

УДК 612.017.11

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО СТАТУСА У БОЛЬНЫХ СРЕДНЕТЯЖЕЛОЙ ФОРМОЙ СЕЗОННОГО АЛЛЕРГИЧЕСКОГО РИНИТА

А.П. Сизякина, И.И. Андреева, Н.И. Семенова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

Ключевые слова: сезонный аллергический ринит, иммунный ответ, иммунорегуляция

Проведен анализ параметров иммунного статуса 29 пациентов со среднетяжелой формой сезонного аллергического ринита (САР), обследованных при клинической манифестации и в период ремиссии. Полученные данные интерпретированы с позиции патогенетического принципа оценки иммунного статуса. Показано отсутствие изменений показателей, характеризующих готовность Т-лимфоцитов к распознаванию, как в период активации, так и в ремиссии САР. Параметры этапа активации документируют усиление экспрессии ранних активационных маркеров вне зависимости от стадии САР. Количество периферических Treg, характеризующих этап регуляции, снижено только в активной фазе САР, тогда как ряд показателей эффекторного этапа иммуногенеза (гиперпродукция ИЛ-4, цитолитический потенциал CD3⁺CD8⁺Gr⁺-эффекторов, синтез иммуноглобулинов классов А и Е) остаются повышенными и в период клинической ремиссии.

Одним из наиболее распространенных вариантов иммуноопосредованных патологических процессов является алергопатология, охватывающая до 30% населения в странах Европы. Сезонный аллергический ринит (САР) в общей структуре аллергических заболеваний занимает лидирующее положение [1, 2]. При данном виде иммуновоспалительной патологии используется патогенетический подход к лечению в виде аллерген-специфической иммунотерапии (АСИТ), основной задачей которой является достижение толерантности к причинно-значимому аллергену. Эффективность АСИТ базируется на знаниях механизмов, которые лежат в основе развития аллергической реакции [3], что определяет пристальное внимание исследователей к изучению врожденных и адаптивных факторов иммунной системы при аллергии [4–11]. Тем не менее остаются открытыми вопросы о нарушении скоординированности активации и супрессии иммунных процессов, нет четких представлений об уровне его формирования в зависимости от этапа иммуногенеза и фазы активности САР. В связи с этим интерпретация параметров, характеризующих

функциональные особенности факторов врожденного и адаптивного иммунного реагирования с позиции их последовательного вовлечения в иммуногенез, представляет безусловный интерес.

Целью настоящей работы является выявление вариативных особенностей стадий распознавания, активации, пролиферации, регуляции и эффекторных реакций иммуногенеза у больных в фазу активации и ремиссии среднетяжелой формы сезонного аллергического ринита.

Материалы и методы. Обследованы 29 человек со среднетяжелым вариантом течения САР, из которых 14 мужчин в возрасте 21 года – 35 лет (средний возраст – 24,3±2,6 года) и 15 женщин в возрасте 20–39 лет (средний возраст – 25,8±3,9 года). Диагноз пациентам выставлялся в соответствии с Федеральными клиническими рекомендациями по диагностике и лечению аллергического ринита, с учетом Классификации международных согласительных документов по аллергическому риниту (АР) (EAACI//WAO, ARIA 2008). Соответственно диагностика САР складывалась из данных анамнеза, анализа симптоматики, результатов общеклинического и алергологического обследования. Заболевание у обследованных пациентов носило четкий сезонный характер – симптомы появлялись во второй половине лета, в период цветения сорных трав, что определяло продолжительность клинических проявлений.

