

Є.М. Дитятковська

## ВПЛИВ АСИТ ПИЛКОВИМИ АЛЕРГЕНАМИ НА СТАН Т- КЛІТИННОЇ ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ НА ПОЛІНОЗ

Міський алергологічний Центр (міська клінічна лікарня № 7)  
м. Дніпропетровськ

**Ключові слова:** поліноз, АСИТ, Т-лімфоцити

**Key words:** pollinosis, ASIT, T-lymphocytes

**Резюме.** В статті представлені результати дослідження впливу різного количества курсов предсезонной алерген-специфической иммунотерапии (АСИТ) на динамику основных субпопуляций Т-лимфоцитов в сыворотке крови (CD4+, CD8+, CD4/CD8) у 90 больных поллинозом в возрасте от 18 до 55 лет. Установлено, что положительная динамика продукции всех изученных показателей отмечается, начиная с третьего курса АСИТ, что свидетельствует об устойчивой тенденции к переключению иммунного ответа с Т-хелперов 2 типа на Т-хелперы 1 типа.

**Summary.** In the article the results of studies of influence of different number of courses of pre-season allergen-specific immunotherapy (ASIT) on dynamics of main sub-populations of T-lymphocytes in blood serum (CD4+, CD8+, CD4/CD8) in 90 patients with pollinosis aged from 18 to 55 years are presented. Positive dynamics of production of all investigated indices is noted to begin with the third ASIT course; this is an evidence of a stable tendency to immune response switchover from T-helpers of the 2<sup>nd</sup> type to T-helpers of the 1<sup>st</sup> type.

У наш час експериментально і клінічно доведено, що алергічний стан – імунозалежне захворювання, в патогенезі якого особливе значення мають порушення як клітинної, так і гуморальної ланки імунної системи. Головна роль в імунних реакціях відіграють лімфоцити, які за допомогою клітинних рецепторів розпізнають антигени. Тому їх називають антиген-реактивними або імунокомпетентними клітинами. Різноманіття функцій, які виконують Т-лімфоцити в межах реалізації імунної відповіді організму, пов'язане з існуванням різних субпопуляцій Т-лімфоцитів, «запрограмованих» на виконання конкретної функції при формуванні імунних реакцій.

Серед Т-лімфоцитів прийнято розрізняти регуляторні (Th) й ефекторні клітини, зокрема Т-цитотоксичні (Ct1). Ймовірно, функціональна заданість у Т-лімфоцитів відсутня, і ті ж самі клітини досить швидко можуть змінюватися фенотипічно і трансформуватися в Т-клітини з іншими функціями. Регуляторні Т-лімфоцити забезпечують регуляцію антиген-специфічної відповіді, а також регуляцію функціональної активності імунної системи в цілому. Ці клітини, продукуючи безліч цитокінів, значною мірою відповідають за взаємодію з іншими системами організму. Наявність у лімфоїдній системі величезної кількості клонів Т-лімфоцитів дозволяє кожному індивідууму відповідати Т-клітинною імунною відповіддю на  $10^7$  -  $10^8$  різних антигенних детермінант. У процесі розпізнавання Т-

клітинами антигену за допомогою TCR-CD3 комплексу білків залучаються також інші мембранні білки клітини, що одержали позначення CD4 і CD8. У зрілих Т-клітин експресія цих білків – альтернативна, і клітини здебільшого є або CD4+ CD8-, або CD4- CD8+. CD4 -білки виявляються у хелперних регуляторних Т-лімфоцитах, CD8- білки – у Т-супресорних і Т-цитотоксичних лімфоцитах. CD4 - білок на мембрані Т- хелперних лімфоцитів сприяє пізнаванню антиген-рецептором лімфоцитів антигену в комплексі з білками 2 класу головного комплексу гістосумісності (HLA). Такі комплекси вбудовуються в мембрану допоміжних клітин і, маючи високу імунність, представляють CD4- лімфоцити. CD8 - комплекс забезпечує взаємодію антиген-специфічного рецептора Т-лімфоцитів з антигеном на поверхні якої-небудь соматичної клітини в асоціації з білками HLA 1 класу.

