



Д.О. Ярцева, С.М. Недельська, В.І. Мазур, І.В. Солодова, І.О. Жиленко, Т.В. Тарасевич

## ВПЛИВ АЛЕРГЕН-СПЕЦИФІЧНОЇ ІМУНОТЕРАПІЇ НА ПРОЦЕСИ ЕЛІМІНАЦІЇ КЛІТИН ЗАПАЛЕННЯ ПРИ ПОЛІНОЗАХ У ДІТЕЙ: РОЛЬ FASL-ОПОСЕРЕДКОВАНОГО АПОПТОЗУ

Запорізький державний медичний університет

**Ключові слова:** полінози, апоптоз, алергенспецифічна імунотерапія, діти.

**Ключевые слова:** поллинозы, апоптоз, аллергенспецифическая иммунотерапия, дети.

**Key words:** pollen allergy, apoptosis, allergen-specific immunotherapy, children.

Наведено докази ролі Fas/FasL-опосередкованого апоптозу при полінозах у дітей. Показано динаміку маркерів апоптозу під впливом різних схем терапії. Виявлені зміни можуть бути свідченням існування нового шляху ефективності АСИТ при полінозах у дітей.

Приведены доказательства роли Fas/FasL-опосредованного апоптоза при поллинозах у дітей. Показана динаміка маркерів апоптоза под впливом різних схем терапії. Виявленые изменения могут подтверждать существование нового пути эффективности АСИТ при поллинозах у дітей.

This article describes the role of Fas/FasL-mediated apoptosis in children's grass pollen allergy. We show the dynamics of apoptosis markers as a result of a differences in treatment plan. These changes may prove a new way of ASIT effectiveness in pollinosis in children.

У всьому світі серед алергічних захворювань вагоме місце посідають захворювання, спричинені пилок рослин – полінози. Це зумовлене не тільки їх постійно зростаючою розповсюдженістю, швидким прогресуванням з приєднанням бронхіальної астми (БА), але й формуванням тяжких ускладнень, що потребують лікування у відділенні інтенсивної терапії [1].

Згідно епідеміологічних досліджень, проведених протягом останніх 5 років, клінічно значуща сенситизація до амброзії полинолістої серед населення деяких країн світу (Угорщина) сягає 60%. При цьому у третини наявні симптоми БА. Більш того, якщо до 2005 року у 25% пацієнтів з АР діагностовано астму, то на кінець 2009 року – у 40%. Швидкість «трансформації» риніту в астму у значної частини пацієнтів становить 2–4 років. Однією з причин цього є несвочасне звернення хворих до алерголога та пізній початок адекватної терапії. Крім того, погіршення екологічної ситуації у світі призводить до накопичення токсичних елементів на пилку, що сприяє змінам його антигенної структури та посиленню алергенності [2,3].

Єдиним методом, що спроможний запобігти розвитку полісенситизації та трансформації алергічного захворювання у більш важке (АР і БА, погіршення перебігу астми) на сьогодні залишається алергенспецифічна імунотерапія (АСИТ) причинними алергенами. Її ефективність при полінозі дорівнює 80–90%, при чому не тільки при АР, але й при пилкової астмі [4]. Імунологічні ефекти АСИТ, завдяки яким виникають зазначені зміни, вивчено досить добре й описано в багатьох відповідних джерелах. Результатом імунологічних змін на фоні проведення АСИТ є блокування міграції активованих Т-лімфоцитів і вивільнення прозапальних медіаторів у місці контакту з алергеном, що сприяє зменшенню запалення слизових оболонок і гальмуванню процесів ремоделінгу тканин [5]. Останнє є ключовою ланкою в патогенезі алергічних захворювань, бо метою

пошуків нових терапевтичних агентів (так званої цільової терапії – «targeting therapy»), є відкриття ліків, спроможних максимально ефективно затамувати алергічне запалення. Доведено, що в органах-мішенях не тільки у період клінічних проявів, але й поза сезоном палінації зберігається так зване «мінімальне персистуюче запалення». Одним із напрямків у розумінні причин цього є теорія недостатньої елімінації клітин запалення – еозинофілів і активованих Т-лімфоцитів, що виникає за рахунок уповільнення процесів їх програмованої загибелі (апоптозу) [6,12].

