

*Д.И. ЗАБОЛОТНЫЙ, О.Ф. МЕЛЬНИКОВ, О.А. НАУМОВА*

## **ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РОТОГЛОТОЧНОГО СЕКРЕТА И СЫВОРОТКИ КРОВИ У БОЛЬНЫХ АЛЛЕРГИЧЕСКИМ РИНИТОМ С СЕНСИБИЛИЗАЦИЕЙ К ПЫЛЬЦЕ ДЕРЕВЬЕВ И ПЕРЕКРЕСТНО-ПИЩЕВОЙ АЛЛЕРГИЕЙ**

*ДУ «Институт отоларингологии им. проф. А.И. Колумийченко НАМН Украины»  
(дир. – акад. НАМН Украины, проф. Д.И. Заболотный)*

Сезонный аллергический ринит (САР) относится к числу самых распространенных аллергических заболеваний и вызывается пыльцой растений, характеризуется острым аллергическим воспалением, преимущественно слизистой оболочки дыхательных путей и глаз.

Сезонный аллергический ринит – это классическое атопическое заболевание, развитие которого в подавляющем большинстве обусловлено наличием повышенного содержания реактивных антител [1, 2]. Среди патогенетических механизмов аллергических заболеваний выделяют значимость дисбаланса в системе цитокинов, приводящего к преимущественной генерации в сенсibilизированном организме Т-хелперных лимфоцитов второго типа. Экспрессия Th2 цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13) определяет избирательную активацию, продление срока жизни и аккумуляцию эозинофилов, тучных клеток, базофилов в слизистой оболочке полости носа [2-5].

Цитокины представляют собой регуляторные пептиды, продуцируемые практически всеми клетками организма, и являются эндогенными медиаторами, которых к настоящему времени насчитывается около 200 [5]. Все они имеют ряд общих биохимических и функциональных характеристик, среди которых важнейшими можно считать следующие: плейотропность и взаимозаменяемость в биологическом действии, отсутствие антигенной специфичности, проведение сигнала путем взаимодействия со специфическими клеточными ре-

цепторами. Уровни цитокинов, во многом определяющие направление иммунологических реакций, уже давно и с успехом используются при выполнении диагностических «срезов» в клинической иммунологии и аллергологии [7]. Некоторые из них при изменении концентрации в крови или биологических жидкостях указывают на ту или иную степень обострения процесса (например: ИЛ-1, фактор некроза опухоли), другие свидетельствуют об изменении реактивности организма (ИЛ-6). Показана корреляция клинического состояния больных с аллергологической патологией с изменениями в содержании интерлейкинов 4, 5, 10, 13,  $\gamma$ -интерферона и др. [1, 8].

Можно полагать, что определение цитокинового статуса у больных сезонным аллергическим ринитом с перекрестной пищевой аллергией является важным иммунодиагностическим и прогностическим методом в плане эффективности проведения специфической иммунотерапии (СИТ). Исследованию этого малоизученного вопроса и посвящена настоящая работа.

**Цель исследования:** изучить динамику иммунологических и клинических изменений у пациентов с САР с сенсibilизацией к пыльце деревьев и проявлениями перекрестной пищевой аллергии.

По данным разных авторов, для 40-70% больных САР характерно наличие пищевой аллергии, наиболее часто это явление встречается при сенсibilизации к пыльце деревьев. Перекрестные реакции между

аероаллергенами и пищевыми аллергенами возникают по трём основным механизмам:

- полная идентичность между вдыхаемым и пищевым аллергеном;
- аллергенная идентичность, «виновный» протеин присутствует, но скрыт в пище;
- общие эпитопы в пище и вдыхаемых частицах разного происхождения.

В случае перекрестной реактивности между вдыхаемыми и пищевыми аллергенами первичной является сенсibilизация к вдыхаемым аллергенам, а реакция на пищевые продукты – вторична.

При САР клинические проявления перекрестной пищевой аллергии могут быть различными – от орального аллергического синдрома, крапивницы, ринита – до бронхоспазма и анафилаксии. При перекрестной пищевой аллергии аллергены фруктов и овощей, попадая в верхние отделы пищеварительного тракта, приводят к локальной IgE-опосредствованной активации тучных клеток, при которой быстро возникает оральный аллергический синдром (ОАС), один из наиболее распространенных при пищевой аллергии, который проявляется зудом, покалыванием и отеком губ, языка, неба, глотки и может сопровождаться отеком Квинке легкой или средней степени тяжести. ОАС может проявляться как отдельно, так и в комплексе с другими синдромами или симптомами [14].

