6,12–12,90), а у пациентов с аллергическим ринитом – 3,22 (2,25–4,11). ИЛ-13 гомологичен ИЛ-4.

Проведенные исследования иммунологического статуса пациентов группы 1 после 2-х лет СЛИТ показали следующие результаты. После лечения у пациентов группы 1 статистически значимо изменилась и функциональная активность лимфоцитов периферической крови. Отмечено снижение внутриклеточной продукции ИЛ-4 (Wilcoxon matched pairs test:  $p < 0,001$ ), ИЛ-17 (Wilcoxon matched pairs test:  $p = 0,01$ ), ИЛ-5 (Wilcoxon matched pairs test:  $p < 0,001$ ), ИЛ-13 (Wilcoxon matched pairs test:  $p < 0,001$ ) и повышение продукции защитного ИФН- $\gamma$  (Wilcoxon matched pairs test:  $p = 0,01$ ). После 2-х лет СЛИТ у пациентов группы 2 статистически значимо изменилась функциональная активность лимфоцитов периферической крови. Снизилась внутриклеточная продукция ИЛ-4 (Wilcoxon matched pairs test:  $p < 0,001$ ), являющегося В-клеточным стимулирующим фактором, фактором роста В-клеток, способствующим выработке IgE и реализации других процессов, способствующих развитию аллергических реакций [4]. Статистически значимо (Wilcoxon matched pairs test:  $p = 0,007$ ) уменьшилась продукция CD4+ Т-клетками ИЛ-17, который оказывает разнообразную биологическую активность на различные клетки. ИЛ-17 – провоспалительный белок, определяющий тяжесть астмы. Есть предположение, что можно предупредить развитие тяжелых форм астмы, блокируя путь, который ведет к продукции ИЛ-17A. Обсуждается роль ИЛ-17 в индукции Th1 и Th2-типа иммунного ответа[5]. Статистически зна-

чимо (Wilcoxon matched pairs test:  $p < 0,001$ ) снизилась и выработка лимфоцитами ИЛ-5. Как известно, ИЛ-5 является эозинофильным фактором, т. е. фактором роста и дифференцировки эозинофилов, необходимым для развития и выживаемости последних, переключения их на продукцию IgE и фактором роста В-клеток, т. е. также поддерживает механизмы аллергического воспаления. Статистически значимым (Wilcoxon matched pairs test:  $p < 0,001$ ) оказалось и снижение функциональной активности лимфоцитов по продукции ИЛ-13, являющегося В-клеточным фактором. Наличие ИЛ-13, который делит рецептор с ИЛ-4, критично для экспрессии Th2 фенотипа и ведет к образованию IgE антител. ИЛ-13 обеспечивает выживание и миграцию эозинофилов и активацию макрофагов, создавая фенотип аллергических клеток. ИЛ-13 также непосредственно действует на гладкую мускулатуру дыхательных путей, приводя к повышению сокращения на ацетилхолин и снижая релаксацию на  $\beta$ -агонисты. Статистически значимо (Wilcoxon matched pairs test:  $p = 0,003$ ) повысилась внутриклеточная продукция ИФН- $\gamma$ , ингибирующего пролиферацию Th2 клонов. В отличие от других интерферонов, ИФН- $\gamma$  повышает экспрессию антигенов МНС как 1-го, так и 2-го классов на разных клетках, причем индуцирует экспрессию этих молекул даже на тех клетках, которые не экспрессируют их конститутивно. Тем самым повышается эффективность презентации антигенов и способность их распознавания Т-лимфоцитами. Проведенные исследования иммунологического статуса пациентов группы 1, группы 2 и пациентов контрольной группы после 2-х лет сублингвальной иммунотерапии показали следующие результаты. Статистически значимых различий в содержании внутриклеточного ИЛ-4 у пациентов групп сравнения после лечения не установлено. Выявлены статистически значимые различия в содержании внутриклеточного ИФН- $\gamma$  у пациентов групп сравнения после лечения (Kruskal-Wallis test:  $H = 13,45$ ;  $p = 0,001$ ). После проведенного лечения содержание внутриклеточного ИФН- $\gamma$  стало выше и у пациентов группы 1 (Mann-Whitney test:  $z = 3,15$ ;  $p = 0,001$ ), и у пациентов группы 2 (Mann-Whitney test:  $z = 3,18$ ;  $p_{2-к} = 0,001$ ) в сравнении с пациентами контрольной группы. Статистически значимых различий в содержании внутриклеточного ИФН- $\gamma$  у пациентов группы 1 и пациентов группы 2 не выявлено. Статистически значимых различий в содержании внутриклеточного ИЛ-17 у пациентов групп сравнения после проведенного им лечения не установлено. Ста-

