

На правах рукописи

ШКАТОВА
Алина Николаевна

**КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ
ГРИБКОВЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ АЛЛЕРГОЗОВ**

14.00.43 - пульмонология
14.00.36 - аллергология и иммунология

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

ТОМСК - 2002

Работа выполнена в Сибирском
государственном медицинском университете (г. Томск)

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор Климов Владимир Васильевич
доктор медицинских наук, профессор Волкова Людмила Ивановна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор Тетенев Федор Федорович
доктор медицинских наук Иванова Светлана Александровна

Ведущая организация – Новосибирская государственная медицинская
академия (г. Новосибирск)

Защита состоится « _____ » декабря 2002 г. в _____ часов на
заседании диссертационного совета Д 208.096.02 в Сибирском
государственном медицинском университете (634050, г. Томск,
Московский тр-т, 2).

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской
библиотеке Сибирского государственного медицинского университета
(634050, г. Томск, пр. Ленина, 107)

Автореферат разослан « _____ » _____ 2002 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Тюкалова Л.И.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. По данным XVI Всемирного конгресса по аллергологии и клинической иммунологии (Канкун, 1997) уровень распространенности аллергических заболеваний не только остается достаточно высоким, но и постоянно возрастает. Это связано с глобальной экологической субцессией, в основе своей вызванной антропогенными факторами. Развитие хозяйственной деятельности приводит к деформации экосистемы обитания человека, во всем мире происходит трансформация почвенного микробиоценоза в направлении преобладания почвенных грибов над бактериями. Обязательным компонентом пыли, как уличной, так и домашней, являются грибы.

Исследования последних лет не оставляют сомнения в том, что условно-патогенные грибы достаточно часто являются этиологически значимым фактором, формирующим клиническую картину аллергического заболевания (от 6,2 до 59%) (Соболев А.В., 1997; Eriksson N. et al., 1996). Споры грибов, проникшие в организм ингаляционно, могут стать причиной сенсибилизации, не приводя к развитию микоза. Респираторные аллергозы (РА), с современных позиций, рассматриваются как частный пример аллергического воспаления.

Как известно, грибковые антигенные детерминанты могут вызывать гиперергические реакции различных типов (Доценко Э.А., 1997; Malling H., 1992). Традиционного аллергологического обследования при грибковой сенсибилизации недостаточно - для полноценной диагностики и проведения адекватного лечения необходим комплекс клинико-иммунологического обследования, который кроме оценки реактивной гиперчувствительности должен включать выявление клеточной сенсибилизации. В настоящее время не существует унифицированных методов диагностики микогенной аллергии.

Специфическая иммунотерапия (СИТ) на сегодняшний день является единственным патогенетическим методом лечения атопических заболеваний. Ее эффективность подтверждена рандомизированными двойными слепыми плацебо-контролируемыми исследованиями, а так же

мета-анализом 20 опубликованных за 30 лет исследований, отобранных по строгим методическим показателям (Abramson M. et al., 1995). Однако нет единого мнения о терапевтической тактике у больных с сочетанием различных типов гиперчувствительности на грибковые аллергены и механизмов формирования толерантности на причинно-значимый (ПЗА) аллерген.

Таким образом, изучение механизмов сенсibilизации к грибкам при РА, выяснение их диагностического и прогностического значения, оценка влияния на них СИТ и обоснование дифференциального подхода к лечению является актуальной задачей современной медицины.

Целью работы явилось изучение клинико-иммунологических проявлений грибковой сенсibilизации при респираторных аллергиях.

С учетом поставленной цели были определены следующие **задачи**:

1. Структурологический анализ грибковой сенсibilизации у больных РА и уточнение её клинических характеристик.
2. Изучение параметров иммунного статуса, функциональной активности лимфоцитов на фитогемагглютинин (ФГА) и ПЗА при различных клинико-иммунологических формах грибковой сенсibilизации.
3. Исследование роли IL-4 при микоаллергии. Изучение клинических проявлений грибковых РА в зависимости от уровня данного цитокина, его связь с другими патогенетическими признаками болезни.
4. Оценка клинико-иммунологической эффективности СИТ в динамике болезни

Научная новизна. Впервые проведено комплексное изучение иммунологических механизмов гиперчувствительности к грибкам и оценка роли в них неспецифического и специфических звеньев иммунитета, включая содержание IL-4 в различных средах, а также сопоставление их с особенностями клинического течения заболевания и индивидуальными аллергологическими характеристиками.