Таким чином, в антигенній активації CD4+ і CD8+ субпопуляцій Т-лімфоцитів беруть участь різні клітини організму. Показано, що взаємодія CD4+ або CD8+ на поверхні Т-лімфоцитів сприяє проведенню сигналу від цих рецепторів до ядра для активації Т-клітини, яка виявляється продукцією і секрецією цитокінів, підсилюючих процеси проліферації і диференціювання самих Т-лімфоцитів, В-лімфоцитів і макрофагів.

Відомо, що патогенетичним методом лікування полінозу є алерген-специфічна імунотерапія пилюковими алергенами (АСИТ), що діє на всі

ланки алергічного запалення, перемикаючи Т-хелперну відповідь 2 типу на 1 тип (Th2 на Th1). Проте дотепер механізми перебудови Т-клітинної ланки вивчено недостатньо.

Все вищевикладене дозволяє визначити значущість дослідження вмісту CD4+ і CD8+ у сироватці крові хворих на поліноз у динаміці АСИТ, що й стало метою цього дослідження.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

Дослідження проводилось серед 90 хворих на поліноз, віком від 18 до 55 років, середній вік (M±s) становив 35,6±10,9 року. Серед обстежених було 37 (41,1%) чоловіків і 53 (58,9%) жінки. Клінічними проявами полінозу в абсолютної більшості пацієнтів на початку дослідження були сезонний алергічний риніт (97,8% пацієнтів) і кон'юнктивіт (95,6%), переважно у поєднаній формі ринокон'юнктивіту (95,6%).

У роботі використані клініко-імунологічні та алергологічні методи дослідження, що проводились до і після лікування АСИТ в період ремісії полінозу.

У всіх хворих була виявлена сенсibiliзація до алергенів полину, амброзії, лободи, кукурудзи, циклахени, соняшника за допомогою прік-тестів з відповідними алергенами виробництва ТОВ «Імунолог» (м. Вінниця, Україна).

Всім пацієнтам була проведена передсезонна АСИТ причинно-значущими алергенами методом підшкірних ін'єкцій за експрес-схемою або сублінгвальним методом у вигляді драже. Для ін'єкцій використовували водно-сольові розчини алергенів (в 1 мл розчину – 10000 PNU алергену), виробництва ТОВ «Імунолог» (м. Вінниця, Україна). 43 (47,8%) хворих одержали один курс, 16 (17,8%) – два курси, 12 (13,3%) – три курси, 19 (21,1%) пацієнтів – п'ять курсів АСИТ. Всі виділені за кратністю курсів АСИТ підгрупи були

порівняними за віком (p>0,10 при всіх порівняннях) і статтю (p>0,20) пацієнтів.

Імунологічне дослідження включало визначення субпопуляційного складу лімфоцитів у сироватці крові (CD3+, CD4+, CD8+) методом непрямой реакції імуофлюоресценції з моноклональними антитілами.

Обробка отриманих даних проводилась з використанням пакету програм Statistica v6.1® (Statsoft Inc., США). У таблицях, тексті і рисунку наведені статистичні характеристики: кількість спостережень (n), середнє арифметичне (M), стандартне відхилення (s), медіана (Me), 95% довірчий інтервал (95% ДІ), відносні показники (%), рівень статистичної значущості (p). Перевірка відповідності розподілу показників, що вивчалися, нормальному закону за критерієм Колмогорова-Смирнова показала наявність відмінностей в окремих групах і на окремих етапах дослідження, причому в більшості випадків (близько 70%) гіпотеза про нормальний закон розподілу не відхилялася (p>0,05). З урахуванням цього, при порівняннях використовували параметричні (критерій Стьюдента) і непараметричні методи (критерії Дункана і Вілкоксона) оцінки вірогідності відмінностей. Порівняння відносних показників проводилось за критерієм Хі-квадрат Пірсона (χ<sup>2</sup>).

**РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ**

Результати аналізу стану клітинного імунітету у хворих на поліноз, як перед, так і в динаміці АСИТ, свідчать про знижений рівень відносної кількості Т-лімфоцитів (CD3+). Середнє значення показника до початку АСИТ знаходилось на нижній межі референтного інтервалу регіональної норми (40-60%) – 40,2±1,01%, а після терапії знизилось до 39,6±1,17% (p>0,30) (табл. 1).