*Адрес для корреспонденции*Людмила Петровна Сизякина
E-mail: msiziakina@mail.ru

Выраженность клинических симптомов (ринорея, чихание, заложенность носа, характерное дыхание ртом, сопение, изменение голоса) и их влияние на качество жизни (головная боль, повышенная утомляемость, нарушение концентрации внимания, нарушение сна и повседневной активности, подавленное настроение) соответствовали среднетяжелой форме заболевания. Все больные обследованы в период выраженной клинической манифестации, то есть в активную фазу заболевания (САРА) и в фазу ремиссии, в период отсутствия причинно-значимых аллергенов и клинических проявлений аллергического ринита (САРР). Пациенты находились под наблюдением аллерголога-иммунолога в консультативно-поликлиническом отделении клиники РостГМУ. Выбор конкретных методов оценки многокомпонентной системы взаимосвязанных параметров врожденной резистентности и приобретенного иммунитета основан на использовании системно-функционального подхода иммунодиагностики [12]. Фенотипирование мононуклеаров периферической крови осуществляли на проточном цитофлуориметре Cytomics FC 500 (Beckman Coulter). Результаты представлены в виде процента позитивных клеток ($\text{Mean} \pm \text{SD}$) и их пересчета в абсолютные значения с учетом данных общего анализа крови. В связи с одновременным определением количества клеток и их активационного потенциала использованы антитела с двух- и трехцветной меткой в соответствии с методиками производителя. Количественное определение общих иммуноглобулинов классов А, М, G в сыворотке крови проводили методом простой радиальной иммунодиффузии в геле. Определение образования активных форм кислорода нейтрофилами осуществляли с использованием НСТ-теста. Содержание в сыворотке крови цитокинов (ИЛ-4, ИФН- γ , ФНО α) и общего иммуноглобулина класса Е определяли методом ИФА в тест-системах ЗАО «Вектор-Бест». Сыворотки для исследования хранили в течение 2–3 мес при -70°C . В качестве группы сравнения обследованы 10 практически здоровых доноров крови в возрасте 22–35 лет. Математическую обработку полученных данных проводили на ПК Microsoft Windows XP Professional, используя программу Statistica 8.0. Достоверность различий в группах оценивали по непараметрическим критериям Манна–Уитни и Вилкоксона. Достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. У больных САР в условиях его активации определяется увеличение абсолютного числа Т-лимфоцитов, усиление экспрессии активационных маркеров, ответственных как за инициацию иммунного ответа (CD25), так и являющихся свидетелями вовлечения в итоговые этапы иммунного реагирования (HLA DR). В то же время количество CD3⁺CD95⁺-лимфоцитов вдвое меньше, нежели в группе сравнения практически здоровых.

Выявлено увеличение как относительного, так и абсолютного количества Т-индукторов. Углубленный анализ субпопуляции CD4⁺ свидетельствует, что единственным показателем, находящимся в пределах контрольных значений, является количественная характеристика CD4⁺CD45RA⁺-лимфоцитов. Другие параметры демонстрируют существенные сдвиги. Так, отмечено снижение в периферической клеточной циркуляции относительного количества CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺-регуляторных Т-лимфоцитов, а также их абсолютного числа, что особенно значимо в условиях отмеченного выше усиления дифференцировки CD4⁺-клеток. Отражением данного обстоятельства является статистически значимое снижение доли Treg в общем пуле CD4⁺-лимфоцитов, что в свою очередь служит объективным показателем угнетения процессов негативной регуляции [13]. Выявлено также снижение индекса соотношения Th1ст/Th1сп и повышение Th2ст/Th2сп. В то же время, несмотря на изменения, направленные на усиление стимуляции гуморального ответа, анализ показателей эффекторной составляющей Т-звена у больных САР в условиях клинической активации верифицирует увеличение количества CD3⁺CD8⁺-лимфоцитов. При этом увеличение цитолитической субпопуляции относительно контрольной группы выражено более значимо, чем хелперно-индукторной, что нашло отражение в снижении показателя ИРИ. Помимо количественных изменений CD8⁺-клеток следует отметить активацию их функциональных параметров, о чем свидетельствует увеличение числа Гранзим-содержащих CD8⁺-клеток. Отмечено увеличение количества В-клеток. Изменения антителопродукции проявляются увеличением уровня сывороточных IgA и IgE. Кислородзависимый метаболизм нейтрофильных фагоцитов находится на уровне контроля. Усиление дифференцировки CD16⁺-лимфоцитов подтверждено увеличением в циркуляции общего числа НК и их цитолитических свойств. Цитокиновый спектр сыворотки крови характеризуется незначительным увеличением содержания провоспалительного медиатора ФНО α , в то время как ИФН- γ продуцируется на уровне практически здоровых, а содержание ИЛ-4 в три раза превышает таковое у здоровых лиц. Угнетение показателя соотношения ИФН- γ /ИЛ-4 подтверждает изменения регуляторных эффектов цитокинов в сторону Th2-опосредованных иммунных реакций (см. таблицу). Таким образом, у больных среднетяжелым вариантом течения сезонного аллергического ринита в фазу активации отмечаются изменения клеточных и гуморальных факторов врожденного и адаптивного иммунитета. Наиболее выражены изменения в системе адаптивного реагирования и проявляются, с одной стороны, перераспределением в сторону усиления гуморальных реакций, а

с другой — общим угнетением процессов негативной регуляции. В результате возникает активация эффекторных процессов не только гуморального, но и клеточного звена адаптивного и врожденного иммунитета, опосредованного НК.

