

ВНУТРІШНІ ХВОРОБИ

УДК 616.002.36.

©С. В. Зайков, Б. А. Гунько

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

ГІПЕРЧУТЛИВІСТЬ ДО АЛЕРГЕНІВ УМОВНО-ПАТОГЕННИХ ГРИБІВ ЯК КРИТЕРІЙ СТАНУ КЛІТИННО ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ НА ВІЛ-ІНФЕКЦІЮ

ГІПЕРЧУТЛИВІСТЬ ДО АЛЕРГЕНІВ УМОВНО-ПАТОГЕННИХ ГРИБІВ ЯК КРИТЕРІЙ СТАНУ КЛІТИННО ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ НА ВІЛ-ІНФЕКЦІЮ – Досліджено результати внутрішньошкірного введення алергенів умовно-патогенних грибів *Alternaria*, *Aspergillus* мікст, *Cladosporium*, *Chrysonilla*, *Monilia*, *Penicillium*, *Botrytis cinerea* у 68 хворих на ВІЛ-інфекцію з різними типами імуносупресії та 74 здорових волонтерів. Виявлено, що за результатами відмінності між здоровими особами та хворими на ВІЛ-інфекцію мітогени можуть служити маркерами стану клітинно ланки імунітету. Крім того, за даними аналізу показано, що найбільш інформативними виявилися алергени грибів *Chrysonilla sitophila*, *Monilia sitophila*, *Cladosporium* sp. Доведено, що метод визначення гіперчутливості до умовно-патогенних грибів може застосовуватись у медичних закладах для визначення стану клітинно ланки імунітету як маловартісний та простий у виконанні.

ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АЛЛЕРГЕНАМ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ КАК ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ КРИТЕРИЙ КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ – Исследовано результаты внутрикожного введения аллергенов условно-патогенных грибов *Alternaria*, *Aspergillus* мікст, *Cladosporium*, *Chrysonilla*, *Monilia*, *Penicillium*, *Botrytis cinerea* у 68 ВИЧ-инфицированных больных и 74 здоровых волонтеров. Установлено, что по результатам исследования отличия между здоровыми волонтерами и ВИЧ-инфицированными аллергены могут выступать в качестве диагностических маркеров клеточного звена иммунитета. Кроме того, по данным анализа установлено, что наиболее информативными оказались аллергены грибов *Chrysonilla sitophila*, *Monilia sitophila*, *Cladosporium* sp. Доказано, что метод определения гиперчувствительности к условно-патогенным грибам может использоваться в медицинских учреждениях для определения состояния клеточного звена иммунитета как недорогостоящий и простой в выполнении.

HYPERSENSITIVITY TO MITOGENS AS A CRITERION OF THE STATE OF IMMUNITY CELLULAR LINK IN PATIENTS WITH HIV – There were studied the results of intraskin tests with allergens of facultative pathogenic fungi *Alternaria*, *Aspergillus* mixt, *Cladosporium*, *Chrysonilla*, *Monilia*, *Penicillium*, *Botrytis cinerea* in 68 patients with HIV and in 74 healthy volunteers. It was established, that based on the difference between healthy persons and the patients with HIV, the mitogens can serve as the makers of the cellular immunity. Besides, it was proved, that more reliable were the results when the allergens of *Chrysonilla sitophila*, *Monilia sitophila*, *Cladosporium* sp., were utilized. It was demonstrated that the method of determination of hyper responsiveness to facultative pathogenic fungi can be used in medical establishments for determination of the state of cellular immunity due to low cost and simplicity in implementation.

Ключові слова: ВІЛ-інфекція, імунітет, антиретровірусна терапія, діагностика.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, иммунитет, антиретровирусная терапия, диагностика.

Key words: HIV infection, antiretroviral therapy, immune phenomenon, diagnostics.

ВСТУП У наш час досить відомим є значення клітинно ланки імунітету у хворих на ВІЛ-інфекцію. Основну роль при цьому відводять Т-лімфоцитам, так як вони в першу чергу стають мішенню для вірусу [3, 4, 8]. Порушення імунного статусу у ВІЛ-інфікованих пацієнтів зумовлено не лише прямою пошкоджувальною дією вірусу на лімфоцити та макрофаги, а й змінами цитокиново регуляції імунних реакцій [8, 12, 14]. Зникають відповіді на мітогени, проліферативна відповідь на розчинні антигени та алогенні лімфоцити, знижується продукція інтерлейкіну-2 та натуральних кілерів, також знижується продукція ризотоксичних лімфоцитів, порушується здатність розпізнавати розчинні антигени та відповідати на них. Пригнічення синтезу інтерлейкіну-2 веде до зниження кількісних та якісних показників клітинно імунно відповіді, що призводить до повільного прогресування імуносупресії, враженість яко певною мірою корелює зі ступенем тяжкості перебігу ВІЛ-інфекції [8, 10, 13].