#### **Материалы и методы**

За период с 2011 по 2013 гг. в Центре аллергических заболеваний верхних дыхательных путей и уха ГУ «Институт отоларингологии им. проф. А.И. Коломийченко НАМН Украины» наблюдалось 1550 пациентов с сезонным аллергическим ринитом, с различными клиническими проявлениями. Из них были отобраны 144 пациентов с сезонным аллергическим ринитом с сенсibilизацией к пыльце деревьев с перекрестной пищевой аллергией и без нее.

Иммунологические исследования проведены у 34 больных САР с сенсibilизацией к пыльце деревьев и у 10 практически здоровых пациентов аналогичного возраста. Все пациенты были подразделены на 3 группы: 1-я группа – пациенты с САР с

наличием перекрестной пищевой аллергии (ППА), 2-я группа – пациенты с САР без перекрестной пищевой аллергии, 3-я группа – контрольная.

Материалом для исследований служила сыворотка периферической крови и ротоглоточный секрет (РС), взятые натощак в одно и то же время. Получение и подготовка для исследований ротоглоточного секрета выполнены согласно методическим рекомендациям Института отоларингологии [15].

Определение параметров факторов иммунитета выполнено с использованием иммуноферментного метода (анализатор Lab-Line (Австрия)) и наборов реактивов производства фирм РФ: «Хема медика», «Протеиновый контур», «Вектор-Бест» и «Цитокин».

Результаты исследований обработаны с применением критерия «t» Стьюдента [21].

#### **Результаты**

*Определение содержания секреторного IgA и общего IgE в сыворотке крови у больных аллергическим ринитом с сенсibilизацией к пыльце деревьев с наличием перекрестной пищевой аллергии и без нее.*

Одна из основных ролей секреторного IgA заключается в его способности связывать антигены, имеющиеся в просвете кишок, и таким образом предотвращать их попадание в организм. Речь идет о пищевых антигенах или аллергенах, попадание которых в организм может приводить к его сенсibilизации и последующему развитию аллергических реакций.

Проведенные нами исследования зафиксировали референтный интервал содержания sIgA в ротоглоточном секрете, который в контрольной группе определялся в пределах 0,75 г/л. У пациентов 2-й группы с САР без ППА уровень sIgA в ротоглоточном секрете составил 35,09 г/л, в 3-й группе – 37,22 г/л.

Таким образом, проведенные исследования показали, что в группах больных с САР и САР с ППА имеет место выраженный дефицит секреторного IgA в ротоглоточном секрете, определяющий один из механизмов снижения барьерной функции

слизистой оболочки верхних дыхательных путей, и обуславливающий увеличение аллергенной нагрузки [16].

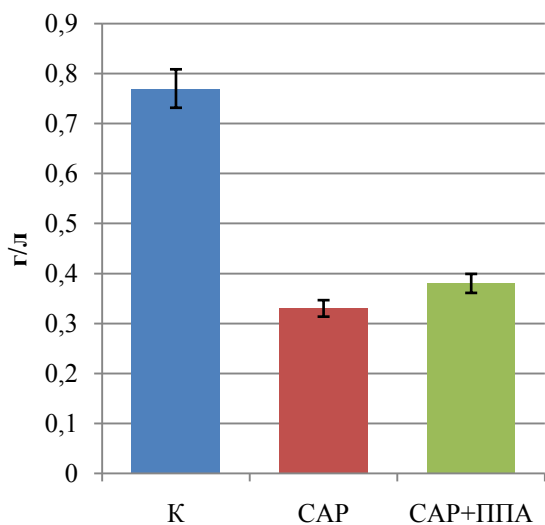


Рис. 1 Содержание секреторного иммуноглобулина класса А в ротоглоточном секрете пациентов обследованных групп.

*Определение содержания общего IgE в сыворотке крови обследованных пациентов*

При аллергических заболеваниях содержание общего IgE в биологических средах имеет диагностическое и прогностическое значение. По данным литературы, у здоровых людей уровень IgE в сыворотке крови не превышает 130 МЕ/л, а в секретах слизистых оболочек не определяется или его уровень незначителен.

В результате проведенного нами исследования выявлено, что в сыворотке крови здоровых пациентов без проявления аллергопатологии в среднем уровень общего IgE составил  $60,6 \pm 10,2$  МЕ/мл. У пациентов с CAP без ППА уровень IgE в сыворотке крови зафиксирован на уровне  $281,05 \pm 16,85$  МЕ/мл, а у пациентов с CAP и ППА – на уровне  $479,77 \pm 16,85$  МЕ/мл. Содержание сывороточного IgE зависело от степени активности аллергического процесса, тяжести клинических проявлений и наличия сопутствующей аллергологической патологии.