Исследование показателей иммунного реагирования у больных САР в период клинической ремиссии показало, что общее количество Т-лимфоцитов, экспрессия ИЛ-2R и FasR находятся на том же уровне, что и в фазу активации при снижении до уровня контроля циркулирующих Т-клеток, экспрессирующих HLA DR. Претерпевают изменения параметры CD4⁺-лимфоцитов в виде нормализации количества Т-регуляторных клеток и их доли среди общего числа CD4⁺-лимфоцитов. В CD8⁺-субпопуляции Т-лимфоцитов снижается относительное количество Гранзим-содержащих клеток. Тем не менее все эти показатели остаются выше, чем в контроле. В системе, ответственной за врожденные иммунные реакции, отличительные признаки характеризуют только лимфоидную популяцию и не затрагивают исследованные параметры нейтрофильного фагоцитоза: снижается количество CD16⁺-лимфоцитов до контрольных значений. В гуморальном звене существенных изменений не отмечено, а содержание ФНО α снижено до контрольного уровня (см. таблицу). Таким образом, формирование среднетяжелой формы САР сопровождается изменениями в системах врожденного, адаптивного иммунитета, цитокиновой регуляции иммунных процессов, которые наиболее отчетливо проявляются при обострении САР. Клиническая ремиссия сопряжена со стабилизацией количества Treg, Th1/Th2-дифференцировки, снижением цитолитической активности эффекторных лимфоцитов врожденного и адаптивного иммунитета, уменьшением продукции IgE. В то же время абсолютной нормализации иммунных процессов в условиях клинической ремиссии при отсутствии поступления причинно-значимого аллергена не происходит.

Показателем, используемым в качестве критерия этапа распознавания и готовности Т-хелперов к восприятию антигенного стимула и индукции аллерген-специфического ответа, является количественная характеристика находящихся в свободной периферической циркуляции наивных CD4⁺CD45RA⁺-Т-лимфоцитов. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии статистически значимых изменений этих параметров по отношению к контрольным данным у больных в ремиссии и в фазу активации САР (см. таблицу). Этап активации иммуногенеза в отличие от процесса распознавания отличается изменениями и манифестируется увеличением количества циркулирующих Т-лимфоцитов, экспрессирующих активационные маркеры. При этом в большей степени эти изменения характеризуют фазу активации САР: в данном

случае отмечается увеличение числа Т-лимфоцитов, несущих как ранние (CD25), так и поздние (HLA DR) активационные маркеры. В фазу клинической ремиссии число CD3⁺HLA DR⁺-клеток статистически приближено к группе сравнения практически здоровых доноров. Следующий этап иммуногенеза отражает способность воспринявших антигенный сигнал активированных лимфоцитов вступить в пролиферативный процесс. Критерием, косвенно отражающим данное свойство Т-клеток, в наших исследованиях послужила готовность лимфоцитов к реализации запрограммированной FasR-опосредованной клеточной гибели [14]. Показано угнетение экспрессии CD95R на Т-лимфоцитах в условиях активации на 50% по отношению к контрольным параметрам, а при клинической ремиссии САР — на 46% (см. таблицу). Эти данные следует расценивать как повышение пролиферативной готовности и соответственно как активацию этапа пролиферации иммуногенеза у больных не только при клинической манифестации, но и при ремиссии проявлений САР. Изменения этапа регуляции у больных САР выражены достаточно значимо. Следует отметить, что субпопуляционное перераспределение Т-лимфоцитов, документируемое снижением ИРИ, так же как и уменьшение соотношения регуляторных цитокинов ИФН- γ /ИЛ-4, не зависит от активации и ремиссии заболевания. Инверсия соотношения Th1/Th2 в большей степени отличает фазу клинической манифестации. Показатель CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺/CD4⁺ демонстрирует четкую зависимость от активности заболевания — выраженное снижение в фазу активации и нормализацию в период клинической ремиссии. При совокупном анализе функции клеточных и гуморальных факторов врожденного и адаптивного иммунитета, оценивая заключительный этап иммуногенеза — реализацию эффекторных реакций, — следует отметить его активацию и четкую зависимость выраженности изменений от степени клинической манифестации сезонного аллергического ринита. При этом заслуживает внимание, что даже в условиях ремиссии часть эффекторных процессов (гиперпродукция ИЛ-4, цитолитический потенциал Т-эффекторов, синтез иммуноглобулинов классов А и Е) остаются повышенными. Данные приведены в таблице.