Доказана двойственность патогенеза формирования типа аллергического ответа при грибковой сенсibilизации, получены

дифференциально-диагностические критерии, характеризующие течение РА.

Научной новизной обладают данные об особенностях формирования толерантности на ПЗА в результате проведения СИТ у больных с различными типами аллергических реакций на грибы и связь их с эффективностью проводимого лечения.

Практическая значимость. Результаты исследования, выводы и положения настоящей работы являются основой для оптимизации подходов к диагностике и лечению грибковых респираторных аллергозов.

Изучение реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) с одновременным определением уровня IL-4 в культуральной жидкости в ответ на различные антигенные стимулы открывает новые подходы для оценки функциональной активности лимфоцитов и является достоверным диагностическим и прогностическим критерием.

Показано, что СИТ, позитивно влияя на течение грибковых респираторных аллергозов, требует дифференцированного подхода к ее назначению.

Сведения о внедрении. Полученные результаты используются в работе иммуно-аллергологического отделения г. Томска. Положения и выводы диссертации применяются в процессе преподавания клинической иммунологии и аллергологии студентам Сибирского государственного медицинского университета.

Положения, выносимые на защиту.

1. Являясь двойственной по иммунопатогенезу, грибковая сенсibilизация способна инициировать как гиперчувствительность немедленного типа, так и клеточно-опосредованную аллергию замедленного типа. Гетерогенность грибковых респираторных аллергозов находится в тесной взаимосвязи с изменениями иммунного и цитокинового статуса, исследование которых имеет диагностическое и прогностическое значение.

2. Различия патогенеза в развитии грибковых респираторных аллергозов предполагают дифференцированный подход в определении показаний для проведения СИТ.

Апробация. Основные материалы работы доложены и обсуждены на Юбилейной конференции, посвященной 35-летию ЦНИЛа. Томск, (1997 г.), на конференции молодых ученых СГМУ по проблемам пульмонологии, Томск (1998 г.), на конгрессе “Научная молодежь на пороге XXI века”, Томск (2000 г.), на международной научно-практической школы-конференции “Цитокины. Воспаление. Иммунитет”, Санкт-Петербург (2002 г.), на заседании проблемной комиссии по пульмонологии, Томск (2002 г.). По материалам диссертации опубликовано 8 работ, из них 2 в международной печати.

Структура диссертации. Работа изложена на 182 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 308 источников, из них 163 – отечественных, 145 – иностранных авторов. В работе приводится 39 таблиц, 11 рисунков и 2 схемы.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Объект и методы исследования. Работа выполнена на базе иммуно-аллергологического отделения Межвузовской больницы, городского аллергологического кабинета, ООО «Центр иммунопатологии» в г. Томске (1996-2001 гг.). Под наблюдением находилось 95 человек больных грибковыми респираторными аллергозами, в возрасте от 17 до 52 лет, из них 35 человек с малыми формами респираторных аллергозов (МФРА) и 60 с бронхиальной астмой (БА). Контрольную группу составили 50 здоровых добровольцев в возрасте от 23 до 28 лет, не имеющих отягощенного семейного, аллергологического и иммунологического анамнеза, патологических изменений при параклинических исследованиях. При проведении аллергологического тестирования у них не выявлено сенсibilизации к грибковым, бытовым, эпидермальным, пыльцевым и пищевым

аллергенам. Показатели иммунитета соответствовали возрастной и региональной норме.

Оценка клинических особенностей течения респираторных аллергозов проводилась на основании общепринятых критериев заболеваний: жалоб больных, общего и аллергологического анамнеза, а также данных иммунологического, общеклинического и специального исследования, согласно Международной классификации болезней 10-го пересмотра (1992), уточненной на 5 конгрессе пульмонологов России (1995г.). Степень тяжести бронхиальной астмы устанавливалась согласно критериям проекта GINA (Бронхиальная астма, Глобальная стратегия: рекомендации документов ВОЗ и Национального института здоровья США 1996г.)