Содержание общего IgE в сыворотке у пациентов с CAP с и без ППА было повышенным по сравнению с контролем (рис. 2),

более высокие значения уровня IgE были зафиксированы в группе пациентов с сезонным аллергическим ринитом и наличием перекрестной пищевой аллергии ( $p < 0,02$ ).

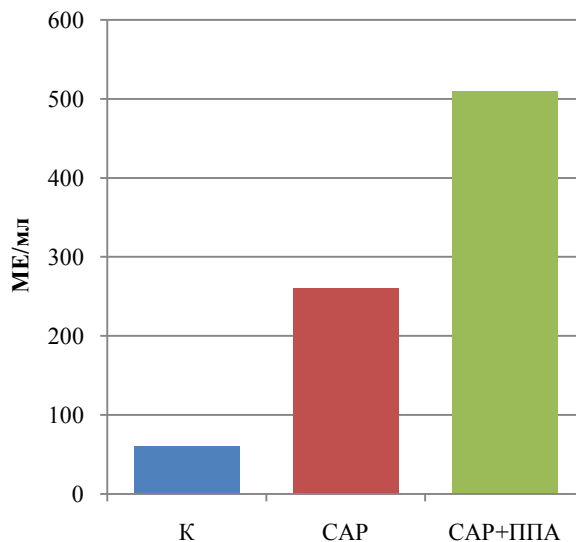


Рис. 2. Содержание реактивных иммуноглобулинов класса Е в сыворотке крови обследованных групп

*Особенности цитокинового профиля у пациентов обследованных групп*

Нормальное функционирование иммунной системы обеспечивается физиологическим балансом продукции и акцепции цитокинов различными клетками. Цитокиновая сеть регулирует интенсивность иммунных реакций, процессы пролиферации, миграции и дифференцировки клеток [6-8].

Локальный эффект цитокинов при аллергическом рините инициирует воспаление, определяет повышение проницаемости и расширение сосудов, накопление экссудата, индуцирует экспрессию на эндотелиальных клетках адгезивных молекул, способствует миграции лейкоцитов в ткани. Система цитокинов обеспечивает рекрутирование к месту аллергической реакции нейтрофилов и (или) эозинофилов, опосредуя развитие поздней воспалительной фазы [9]. Нами проведено изучение особенностей продукции ИЛ-4, ИЛ-13, ИЛ-5, ИФН- $\gamma$  в группах пациентов с сезонным аллергическим ринитом с наличием перекрестной пищевой аллергии и без нее, а также в группе практически здоровых лиц.

В контрольной группе отмечено преобладание интенсивности продукции ИЛ-13 над ИЛ-4. Оба эти цитокина являются ко-стимуляторами пролиферации преактивированных В-лимфоцитов, активаторами гуморального иммунитета и участвуют в регуляции синтеза IgE, потребность в ИЛ-13 у здорового человека без аллергических реакций минимальна.

*Определение уровня ИЛ-4 в сыворотке крови у пациентов обследованных групп*

ИЛ-4 является лимфокином, которому принадлежит ведущая роль в регуляции роста и дифференцировки В-лимфоцитов, стимуляции синтеза IgE, созревании тучных клеток. ИЛ-4 – фактор роста для Т-клеток, повышает адгезивность эндотелия для разного рода клеток, может активировать и Т- лимфоциты. Данный цитокин оказывает ингибирующее действие в отношении моноцитов / макрофагов, снижает экспрессию FcR всех трех типов,

угнетая антителозависимые цитотоксичность и фагоцитоз. ИЛ-4 блокирует спонтанную и индуцированную продукцию провоспалительных цитокинов ИЛ-8, ФНО- $\alpha$  моноцитами и макрофагами, повышая одновременно продукцию Г-КСФ и М-КСФ этими клетками. Многие иммуномодулирующие эффекты ИЛ-4 опосредованы его влиянием на продукцию других цитокинов [10, 12]. Увеличение продукции ИЛ-4 в биологических жидкостях иллюстрирует активацию Th2-лимфоцитов.