*Таблиця 1*

**Динаміка вмісту субпопуляцій Т-лімфоцитів у сироватці крові хворих на поліноз під впливом АСИТ (n=90)**

Показник	Референтні інтервали	M±s (Me)		p за критерієм	
		До АСИТ	Після АСИТ	Стьюдента	Вілкоксона
CD3+, %	40-60%	40,2±9,51 (39,0)	39,6±11,11 (38,0)	p=0,687	p=0,305
CD4+, %	30-40%	26,2±7,21 (25,0)	22,1±6,40 (22,0)	p<0,001	p<0,001
CD8+, %	15-20%	13,1±4,85 (12,0)	13,2±5,26 (13,0)	p=0,906	p=0,749
IPI (ум. од.)	0,9-2,39	2,22±0,85 (2,0)	2,06±1,24 (1,72)	p=0,367	p=0,160

Спостерігалось вірогідне ( $p < 0,001$ ) зниження відносного вмісту субпопуляцій Т-лімфоцитів, що експресують CD4+ і CD8+ рецептори, порівняно з регіональними нормами. У динаміці лікування АСІТ середній вміст CD4+ зменшився на 15,6% ( $p < 0,001$ ), CD8+ практично не змінився ( $p > 0,70$ ). При цьому співвідношення CD4+/CD8+ (імунорегуляторний індекс – ІРІ) на початку дослідження відповідало верхній межі референтного інтервалу ( $p = 0,057$ ), а після АСІТ дещо знизилось ( $p > 0,10$ ), переважно за рахунок зниження хелперної функції Т-лімфоцитів (CD4+).

Вірогідних розбіжностей між вихідними рівнями показників CD3+ і CD4+ залежно від кількості курсів не було ( $p > 0,30$  при всіх множинних порівняннях груп за дисперсійним аналізом ANOVA і Крускала-Уолліса). Відносна кількість Т-супресорів (CD8+) до початку дослідження була вірогідно зниженою, а ІРІ – підвищеним у пацієнтів, яким проводилось три і

більше курсів АСІТ ( $p < 0,05-0,001$  порівняно з групами з меншою кількістю курсів за критерієм Дункана).

Аналіз впливу різних за кількістю курсів АСІТ на динаміку вищезазначених показників у хворих на поліноз дозволив установити такі закономірності (табл. 2-5).

Як видно з табл. 2, після першого курсу АСІТ відзначаються як загальні тенденції, характерні для всієї групи хворих на поліноз в цілому, так й особливості змін рівнів основних субпопуляцій Т-лімфоцитів. Зокрема, майже всі показники, що вивчаються, знаходяться в межах умовної норми (крім CD4+); під впливом АСІТ відносна кількість CD3+ не змінюється ( $p > 0,60$ ), а середнє значення CD4+ вірогідно зменшується ( $p < 0,05$ ). Проте відбувається вірогідне зниження кількості CD8+ клітин ( $p < 0,05$ ) і відповідне збільшення ІРІ ( $p > 0,30$ ).

Таблиця 2

**Динаміка субпопуляцій Т-лімфоцитів у хворих на поліноз під впливом першого курсу АСІТ (n=43)**

Показник	M±s (Me)		p за критерієм	
	До АСІТ	Після АСІТ	Стьюдента	Вілкоксона
CD3+, %	41,9±10,33 (40,0)	43,0±12,33 (40,0)	p=0,625	p=0,995
CD4+, %	27,4±7,77 (28,0)	23,8±6,55 (24,0)	p=0,014	p=0,009
CD8+, %	15,1±4,62 (14,0)	13,3±5,23 (12,0)	p=0,049	p=0,049
ІРІ (ум. од.)	1,93±0,60 (2,00)	2,13±1,16 (1,78)	p=0,318	p=0,600

Таблиця 3 відбиває динаміку відносної кількості субпопуляцій Т-лімфоцитів після двох курсів АСІТ, аналізуючи яку слід відзначити, що практично всі показники (крім ІРІ) на початку дослідження були зниженими порівняно з регіональною нормою. У динаміці спостереження відбувалось подальше їх зниження, але статистично значущими були лише зміни CD8+ клітин ( $p < 0,05$ ). У результаті цього величина співвідношення популяцій Т-лімфоцитів зрушилась вправо – з  $2,00 \pm 0,70$  до  $2,74 \pm 1,54$  ум.од.