Иммунологические исследования больных РА проводились в период ремиссии до проведения СИТ причинным аллергеном согласно спектру сенсibilизации, и на этапах проведения 1 курса СИТ (на максимальной и поддерживающей дозе вводимого ПЗА).

Все больные были обследованы специальными методиками, включающими: схематический сбор аллергоанамнеза; проведение скарификационных и внутрикожных проб с основными группами грибковых, бытовых, эпидермальных, пыльцевых и пищевых аллергенов (Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии; Ставропольский НИИВС; АО "Биомед" им. И.И.Мечникова, г. Москва); микологическое изучение биологических секретов на предмет обсемененности грибами. Пациенты вели дневники наблюдения, в которых регистрировались: выраженность симптомов заболевания, данные пикфлоуметрии, потребность в базисной и симптоматической терапии.

Основными биологическими материалами для исследований служили: венозная кровь, сыворотка крови и культуральная жидкость, полученная при постановке РБТЛ на третий день инкубирования лимфоцитов.

Проводилась оценка сывороточных показателей: IgM, IgG, IgA, - по Mancini et al. (1965). Определялся уровень общего IgE иммуноферментным методом (НИИВС г. Ставрополь) и специфического IgE к грибковым

аллергенам иммуноферментоалеросорбентным способом (Д. Кэтти, 1991). Учет циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) проводился методом иммунопреципитации в 3,75% растворе полиэтиленгликоля 6000 (“Serva”) в боратном буфере pH 8,4. Определялись субпопуляции лимфоцитов CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD72⁺ с помощью моноклональных антител в цитотоксическом тесте (Петров Р.В. и соавт., 1992). Изучался НСТ-тест с нейтрофилами в спонтанном и стимулированном причинно-значимом аллергеном вариантах (Логинский В.К., Коротких В.В., 1978 в модификации Канакри Башир и др., 1993). Были исследованы показатели РБТЛ в трех модификациях (спонтанной, стимулированной ФГА и стимулированной ПЗА) с морфологической оценкой результатов посредством микроскопии (Фримель Г., 1987). Определялось содержание IL-4 иммуноферментным способом в сыворотке крови и культуральной жидкости (“Pro Con” г. Санкт-Петербург).

Математическую обработку полученных результатов проводили при помощи прикладных программ STATISTICA 5.0 FOR WINDOWS. Для сравнения вероятности принадлежности двух выборок к одной генеральной совокупности использовали непараметрический критерий Манна-Уитни (Уилкоксона). Корреляцию признаков оценивали с помощью коэффициента корреляции рангов по Спирмену. Вероятность различий в группах считали статистически значимой при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Клинический анализ исследуемого контингента больных позволил выявить комплекс предрасполагающих факторов к формированию грибковой сенсibilизации: высокий процент наследственной отягощенности аллергическими заболеваниями – 43,2%; неудовлетворительные социально-бытовые и экологические условия, способствующие постоянному контакту с грибковыми антигенами – 36,9%; частая антибиотикотерапия – 26,3%; профессиональный контакт с грибами – 6,3%. Отмечено преобладание комбинированных форм аллергических заболеваний – 39%. Выявлена высокая степень отягощенности преморбидного фона 93,6 % (с преобладанием патологии со стороны пищеварительного тракта, ЛОР – органов). По данным

микологических анализов у больных обнаруживались только грибы рода *Candida*, у 17,9% человек в виде кандидоносительства, у 12,6% был перенесенный или диагностированный на момент обследования кандидомикоз. Приведенные данные еще раз подтверждают сочетанное влияние генетически детерминированных наследственно-конституциональных и многих экзогенных факторов на формирование РА.

Клиническими проявлениями грибковых РА у обследуемых больных были МФРА (37%) в виде ринита, конъюнктивита, ларингита, трахеита, бронхита, однако, наибольшую тяжесть проявлений обуславливало поражение нижних дыхательных путей в виде БА (63%). В зависимости от тяжести БА были выделены 2 подгруппы: с легким течением (28 пациентов - 46,7%) и со среднетяжелым течением (32 пациента - 53,3%).