Алергічні захворювання асоціюються з інгібіцією Fas/FasL-опосередкованого шляху програмованої смерті клітин. Ця система включається внаслідок дії екзогенних стимулів, що призводять до активації домену смерті через зв'язування Fas-рецептору (APO1/CD95) з його натуральним лігандом (FasL (CD178)). Результатом цих подій є активація каскаду каспаз – ферментів, що розрізають ДНК на фрагменти, та утворення апоптотичних тілець, що фагоцитуються сусідніми клітинами. Для активації цього шляху необхідне дотримання кількох умов: достатня кількість рецепторів на поверхні мембрани, мембранозв'язаного або розчинного ліганду та чутливих до апоптозу клітин. Багато дослідників зміни програмованої клітинної загибелі при АЗ пов'язують з особливостями експресії Fas-рецептору, при чому дані суперечливі: більшість з них указують на підвищення концентрації Fas, інші – на зниження. Кількість клінічних експериментів щодо цього при полінозах обмежена [6–11].

### МЕТА РОБОТИ

Дослідження особливостей Fas/FasL-опосередкованого апоптозу при полінозах у дітей та оцінка впливу АСИТ, враховуючи недостатнє висвітлення зазначених процесів у сучасній медичній літературі.

### ПАЦІЄНТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Під спостереженням перебували 104 дитини з полінозами, яких госпіталізовано в КУ «ЗМДКЛ №5» у період палінації



бур'янів (серпень-вересень) 2008–2009 рр. У 77 (74,04%) з них діагностовано бронхіальну астму у поєднанні з пилковим ринокон'юнктивітом (АСРК/АСР). У інших 27 (25,96%) поліноз перебігав у вигляді ізольованого АСРК/АСР. Усі діти отримували лікування основного захворювання, згідно відповідних протоколів. Фармакотерапія загострень включала основні групи препаратів, що використовують для лікування АР і БА і полягала у більш ранньому покровокому призначенні максимально допустимого обсягу терапії. Крім того, частина дітей, батьки яких дали згоду, отримували лікування за допомогою АСІТ алергенами за класичною схемою. АСІТ проводили моно- (амброзія) та полікомпонентними вакцинами (мікст максимально 5 алергенів) передсезонно, за 5–6 місяців до передбачуваної палінації причинних рослин. Початкову дозу алергену добирали методом алергометричного титрування. Загалом, схема проведення, окрім строків початку, не відрізнялась від класичної, рекомендованої провідними алергологами України [12].

Оцінку ефективності лікування проводили через рік на основі комплексного клініко-імунологічного обстеження. У зв'язку з цим, відповідно до отриманого лікування, дітей розподілено на групи: в І групу увійшли 44 дитини, в схему терапії яких включено АСІТ; ІІ склали 60 дітей, які отримували винятково медикаментозне лікування. Контрольну групу склали 18 дітей І та ІІ груп здоров'я. Групи однорідні за статтю, віком хворих, тривалістю їх захворювання та нозологічною структурою. Визначення sFas і sFasL проведено на аналізаторі для ІФА «SIRIO S» в Центральній науково-дослідній лабораторії ЗДМУ з використанням відповідних наборів виробництва компанії Diaclone (Франція). Статистичну обробку проводили на ПЕВМ з використанням ліцензійного програмного забезпечення Statistica for Windows 6.1.RU, серійний номер AXXR712D833214SAN5. За статистично значущий прийнято рівень  $p < 0,05$ . Описову статистику подано у вигляді медіани (Me) та інтерпроцентильного розмаху ( $Q_{10-90}$ ).

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті проведеного дослідження вмісту розчинної форми Fas-рецептору (табл. 1) встановлено, що у дітей з полінозами його вміст в 5 разів нижчий, ніж у здорових дітей, і складає 217,6 пг/мл проти 1149,9 пг/мл ( $p < 0,05$ ) відповідно.

На відміну від кількості розчинної форми рецептору, вміст ліганду в 1,5 рази перевищує рівень, який визначено у дітей контрольної групи, і складає 230,8 пг/мл проти 178,3 пг/мл ( $p < 0,05$ ). Між нозологічними формами (БА або АСРК/АСР) не виявлено достовірних відмінностей у вмісті sFas та sFasL, що свідчить про односпрямовані зміни при пилковій алергії, незалежно від рівня ураження респіраторної системи.

Таблиця 1

### Концентрація sFas і sFasL у сироватці крові дітей з полінозами

| група/показник   | концентрація sFas, пг/мл Me ( $Q_{10-90}$ ) | концентрація sFasL, пг/мл Me ( $Q_{10-90}$ ) |
|------------------|---|--|
| діти з полінозом | 217,6 [25; 417]*                            | 230,8 [133,7; 370,6]*                        |
| здорові діти     | 1149,9 [833,8; 1543]                        | 178,3 [39,8; 261,4]                          |

Примітка: \* – статистична достовірність різниці на рівні  $p < 0,05$  у порівнянні зі здоровими.

