

ОСОБЕННОСТИ МЕСТНЫХ И СИСТЕМНЫХ МЕХАНИЗМОВ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ СЕЗОННОМ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ РИНИТЕ

© Юдина С.М., Тарабрина О.В., Иванова И.А., Макеева И.Ю.

Кафедра клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии
Курского государственного медицинского университета, Курск
E-mail: tarabrinaksmu@ya.ru

В статье представлены результаты исследования цитокинового профиля, противомикробных пептидов (α -дефензинов), а также показателей клеточного иммунитета у пациентов с сезонным аллергическим ринитом в стадии обострения. Показано, что иммунный статус больных характеризуется увеличением относительного количества CD3-CD19⁺ лимфоцитов и снижением CD3+CD8⁺ клеток, активацией гуморального иммунитета и увеличением концентрации цитокинов-регуляторов Th2 иммунного ответа (ИЛ-4 и ИЛ-10) в назальном секрете и сыворотке крови. Это сочеталось со снижением функциональной активности Th1-лимфоцитов – регуляторов клеточного иммунного ответа, повышенной продукцией провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-8) и противомикробных пептидов – α -дефензинов (HNP1-3), способствующих дегрануляции тучных клеток и секреции медиаторов, поддерживающих аллергическое воспаление.

Ключевые слова: аллергический ринит, врожденный и адаптивный иммунитет, цитокины, противомикробные пептиды.

FEATURES OF LOCAL AND SYSTEMIC MECHANISMS OF ALLERGIC INFLAMMATION IN ALLERGIC RHINITIS

Yudina S.M., Tarabrina O.V., Ivanova I.A., Makeeva I.Yu.

Department of Clinical Immunology, Allergology and Phthiopulmonology of Kursk State Medical University, Kursk

The article presents the results the study of cytokine profile, antimicrobial peptides (α -defensins), as well as the indices of cellular immunity in patients with seasonal allergic rhinitis in the stage of exacerbation. It is shown that the immune status of patients is characterized by an increase in the relative amount of CD3-CD19⁺ lymphocytes and a decrease in CD3 + CD8 + cells, activation of humoral immunity and an increase in the concentration of Th2 cytokine regulators of the immune response (IL-4 and IL-10) in nasal secretion and serum. This was combined with a decrease in the functional activity of Th1-lymphocytes, regulators of the cellular immune response, increased production of pro-inflammatory cytokines (IL-1 β , IL-8) and antimicrobial peptides- α -defensins (HNP1-3), promoting degranulation of mast cells and secretion of mediators supporting allergic inflammation.

Keywords: allergic rhinitis, congenital and adaptive immunity, cytokines, antimicrobial peptides.

В современном обществе среди наиболее распространенных заболеваний человека, наряду с сердечно-сосудистой и онкологической патологией, лидируют аллергические болезни, распространенность которых в мире приближается к 40% [6, 15]. Одной из наиболее часто встречаемых форм аллергопатологии является аллергический ринит, заболеваемость которым в России колеблется от 13,3 до 38%, в том числе сезонным аллергическим ринитом (САР) – от 13,7 до 24% [1]. Важно отметить, что на заболеваемость САР существенное влияние оказывают экологическая среда и климато-географические особенности конкретного региона. Аллергический ринит относится к болезням, существенно снижающим качество жизни пациентов и провоцирующим развитие инфекций верхних дыхательных путей, среднего уха, евстахиита, поллипоза носа. В настоящее время показана тесная связь аллергического ринита с бронхиальной астмой, рассматриваемая как проявление одного и того же пато-

логического процесса в респираторном тракте. Как правило, при прогрессирующем течении сезонного аллергического ринита через 3-5 лет развивается пыльцевая бронхиальная астма [3, 15].