Найкраща динаміка показників Т-лімфоцитарного комплексу наголошувалася після трьох курсів АСІТ. Як видно з таблиці 4, незважаючи на суттєво знижені вихідні значення відносної кількості CD4+ і CD8+ клітин і підвищення ІРІ, під впливом АСІТ відбулося вірогідне зниження вмісту CD4+ ( $p < 0,01$ ), збільшення відносної кількості Т-регуляторних клітин (CD8+) ( $p < 0,05$ ) і нормалізація їх співвідношення ( $p < 0,05$ ).

**Динаміка субпопуляцій Т-лімфоцитів у хворих на поліноз під впливом двох курсів АСІТ (n=16)**

Показник	M±s (Me)		p за критерієм	
	До АСІТ	Після АСІТ	Стьюдента	Вілкоксона
CD3+, %	37,4±10,05 (34,5)	35,5±9,30 (34,0)	p=0,516	p=0,918
CD4+, %	24,5±7,33 (23,5)	22,1±6,35 (22,5)	p=0,255	p=0,379
CD8+, %	13,4±5,69 (11,5)	9,5±3,93 (8,5)	p=0,039	p=0,031
IPI (ум. од.)	2,00±0,70 (1,90)	2,74±1,54 (2,38)	p=0,114	p=0,013

Такі ж самі закономірності відзначались і після п'ятикратного застосування передсезонної АСІТ пилковими алергенами у хворих на поліноз, що дозволило стабілізувати баланс основних субпопуляцій Т-лімфоцитів (табл. 5). Зокрема, відзначено вірогідне збільшення відносної

кількості CD8+ клітин (в 1,4 разу; p<0,01) на тлі зменшення кількості CD4+ (в 1,2 разу; p<0,05) і відповідної нормалізації імунної відповіді – зменшення IPI в 1,6 разу (p<0,01) до 1,54±0,81 ум.од.

**Динаміка субпопуляцій Т-лімфоцитів у хворих на поліноз під впливом трьох курсів АСІТ (n=12)**

Показник	M±s (Me)		p за критерієм	
	До АСІТ	Після АСІТ	Стьюдента	Вілкоксона
CD3+, %	40,7±9,75 (38,5)	36,7±9,16 (34,0)	p=0,378	p=0,272
CD4+, %	27,9±7,40 (26,5)	20,1±6,36 (20,0)	p=0,002	p=0,008
CD8+, %	9,5±2,15 (10,0)	15,9±6,80 (18,0)	p=0,017	p=0,019
IPI (ум. од.)	3,07±1,00 (3,13)	1,71±1,33 (1,22)	p=0,033	p=0,041

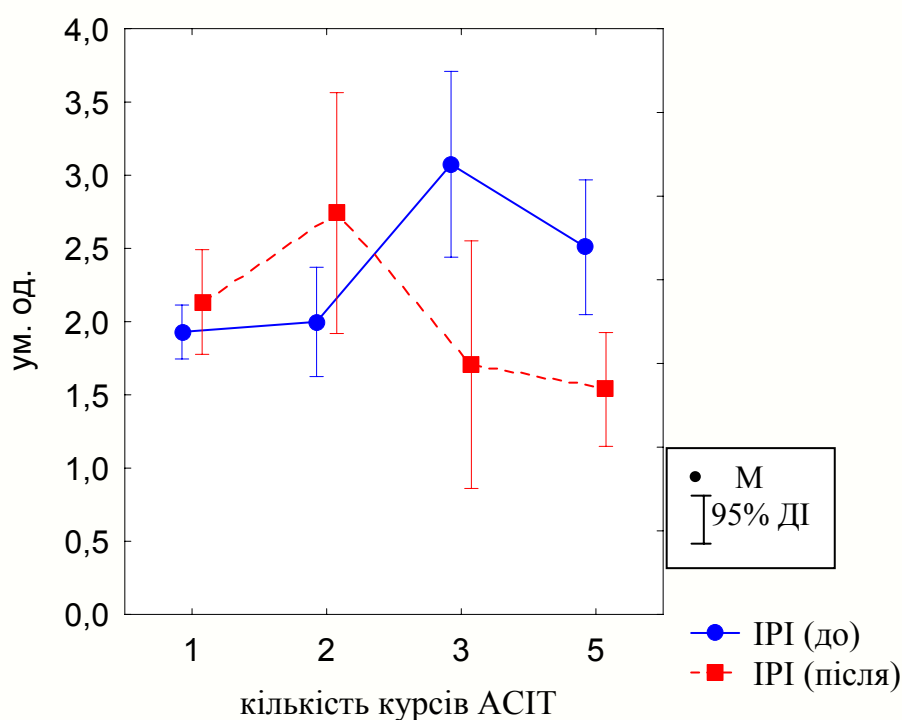
Аналізуючи все вищевикладене, слід відзначити, що стан Т-клітинної ланки імунітету у хворих на поліноз залежить від кратності курсів АСІТ. Під впливом АСІТ відбувається процес перемикання імунної відповіді з Th2 на Th1-клітини, які входять до CD4+ субпопуляції Т-лімфоцитів. Цей процес набуває сталості лише починаючи з третього курсу АСІТ, про що