Отримані дані дозволили оцінити ефективність різних терапевтичних підходів. Динаміку маркерів апоптозу під впливом лікування представлено в табл. 2.

Уже після першого курсу АСІТ реєструється статистично вірогідне підвищення рівня sFas і sFasL, що підтверджується сильним прямим кореляційним зв'язком цього показника до та після лікування ( $r = +0,91$ ,  $p < 0,05$  і  $r = +0,4$ ;  $p < 0,05$  відповідно). У дітей, які відмовились від цього методу терапії, показники апоптозу не підвищувались, а навпаки, спостережено тенденцію до зниження.

Отримані результати збігаються з даними Є.С. Орлової та співавт. (2002) [7], але відрізняються від даних закордонних дослідників, які зазначають, що при БА (де не уточнюється етіологічний чинник), навпаки, реєструється збільшення sFas у періоді загострення тим вище, чим важчий перебіг астми [8,11].

Виявлені особливості свідчать, що інгібіція апоптотичної загибелі клітин алергічного запалення у дітей з полінозом виникає внаслідок недостатньої експресії Fas-рецептору. Відомо, що рецептори можуть існувати у зв'язаній з мембраною (m-) і вільній, розчинній (s-) формах. Функціональна активність обох ізоформ вважається однаковою. Мембранна форма постійно вивільнюється у позаклітинний простір і формує пул розчинної фракції [13]. Тобто концентрація розчинної форми може відображати зміни кількості мембранної ізоформи Fas-рецептору. Крім того, секреція про- і протизапальних медіаторів залежить від цитокінового оточення клітин, що синтезують ці медіатори [14]. У здорових рівновага про- та протизапальних сигналів зміщена у бік паттерну протизапальних стимулів. Тому, за результатами нашого дослідження, у здорових дітей концентрація sFas (як медіатора, що сприяє зменшенню алергічного запалення) в 5 разів вища, ніж у хворих. У дітей з полінозом, імовірно, за рахунок пригнічуючого впливу прозапальних цитокінів, експресія (а, відповідно, і секреція) Fas-рецептора знижується, а проведення апоптотичного сигналу в клітину й активація домену смерті уповільнюються.

Таблиця 2

### Концентрація sFas і sFasL, залежно від отриманого лікування

| період/показник        | концентрація sFas, пг/мл Me ( $Q_{10-90}$ ) |                      | концентрація sFasL, пг/мл Me ( $Q_{10-90}$ ) |                      |
|------------------------|---|----------------------|--|----------------------|
|                        | група 1                                     | група 2              | група 1                                      | група 2              |
| до лікування           | 275,9 [160,9; 2036,9]                       | 274,2 [109,4; 630,4] | 232,5 [133,7; 453,1]                         | 230,3 [137,2; 294,5] |
| після лікування        | 355,5 [107,8; 2174,2]*                      | 245,8 [229,9; 496,3] | 310,9 [201,9; 530,2]*                        | 186,2 [100,3; 294,4] |
| кореляція Спірмена (r) | +0,91; $p < 0,05$                           | -0,8; $p > 0,05$     | +0,4; $p < 0,05$                             | -0,5; $p > 0,05$     |

Примітка: \* – статистичної достовірності різниці значень ( $p < 0,05$ ) до та після лікування.



Це зумовлює персистенція алергічного запалення.

Підвищення концентрації sFasL (ліганду) є механізмом компенсації, спрямованого на прискорення програмованої смерті активованих Т-лімфоцитів та еозинофілів.

Під впливом АСІТ зростає секреція sFas і sFasL, що ініціює прискорення елімінації клітин хронічного алергічного запалення, що і є метою лікування пацієнтів з пилковою алергією. У дітей, які отримували лише фармакотерапію, відбуваються протилежні зміни у системі Fas/FasL, а перебіг полінозу погіршується.