Обобщенный анализ данных, проанализированных применительно к характеристике этапов иммуногенеза, показывает, что при среднетяжелой форме САР начальный этап иммуногенеза (распознавание) отличает сохранность как в активную фазу, так и в фазу ремиссии. Начиная с последующего этапа (активации) вплоть до конечного (эффекторной реализации) отмечаются изменения, имеющие общую направленность, но различную степень выраженности в зависимости от степени клинической манифестации: этап активации — усиление,

Таблица. Показатели клеточных и гуморальных факторов врожденного и адаптивного иммунного ответа в фазу активации и ремиссии сезонного аллергического ринита

Показатели	САРА	САРР	Контроль
CD3 ⁺ (%)	74,80±1,15*	70,80±1,98	68,88±0,38
CD3 ⁺ (10 ⁹ /л)	1,42±0,11*	1,36±0,30*	1,22±0,03
CD3 ⁺ CD25 ⁺ (%)	3,59±0,16*	3,48±0,26*	2,15±0,17
CD3 ⁺ HLA DR ⁺ (%)	13,70±0,99*	**10,09±2,34	8,04±0,14
CD3 ⁺ CD95 ⁺ (%)	2,53±0,33*	2,76±0,32*	5,08±0,22
CD4 ⁺ (%)	44,00±1,10	42,40±2,20	41,92±0,35
CD4 ⁺ CD45RA ⁺ (%)	31,9±2,24	23,1±3,4	29,2±6,1
CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺ (%)	0,71±0,05*	**1,20±0,10	1,3±0,3
CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺ /CD4 ⁺ (%)	1,60±0,02*	**2,9±0,2	3,25±1,60
Th1ст./Th1 сп. (у.е.)	1,13±0,14*	2,69±0,04	2,72±0,07
Th2ст./Th2сп. (у.е.)	2,45±0,03*	3,54±0,07*	2,14±0,05
CD8 ⁺ (%)	30,80±0,61*	28,30±1,32*	21,88±0,33
CD8 ⁺ Gr ⁺ (%)	27,7±0,9*	**23,60±1,69*	9,38±2,21
ИРИ	1,43±0,01*	1,50±0,16*	1,93±0,04
CD20 ⁺ (%)	13,00±1,38*	6,20±0,24	CD20 ⁺ %
IgA (г/л)	2,24±0,07*	2,1±0,1*	1,4±0,3
IgM (г/л)	1,19±0,06	0,97±0,06	1,1±0,1
IgG (г/л)	10,74±0,38	10,7±0,3	10,3±1,3
IgE (МЕд/мл)	284,7±30,3*	**140,7±25,4*	80±20
CD16 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,28±0,01*	**0,19±0,04	0,21±0,01
CD16 ⁺ Gr ⁺ (10 ⁹ /л)	0,21±0,02*	**0,11±0,03	0,14±0,02
ФНОα (пг/мл)	2,38±0,82*	**1,01±0,29	1,14±0,16
ИЛ-4 (пг/мл)	6,60±0,91*	5,1±2,2*	1,9±0,2
ИФН-γ (пг/мл)	9,62±1,12	7,9±4,1	6,2±3,3
K _{ИФН-γ/ИЛ-4}	1,46±0,03*	1,6±0,1*	3,3±1,5

Примечание. * p<0,05 – статистическая достоверность различий показателей по сравнению с контролем; ** между группами САРР и САРА.

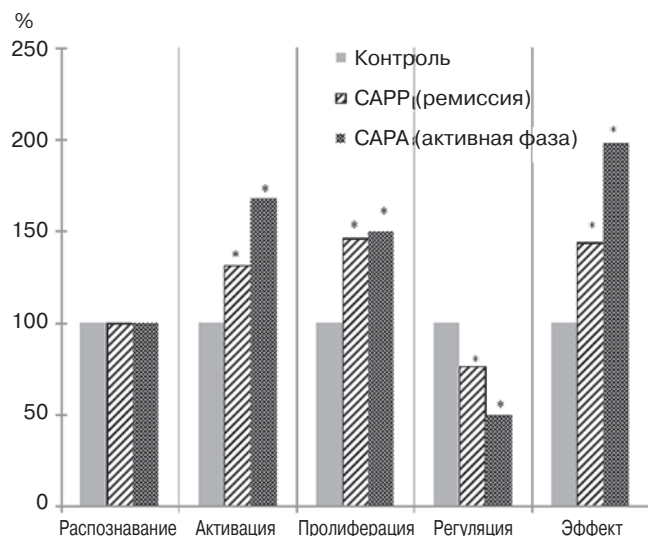


Рисунок. Суммарные параметры этапов иммуногенеза в фазу активации и ремиссии среднетяжелой формы САР (данные контроля приняты за 100%).

