

рия механизмов развития полипозного риносинусита (ПРС). Целью нашей работы было оценить основные иммунологические, гистологические и молекулярно-генетические показатели у больных на полипозный риносинусит и их взаимосвязи в развитии этого заболевания. Нами было обследовано 68 больных ПРС при остром течении заболевания и 20 практически здоровых лиц в качестве контрольной группы, которым проводились иммунологические, гистологические и молекулярно-генетические исследования. В частности, наши исследования позволили доказать, что в случае возникновения ПРС, риск развития рецидивирования ПРС чрезвычайно высокий и можно предположить, что в развитии рецидивов существенную роль играют иммунологические, молекулярно-генетические и гистологические показатели у таких больных.

Ключевые слова: полипозный риносинусит, математическая модель, прогнозирование

SUMMARY

CONNECTIONS BETWEEN IMMUNOLOGICAL, HISTOLOGICAL MOLECULAR AND GENETIC PARAMETERS IN PATIENTS WITH NASAL POLYPS

V. Hayevskyy, A. Hayevskyy

Lviv National Medical University named by Danylo Halytsky

At present immunological theory is dominant mechanism of pathogenesis of nasal polyps (NP). The aim of our study was to evaluate the main immunological, histological and molecular genetic indicators in patients with nasal polyps and their interactions in the development of this disease. We examined 68 patients with NP and 20 healthy individuals as a control group, which carried immunological, histological and molecular genetic studies. In particular, our studies have show that in the case of NP, the risk of recurrence is extremely high and it can be assumed that relapse essential role played by immunological, molecular genetic and histological parameters in these patients.

Key words: nasal polyps, mathematical model, prognostication

УДК

СУБЛИНГВАЛЬНАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ РЕСПИРАТОРНОЙ АЛЛЕРГИИ: ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ

МАСЛОВА Л.В.

Беларусская медицинская академия последипломного образования, г.Минск

Введение. Атопическими заболеваниями в настоящее время страдает почти четверть населения нашей планеты [1,2]. Самым частым проявлением этой патологии являются респираторные болезни (аллергический ринит, бронхиальная астма). Атопические заболевания дыхательных составляют более 50% в структуре всех аллергических болезней в Республике Беларусь. В 2011 году число больных с бронхиальной астмой составляло 56265. Около 26% пациентов с бронхиальной астмой, проживающих в Минске, имеют легкое течение болезни, у остальных – средней степени тяжести и тяжелое. В 2012 году в стране выявлено новых случаев поллиноза - 2819, аллергического ринита – 3211, аллергической бронхиальной астмы - 1051. ВОЗ предсказывает, что к 2020 году респираторные заболевания станут 3-ей лидирующей причиной смерти [3,4]. За последнее десятилетие произошло удвоение заболеваемости аллергическим ринитом, бронхиальной астмой. Проблема аллергических болезней является важнейшей медико-социальной проблемой современности, значение которой, безусловно, будет возрастать и в последующие годы. Страдают атопическими заболеваниями,

преимущественно, люди молодого трудоспособного возраста, обеспечивающие творческий и экономический потенциал общества. Основными этиологическими факторами атопических заболеваний дыхательных путей являются пыльцевые, бытовые, грибковые аллергены.

По сведениям ВОЗ, распространенность пыльцевой аллергии в разных странах мира колеблется от 1 до 20%. Наиболее выраженное сенсibiliзирующее действие выявлено у злаковых трав (тимофеевки, овсяницы, райграсса, ежи сборной, лисохвоста, мятлики); культурных злаков (ржи, пшеницы, овса, кукурузы); сорных трав (полыни, лебеды, подорожника, крапивы, амброзии); деревьев (березы, ольхи, лещины, дуба, тополя, ясеня). В последние десятилетия появились работы, свидетельствующие об изменении растительной пыльцы под влиянием антропогенных факторов [5,6]. Установлена возможность усиления пыльцевой аллергии под воздействием веществ, содержащихся в атмосферном воздухе: аммиака, хлора, фтора, кислородных радикалов, сульфитов, нитратов, продуктов сгорания дизельного топлива. Загрязнение окружающей среды продлевает сроки поллинииции растений и изменяет антигенную

структуру пыльцы, способствуя повышению ее аллергенности. Доказана повышенная способность загрязненной пыльцы индуцировать сенсибилизацию и повышать реактивность слизистой оболочки носа и бронхов. Наиболее частым проявлением пыльцевой аллергии является интермиттирующий АР. По мнению международной ассоциации, занимающейся вопросами АР (ARIA- Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma), как представлено в разработанном ей совместно с ВОЗ документе, АР является глобальной проблемой здравоохранения. Это обусловлено: высокой распространенностью (поражает 20-40% населения); существенным снижением качества жизни больных, включая работоспособность, способность к обучению, отдых; наносимым экономическим ущербом; связью с синуситами, конъюнктивитом); трансформацией у значительной части больных в бронхиальную астму. У 70-90% больных с сезонным АР развивается пыльцевой конъюнктивит.

В домашней пыли обнаружено около 150 видов клещей (*Dermatophagoides pteronissinus* и *Dermatophagoides farinae* – наиболее аллергенные представители). В 1г пыли содержатся от сотни до нескольких тысяч клещей. Хотя сами клещи для человека безвредны, его мелкие фрагменты и продукты его жизнедеятельности обладают исключительной способностью вызывать аллергию (аллергический ринит, астму) [7,8,9].

Известно свыше 300 видов грибов, способных сенсибилизировать человека. Плесневые грибы могут расти практически повсюду, в закрытых помещениях споры грибов присутствуют в течение всего года, и люди почти всегда подвержены риску ингаляционного поступления последних в их организм, что может приводить к сенсибилизации атопических лиц с последующей манифестацией аллергического ринита и астмы [10, 11].

Дебют атопических заболеваний дыхательных путей, как правило, связан с ринитом, который является серьезным фактором риска бронхиальной астмы [12,13,14]. Однако, как правило, на начальной стадии болезни эти люди выпадают из-под врачебного контроля, не получают адекватной терапии и, соответственно, становятся потенциальными кандидатами в группу пациентов с тяжелыми и осложненными формами аллергических заболеваний.

Самым эффективным методом лечения и профилактики развития атопии является устранение контакта с причинно-значимыми аллергенами. Однако полностью устранить контакт с ингаляционными аллергенами невозможно.