Одним из ключевых факторов развития и прогрессирования аллергического воспаления является состояние гистогематических барьеров – кожи и слизистых [4]. Основная роль в патогенезе САР принадлежит IgE-зависимой гиперчувствительности, реализуемой с участием Т-хелперных лимфоцитов 2 типа, ИЛ-4, ИЛ-13, ИЛ-5, ГМ-КСФ, формированием клона специфических В-лимфоцитов и синтезом реагинов. Фиксация IgE на комплементарных рецепторах тучных клеток приводит к секреции преформированных (гистамин, хемотаксические факторы, триптазы, гепарин и др.) и образующихся *de novo* (лейкотриенов, фактора активации тромбоцитов и др.) медиаторов. Следствием этого является развитие через 15-20 минут ранней фазы, а через 4-6 часов поздней фазы аллергической реакции, характеризую-

щейся привлечением в очаг воспаления эозинофилов, базофилов, лимфоцитов и нейтрофилов, продукцией ими широкого спектра медиаторов, поддерживающих активацию тучных клеток и прогрессирование аллергического воспаления. Наряду с этим, продукция эпителиальными клетками ИЛ-8 и нейтрофил-активирующего белка способствует дополнительному притоку нейтрофилов в очаг воспаления, их активации и синтезу различных микробицидных веществ, в том числе дефензинов. Последние индуцируют активацию CD4- лимфоцитов, секрецию ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИФН- γ , ИЛ-10 и стимуляцию синтеза ФНО α и ИЛ-1 β моноцитами [5, 7, 9]. Установлено также, что дефензины вызывают дегрануляцию тучных клеток и высвобождение гистамина, увеличение секреции простагландина D₂, играющих существенную роль в патогенезе аллергического воспаления [7, 13, 16]. Кроме этого, рядом исследователей показано, что у больных-атопиков на нейтрофилах усиливается экспрессия рецепторов к IgE, позволяющая нейтрофилам специфически взаимодействовать с аллергенами [8, 11]. Вместе с тем роль нейтрофилов и, в частности, продуцируемых ими противомикробных пептидов – дефензинов в патогенезе аллергических реакций остается малоизученной.

Цель работы состояла в исследовании особенностей системного иммунитета и иммунной защиты слизистых оболочек верхних дыхательных путей у пациентов с сезонным аллергическим ринитом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под наблюдением было 92 пациента с сезонным аллергическим ринитом в стадии обострения (средний возраст 26,1 \pm 4,25 года) и длительностью заболевания до 5 лет. Диагноз аллергического ринита, вызванного пылью растений (МКБ-10: J 30.1), ставили на основании клинических данных и результатов специфического аллергообследования – кожных скарификационных тестов.

Содержание цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-8, ИЛ-10, ИФН- γ) в сыворотке крови и назальном секрете определяли методом твердофазного ИФА с помощью наборов реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Определение уровня α -дефензинов (HNP 1-3) производилось сэндвич-методом ИФА с тест-системами Hbd (Нидерланды). Исследование фенотипа лимфоцитов периферической крови Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺), цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺ и В-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁺) осуществлялось на проточном цитофлуориметре «Cytomics FC 500» (Bekman Coulter, США) с использованием мо-

ноклональных антител к кластерам дифференцировки с двойной меткой: CD3-FITC/CD4-PE, CD3-FITC/CD8-PE, CD3-FITC/CD19-PE (Becton Dickinson, США).

Назальный секрет получали аспирационным методом с помощью портативного хирургического отсасывателя «Армед 7Е-А» (Китай).

Для определения показателей, принимаемых за физиологическую норму, обследовано 20 здоровых лиц (средний возраст 35,1 \pm 2,1 года).

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программного комплекса Statistica 6.0 на компьютере «Pentium IV», используя среднее значение показателя, среднее стандартное отклонение показателя и процент случаев в анализируемой группе пациентов. Достоверность статистических различий средних арифметических величин сравниваемых параметров оценивали по расхождению границ доверительных интервалов. Статистически значимыми считали различия при значениях $p < 0,05$. Для выявления корреляционной связи между показателями использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как известно, ключевую роль в реализации аллергического воспаления играет дисбаланс цитокинов, продуцируемых Т-хелперами 1 типа (Th₁) - и Т-хелперами 2 типа (Th₂) и, как результат, гиперактивация Th₂ иммунного ответа с продукцией иммуноглобулинов класса E и G₄. Исследование цитокинового статуса пациентов с сезонным аллергическим ринитом в стадии обострения выявило увеличение уровня цитокинов с провоспалительной активностью как в сыворотке крови, так и в назальном смыве. Содержание в обеих биологических жидкостях ИЛ-1 β превышало показатели здоровых лиц в 1,5 раза, ИЛ-8 – в 4,2 раза в сыворотке крови и в 2,1 раза в назальном смыве на фоне снижения ИФН- γ в 1,9 и в 1,5 раза соответственно ($p < 0,001$).