Этиологическая расшифровка заболевания проводилась с помощью кожных тестов. У пациентов отмечалась высокая степень сенсibilизации, как правило, к нескольким группам аллергенов (85,3%). Преобладало сочетание грибковой и бытовой сенсibilизации (64,3%). Структурологический анализ повышенной чувствительности к грибам показал, что наиболее частой причиной развития РА является *Fusarium oxysporum* (61,1%), реже *Rhizopus nigricans* (47,4%), *Alternaria tenuis* (35,8%) и *Candida albicans* (33,7%), еще реже - *Aspergillus flavus* (25,3%), *Aspergillus niger* (21,1%) и *Penicillium tardum* (17,9%). В большинстве случаев результаты кожных проб были положительными на несколько грибковых аллергенов, моносенсibilизация отмечена только в 27,4% случаев. Вид грибкового аллергена не оказывал существенного влияния на клиническую форму заболевания. На основании данных кожного тестирования по сочетанию разных типов местной реакции мы выделили следующие группы: 1) больные только с немедленной кожной реакцией – 39 человек (41%); 2) с немедленной и отсроченной реакцией - 30 человек (31,6%); 3) с отсроченной и замедленной реакцией – 8 человек (8,4%); 4) сочетание немедленного, отсроченного и замедленного типов кожного реагирования у 18 обследуемых (18,9%).

Индивидуальный анализ сочетанных случаев позволяет говорить о преобладании того или иного типа аллергических реакций. В связи с этим мы разделили всех больных на 2 исследуемые подгруппы: 1) больные с преобладанием гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ) (69 человек) и 2) больные с наличием гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) (26 человек). Наряду с исследованием типов местной реакции проводилось изучение уровня специфического IgE. Из 41 больного с подтвержденной кожным тестированием грибковой сенсibilизацией у 90,2% при постановке методики твердофазного иммуноферментного анализа были обнаружены специфические IgE-антитела к аллергенам грибов. Однако не было выявлено корреляции между частотой кожных реакций и ИФА. Известно, что при постановке аллергосорбентного теста могут регистрироваться ложноотрицательные результаты за счет конкурентного взаимодействия с антигеном при его достаточно высоком уровне. Следует учитывать, что для постановки ИФА и кожного тестирования используются разные штаммы грибов. Следовательно, диагностическая ценность определения грибковых специфических IgE-антител несколько ниже, чем для пылевых и бытовых, что может быть связано как со специфическими свойствами аллергенов, так и с особенностями производства.

Гетерогенность грибковой сенсibilизации требует более глубокой оценки особенностей функционирования иммунной системы с целью уточнения некоторых механизмов ее иммунопатогенеза.

Стереотип иммунного ответа на аллергены у больных грибковыми РА укладывался в характеристику реактивной конституции и отличался высоким уровнем эозинофилов крови, выраженным увеличением концентрации IgE, тенденцией к повышению IgG. Определялась несостоятельность клеточного звена иммунитета, характеризующаяся снижением количества CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ Т-лимфоцитов. Подобные изменения регистрируются большинством исследователей (Храмов В.В. 1993; Балаболкин И.И. и др., 1997; Новиков Д.К. и др., 1997; Ярилин А.А. и др., 1997; Kang D., 1997). Нами был проведен анализ иммунологических сдвигов при различных клинических вариантах грибковых РА (рис. 1).

Изменения иммунологических параметров при БА и МФРА носили однонаправленный характер, однако степень этих нарушений при БА, как правило, большая. Таким образом, закономерности, характерные для грибковых респираторных аллергозов в целом, сохраняются при их различных клинических вариантах, и при прогрессировании РА отмечается увеличение выраженности иммунологических нарушений.