Адекватная фармакотерапия в большинстве случаев позволяет контролировать течение аллергического процесса, однако это лечение яв-

ляется симптоматическим и дорогостоящим, к тому же, далеко не всегда предупреждает развитие астмы.

Профилактической направленностью обладает только аллергенспецифическая иммунотерапия (АСИТ), действующая практически на все патогенетически значимые звенья аллергического процесса, приводя к фенотипической коррекции иммунного ответа на конкретный антиген [15,16,17]. АСИТ показана при аллергических заболеваниях, вызванных специфическими IgE антителами, и заключается в повторяющемся приеме увеличивающихся доз аллергена до достижения максимально переносимой дозы, подаваемой через определенные интервалы времени. АСИТ относится к вторичной профилактике аллергии и астмы, направленной на снижение заболеваемости лиц, сенсибилизированных к тому или иному аллергену. Конечной целью АСИТ является уменьшение и предупреждение аллергического воспаления, снижение тяжести заболевания, улучшение качества жизни пациента и ограничение фармакотерапии.

АСИТ можно проводить аллергенами в различных лекарственных формах. Наиболее распространенным у нас методом проведения алерговакцинации является инъекционный (подкожный). Главным ограничением этого метода является необходимость частых визитов в алергологический кабинет, сама процедура инъекции аллергена, риск развития системных побочных эффектов, что объясняет тот факт, что в нашей стране АСИТ получает не более 10% пациентов, нуждающихся в ней. В 2012 году в Республике Беларусь АСИТ пылевыми аллергенами проведена 804 пациентам, бытовыми - 596.

Нужна безопасная альтернатива инъекционной АСИТ с возможностью проведения последней в домашних условиях.

Из неинъекционных методов наибольшее распространение во всем мире имеет пероральный и, как его разновидность, сублингвальная иммунотерапия (СЛИТ). СЛИТ - простой, безопасный (как с точки зрения парентеральных инфекций, так и анафилаксии) и безболезненный способ введения алерговакцины, лучше воспринимается больными. Вследствие этого подобным лечением можно охватить большее число лиц, проживающих в отдалении от алергологических кабинетов (под дистанционным контролем алергологов). При наличии у пациента гиперчувствительности к нескольким аллергенам можно использовать для лечения смеси различных лечебных аллергенов. Есть мнение, что СЛИТ с двумя не реагирующими перекрестно аллергенами в целом более эффективна, чем СЛИТ с одним из аллергенов. Однако крайне мало исследований по использованию не-

скольких неродствених алергенів [18,19]. В то же время, в большинстве случаев у взрослых пациентов встречается полисенсibilизация, так как с течением времени в случае отсутствия адекватной терапии спектр причинно-значимых алергенів расширяется.

Механізми АСИТ до кінця не вивчені і продовжують уточнюватися. АСИТ діє на все зв'язки алергического процесу [20, 21, 22]. Считают, що діяння її на імунну фазу алергическої реакції зв'язано з переключенням імунного відповіді з Th2 кліток на Th1 клітки, що супроводжується зниженням продукції ІL-4 і збільшенням ІNF-γ. Исследование иммунологического статуса у больных респираторной алергией, в т.ч. цитокінового статусу, раскрывает патогенетические механизмы СЛИТ.

Совокупность приведенных аргументов и явилась основанием для выполнения данной работы.

Цель исследования: оценить клинико-иммунологическую эффективность СЛИТ одной и двумя не реагирующими перекрестно алерговакцинами у пациентов с респираторной алергией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациенты (n=60) с верифицированным диагнозом респираторной алергии получали в течение двух лет СЛИТ. Всем из них АСИТ раньше не проводилась или проводилась не менее 5 лет назад. Пациенты были распределены на 2 группы. В группе 1 иммунотерапия проводилась одним лечебным алергеном, в группе 2 – двумя перекрестно не реагирующими лечебными алергенами. У всех больных был собран алергологический анамнез, проводилось клиническое

наблюдение до, в течение (ежемесячно) и после 2-х лет алерговакцинации. Группой контроля явились 30 здоровых добровольцев.

Всем пациентам проводилось кожное тестирование с диагностическими стандартизированными экстрактами пыльцевых (Д-АЛ pollens), клещевых (Д-АЛ mites), эпидермальных (Д-АЛ animal hair), грибковых (Д-АЛ mусо) алергенів (Д-АЛ Прик-тест диагностический, «Севафарма», Чешская Республика). Содержание активных компонентов стандартизованных алергенів выражено в биологических единицах, обозначенных в качестве JSK (ЕСК) – единиц стандартного качества. В качестве биологической активности 1000 JSK принята такая активность которая вызывает у сенсibilизированных к данному алергену лиц папулу величиной в 5,5 мм.

Реакцию оценивали через 20 минут, результат тестирования грибковыми алергенами оценивали не только через 20 минут, но и через 24ч., 48ч. и 72ч. Для учета реакции решающим фактором является величина папулы. Диаметр и размер папулы обусловлены максимальным диаметром (D1) и диаметром, перпендикулярным к максимальному диаметру (D2). Средний размер $D=(D1+ D2):2$. Диаметры измерялись с помощью масштабной линейки. Размер эритемы имел дополнительное значение. В случае поздней реакции оценивалась величина инфильтрата. Кожный тест с релевантным алергеном проводился при обязательном наличии отрицательного и положительного контроля для оценки неспецифической реактивности кожи и возможности влияния лекарственных средств.

Интерпретация результатов прик-теста представлена ниже (таблица 1).

Таблица 1

Интерпретация результатов прик-теста

	Папула	
	Контроль	Алерген
Валидация теста	Положительный >3мм	Положительный >3мм
	Отрицательный <3мм	Отрицательный <3мм

Всем пациентам до начала СЛИТ и после 2-х лет лечения проводилось методом иммуноблоттинга количественное определение сывороточных циркулирующих алергенспецифических ІgЕ антител (R-Biopharm, Германия) к основным ингаляционным алергенам - панель №2: Клещ Derm.pteronysinus [D1], Клещ Derm.farinae [D2], Ольха [T2], Береза [T3], Лещина [T4], Дуб

[T7], Смесь трав [Gx], Рожь [G12], Полынь [W6], Подорожник [W9], Кошка-эпителій и шерсть [E1], Лошадь-эпителій и шерсть [E3], Собака-эпителій и шерсть [E5], Морская свинка [E6], Хомяк [E84], Кролик [E82], Грибок Penicillium notatum [M1], Грибок Cladosporium herbarum [M2], Грибок Aspergillus fumigatus [M3], Грибок Alternaria alternate [M6].