Известно, что одним из биологических эффектов ИЛ-1 является стимуляция пролиферации В-лимфоцитов и антителообразования, а также миграция нейтрофилов в очаг воспаления, их активация и усиление продукции ИЛ-8 [9, 16]. Другой провоспалительный медиатор ИФН- γ активирует дифференцировку наивных Т-клеток в сторону Th1 – лимфоцитов и ингибирует Th2-клетки, а негативная регуляция продукции ИФН- γ осуществляется под действием ИЛ-4 и ИЛ-10. Это согласуется с полученными нами результатами, в частности увеличением сывороточной концентрации ИЛ-10 в 16 раз и в 24,3 раза в назальном

секрете ($p < 0,001$), а также ИЛ-4 в 1,9 и в 2,1 раза ($p < 0,001$) в сыворотке крови и назальном секрете больных соответственно. Заслуживает внимания увеличение в десятки раз в обеих биологических жидкостях ИЛ-10, что логично обосновывается ролью ИЛ-10 в изменении направленности иммунного ответа в сторону активации Th2-лимфоцитов [10].

При исследовании состояния клеточного иммунитета обследуемой группы пациентов выявлены существенные отклонения от значений показателей доноров. Так, в частности, у всех больных отмечалось увеличение в 2,6 раза относи-

тельного количества лимфоцитов $CD3^+CD19^+$ ($p < 0,001$) фенотипа и снижение в 1,7 раза $CD3^+CD8^+$ ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. При этом значимых отличий в количестве $CD3^+$ и $CD3^+CD4^+$ клеток в сравнении с показателями здоровых лиц не отмечалось. Данный факт, вероятно, можно объяснить дисбалансом между субпопуляциями Т-хелперов 1 типа (Th₁) в сторону преобладания Т-хелперов 2 типа (Th₂) и, соответственно, активации $CD3^+CD19^+$ клеток на фоне супрессии Th1-клеток и активируемых ими $CD3^+CD8^+$ лимфоцитов.