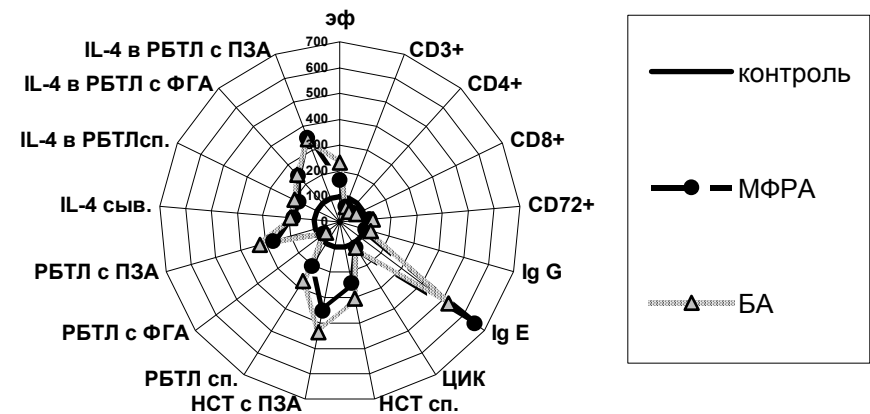


Рисунок 1. Интегральная характеристика иммунологических параметров у больных с грибковой сенсibilизацией в зависимости от клинической формы заболевания.

Примечания: МФРА – больные с малыми формами респираторных аллергозов, БА – больные бронхиальной астмой

При сравнении особенностей дисбаланса иммунологических параметров в зависимости от типа кожной реактивности на грибковый аллерген оказалось, что, при наличии ГЗТ, где механизм гиперергического ответа осуществляется преимущественно за счет клеточного звена иммунитета, содержание IgE значительно ниже (что подтверждает уменьшение роли реактинового механизма в патогенезе заболевания), а глубина дефекта Т-звена более значима, что может служить показанием для иммунокорректирующей терапии (рис. 2).

Наличие функциональных дефектов иммунной системы оценивалось с помощью НСТ-теста, морфологической оценки клеток в

реакции бласттрансформации лимфоцитов, определения цитокинов, продуцируемых Th2 (IL-4). Глубина и выраженность изменений были сопоставимы с тяжестью патологического процесса и преобладали у пациентов с БА по сравнению с группой больных МФРА (рис. 1).

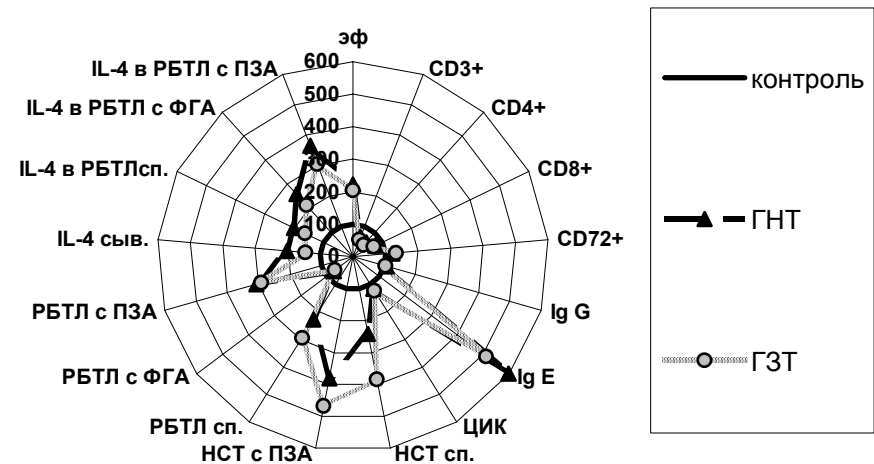


Рисунок 2. Интегральная характеристика иммунологических параметров у больных с грибковой сенсibilизацией в зависимости от кожной реактивности.

Примечания: ГНТ – больные с кожными реакциями на грибковые аллергены по ГНТ; ГЗТ – больные, имеющие кожные реакции на грибковые аллергены замедленного типа.

Установленное увеличение продуктов активного кислорода в спонтанном и стимулированном ПЗА вариантах у больных в период ремиссии свидетельствует о повышении функциональной активности нейтрофилов, предопределяя нейтрофил-опосредованное высвобождение медиаторов воспаления. На наш взгляд, это доказывает участие нейтрофилов в патогенезе грибковых РА, отражая один из вариантов промежуточной гиперчувствительности, строго не относящийся ни к ГНТ, ни к ГЗТ (Иванова И.П. и др. 1999).