Сканирование аллергопанелей и учет результатов проводились с использованием прибора RIDA X-Screen.

Таблица 2

Интерпретация результатов определения специфического IgE

Концентрация Specific IgE (IU/ml)	Класс	Интерпретация
0,00-0,34	0	Отрицательный
0,35-0,69	1	Пороговый уровень
0,70-3,49	2	Умеренно увеличенный уровень
3,50-17,49	3	Значительно увеличенный уровень
17,5-49,9	4	Высокий уровень
50,0-100,0	5	Очень высокий уровень
>100	6	Исключительно высокий уровень

На лечение брали пациентов с положительным кожным тестом – размер папулы больше чем 3 мм в диаметре (в prick-тесте) и специфические IgE антитела min кл.3 (т.е. от 3,5 IU/ml).

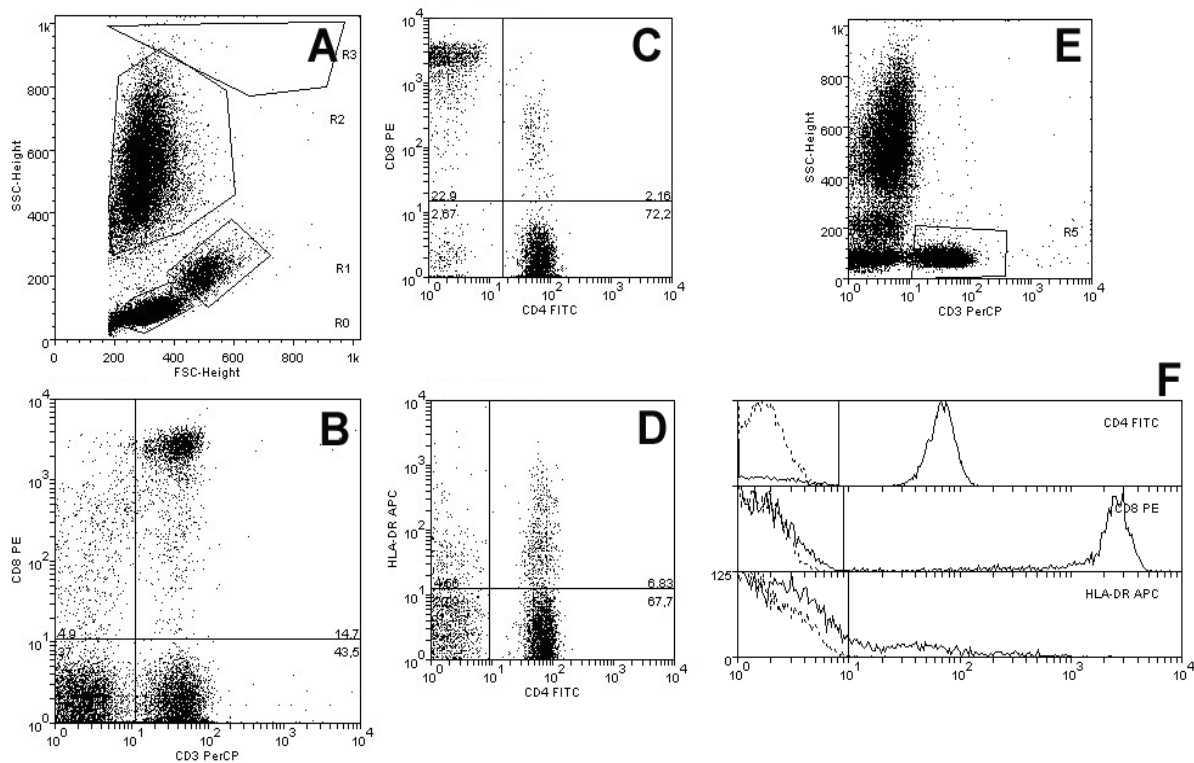
У всех пациентов до лечения и через 2 года аллергенспецифической иммунотерапии исследовалось состояние иммунологического статуса: определение иммунофенотипа лимфоцитов периферической крови и определение внутриклеточных цитокинов и транскрипционных факторов.

В работе были использованы следующие реагенты:

- DPBS готовили по следующей прописи: фосфат калия однозамещенный – 0,2 г; хлорид калия – 0,2 г; фосфат натрия двузамещенный двенадцативодный – 2,9 г; хлорид натрия – 8,0 г; тетранатриевая соль ЭДТА – 0,2 г; гентамицин – 80 мг; воды аналитического качества до 1000 мл;
- лизирующий раствор (10×): хлорид аммония – 8,29 г; гидрокарбонат натрия – 0,84 г; тетранатриевая соль ЭДТА – 0,37 г; воды аналитического качества до 100 мл;
- фиксирующий раствор: 4% параформальдегид на DPBS;
- пермеабилзирующий раствор I: 0,1% сапонин на DPBS;

- пермеабилзирующий раствор II: 0,1% Triton X-100 на DPBS;
- моноклональные антитела для реакции иммунофлюоресценции («R&D», США): IL-13 (PE), CD16 (APC), IL-5 (FITC), CD45 (PE), CD19 (FITC), CD3 (PerCP), CD8 (PE), GATA-3 (PE), ROR-g (PerCP), T-bet (FITC), IL4 (FITC), CD4 (FITC), INF-G (PE), IL17 (PerCP), CD4 (APC), CD69 (PE), CD127 (PerCP), CD25 (APC), HLA-DR (APC);
- другие реагенты: ФМА, иономицин, монтензин.

Пробоподготовку проводили по общепринятой методике в соответствии с рекомендациями фирмы производителя антител [1]. Кровь в количестве 100 мкл инкубировали с моноклональными антителами 15 минут при 4°C. Затем эритроциты лизировали раствором хлорида аммония 15 минут при 18–25°C и центрифугировали пробирки 5 минут при 250 g для осаждения клеток, после чего удаляли супернатант. Клетки суспендировали в 200–300 мкл 1% раствора параформальдегида и проводили учет и анализ на проточном цитофлуориметре «FACSCalibur» («Becton Dickenson», США) с использованием программного обеспечения «CellQuest» 3.3 и «Weasel» версия 3.0 (WENI, Австралия) (рисунок 1).