На тлі поглиблення даних про стан імунно системи організму людини при ВІЛ-інфекції постає необхідність винайдення методів визначення ступеня імуносупресії у таких пацієнтів. Це є вельми важливим для прогнозування перебігу захворювання та призначення адекватно патогенетично терапію хворим. У принципі, сьогодні не існує проблем з визначенням кількісних і якісних параметрів клітинно ланки імунно системи [6, 7]. Проблема для нас існує у реальній можливості впроваджувати в лікувальні установи ці високовартісні та потребуючі великих витрат праці імунологічні методи. У зв'язку з цим нашу увагу привернули методи оцінки стану клітинно ланки імунно системи за допомогою шкірного тестування із різними мітогенами [5], що позбавлені вищеведених недоліків.

У якості мітогенів, зважаючи на особливості імунно відповіді, х поширеність, нами були застосовані алергени умовно-патогенних грибів.

Гриби займають на земній кулі одне з найважливіших місць. Вони фактично освоили різноманітні середовища в біосфері, складовою частиною яко є і людина, а в деяких випадках міксоміцети вступили (або вступають) з нею у взаємодію. Деякі види стали нормальними мешканцями тіла людини, інші (при певних умовах) викликають відповідні захворювання – мікози, певні гриби здатні сенсibiliзувати макроорганізм та індукувати алергічні стани мікоалергози [5, 6, 9].

Важливо знати видовий склад та вміст спор грибів всередині житлових приміщень та в атмосфері. Так, в огляді 1985 року у 6 кра нах Європи виявлення спор грибів було наступним: *Cladosporium*, *Ascomycetes*,

Sporobolomyces, Basidiomycetes, Aspergillus и Penicillium, дріжджоподібні гриби, Ustilago (паразитарні гриби на рослинах), Alternaria [4, 6]. У компіляції досліджень, що були виконані переважно у Сполучених Штатах, а також у Таланді, Індії та Австралії розповсюдження було наступним: Cladosporium, Penicillium, дріжджоподібні гриби, Alternaria, Aspergillus, Aureobasidium, Helminthosporium, Fusarium, Epicoccum.

Таким чином, з урахуванням вищенаведених та інших літературних джерел [1, 4, 6, 9], можна вважати, що в Україні найрозповсюдженішими в якості сенсибілізуючих агентів можуть виявитись наступні роди грибів: Cladosporium, Penicillium, Alternaria, Aspergillus, Fusarium, Botrytis, Candida, Cryptococcus, Rhizopus.

Зважаючи на значну поширеність спор грибів у довкіллі, особливо в повітрі, зрозуміло, що імунна система практично будь-якої людини повинна була виробити захисні механізми проти цих агентів. Введення алергенів грибів (АГГ) внутрішньошкірно має викликати відповідні імунні реакції (гіперчутливість уповільненого типу – ГЧУТ), що зокрема свідчить про стан імунної системи. Відсутність реагування на АГГ можна розглядати як зниження можливості клітинної ланки імунітету до нормальної відповіді. Враховуючи патогенез ВІЛ-інфекції, а саме – те, що при даній хворобі вражається саме клітинна ланка імунітету, нам видалося вельми цікавим вивчити, як будуть реагувати на алергени грибів хворі з ВІЛ-інфекцією [11]. Шкірний тест з мітогенами, як показник стану клітинного імунітету, досить давно відомий науці. Раніше навіть певні фірми випускали набори мітогенів (сюди входили бактеріальні алергени, кандиди) [1, 7]. Однак сьогодні, коли в Україні Вінницьким підприємством “Імунолог” вперше було випущено і офіційно зареєстровано 7 алергенів грибів, є вельми цікавим, чи спроможні вони, окрім реєстрації алергії до мікрогрибів, бути використаними ще й у якості маркерів клітинного імунітету.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ У дослідженні взяли участь 68 ВІЛ-інфікованих хворих (клінічна категорія В-симптоматична ВІЛ-інфекція, що відповідає критеріям класифікації CDC, США) з різними стадіями імуносупресії та 17 дорослих здорових добровольців. Серед обстежених було 5,88 % жінок (4), та 94,12 % чоловіків (64). Середній вік обстежених ВІЛ-інфікованих становив (27±5) років, контрольну групу склали 74 практично здорових осіб, які були зіставні за статтю та віком з групою обстежуваних.

Розподіл ВІЛ-інфікованих за ступенями імуносупресії наведено в таблиці 1.