свідчить активізація Т-регуляторних клітин, що пригнічують імунну відповідь і регулюють клітинну проліферацію, та нормалізація співвідношення імунорегуляторних субпопуляцій (рис. 1).

Ці дані ствердно свідчать про позитивний вплив АСІТ на Т-лімфоцитарний профіль хворих на поліноз і перемикання відповіді з Th2 на Th1-клітини.

**Динаміка субпопуляцій Т-лімфоцитів у хворих на поліноз  
під впливом п'яти курсів АСІТ (n=19)**

Показник	M±s (Me)		p за критерієм	
	До АСІТ	Після АСІТ	Ст'юдента	Вілкоксона
CD3+, %	38,4±6,20 (40,0)	37,3±8,84 (38,0)	p=0,634	p=0,398
CD4+, %	23,9±4,94 (22,0)	19,8±5,38 (20,0)	p=0,013	p=0,011
CD8+, %	10,5±3,29 (10,0)	14,3±3,65 (14,0)	p=0,004	p=0,008
ІРІ (ум. од.)	2,51±0,95 (2,33)	1,54±0,81 (1,38)	p=0,004	p=0,008



**Динаміка середніх рівнів імунорегуляторного індексу у хворих на поліноз  
під впливом різних за кількістю курсів АСІТ**

**ВИСНОВКИ**

1. У хворих на поліноз спостерігаються суттєво знижені вихідні значення кількості CD4+ CD8+ і підвищення ІРІ.

2. Під впливом АСІТ відбулося вірогідне зниження вмісту CD4+(p<0,01), збільшення кількості

Т-регуляторних клітин CD8+(p<0,05) і нормалізація їх співвідношення.

3. Найкраща динаміка показників Т-лімфоцитарного комплексу наголошується після трьох курсів АСІТ.

4. Після п'ятикратного застосування перед-сезонної АСИТ пилковими алергенами у хворих на поліноз баланс основних субпопуляцій Т-лімфоцитів вдалось стабілізувати.

5. Стан клітинної ланки імунітету у хворих на поліноз залежить від кількості проведених курсів АСИТ.

### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Астафьева Н.Г. Поллиноз - пыльцевая аллергия / Н.Г. Астафьева, Л.А. Горячкина // Аллергология. – 1998. – №2. – С. 34-40.

2. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г.Н. Дранник. – К.: ООО «Полиграфия Плюс», 2006. – 482с.

3. Клиническая аллергология и иммунология: руководство для практикующих врачей / под ред. Л.А. Горячкиной, К.П. Кашкина. – М.: Миклош, 2009. – 432с.

4. Частная аллергология. Т.2. / под ред. Г.Б. Федосеева. – СПб: Юрмедиздат, 2001. – 464с.

5. Changes in airway inflammation following nasal allergic challenge in patients with seasonal rhinitis / M. Bonay, C. Neukirch, M. Grandsaique [et al.] // Allergy. – 2006. – Vol. 61, 1. – P.111-118.

6. Classification and managements of allergic rhinitis patients in general practice during pollen season / H. Van Hoescke, N. Vastesaegeer, L. Dewulf [et al.] // Allergy. – 2006. – Vol. 61. – P. 705-711.