А – цитограма светорассеяния в координатах FSC/SSC; регион R0 включает лимфоциты. В – цитограма флюоресценции в координатах FL3/FL2. С – цитограма флюоресценции в координатах FL1/FL2. D – цитограма флюоресценции в координатах FL1/FL4. Е – цитограма флюоресценции в координатах FL3/SSC; регион R5 создан для выделения CD3+ клеток. F – гистограммы флюоресценции по каналам FL1, FL2, FL4; сплошной линией показана экспрессия молекул клетками после инкубации с соответствующими антителами, пунктирной – после инкубации с изотипическими контролями.

Рис. 1 Анализ иммунофенотипа лимфоцитов периферической крови

Определяли экспрессию следующих цитокинов и транскрипционных факторов в клетках: IL-13, IL-5, IL-4, INF- γ , IL-17, GATA-3, ROR- γ , T-bet [2–8].

Для определения внутриклеточных цитокинов и транскрипционных факторов цельную кровь пациентов культивировали на протяжении 6 часов с форбол-12-миристат-13-ацетатом 25 нг/мл, иономицином 1 мкг/мл и монензином. После завершения инкубации кровь в количестве 100 мкл инкубировали с моноклональными антителами к CD4 15 минут при 4°C. Эритроциты лизировали раствором хлорида аммония 15 минут при 18–25°C и центрифугировали пробирки 5 минут при 250 g для осаждения клеток, после чего удаляли супернатант. Исследуемые клетки фиксировали 10 минут в 500 мкл 4% раствора параформальдегида, затем объем клеточной взвеси клеток доводили фосфатным буфером до 3 мл и центрифугировали 5 минут при 200 g для осаждения клеток. Удаляли супернатант и ресуспендировали клетки в 500 мкл пермеабилизирующего раствора I (для определения внутриклеточных цитокинов) и пермеабилизирующего раствора II (для определения транскрипционных факторов). Инкубировали 10 минут, после чего отмывали в 3 мл DPBS. Надосадочную жидкость удаляли, клетки инкубировали с

моноклональными антителами и с соответствующими изотипическими контролями 15 минут при 4°C. После истечения времени инкубации клетки отмывали от несвязавшихся антител, суспендировали в 200–300 мкл DPBS и проводили учет результатов на проточном цитофлюориметре (рисунок 2).

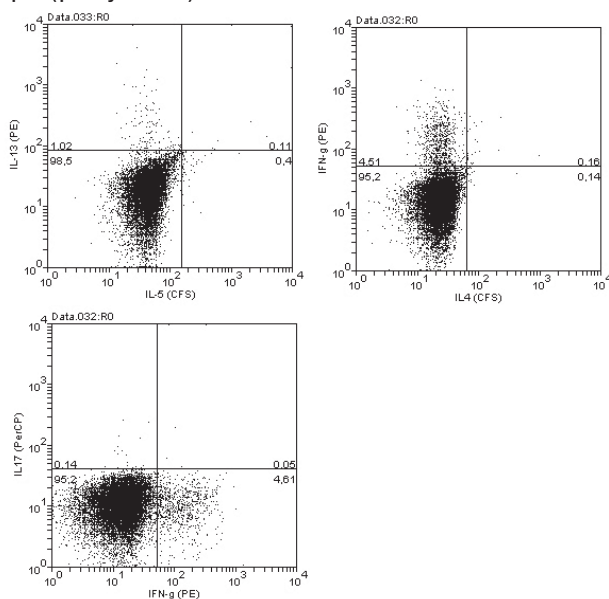


Рис. 2. Анализ содержания внутриклеточных цитокинов

В группе 1 (30 человек) СЛИТ проводилась лечебным аллергеном смеси трав 1 (17 пациентов) и смеси полыни – 13 пациентов. Гендерное распределение в этой группе было следующим: женщин – 11, мужчин – 19. Средний возраст составил $31,6 \pm 5,46$ лет. Аллергонаследственность была отягощена у 13 пациентов. Средняя длительность заболевания составила $11,16 \pm 7,49$ лет. Клиническая картина болезни была представлена у 20 человек риноконъюнктивальным синдромом, у 6 пациентов риноконъюнктивальный синдром сочетался с бронхиальной астмой, а у 4 – с крапивницей, отеком Квинке. В течение двух лет больные принимали стандартизированные лечебные аллерговакцины («Sevapharma», Чешская Республика).

Состав смеси трав 1:

- Arrhenatherum elatius – французский райграс высокий;
- Dactylis glomerata – ежа сборная;
- Festuca sp. – овсяница;
- Lolium sp. – райграс плевел;
- Phleum pretense – тимофеевка;
- Secale cereale – рожь.

Состав смеси полыни:

- Artemisia absinthium – полынь горькая
- Artemisia vulgaris - чернобыльник

Полученная за период лечения средняя антигенная нагрузка пыльцевыми аллергенами составила 528848 ± 316828 JSK.

В группе 2 (30 человек) проводилась АСИТ: двумя не реагирующими перекрестно аллергенами. Смесь трав 1 в сочетании со смесью клещевых аллергенов принимали 15 пациентов, другие 15 лечились смесью полыни в сочетании со смесью плесневых грибов домашних. Гендерное распределение в этой группе было следующим: женщин – 10, мужчин – 20. Средний возраст составил $28,9 \pm 8,14$ лет. Аллергонаследственность была отягощена у 13 пациентов. Средняя длительность заболевания составила $11,93 \pm 7,44$ года. Клиническая картина болезни была представлена у 17 человек риноконъюнктивальным синдромом, у 9 пациентов риноконъюнктивальный синдром сочетался с бронхиальной астмой, а у 4 человек респираторная аллергия манифестировала ринитом. В течение двух лет больные принимали стандартизированные лечебные аллерговакцины («Sevapharma», Чешская Республика).

Состав смеси клещей домашней пыли:

- Acarus Siro;
- Dermatophagoides farinae;
- Dermatophagoides pteronyssinus.

Состав смеси плесневых грибов домашних:

- Aspergillus fumigatus;
- Aspergillus niger;
- Penicillium sp.;
- Mucor sp.;
- Rhizopus sp.

Полученная за период лечения антигенная нагрузка пыльцевыми аллергенами составила $461807,9 \pm 233516,3$ JSK, грибковыми - $30400 \pm 9898,052$ JSK, клещевыми - $270000 \pm 97760,64$ JSK.