Таблиця 2. Позитивні результати шкірно реакції гіперчутливості уповільненого типу з грибовими алергенами

Мітогени	Обстежені ВІЛ-інфіковані			Контрольна група (n = 74)
	обстежені з рівнем CD4+ >500 (n = 16)	обстежені з рівнем CD4+ 200–499 (n = 33)	обстежені з рівнем CD4+ < 200 (n = 19)	
Aspergillus sp.	11	26	12	71
Alternaria sp.	15	28	13	73
Botrytis cinerea	14	27	11	72
Cladosporium sp.	9	24	6	73
Chrysonilia sitophila	13	29	17	68
Penicillium sp.	9	21	10	67
Monilia sitophila	5	19	7	69
Всього	76	174	76	493

Таблиця 1. Розподіл ВІЛ-інфікованих за ступенями імуносупресії

Група В, клінічна категорія симптоматична ВІЛ-інф.	Лабораторні категорії за кількістю CD4+			
	>500	200–499	<200	всього
Абс.	16	33	19	68
%	10,13	20,89	12,03	43,04

На першому етапі обстеження було детально зібрано анамнез хвороби і анамнез життя з метою виключення обтяження алергологічного анамнезу в пацієнтів, проведено аналіз лікування хворих та детальне опитування з метою виключення прийому гормональних препаратів, аналіз історії хвороби та амбулаторних карток з метою вивчення супутньої патології, що могла повпливати на результат досліджень.

На другому етапі досліджень здійснювали внутрішньошкірне введення алергенів умовно-патогенних грибів Alternaria alternata, Cladosporium, Monilia sitophyla, Chrysonilia sitophyla, Botrytis cinerea, Aspergillus mxt (A.fumigatus, A.niger), Penicillium sp.div. Всі ін'єкції алергенів було виконано з дотриманням існуючих правил постановки внутрішньошкірних алергічних проб. Всі пацієнти дали згоду на обстеження.

З метою оцінки реакції гіперчутливості негайного типу місця ін'єкцій оглядали через 20 хв після введення алергенів. Для вивчення реакції гіперчутливості уповільненого типу проводили оцінку місцевих реакцій на шкірі в місцях введення алергенів через 24, 48, 72 год після ін'єкцій.

Згідно з існуючими нормами, реакцію оцінювали в міліметрах. Реакцію на введення алергенів класифікували як негативна, слабкопозитивна, позитивна та різко позитивна, а також сумнівна згідно з стандартами оцінки реакцій внутрішньошкірних тестів.

Отримані дані оброблено статистично стандартними методами.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Результати тестування з огляду на алергічні реакції негайного типу у всіх обстежених груп випадали рідко, лише 9 випадків у групі обстежених та 4 випадки в контрольній групі, тому порівнювати їх недоцільно. Що стосується реакцій гіперчутливості сповільненого типу, в яких алергени умовно-патогенних грибів виступали у якості мітогенів, то ці дані наведено в таблиці 2.

Як видно з таблиці 2, найчастіше позитивні результати випадали при тестуванні мітогенами Botrytis cinerea, Alternaria sp., Chrysonilia sitophila як у досліджуваних, так і в контрольній групі.

Статистичний аналіз кореляції показників алергічної реакції та рівня CD4+ наведено в таблиці 3.

Таблиця 3. Коефіцієнт кореляції у загальній вибірці обстежених ВІЛ-інфікованих

Мітогени умовно-патогенних грибів	Первинне тестування		Повторне тестування	
	діаметр папули в мм	коефіцієнт Спірмена	діаметр папули в мм	коефіцієнт Спірмена
<i>Aspergillus</i> sp.	7,32	0,96	7,44	0,93
<i>Alternaria</i> sp.	5,12	0,98	7,03	0,89
<i>Botrytis cinerea</i>	4,43	0,96	6,12	0,94
<i>Cladosporium</i> sp.	8,14	0,96	7,12	0,81
<i>Chrysonilia sitophila</i>	9,03	0,97	9,26	0,83
<i>Penicillin</i> sp.	7,16	0,97	9,23	0,91
<i>Monillia sitophila</i>	9,15	0,97	8,01	0,96

Статистичний аналіз кореляції показників алергічної реакції та рівня CD4+ у даній групі обстежених показав, що при тестуванні алергенами *Alternaria* sp., *Botrytis cinerea* спостерігалися алергічні реакції середньої інтенсивності. При тестуванні іншими алергенами умовно-патогенних грибів *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Monillia sitophila* спостерігалися алергічні реакції високої інтенсивності.