## Оригинальные научные публикации □

статистически значимые различия в содержании внутриклеточного ИЛ-5 выявлены у пациентов групп сравнения после лечения (Kruskal-Wallis test:  $H = 15,16$ ;  $p < 0,001$ ). Содержание ИЛ-5 было выше в сравнении с содержанием этого цитокина у пациентов контрольной группы и у пациентов группы 1 (Mann-Whitney test:  $z = -2,65$ ;  $p = 0,008$ ), и у пациентов группы 2 (Mann-Whitney test:  $z = -3,75$ ;  $p < 0,001$ ). Статистически значимыми были и различия в содержании внутриклеточного ИЛ-13 у пациентов групп сравнения после лечения (Kruskal-Wallis test:  $H = 12,36$ ;  $p = 0,002$ ). Содержание ИЛ-13 было выше в сравнении с содержанием этого цитокина у пациентов контрольной группы и у пациентов группы 1 (Mann-Whitney test:  $z = -3,06$ ;  $p = 0,002$ ), и у пациентов группы 2 (Mann-Whitney test:  $z = -3,00$ ;  $p = 0,002$ ). Итак, после 2-х лет СЛИТ иммунологический статус пациентов группы 1 характеризовался снижением функциональной активности лимфоцитов периферической крови пациентов по внутриклеточной продукции провоспалительных ИЛ-4, ИЛ-17, ИЛ-5, ИЛ-13, повышением внутриклеточной продукции ИФН- $\gamma$ . После 2-х лет СЛИТ иммунологический статус пациентов группы 2 характеризовался также снижением функциональной активности лимфоцитов периферической крови пациентов по внутриклеточной продукции провоспалительных ИЛ-4, ИЛ-17, ИЛ-5, ИЛ-13; повышением функциональной активности лимфоцитов периферической крови по внутриклеточной продукции ИФН- $\gamma$ .

Таким образом, СЛИТ респираторной аллергии приводит к переключению иммунного отве-

та с Th2 клеток на Th1 клетки и сопровождается снижением продукции ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13, ИЛ-17 и повышением ИФН- $\gamma$ , что является ключевым механизмом клинической эффективности. Иммунологическая эффективность СЛИТ у пациентов обеих групп указывает на эффективность специфической иммунотерапии как одним лечебным аллергеном, так и двумя перекрестно не реагирующими лечебными аллергенами и позволяет рекомендовать этот метод в качестве патогенетической терапии как у моноенсибилизированных, так и у полиенсибилизированных пациентов.

### Литература

1. Воробьева, О. В., Гуцин И. С. Молекулярно-биологические основы аллерген-специфической иммунотерапии // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю. А. Овчинникова. – 2011. – Т. 7, № 3. – С. 54–71.
2. Гуцин, И. С. Аллергенное трансбарьерное приращение к аллергическому ответу / И. С. Гуцин // Российский аллергологический журнал. – 2011. – № 4, вып. 1. – С. 95–96.
3. Иммунологические механизмы сублингвальной специфической иммунотерапии / И. М. Гайдук [и др.] // Российский аллергологический журнал. – 2011. – №4, вып. 1. – С. 78–79.
4. Колхир, П. В. Доказательная аллергология-иммунология / П. В. Колхир. – М.: Практическая медицина, 2010. – 527 с.
5. *Differential gene expression and cytokine production from neutrophils in asthma phenotypes* / K. J. Baines [et al.] // *European Respiratory J.* – 2010. – Vol. 35, № 3. – P. 522–531.

Поступила 14.10.2016 г.