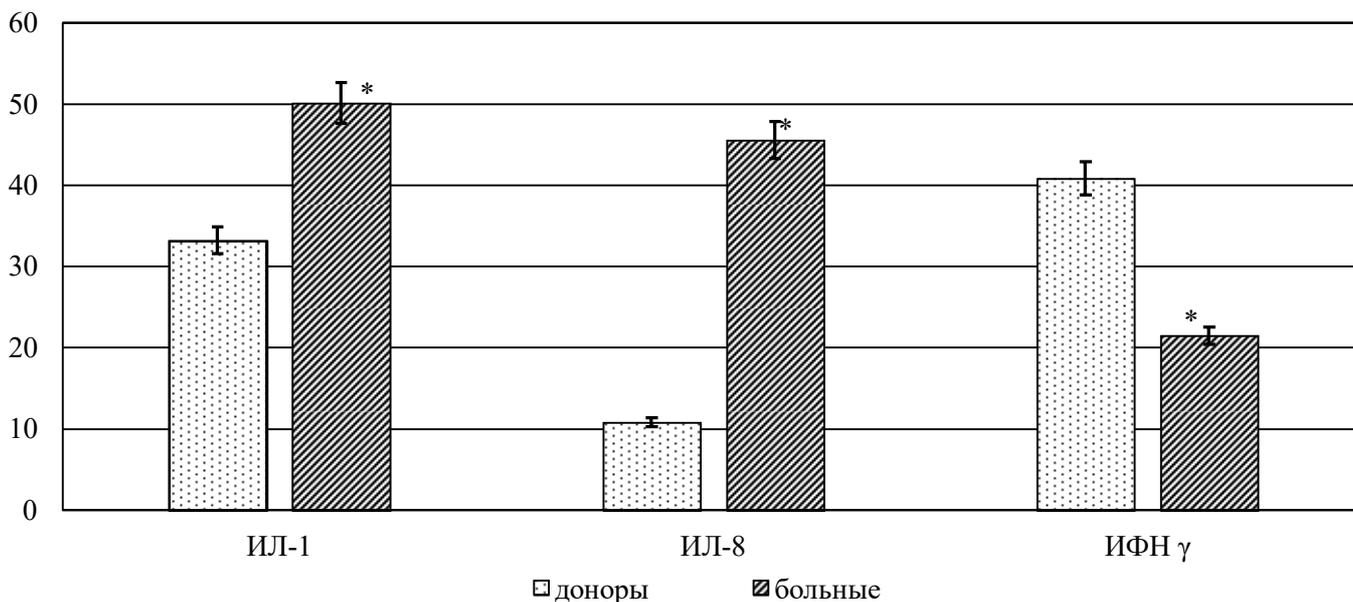


Рис. 1. Содержание провоспалительных цитокинов в сыворотке крови.

Примечание: здесь и далее: * – $p < 0,001$ по сравнению с донорами.

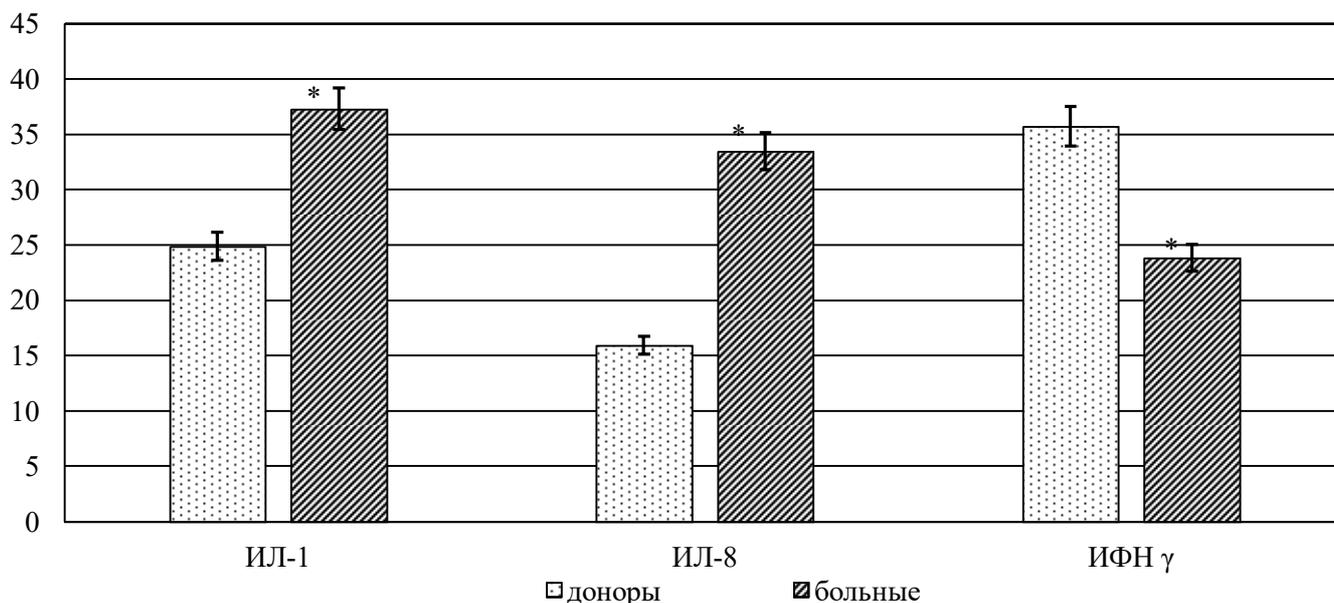


Рис. 2. Содержание провоспалительных цитокинов в назальном секрете.