Таким чином, як видно із вищенаведених результатів, отримано дані, що свідчать про доцільність використання підходу щодо визначення стану клітинно ланки імунітету у ВІЛ-інфікованих шляхом застосування мітогенів умовно-патогенних грибів. Результати дослідження вказують, що такий підхід можна використовувати в медичних закладах з обмеженим або відсутнім доступом до проточно цитофлуориметрії. Також даний діагностичний метод міг би використовуватися при первинному обстеженні ВІЛ-інфікованих та хворих на СНІД з метою оцінки стану клітинно ланки імунітету та визначення імунно опірності організму. Шкірні тести з алергенами умовно-патогенних грибів можуть застосовуватись як один із методів контролю ефективності антиретровірусної терапії, так як дозволяють наочно переконаватися у відновленні імунної системи шляхом відновлення алергічних реакцій залежно від зростання рівня CD4+. Дану діагностичну методику можна використовувати у медичних закладах всіх рівнів.

ВИСНОВКИ Отримані дані щодо реагування на мітогени Т-ланки імунітету в переважно більшості здорових осіб відповідають літературним даним щодо здатності алергенів умовно-патогенних грибів бути використаними у якості маркерів клітинно ланки імунітету.

Найбільш інформативними, як маркери Т-ланки імунітету, виявилися алергени грибів *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Monillia sitophila*. Комплексна оцінка при застосуванні всіх алергенів умовно-патогенних грибів є найбільш інформативною.

У хворих на ВІЛ-інфекцію з різними ступенями імуносупресії, зважаючи на отримані дані, відповідь на мітогени Т-ланки імунітету, порівняно зі здоровими особами, є помірно зниженою. Більшою мірою це стосується ВІЛ-інфікованих з рівнем CD4+<200, найбільш інтенсивну відповідь на алергени грибів спостерігали в обстежених з рівнем CD4+ >500, у обстежених з рівнем CD4+200-499 інтенсивність відповіді Т-ланки імунітету була помірною.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Богомолов А. Є. Гіперчутливість до умовно-патогенних грибів як критерій діагностики клітинно ланки імунітету у хворих на туберкульоз / А. Є. Богомолов, Б. М. Пухлик // Український пульмонологічний журнал. – 2007р. – № 4. – С. 33–36.
2. Всесвітня організація охорони здоров'я // Імунізація людей, що живуть з ВІЛ/СНІДом, та людей з високим ризиком ВІЛ-інфекції. WHO Regional Office for, Copenhagen. – 2006. – С. 4–6.
3. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология. – Одесса : Астро Принт. – 1999. – С. 604.
4. Елинов Н. П. Микромицеты – аллергены. “Булатовские чтения”: научно-практическая конференция Актуальные вопросы пульмонологии и клинической аллергологии / Н. П. Елинов, Н. В. Васильева. – СПб., 1999. – С. 34.
5. Елинов Н.П. Микоаллергены / Н. П. Елинов // Микология. – 2002. – № 6. – С. 17–19.
6. Б. Е. Кноринг, И. С. Фрейдлин, А. С. Симбирцев [и др.] Иммунитет больных с ВИЧ-инфекцией // Мед. иммунология. – 2001. – Т. 3, № 1. – С. 61–68.
7. Пухлик Б. М. Руководство по практической иммунодиагностике и иммунотерапии. – Винница, 1992. – С. 29–35.
8. Покровский В. В. // ВИЧ – инфекция клиника, диагностика, и лечение / В. В. Покровский, Т. Н. Ермак В. В. Беляева, О. Г. Юрин. – Москва, 2003.
9. Соболев А. В. Микогенная аллергия (этиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение и профилактика) / А. В. Соболев, Н. В. Васильева // Аллергология. Частная аллергология, под ред. Г. Б. Федосеева. – СПб. : Нордмедиздат, 2001. – Т. 2. – С. 200–211.
10. Гудима Г.О. Клинические испытания первой отечественной анти-ВИЧ/СПИД-вакцины. – Р. М. Хаитов, А. В. Решетников, И. Г. Сидорович [и др.]. – Москва, 2009. – С. 573–576.
11. Vegemann M. Pneumococcal vaccine failure in an HIV-infected patient with fatal pneumococcal sepsis and HCV-related cirrhosis / Vegemann M. Policar M. // Mt. Sinai J. Med. – 2001. – Vol. 68. – P. 396–399.
12. Vaccine effectiveness and severity of varicella among previously vaccinated children during outbreaks in day-care centers with low vaccination coverage / F. Miron, I. Lavi, R. Kitov A. Henderl // Pediatr. Infect. Dis. J. – 2005. 24. – P. 233–236.
13. Persistent humoral immune defect in highly active antiretroviral therapy-treated children with HIV-1 infection: loss of specific antibodies against attenuated vaccine strains and natural viral infection / V. Bekker, H. Scherpbier, D. Pajkrt [et al.] // Pediatrics. – 2006. – Vol. 11. – P. 15–322.
14. Varicella vaccination in HIV-1-infected children after immune reconstitution. / V. Bekker, G. H. Westerlaken, H. Scherpbier [et al.] // AIDS. – 2006. – Vol. 20. – P. 232 1–2329.

Отримано 20.06.11