Повышение спонтанной бласттрансформации лимфоцитов, характеризующей исходный уровень активации клеток у больного в данный момент, вероятно вызвано регулярной экспозицией грибковых

аллергенов в атмосферном воздухе. Полученное нами достоверное снижение числа бласттрансформированных клеток при стимуляции лимфоцитов Т-клеточным митогеном ФГА свидетельствует об уменьшении их функциональной активности, что согласуется с литературными данными (Балаболкин И.И. и др. 1997; Lack G. et al., 1997) Увеличение количества бластных клеток в ответ на ПЗА объясняется сенсibilизацией организма к данному виду аллергена, который, благодаря наличию TCR-рецептора на лимфоцитах, является специфическим активатором РБТЛ.

При оценке влияния различных типов гиперчувствительности на функциональную активность лимфоцитов оказалось, что при наличии IV типа отмечается большее повышение спонтанной РБТЛ и снижение бластогенеза на ФГА, что еще раз свидетельствует о глубоком дефекте Т-звена иммунитета в подгруппе больных с наличием ГЗТ (рис. 2).

Увеличение продукции у всех больных IL-4 как в сыворотке крови, так и в культуральной жидкости в ответ на воздействие специфических и неспецифических митогенов подтверждает превалирующую активацию Th2 лимфоцитов. Обнаруженная нами корреляционная взаимосвязь между уровнем общего IgE и увеличением продукции IL-4 ($r = 0,7$; $p < 0,01$) отражает участие этого цитокина в регуляции синтеза IgE, что совпадает с мнением других авторов (Гущин И.С., 1998; Хаитов Р.М., 2000). Достоверно большее увеличение IL-4 у больных БА по сравнению с больными МФРА обусловлено как большей тяжестью патологического процесса, так и поливалентной сенсibilизацией, чаще встречающейся у пациентов с БА (рис. 1). При оценке взаимосвязи степени тяжести БА с продукцией IL-4 оказалось, что при среднетяжелом течении заболевания содержание цитокина значительно ниже - вероятно, при прогрессировании БА происходит присоединение других патогенетических механизмов развития заболевания, а роль реактивной гиперчувствительности уменьшается (Новиков Д.К. и др., 1997). Более высокие уровни IL-4 у пациентов, не имеющих в патогенезе развития РА ГЗТ (рис.2), предположительно связано с дисбалансом хелперных клеток в сторону Th2. Присоединение аллергических реакций IV типа приводит к смене цитокинового профиля и активации Th1 (Фрейдлин И.С., 1998; Кетлинский С.А., 1999; Zangrilli J. et al., 1995).

43 больным грибковыми РА была проведена СИТ грибковыми ПЗА согласно спектру сенсibilизации ускоренным методом. Эффективность

оценивалась не ранее, чем через 4-6 месяцев получения поддерживающих доз аллергена и после всего курса лечения (через 1 год). Учет результатов проводился по регрессу клинических проявлений аллергического заболевания по четырёхбалльной шкале. В целом, результаты СИТ с учетом самооценки больных и объективных данных могут быть оценены как положительные у 90,7% пациентов. Только в 4 случаях клинический эффект от иммунотерапии отсутствовал. Отличные результаты имели место в 32,6% случаев, хорошие – в 41,9%, удовлетворительные – в 16,3%. Эффективность проводимой терапии зависела от многих факторов (табл. 1), в частности, от стажа заболевания и от сочетания различных форм гиперчувствительности на грибковые аллергены в патогенезе РА. Примечательно, что удовлетворительный эффект или отсутствие его в процессе лечения наблюдался только у больных, имеющих клеточно-опосредованный тип гиперчувствительности. Не обнаружена корреляционная взаимосвязь между возрастом пациентов, нозологической формой РА, тяжестью БА и эффективностью от проводимой терапии, хотя количество неудовлетворительных результатов при среднетяжелом течении БА было выше.

Таблица 1
Коэффициенты корреляции между показателями эффективности СИТ и рядом признаков.