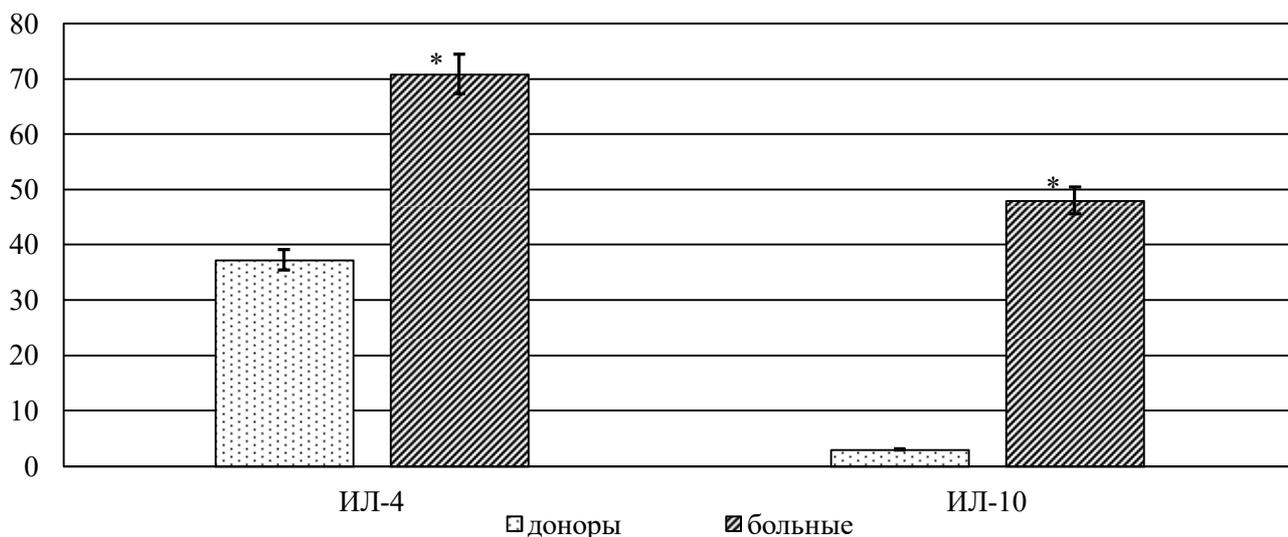


Рис. 3. Содержание противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови.

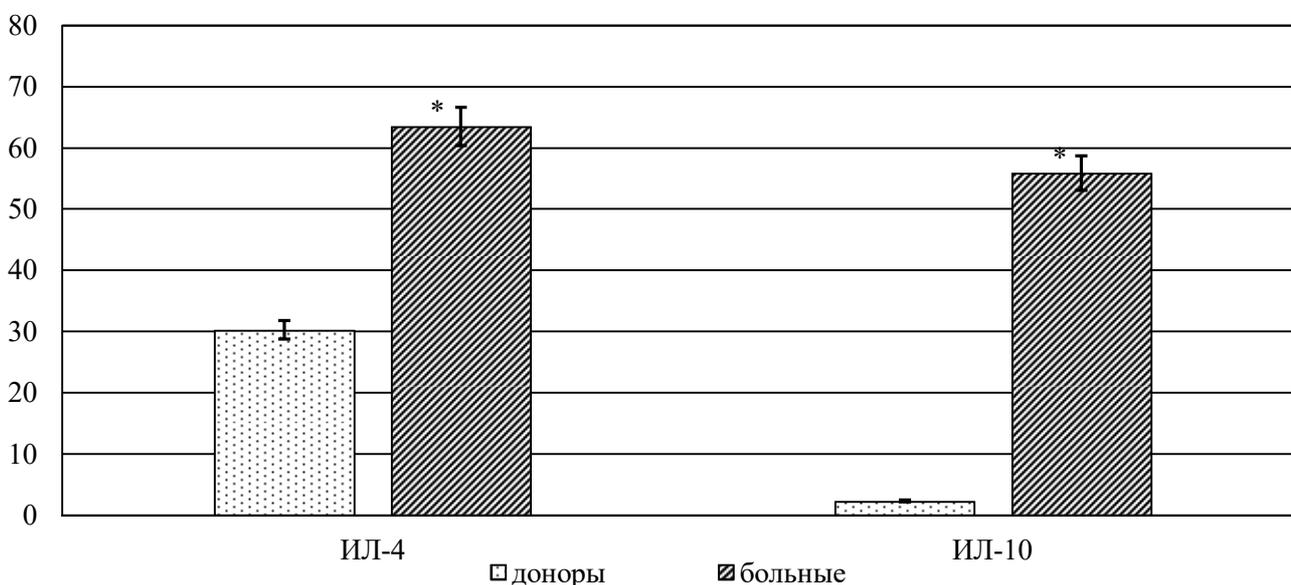


Рис. 4. Содержание противовоспалительных цитокинов в назальном секрете.