СЛИТ проводилась двухфазно:

1 фаза: иницирующая – введение повышающихся концентраций аллергена вплоть до достижения максимально допустимой дозы;

2 фаза: поддерживающая – максимально допустимая доза вводилась в течение нескольких лет в более длительные интервалы времени.

При проведении СЛИТ аллергенами пыльцы растений и клещей минимальная концентрация аллергена составляет 1 PNU, максимальная – 10 000 PNU. При проведении СЛИТ аллергенами плесневых грибов наименьшая концентрация равняется 0,1 PNU, а наивысшая концентрация – 1 000 PNU.

СЛИТ начиналась с самой низкой концентрации и дозы и продолжалась до наивысшей концентрации и допустимой дозы.

Каждую концентрацию препарата начинали применять всегда с одной капли в день, и каждый последующий день количество капель увеличивали на одну каплю. После достижения количества 10 капель (10-й день) начинали принимать по той же схеме препарат следующей, более высокой концентрации.

В группе 1 препарат принимался одной дневной дозой (утром) не менее чем за 30 мин до приема пищи. В группе 2 утром принимались капли смеси клещевой или смеси плесневых грибов домашних, а вечером - капли лечебной пыльцевой смеси.

На чайную ложку из флакона капали соответствующее количество капель аллергенного препарата – лучше всего в небольшое количество сладкой жидкости. Содержимое ложки оставляли под языком для всасывания 1-2 минуты, а затем проглатывали. Для всасывания как можно большего количества активных веществ необходимо обеспечить наиболее продолжительный контакт препарата со слизистой оболочкой полости рта, главным образом в подъязычной области. Препарат не заедают и не запивают. Если пациент лечение переносил хорошо, то и в сезон цветения принимал максимальную дозу аллергена, при возникновении местных или общих реакций количество

капель или в редких случаях концентрация аллергена снижались.

Поддерживающую фазу проводили в течение 2-х лет после иницирующей фазы - 10 капель аллергена с концентрацией 10000 JSK/мл (для пыльцевой и клещевой смеси) 3 раза в неделю, 1 000 JSK/мл (для смеси плесневых грибов домашних) 1 раз в неделю. Лечение проходило под контролем врача-аллерголога (1 раз в месяц).

Схема вакцинации могла быть изменена (снижение концентрации вакцины, уменьшение количества капель или удлинение интервала между приемом аллерговакцины):

- при любом остром заболевании;
- при появлении признаков аллергического заболевания;
- если перерыв в приеме вакцины превышает три недели;
- при возникновении необходимости применения других вакцин.

СЛИТ проводилась на дому самим пациентом. Пациенту разъяснялись возможные побочные реакции и меры по их предупреждению и устранению, давались рекомендации по индивидуальному наблюдению.

Мониторинг АСИТ осуществлялся на протяжении всего времени ее проведения с регистрацией возможного возникновения побочных эффектов и оценкой динамики исследуемых иммунологических показателей до и после СЛИТ.

В течение периода цветения причинно-значимых трав, деревьев пациенты ежедневно оценивали признаки ринита, конъюнктивита, бронхиальные симптомы. Эти признаки основывались на следующих симптомах: признаки ринита – зуд, чихание, ринорея, заложенность носа: конъюнктивит – покраснение глаз, зуд глаз, слезотечение, отек век: бронхиальные симптомы – кашель, мокрота, одышка, свистящее дыхание. Оценка клинической эффективности АСИТ у наблюдаемых больных осуществлялась на основании жалоб в соответствии с существующими критериями. При этом учитывались состояние больного, выраженность клинической симптоматики поллиноза в период полликации и потребность в лекарственных препаратах. Оценку проводили по четырех балльной шкале: 0 – нет симптомов, 1 – легкая степень тяжести (симптомы есть, но они не беспокоят), 2 – средней степени тяжести (симптомы беспокоят умеренно), 3 – тяжелой степени (симптомы сильно беспокоят, нарушают социальную и профессиональную деятельность, обычно есть необходимость в назначении жизненно важных препаратов).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программно-

го обеспечения «Statistica» версии 8 («StatSoft», США) и StatPlus 4.9 («AnalystSoft», США). Выполнен расчет следующих параметров: Mean – среднее, SD – стандартное отклонение, Std Error – стандартная ошибка среднего, Median – медиана, 25th-75th – интерквартильный размах (интервал) – значения 25-го и 75-го процентилей. Нормальность распределения величин оценивали с использованием W-критерия Шапиро-Вилка, для парных сравнений использовали критерий Вилкоксона.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Клинические наблюдения за пациентами, получавшими в течение двух лет СЛИТ продемонстрировали их высокую клиническую эффективность. В результате СЛИТ у всех пациентов отмечено статистически значимое уменьшение клинических проявлений аллергического ринита, аллергического конъюнктивита и астмы. Клиническое улучшение отмечалось у 86% пациентов группы 1. В группе 2 клиническое улучшение в период полликации причинно-значимых аллергенов отмечалось у 82% пациентов и улучшение круглогодичных симптомов у 76% больных.

У всех пациентов произошло уменьшение потребности в симптоматической терапии (антигистаминных препаратах, интраназальных кортикостероидах, бронхолитических препаратах), проявившееся в сокращении количества дней использования этих препаратов или полном отсутствии необходимости в них. Большинство пациентов без проблем могли находиться даже в теплую погоду не только на улице, но и за городом на даче. Кроме того, отмечалось снижение чувствительности и к тем пыльцевым аллергенам, которыми не лечились (и по жалобам, и по результатам исследования специфического Ig E). Некоторые пациенты с сочетанной пищевой аллергией отмечали, что появилась возможность употреблять те фрукты и овощи, которые раньше не могли себе позволить (косточковые, киви, орехи, морковь). Другие пациенты отмечали, что реже болели ОРВИ.

Переносимость СЛИТ была хорошей. На фоне лечения пациентов группы 1 локальные реакции (першение в горле, жжение языка) наблюдались у 3 пациентов. Также у 3 пациентов отмечались общие реакции в виде зуда век, ринита, у одного из них – однократный отек губы. Как правило, реакции возникали на прием самой высокой концентрации (1000, 10000 JSK), были непродолжительными и проходили самостоятельно, не требуя фармакотерапии и перерыва в лечении. Один пациент группы 2 жаловался на головную боль после приема 10 капель 10000 JSK; другая пациентка предъявляла жалобы на явления ринита в день приема 10

капель 10000 JSK, после снижения количества капель до 8 состояние нормализовалось.