В нашем исследовании содержания ИЛ-4 в группе здоровых в сыворотке крови составило  $1,9 \pm 0,6$  пг/мл. У пациентов 2-й и 3-й группы содержание ИЛ-4 не отличалось и составляло  $19,4 \pm 5,6$  ( $p < 0,02$ ) пг/мл, во 2-й группе –  $20,0 \pm 3,8$  ( $p < 0,02$ ). Утяжеление клинического течения сопровождалось нарастанием уровня ИЛ-4 (табл.). Содержание ИЛ-4 в группе здоровых в сыворотке крови отличалось в сторону увеличения его в обеих группах больных САР.

Содержание цитокинов в сыворотке крови пациентов обследованных групп и у лиц контрольной группы

Группы	Число наблюдений	Содержание интерлейкинов, пг/мл		
		ИЛ-4	ИЛ-5	ИЛ-13
Контроль	11	$1,9 \pm 0,6$	$2,6 \pm 0,5$	$10,5 \pm 2,1$
САР	18	$19,4 \pm 5,6^*$	$2,7 \pm 0,4$	$2,7 \pm 0,8^*$
САР+ППА	16	$20,0 \pm 3,8^*$	$2,5 \pm 0,8$	$2,3 \pm 0,5$

Примечание: \* - достоверность различий по сравнению с группой контроля ( $p < 0,02$ )

*Содержание ИЛ-13 в сыворотке крови у пациентов обследованных групп*

ИЛ-13 повышает адгезию и выживаемость моноцитов, экспрессию адгезивных молекул, молекул МНС II класса и антиген-презентирующую функцию. При этом данный цитокин ингибирует экспрессию Fc $\gamma$ R I, II, III (CD64+, CD32+, CD16+), антителозависимую клеточную цитотоксичность и продукцию макрофагами ИЛ-8 и ФНО- $\alpha$ . На В-лимфоцитах ИЛ-13 повышает экспрессию МНС II класса, поверхностных иммуноглобулинов, способствует переключению синтеза иммуноглобулинов на IgG4 и IgE. ИЛ-13 способен самостоятельно индуцировать синтез ИФН- $\gamma$  естественными киллерами, но в случае стимуляции синтеза того же ИФН- $\gamma$  под влиянием ИЛ-2 оказывает ингибирующее действие [10, 13].

В проведенном нами исследовании в сыворотке крови здоровых содержание ИЛ-13 составило  $10,5 \pm 2,1$  пг/мл. У пациентов 2-й и 3-й групп, то было отмечено его снижение по сравнению с контролем более чем в 3 раза ( $p < 0,02$ ) (см. табл.).

*Содержание ИЛ-5 в сыворотке крови у пациентов обследованных групп*

ИЛ-5 (эозинофильный факто) индуцирует дифференцировку, активацию и хемотаксис эозинофилов, повышает их жизнеспособность. Усиливает пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов, индуцированную ИЛ-5. Повышает продукцию IgE и экспрессию рецепторов к нему на эозинофилах [1].

Концентрация в крови ИЛ-5 (эозинофильный фактор) в крови больных САР

обеих групп мало отличалась от пациентов контрольной группы (см. табл.).

*Содержание ИФН- $\gamma$  в сыворотке крови у пациентов обследованных групп*

ИФН- $\gamma$  участвует в клеточном иммунном ответе, является маркером Th1 лимфоцитов. Продуцируется ИФН- $\gamma$  активированными Th1 CD4<sup>+</sup> Т-клетками и CD8<sup>+</sup> Т-клетками, а также МК-клетками. ИФН- $\gamma$  стимулирует активность Т- и В-лимфоцитов, дифференцировку Th0 в Th1, моноцитов/макрофагов, нейтрофилов и НК, усиливает экспрессию молекул МНС I, МНС II. ИФН- $\gamma$  оппозиционно с ИЛ-4 поддерживают баланс Th1/Th2 и регулирует апоптоз целого ряда нормальных, некоторых инфицированных и трансформированных клеток, обеспечивает иммунорегуляторный, противовирусный и антипролиферативный эффекты [4, 10, 11].

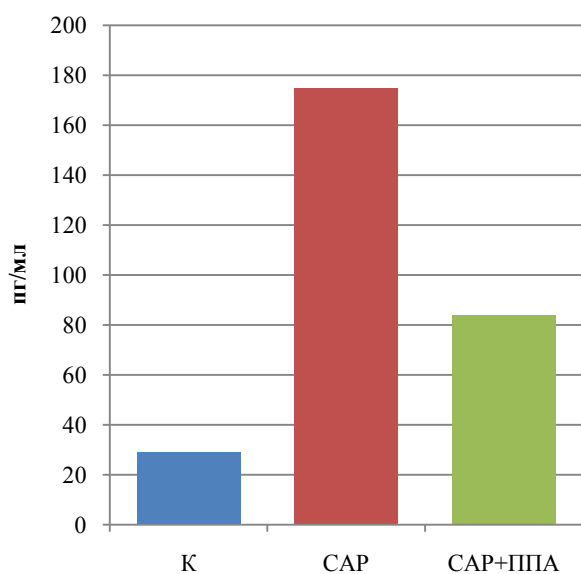


Рис. 3. Содержание гамма-интерферона в сыворотке крови пациентов обследованных групп.