Особый интерес представляло исследование содержания в сыворотке крови и назальном смыве противомикробных пептидов (α -дефензинов), так как в литературе данные об их исследовании при аллергическом воспалении и, в частности, сезонном аллергическом рините не приводятся. Показано, что антимикробные пептиды участвуют в регуляции воспаления, индуцируя активацию $CD4^+$ лимфоцитов и усиливая продукцию ими ИФН- γ , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-1 и ИЛ-8 [2, 18]. Исследование содержания α -дефензинов в сыворотке крови наших пациентов выявило достоверное увеличение HNP $_{-1-3}$ в 2,1 раза по сравнению с донорами ($p < 0,001$). Следует отметить, что в назальном смыве не наблюдалось достоверной разницы в уровне α -дефензинов по сравнению с контрольной группой, показатели HNP $_{-1-3}$ у больных аллергическим ринитом были выше только в 1,3 раза значений доноров. Преобладание гипер-

продукции α -дефензинов в сыворотке крови по сравнению с назальным секретом связано, вероятно, с тем, что α -дефензины, являясь секреторным продуктом нейтрофилов, составляющих преобладающее количество клеток крови, в наибольшей концентрации находятся в периферической крови.

Важно отметить, что изменения исследуемых иммунологических показателей были взаимосвязаны. При проведении корреляционного анализа выявлена прямая корреляционная зависимость между содержанием в сыворотке крови и назальном смыве α -дефензинов и ИЛ-10 ($pr < 0,001$), в назальном смыве – между α -дефензинами, ИЛ-10 ($pr < 0,001$) и ИФН- γ ($pr < 0,01$), обратная корреляционная связь между HNP $_{-1-3}$ и ИЛ-4 ($pr < 0,01$).

Таким образом, иммунный статус больных сезонным аллергическим ринитом характеризуется активацией гуморального иммунного ответа с

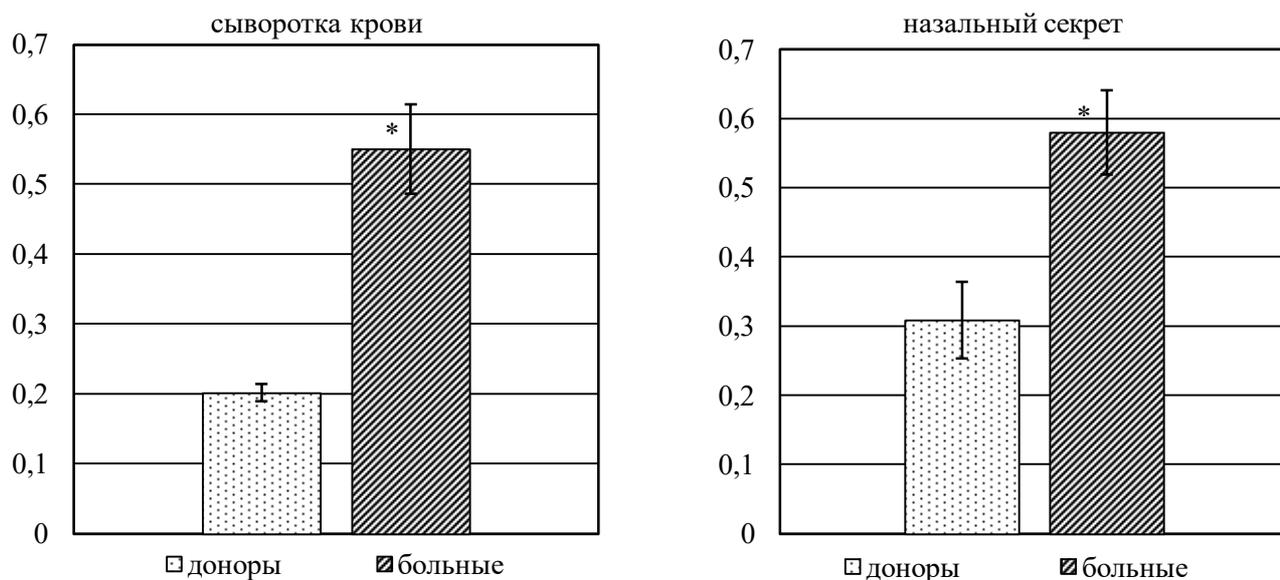


Рис. 5. Содержание ПМП – α -дефенсинов (HNP 1-3)) в сыворотке крови и назальном секрете.