Статистически значимой разницы в изучаемых показателях у больных с сочетанием аллергического ринита и астмы по сравнению с пациентами, страдающими изолированным аллергическим ринитом, обнаружено не было. Из чего было сделано заключение об одинаковой эффективности СЛИТ для больных аллергическим ринитом и астмой.

СЛИТ действует на все звенья аллергического процесса. Считают, что действие ее на иммунную фазу аллергической реакции связано с переключением иммунного ответа с Th2

клеток на Th1 клетки, что сопровождается снижением продукции Th2 цитокинов и повышением Th1 цитокинов. Проведенные нами иммунологические исследования до и после 2-х лет лечения показали достоверное снижение числа CD4+ Т-хелперов, продуцирующих внутриклеточно такие воспалительные цитокины как IL-4 (рисунок 3), IL-5 (рисунок 4), IL-13 (рисунок 5), IL-17 (рисунок 6) и увеличение числа CD4+ клеток, продуцирующих INF-γ (рисунок 7). Это снижение произошло, как в группе 1, получавшей монотерапию, так и в группе 2, где был комбинированный прием двух вакцин.

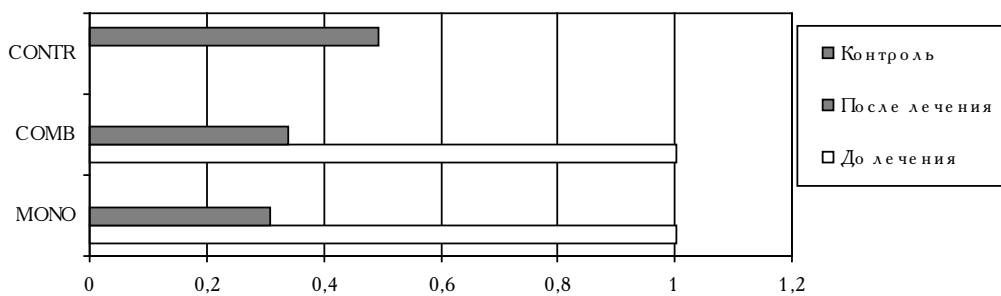


Рис. 3. Внутриклеточная продукция IL-4 (p=0,0001)

Как известно, IL-4 – В-клеточный стимулирующий фактор, служит фактором роста В-клеток, способствует выработке IgE и реализации других процессов, способствующих развитию аллергических реакций.

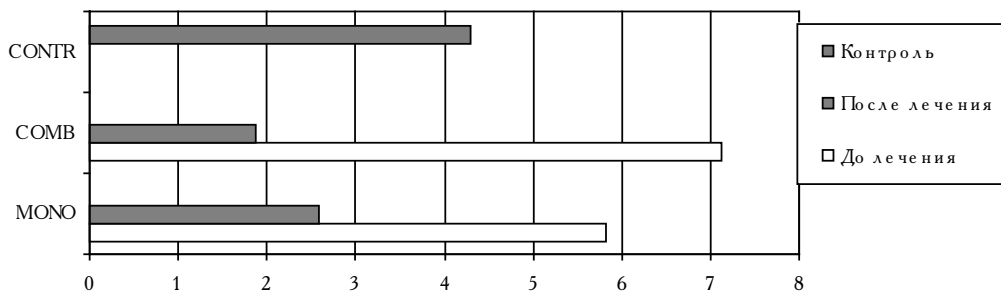


Рис. 4. Внутриклеточная продукция IL-5 (p=0,000002)

Интерлейкин-5 – эозинофильный фактор, является фактором роста и дифференцировки эозинофилов, необходим для развития и выживаемости эозинофилов и фактором роста В-клеток, т.е. также поддерживает механизмы аллергического воспаления.

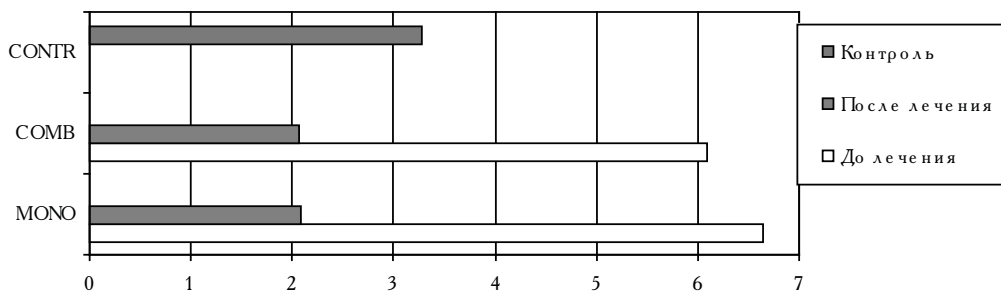


Рис. 5. Внутриклеточная продукция IL-13 (p=0,00001)

Наличие высоких уровней IL-13, который делит рецептор с IL-4, критично для экспрессии Th2 фенотипа, что ведет к образованию IgE антител. Интерлейкин-13 обеспечивает выживание и миграцию эозинофилов и активацию макрофагов, создавая фенотип аллергических клеток. Интерлейкин-13 также непосредственно действует на гладкую мускулатуру дыхательных путей, приводя к повышению контракции на ацетилхолин и снижая релаксацию на бета-агонисты. Интерлейкин-13, обнаруженный в дыхательных путях пациентов с астмой, ведет к тяжелому течению астмы, включая гиперреак-

тивность, воспаление, метаплазию слизистой, активацию и пролиферацию фибробластов дыхательных путей, которые вносят свой вклад в ремоделирование дыхательных путей

Интерлейкин-17 продуцируется CD4+ Т-клетками, оказывает разнообразную биологическую активность на различные клетки. Интерлейкин-17 – провоспалительный белок, определяющий тяжесть астмы. Есть предположение, что можно предупредить развитие тяжелых форм астмы, блокируя путь, который ведет к продукции IL-17A. Обсуждается роль IL-17 в индукции Th1 и Th2-типа иммунного ответа.