* p<0,05 – статистическая достоверность различий показателей по сравнению с контролем

пролиферации – усиление, регуляции – инверсия дифференцировки и ослабление иммуносупрессии, эффекторный этап – усиление (см. рисунок).

Мониторинг степени выраженности регуляторных и активационных потенций системного иммунного реагирования при САР может иметь существенные диагностические и прогностические позиции.

ЛИТЕРАТУРА

- Ильина Н.И., Курбачева О.М., Сизякина Л.П. и соавт. Иммунобиологические препараты в лечении бронхиальной астмы (Совет экспертов). Рос. Аллергол. Журн. 2015, № 5, с. 90-93.
- Гущин И.С., Ильина Н.И., Польшнер С.А. Аллергический ринит (пособие для врачей). М., 2002, 72 с.
- Гущин И.С. IgE-опосредованная гиперчувствительность как ответ на нарушение барьерной функции тканей. Иммунология. 2015, № 1, с. 45-52.
- Сизякина Л.П., Чурюкина Э.В. Клинико-иммунологические особенности фенотипа бронхиальной астмы с синдромом вторичной иммунной недостаточности. Росс. Аллергол. Журн. 2015, № 2, с. 11-14.

5. Kucuksezer U.S., Palomares O., Ruskert B. et al. Triggering of specific Toll-like receptors and proinflammatory cytokines breaks allergen-specific T-cell tolerance in human tonsils and peripheral blood. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013, v. 131, p. 875-885.
6. Pellerini L., Jenks J.A., Begin P. et al. Regulatory T-cells and their roles in immune dysregulation and allergy. *Immunol. Res.* 2014, v. 58, p. 358-368.
7. Soyer O.U., Akdis M., Ring J. et al. Mechanisms of peripheral tolerance to allergens. *Allergy.* 2013, v. 68, p. 161-170.
8. Wambre E., James E.A., Kwok W.W. Characterization of CD4⁺T-cell subsets in allergy. *Curr. Opin. Immunol.* 2012, v. 24, p. 700-706.
9. Lombardi V. Dendritic cell modulation as a new interventional approach for the treatment of asthma. *Drug. News Perspect.* 2009, v. 22, p. 445-451.
10. Licona-Limon P., Kim L.K., Palm N.W., Flavell R.A. TH2, allergy and group 2 innate lymphoid cells. *Nat. Immunol.* 2013, v. 14, p. 536-542.
11. Hinks T.S.C. Mucosal associated invariant T-cells in autoimmunity, immune mediated diseases and airways disease. *Immunol.* 2016, v. 148, p. 1-12.
12. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Ярилин А.А. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы: руководство для врачей. М., «ГЭОТАР-Медиа». 2009, 252 с.
13. Хайдуков С.В., Зурочка А.В., Тоголян А.А., Черешнев В.А. Основные и малые популяции лимфоцитов периферической крови человека и их нормативные значения (методом многоцветного цитометрического анализа). *Мед. иммунол.* 2009, № 2-3, с. 227-238.
14. Ковальчук Л.В. Антигенные маркеры клеток иммунной системы человека. М., РГМУ. 2003, 76 с.

Статья поступила 17.10.2016 г., принята к печати 05.12.2016 г.
Рекомендована к публикации Б.В. Пинегиным

IMMUNE PARAMETERS IN MODERATE SEASONAL ALLERGIC RHINITIS

Sizyakina L.P., Andreeva I.I., Semenova N.I.

Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

Key words: seasonal allergic rhinitis, immune response, immunoregulation

The results of the immune parameters changes of 29 moderate seasonal allergic rhinitis patients are presented in this study. The humoral and cellular parameters of innate and adaptive immune system were investigated during clinical manifestation and remission. The interpretation of the obtained data according to pathogenetic principle showed no difference between recognition phase, active phase or remission phase. The number of peripheral Treg cells was reduced only in the active phase, at the same time IL-4, CD3⁺CD8⁺Gr⁺, IgA, IgE — indicators of effector phase remained elevated during clinical remission.