увеличением количества $CD3^+CD19^+$ -клеток в периферической крови и концентрации цитокинов-регуляторов Th2-ответа (ИЛ-4 и ИЛ-10) в назальном секрете и сыворотке крови, на фоне снижения функциональной активности Th1-клеток (определяемой по снижению продукции ИФН- γ в обеих биологических жидкостях), а также активируемых ими $CD3^+CD8^+$ лимфоцитов. Это сочетается с увеличением содержания провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-8 и α -дефензинов в сыворотке крови и назальном секрете, участвующих наряду с другими факторами в процессе дегрануляции тучных клеток и секреции медиаторов, поддерживающих аллергическое воспаление.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Аллергология. Федеральные клинические рекомендации / под ред. Р.М. Хаитова, Н.И. Ильина. – М.: Фармарус Принт Медиа, 2014. – 126 с. [Allergology. Federal Clinical Recommendations. R.M. Khaitov, N. I. Il'in, editors. – M.: Farmarus Print Media; 2014: 126 (in Russ.).]
2. Будихина А.С., Пинегин Б.В. Дефензины – мультифункциональные катионные пептиды человека // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2008. – № 2. – С. 31-40. [Budikhina A.S., Pinigin B.V. Defensins – multifunctional cations peptides of human. Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya. 2008; (2): 31-40 (in Russ.).]
3. Гайдук И.М., Коростовцев Д.С., Шанорова Н.Л., Брейкин Д.В., Трусова О.В., Камаева И.А. Изменения иммунологических показателей при проведении сублингвальной аллерген-специфической иммунотерапии у детей с поллинозом // Медицинская иммунология. – 2013. – Т. 15, № 1. – С. 51-54. – DOI: 10.15789/1563-0625-2013-1-51-54. [Gaiduk I.M., Korostovtsev D.S., Shaporova N.L., Breykin D.V., Trusova O.V., Kamaeva I.A. Changes of

immune indexes during sublingual allergen-specific immunotherapy in children with hay fever. Meditsinskaya immunologiya. 2013; 15(1): 51-54 (in Russ.).]

4. Гушчин И.С., Курбачева О.М. Аллергия и аллерген-специфическая иммунотерапия. – М.: Фармарус Принт Медиа, 2010. – 228 с. [Gushchin I.S., Kurbacheva O.M. Allergy and allergen-specific immunotherapy. – M.: Farmarus Print Media; 2010: 228 (in Russ.).]
5. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. – СПб.: Издательство Фолиант, 2008. – 552 с. [Ketlinskiy S.A., Simbirtsev A.S. Cytokines. – SPb.: Izdatel'stvo Foliant; 2008: 552 (in Russ.).]
6. Клиническая аллергология: руководство для практических врачей / под ред. Р.М. Хаитова – М.: МЕДпресс-информ, 2002. – 624 с. [Clinical Allergology: A Guide for Practitioners. R.M. Khaitova, editor. – M.: MEDpress-inform; 2002: 624 (in Russ.).]
7. Кокряков В.Н., Ковальчук Л.В., Алёшина Г.М., Шамова О.В. Катионные противомикробные пептиды как молекулярные факторы иммунитета: мультифункциональность // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2006. – № 2. – С. 98-105. [Kokryakov V.N., Kovalchuk L.V., Aleshina G.M., Shamova O.V. Cationic antimicrobial peptides as molecular immunity factors: multifunctionality. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii. 2006; (2): 98-105 (in Russ.).]
8. Новиков Д.К., Новиков П.Д., Карпук И.Ю., Смирнова О.В., Выхристенко Л.Р., Величинская О.В. Новые методы диагностики и лечения аллергии // Аллергология и иммунология. – 2015. – Т. 16, № 4. – С. 335-339. [Novicov D.K., Novicov P.D., Karpuk I.U., Vykhristenko L.R., Smirnova O.V., Yanchenko U.V., Siamionava I.V. New methods of diagnosis and immunotherapy of the allergy Allergologiya i immunologiya. 2015; 16(4): 334-339 (in Russ.).]
9. Симбирцев А.С. Цитокины в иммунопатогенезе и лечении аллергии // Российский аллергологический журнал. – 2007. – № 1. – С. 5-19. [Sim-