Изучение содержания в крови гамма-интерферона как регуляторного цитокина, позволило установить (рис. 3) его высокую концентрацию в крови у больных САР (пределы колебаний показателя составили от 86,7 до 173,5 пг/мл) при 36,6 пг/мл – в крови обследованных контрольной группы.

Таким образом, проведенные исследования зафиксировали у части пациентов с САР наличие выраженного дефицита секре-

торного IgA в ротоглоточном секрете, определяющий один из механизмов снижения барьерной функции слизистой оболочки верхних дыхательных путей, обуславливающий увеличение аллергенной нагрузки [16].

Данные о более высоком содержании реактивных антител у больных АР подтверждают имеющиеся в научной литературе данные о повышении IgE в крови больных с аллергией [4]. Таким же подтверждением являются и данные о повышенном содержании «проаллергических» цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-5, снижении уровня секреторного IgA в секретах при аллергии немедленного типа [17]. В отличие от данных других авторов [18], в наших исследованиях не выявлено увеличения содержания ИЛ-13 у больных с САР. Известно [19], что направление дифференцировки Th0 клеток при аллергии сдвигается в сторону Th2 клеток и увеличении продукции характерных цитокинов, например, ИЛ-4, тогда как в условиях нормального иммунного ответа преобладает продукция Th1 цитокинов, например, гамма-интерферона. Хотя эти мнения разделяются не всеми [20]. Однако в наших наблюдениях уровень гамма-интерферона был значительно повышен по сравнению с контролем, что косвенно свидетельствует и об активации Th1 клеток, однако даже при этом коэффициент отношения  $\gamma$ -интерферон/ИЛ-4 в наших исследованиях составлял 22,7, а у больных САР – 6,6, что свидетельствует об увеличении продукции Th2 цитокинов и наличии выраженного аллергического процесса.

### **Выводы**

1. У больных САР имеет место повышение уровня реактивных антител, при перекрестной пищевой аллергии значительно преобладают IgG4.

2. У больных сезонным аллергическим ринитом с наличием перекрестной пищевой аллергии и без нее преобладает увеличение уровня ИЛ-4 и ИФН- $\gamma$  в крови.

3. У больных сезонным аллергическим ринитом с наличием перекрестной пищевой аллергии и без нее в ротоглоточном секрете выявлено снижение уровня секреторного иммуноглобулина А.

1. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г.Н. Дранник. – К.: ООО «Поли-графия Плюс», 2006. – 482 с.
2. Клиническая аллергология // Рук-во для практических врачей / Под ред. Р.М. Хаитова. – М.: МЕДпресс-информ, 2002. – 624 с.
3. Международный консенсус в лечении аллергического ринита / Р. Cauwen-berge, С. Bachert, G. Passalacqua et al. // Рос. ринология. – 2000. – №3. – С.5-23.
4. Хаитов Р. М., Игнатъева Г. А., Сидорович И. Г. Иммунология. – Москва: Медицина, 2000. – 423 с.
5. Чернышев В.А., Гусев Е.Ю. Иммунология воспаления: роль цитокинов // Мед. иммунология. – 2001. – Т.3, №3. – С.361
6. Демьянов А.В., Котов А.Ю., Симбирцев А.С. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике // Цитокины и воспаление. – 2003. – Т.2, №3. – С.20-35.
7. Козлов В.А. Некоторые аспекты проблемы цитокинов // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т.1, №1. – С.5-8.
8. Симбирцев А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т.1, №1. – С.9-16.
9. Гублер Е.В. Математические методы анализа и распознавания патологических процессов. – Л.: Медицина, 1978. – 294 с.
10. Медуницын Н. В. Медиаторы иммунного ответа // Rus. J. Immunol. – 1999. – Vol. 4, Suppl. I. – P.43-46.
11. Новиков Д.К. Патология системы иммунитета – М.: Национальная академия микробиологии, 2003. – 368 с.
12. Фрейдлин И.С., Тотолян А.А. Иммунологические механизмы аллергических реакций // Аллергология / под ред. Г.Б. Федосеева. – СПб.: Нордмед-Издат, 2001. – Т.1. – С.169-381.
13. Фрейдлин И.С. Иммунная система и ее дефекты. – СПб.: Полисан, 1998. – 110 с.
14. Фрейдлин И.С. Паракринные и аутокринные механизмы цитокиновой иммунорегуляции // Иммунология. – 2001. - №5. – С.4-7.
15. Романюк Л.И., Немировская Н.В. Изменения в иммунологическом статусе больных поллинозом и перекрестной пищевой аллергией с патологией гепатобилиарной системы под влиянием комплексного лечения // Иммунология та алергологія: наука і практика. – 2010. - №1. – С.37-40.
16. Дослідження ротоглоткового секрету у хворих на хронічні запальні та алергічні захворювання верхніх дихальних шляхів / Д.Д. Заболотний, О.Ф. Мельников, С.В. Тимченко, Д.Д. Заболотна / Метод. рекомендації. – Київ, 2008. – 28 с.
17. Дранник Г.Н., Курченко А.И., Дранник А.Г. Иммунная система слизистых. Физиологическая микрофлора и пробиотика. – Киев.: Полиграф-Плюс, 2009. – 140 с.
18. Cuninghame Ch- Immune deficiency. Allergy / Asthma Proc. – 2003. – V. 24, № 6. – P. 409-415.
19. Гушин И.С. Патогенез аллергического воспаления // Рос. ринология. – 1999. - №1. – С.12-13.
20. Ковальчук Л.В., Банковская Л.В., Мешкова Р.Я. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 640 с.
21. Tinon deLara J-M. Th1-Th2 la fin d'un dogme? // Rev. franz. allergol. et immunol. – 2002. - №6. – P.559-564.
22. Гублер Е.В. Математические методы анализа и распознавания патологических процессов. – Л.: Медицина, 1978. – 294 с.

#### ІМУНОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОТОГЛОТКОВОГО СЕКРЕТУ І СИРОВАТКИ КРОВІ У ХВОРИХ НА АЛЕРГІЧНИЙ РИНИТ З СЕНСИБІЛІЗАЦІЄЮ ДО ПИЛКУ ДЕРЕВ І НАЯВНІСТЮ ПЕРЕХРЕСНОЇ ХАРЧОВОЇ АЛЕРГІЇ

*Заболотний Д.І., Мельников О.Ф., Наумова О.А. (Київ)*

##### *Резюме*

Авторами досліджені деякі характеристики локального (секреторний IgA ротоглоткового секрету) і системного (реагін класів IgE і IgG4,  $\gamma$ -інтерферон, інтерлейкіни 4, 5, 6) імунітету у хворих на сезонний алергічний риніт (САР) з наявністю перекресної харчової алергії (ППА) і без неї. Встановлено, що у хворих на САР має місце підвищення рівня реагінних антитіл, при наявності перекресної харчової алергії значно переважають рівні IgG4. При САР і САР+ППА переважає збільшення рівня інтерлейкіну-4 і  $\gamma$ -інтерферону в крові. Виявлено зниження у хворих САР і САР + ППА рівня секреторного імуноглобуліну А в ротоглотковому секреті.

**Ключові слова:** сезонний алергічний риніт, перекресна харчова алергія, цитокіни.

#### IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTICS IN SALIVA AND BLOOD SERUM IN PATIENTS WITH ALLERGIC RHINITIS WITH SENSITIZATION TO TREE POLLEN AND THE PRESENCE OF CROSS FOOD ALLERGY

*Zabolotnyi D.D., Melnikov O.F., Naumova O.A. (Kiev)*

##### *Summary*

The authors have explored some characteristics of the local (secretory IgA in saliva) and systemic (reagins, that belong to IgE and IgG4 classes, gamma interferon, interleukins-4, 5, 6) immunity in patients with seasonal allergic rhinitis (SAR) that were either with, or without a cross food allergy (CFA). The authors found that levels of reagin antibodies were elevated in patients with AR. IgG4 were also significantly present in cases of the cross food allergy. Additionally, patients with SAR and SAR+CFA had increased levels of blood interleukin-4 and interferon-gamma. The level of secretory immunoglobulin A in oropharyngeal secretory fluid was significantly reduced in patients with SAR and SAR+CFA.

**Keywords:** seasonal allergic rhinitis, cross food allergy, cytokines.