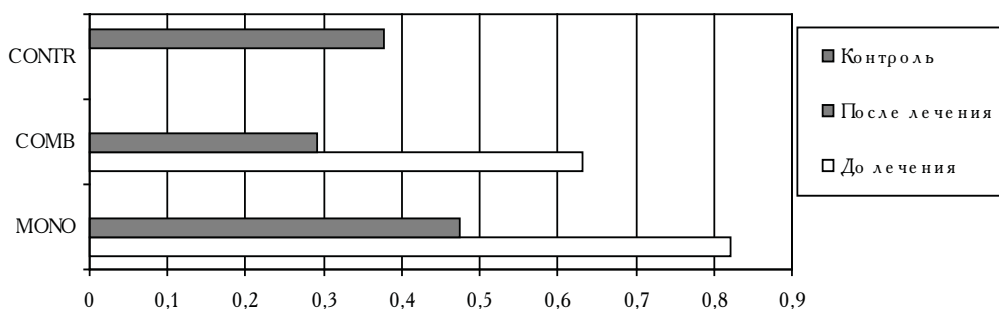


Рис. 6. Внутриклеточная продукция IL-17 (p=0,005)

Снижение продукции вышеперечисленных цитокинов убедительно демонстрирует, что СЛИТ действует на патогенетические механизмы аллергического воспаления.

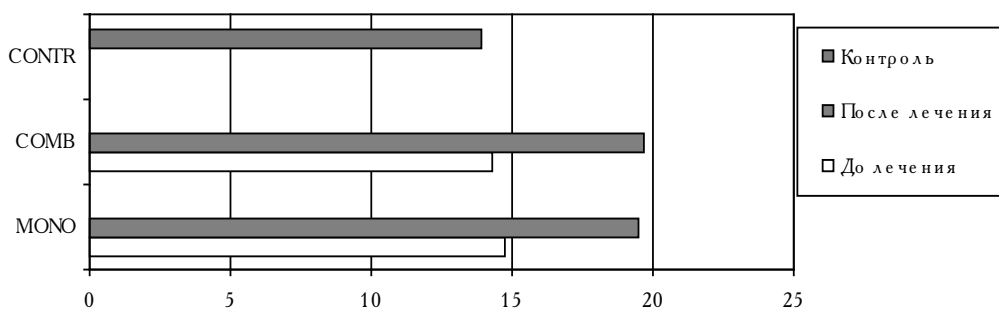


Рис. 7. Внутриклеточная продукция INF-γ (p=0,003)

INF-γ ингибирует пролиферацию Th2 клонов (но не влияет на продукцию цитокинов). INF-γ в отличие от других интерферонов 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.

Таким образом, СЛИТ привела к коррекции иммунного ответа в сторону Т-хелперов 1 типа.

Изучение субпопуляций Т-лимфоцитов выявило их активацию (повышение активности Т-цитотоксических лимфоцитов, Т-лимфоцитов в целом, кортикальных тимоцитов, предшественников Т-цитотоксических), что привело к изменению соотношения CD4/CD8, а в конечном итоге к девиации иммунного ответа в сторону Th1.

Проведение СЛИТ уже в течение двух лет приводит к фенотипической коррекции иммунного ответа, что согласуется с высокой клинической эффективностью. Максимальная эффективность лечения проявляется после 3-5 лет СЛИТ.

ВЫВОДЫ

1. СЛИТ действует не на симптомы заболевания, а на патогенетические механизмы аллергического воспаления, приводя к коррекции иммунного ответа от преобладания Th2 в сторону Th1.
2. СЛИТ является высокоэффективной, безопасной, отмечается высокая приверженность пациентов этому методу аллерговакцинации.
3. СЛИТ является эффективной не только в случае монотерапии, но и при комбинации двух не реагирующих перекрестно аллергенов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Allogeneic apoptotic thymocyte-stimulated dendritic cells expand functional regulatory T-cells / T.B. Costa [et al.] // *Immunology*. – 2011. – Vol. 133, № 1. – P. 123–132.
2. Asthma and Sinusitis: Association and Implication / O, Matsuno [et al.] // *International Archives of Allergy and Immunology*. – 2008. – Vol. 147, №1. – P. 52–58.
3. Asthma in adults: is the prevalence increasing? / M.L. Hunter [et al.] // *Annals of Respiratory Medicine*. – 2010. – Vol. 1, №1. – P. 69–74.
4. Asthma in older adults / P.G. Gibson [et al.] // *The Lancet*. – 2010. – Vol. 376, № 9743. – P. 803–813.
5. Busse, W.W. The relationship of airway hyperresponsiveness and airway inflammation / W.W. Busse // *Chest*. – 2010. – Vol. 138, № 2. – P. 4–10.
6. Canonica, G.W. Minimal Persistent Inflammation in Allergic Rhinitis / G.W. Canonica // *J. Of the World Allergy Organization*. – 2006. – Vol. 18, №4. – P. 169–171.
7. Characterization of dendritic cells from oral human mucosa: a new Langerhans cell type with high constitutive Fc RI expression / J.P. Allam [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunology*. – 2003. – Vol. 112. – P. 141–148.
8. Cytokine / anti-cytokine therapy – novel treatments for asthma? / P.M. Hansbro [et al.] // *BJP British J. of Pharmacology*. – 2011. – Vol. 163. – P. 81–95.
9. Determinants of experimental allergic responses: interactions between allergen dose, sex and age / J.S. Hansen [et al.] // *Scandinavian J. of Immunology*. – 2011. – Vol. 73, № 6. – P. 554–567.
10. Double-blind, placebo-controlled evaluation of grass pollen specific immunotherapy with oral drops administered sublingually or supralingually / P. Panzner [et al.] // *Respiratory Medicine*. – 2011. – Vol. 66, № 2. – P. 214–221.
11. Efficacy and safety of sublingual immunotherapy / G. Passlacqua [et al.] // *Ann. Allergy Asthma & Immunology*. – 2004. – Vol. 93. – P. 3–12.
12. Efficacy and Safety of Sublingual Immunotherapy with Grass Allergen Tablets for Seasonal Allergic Rhinoconjunctivitis / R. Dahl [et al.] // *J. of Allergy and Clinical Immunology* – 2006. – Vol. 118, №2. – P. 434–440.
13. Evidence that IgE molecules mediate a spectrum of effects on mast cell survival and activation via aggregation of the Fc RI / J. Kitaura [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2003. – Vol. 100. – P. 12911–12916.
14. Experimental and seasonal exposure to birch pollen in allergic rhinitis and allergic asthma with regard to the inflammatory response / M. Kampe [et al.] // *The Clinical Respiratory J.* – 2010 – Vol. 4, №1. – P. 37– 44.
15. Grass pollen counts, air pollution levels and allergic rhinitis severity / I. Annesi-Maesano [et al.] // *International Archives of Allergy and Immunology*. – 2012. – Vol. 158, № 4. – P. 397–404.
16. Grass pollens immuno-therapy remains effective 3 years after discontinuation: a double-blind, placebo-controlled withdrawal study / S. Durham [et al.] // *Clin. Exp. Allergy*. – 1998. – Vol. 88. – P. 43–53.
17. Human dendritic cell 1 and dendritic cell 2 subsets express FcRI: correlation with serum IgE and allergic asthma / B. Foster [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunology*. – 2003. – Vol. 112. – P. 1132–1138.
18. IFN- γ and IL-12 synergize to convert in vivo generated Th17 into Th1/Th17 cells / M.H. Lexberg [et al.] // *Eur. J. Immunol.* – 2010. – Vol. 40. – P. 3017–3027.
19. Immune mechanisms of allergen-specific sublingual immunotherapy / P. Moingeon [et al.] // *Allergy*. – 2006. – Vol. 61. – P. 151–165.
20. Immune responses in healthy and allergic individuals are characterized by a fine balance between allergen-specific T-regulatory 1 and T-helper 2 cells / M. Akdis [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2004. – Vol. 199. – P. 1567–1575.
21. Immunologic changes associated with allergen Immunotherapy / S.R. Durham [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunology*. – 1998. – Vol. 102. – P. 157–164.