#### ВИСНОВКИ

Отже, при полінозі, незалежно від його клінічного варіанту, відбувається уповільнення Fas-опосередкованого апоптозу за рахунок зниження кількості Fas-рецептору, що призводить до персистенції алергічного запалення. Під впливом АСІТ відбувається підвищення концентрацій sFas і sFasL, що свідчить про протективну роль цього методу лікування. Виявлені залежності можуть бути джерелом подальших наукових розробок, у тому числі, для обґрунтування тривалості АСІТ при полінозах у дітей.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. GA<sup>2</sup>LEN Activity Report Period 5 (Global Allergy and Asthma European Network) 2009. – Режим доступу: <http://www.ga2len.net> 1.
2. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 Update (in collaboration with the World Health Organization, GA<sup>2</sup>LEN and AllerGen) // *Allergy*. – 2008. – Vol. 63. – Suppl. 86. – P. 8–160.
3. Burbach G.J. Ragweed sensitisation in Europe – GA<sup>2</sup>LEN study suggests increasing prevalence / Burbach G.J., Heinzerling L.M., Rühnelt C. et al. // *Allergy*. – 2009. – №64 (4). – P. 664–665.
4. Балаболкин И.И. Аллергенспецифическая иммунотерапия детей и подростков, страдающих бронхиальной астмой / Балаболкин И.И., Рылеева И.В., Юхтина Н.В., Ксензова Л.Д. // *Аллергология и иммунология*. – 2005. – Т. 6, №2. – P. 129–130.
5. Хаитов Р.М. Аллергология и иммунология / Хаитов Р.М., Ильина Н.И. – М.: «Гэотар-медиа», 2009. – С. 193–196.
6. Spinuzzi F. Apoptosis, airway inflammation and anti-asthma therapy: from immunobiology to clinical application / Spinuzzi F., de Benedictis D., de Benedictis F.M. // *Pediatr Allergy Immunol*. – 2008. – Vol. 19, Issue 4. – P. 287–295.
7. Орлова Е.Е. О патогенетической роли растворимой формы Fas-рецептора при аллергических заболеваниях органов дыхания у детей / Орлова Е.Е., Пивень Н.В., Беляева Л.М. // *Иммунопатология, иммунология, аллергология*. – 2002. – №3. – С. 46–51.
8. Мамонтова Т.В. Новые аспекты апоптоза мононуклеарных клеток в патогенезе атопической бронхиальной астмы / Мамонтова Т.В., Кайдашев И.П. // *Аллергология*. – 2005. – №4. – С. 15–23.
9. Uller L. Anti-Fas mAb-induced apoptosis and cytolysis of airway tissue eosinophils aggravates rather than resolves established inflammation / Uller L., Rydell-Törmänen K., Persson C., Erjefält J. // *Respiratory research*. – 2005. – Vol. 6. – P. 90.
10. Matsuno H. Biopathways representation and simulation on hybrid functional petri net / Matsuno H., Tanaka Y., Aoshima H. et al. // *In Silico Biology*. – 2003. – Vol. 3. – P. 389–404.
11. Mezei G. Seasonal changes of proapoptotic soluble Fas Ligand level in allergic rhinitis combined with asthma / Mezei Gyorgyi, Levay Magdolna, Sepler Zsuzsanna et al. // *Pediatric Allergy and Immunology*. – 2006. – Vol. 17, Issue 6. – P. 444–449.
12. Пухлік Б.М. Специфічна імунотерапія алергічних захворювань: Метод. реком. / Пухлік Б.М., Дитятковська С.М., Пухлік С.М., Романюк Л.І., Недельська С.М., Альошина Р.М., Корицька І.В. – К., 2007. – Режим доступу: <http://www.aalu.org.ua/chiefallergist/84-chiefallergist> 23
13. Level of expression of IL-13R alpha 2 impacts receptor distribution and IL-13 signaling / Daines M.O., Tabata Y., Walker B.A. et al. // *J Immunol*. – 2006. – Vol. 176 (12). – P. 7495–7501.
14. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции / Симбирцев А.С. // *Цитокины и воспаление*. – 2004. – Т. 3, №2. – С. 16–23.

#### Відомості про авторів:

Ярцева Д.О., магістр медицини, ст. лаборант каф. факультетської педіатрії ЗДМУ.

Недельська С.М., д. мед. н., професор, зав. каф. факультетської педіатрії ЗДМУ.

Мазур В.І., к. мед. н., доцент каф. факультетської педіатрії ЗДМУ.

Солодова І.В., к. мед. н., доцент кафедри факультетської педіатрії ЗДМУ.

Жиленко І.О., к. мед. н., асистент каф. факультетської педіатрії ЗДМУ.

Тарасевич Т.В., асистент каф. факультетської педіатрії ЗДМУ.

#### Адреса для листування:

Ярцева Дар'я Олександрівна. 69076, м. Запоріжжя, вул. Новгородська, 28 а, КУ «ЗМБДКЛ №5», каф. факультетської педіатрії.

Тел.: (061) 224 94 07.

E-mail: [dr.yartseva@mail.ru](mailto:dr.yartseva@mail.ru)