- birtsev A.S.* Cytokines in allergy immunopathogenesis and therapy. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal*. 2007; (1): 5-19 (in Russ.).
10. *Трусова О.В., Гайдук И.М., Коростовцев Д.С.* Современные методики аллерген-специфической иммунотерапии у детей, пути совершенствования // *Российский аллергологический журнал*. – 2009. – № 4. – С. 58-66. [*Trusova O.V., Gaiduk I.M., Korostovtsev D.S.* Allergen-specific immunotherapy in children, and the perspectives of the method. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal*. 2009; (4): 58-66 (in Russ.)].
 11. *Цывкина Е.А., Феденко Е.С., Пинегин Б.В.* Антимикробные пептиды – факторы противомикробной защиты при атопическом дерматите и пиодермии // *Российский аллергологический журнал*. – 2010. – № 3. – С. 3-8. [*Tsyvkina E.A., Fedenko E.S., Pinegin B.V.* Antimicrobial peptides is antimicrobial protection factors in atopic dermatitis and pyoderma patients. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal*. 2010; (3): 3-8 (in Russ.)].
 12. *Akids M., Verhagen J., Taylor A., Karamloo F., Karagiannidis C., Cramer R., Thunberg S., Deniz G., Valenta R., Fiebig H., Kegel C., Disch R., Schmidt-Weber C.B., Blaser K., Akdis C.A.* Immune responses in healthy and allergic individuals are characterized by a fine balance between allergen-specific T regulatory 1 and T helper 2 cells // *J. Exp. Med.* – 2004. – Vol. 199, N 11. – P. 1567-1575. – DOI: 10.1084/jem.20032058.
 13. *Befus A.D., Mowat C., Gilchrist M., Hu J., Solomon S., Bateman A.* Neutrophil defensins induce histamine secretion from mast cells: mechanisms of action // *J. Immunol.* – 1999. – Vol. 163, N 2. – P. 947-953.
 14. *Jenssen H., Hamill P., Hancock R.E.* Peptide antimicrobial agents // *Clin Microbiol Rev.* – 2006. – Vol. 19, N 3. – P. 491-511. – DOI: 10.1128/CMR.00056-05.
 15. *Monteseirin J.* Neutrophils and asthma // *J. Invest. Allergol. Clin. Immunol.* – 2009. – Vol. 19, N 5. – P. 340-354.
 16. *Monteseirin J., Bonilla I., Camacho M.J., Conde J., Sobrino F.* Ig E-dependent release of myeloperoxidase by neutrophils from allergic patients // *Clin. Exp. Allergy*. – 2001. – Vol. 31, N 6. – P. 889-892.
 17. *Monteseirin J., Fernández-Pineda I., Chacón P., Vega A., Bonilla I., Camacho M.J., Fernández-Delgado L., Conde J., Sobrino F.* Myeloperoxidase release after allergen specific conjunctival challenge // *J. Asthma*. – 2004. – Vol. 41, N 6. – P. 637-641. – DOI: 10.1081/jas-200026407.
 18. *Gallo R.L., Murakami M., Ohtake T., Zaiou M.* Biology and clinical relevance of naturally occurring antimicrobial peptides // *J Allergy Clin Immunol.* – 2002. – Vol. 110, N 6. – P. 823-831.
 19. *Van Wetering S., Mannesse-Lazeroms S.P., Van Sterkenburg M.A., Daha M.R., Dijkman J.H., Hiemstra P.S.* Effect of defensins on interleukin-8 synthesis in airway epithelial cells // *Am. J. Physiol.* – 1997. – Vol. 272, N 5, Pt. 1. – P. 888-896.