22. Immunological changes during specific immunotherapy of grass pollen allergy: reduced limpho-proliferative responses to allergen and shift from Th2 to Th1 in T-cell clones specific for Phi p 1, a major grass pollen allergen / C. Ebner [et al.] // Clin. Exp. Allergy. – 1997. –Vol. 27. – P. 1007-1015.

РЕЗЮМЕ

СУБЛІНГВАЛЬНА ІМУНОТЕРАПІЯ РЕСПІРАТОРНОЇ АЛЕРГІЇ: ІМУНОЛОГІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ

Маслова Л.В.

Білоруська медична академія післядипломної освіти, м. Мінськ

Неухильний ріст респіраторної алергії потребує своєчасної ефективної терапії, яка діє не на симптоми хвороби, а впливає на патогенетичні механізми. Саме такою являється алергенспецифічна імунотерапія (АСІТ). Найбільш доступним і безпечним способом її проведення є сублінгвальний метод. Механізми дії такого варіанту АСІТ до кінця не вивчені. Обстежено 30 хворих на пилову респіраторну алергію і 30 хворих, які страждають на пилову і кліщову/грибкову респіраторну алергію, до і через 2 роки після проведення АСІТ. Дослідження включало в себе імунофенотипування лімфоцитів, визначення внутрішньоклітинних цитокінів і транскрипційних факторів. Отримані результати переконливо продемонстрували фено-

типову корекцію імунної відповіді від домінуючих Т-хелперів 2 (Th2) в сторону Th1.

Ключові слова: сублінгвальна імунотерапія, алергени, респіраторна алергія, цитокіни

SUMMARY

SUB-LINGUAL IMMUNOTHERAPY OF RESPIRATORY ALLERGY: IMMUNOLOGICAL EFFICIENCY

Maslova L.V.

Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education, Minsk

The steady growth of respiratory allergy requires timely effective therapy which does not act on the symptoms of the disease and affects the pathogenic mechanisms. Allergen immunotherapy correspond the requirements. Sublingual method is the most accessible and safe for its implementation. Action mechanism of this kind of ASIT up to the end isn't studied. There were surveyed 30 patients with pollens respiratory allergy and 30 patients with pollens and mites/moulds respiratory allergy before and after 2 years of SLIT. The study included immunophenotyping of lymphocytes, detection of intracellular cytokines and transcription factors. These results clearly demonstrated the phenotypic correction of the immune response from predominantly Th2 to Th1.

Key words: sub-lingual immunotherapy, allergens, respiratory allergy, cytokines.

УДК 616.233-002-616.24-007.63]-036.12:[616.12-008.331.1+616-056.52+612.349.8]-092:612.017

СУЧАСНІ АСПЕКТИ СТАТИНОТЕРАПІЇ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНЕ ОБСТРУКТИВНЕ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ, ПОЄДНАНЕ ІЗ МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ

*БИЧКОВА С.А., БИЧКОВА Н.Г.**

Українська військово-медична академія

*Національний медичний університет імені О.О.Богомольця

Вступ. В сучасному світі хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) поряд з артеріальною гіпертензією, ішемічною хворобою серця та цукровим діабетом складає провідну групу хронічних захворювань, на долю яких припадає більше 30% серед всієї іншої патології людини. ВООЗ відносить ХОЗЛ до хвороб із високим рівнем соціального обтяження. За даними ВООЗ на сьогодні поширеність метаболічного синдрому (МС) набула характеру пандемії: надлишкова маса тіла або ожиріння офіційно зареєстровані у 1,7 млрд. осіб, тобто приблизно у 30% жителів планети. У осіб із цукровим діабетом або із порушенням толерантності до глюкози частота МС сягає 84%. Крім того, за даними «Chest» він асоціюється із системним запаленням та фізичною бездіяльністю у хворих на ХОЗЛ [1,2]. МС - глобальна хвороба цивілізації та прогресу,

яка являє собою поєднання надлишкової маси тіла або ожиріння із артеріальною гіпертензією, порушеннями ліпідного та вуглеводного обміну або цукровим діабетом.

Однією із класичних ознак пацієнта, який страждає на ХОЗЛ, завжди була знижена маса тіла внаслідок м'язової дистрофії, що обумовлена порушенням метаболізму під впливом системного запалення, гіпоксії та тривалого прийому β_2 -агоністів. Проте, впродовж останніх десятиліть сформувався поєднання ХОЗЛ із МС. Надлишкова маса тіла поряд із палінням в усьому світі відноситься до головних факторів ризику загальної захворюваності та смертності. При цьому і надлишкова маса тіла, і паління можуть взаємодіяти синергічно та асоціюватися з розвитком інсулінорезистентності, оксидантним стресом та підвищеним вмістом цитокінів та інших