Признаки	Эффективность СИТ	
	г	р
возраст больного	-0,19	>0,05
длительность РА до СИТ	-0,65	<0,01
отсутствие ГЗТ при кожном тестировании	0,39	<0,05
клиническая форма РА	0,13	>0,05
тяжесть БА	0,14	>0,05

Специфическая терапия способствует коррекции иммунологического дисбаланса, существующего у больных с грибковыми респираторными аллергиями, причем в большей степени это касается пациентов, страдающих МФРА (табл. 2). Происходит уменьшение количества эозинофилов, увеличение как общего количества Т-лимфоцитов (CD3⁺), так и их субпопуляций (CD4⁺, CD8⁺), однако, сохраняющаяся разница показателей клеточного иммунитета у больных по сравнению с

контролем свидетельствует о недостаточности проведения только одного курса СИТ одним видом ПЗА.

Таблица 2
Изменение показателей иммунограммы у больных с грибковыми респираторными аллергозами в процессе лечения ($X \pm m$).

Показатели	Контроль	Больные с МФРА			Больные БА		
		до лечения	р	после лечения	до лечения	р	после лечения
Эф (%)	2,8±0,14	4,61±0,41**	<0,05	3,2±0,4	6,53±0,41***	<0,01	4,1±0,8*
CD3 ⁺ (%)	67,3±4,1	42,7±1,9***	<0,001	57,9±5,5	41,3±1,4***	<0,01	52,1±1,8***
CD4 ⁺ (%)	45,5±2,8	25,2±1,7**	<0,05	31,5±1,2***	24,4±1,2***	<0,05	29,6±2,0**
CD8 ⁺ (%)	23,3±2,7	17,1±1,2***	>0,05	24,4±2,1	16,5±1,2**	>0,05	22,0±2,8
CD72 ⁺ (%)	12,7±1,9	14,8±1,8	>0,05	15,3±2,9	16,3±1,6*	>0,05	15,6±1,8
Ig M (г/л)	1,35±0,09	1,45±0,12	>0,05	1,25±0,17	1,43±0,17	>0,05	1,3±0,01
Ig G (г/л)	13,51±2,3	14,6±0,6	>0,05	12,88±1,2	16,7±0,8*	>0,05	14,7±1,5
Ig A (г/л)	1,8±0,13	1,85±0,17	>0,05	2,28±0,35	2,1±0,91	>0,05	2,1±0,2
Ig E (МЕ/мл)	63±18	412,7±58,2***	>0,05	415±30,7***	332,2±24,5***	>0,05	363,1±33,4***
ЦИК (опт.ед.)	0,085±0,01	0,1±0,006	<0,01	0,077±0,01	0,1±0,005	<0,01	0,081±0,007

Примечания: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ при сравнении с контролем.

В ходе проведения СИТ не наблюдалось достоверных изменений содержания иммуноглобулинов всех классов. Регистрируемое незначительное увеличение концентрации общего IgE, объясняется общестимулирующим влиянием аллерговакцинации на клетки-продуценты IgE (Гущин И.С., 1998; Creticos P., 1989). Вместе с тем, необходимо отметить, что средние значения уровня IgE, отражая динамику в целом, не всегда соответствуют индивидуальным колебаниям, которые у наших пациентов носили разнонаправленный характер.

Клинические методы оценки эффективности специфической аллерговакцинации являются ведущими, поэтому оценку иммунологических параметров можно проводить только в корреляции с клиническим эффектом. Фоновое состояние иммунной системы больных грибковыми РА с хорошими и отличными результатами СИТ отличалось достоверно увеличенным количеством эозинофилов ($p < 0,01$), снижением количества CD3⁺ и CD4⁺ лимфоцитов, а так же

гипериммуноглобулинемией E. Подобные изменения характерны для всех больных с грибковой сенсibilизацией, однако у пациентов с удовлетворительным эффектом от проводимой СИТ, наряду с эозинофилией, повышенным содержанием IgE (хотя и менее выраженным) и сниженным количеством CD3⁺ и CD4⁺ лимфоцитов, регистрировалось снижение содержания CD8⁺ клеток (p<0,01) а также достоверное увеличение уровня ЦИК (p<0,05). После проведенной аллергенспецифической иммунотерапии у больных с положительными результатами происходила нормализация иммунологических показателей, однако относительное количество CD3⁺ и CD4⁺ лимфоцитов оставалось ниже контрольных значений. При удовлетворительных результатах СИТ также прослеживалась тенденция к нормализации иммунограммы, но наряду с сохраняющимся сниженным количеством CD3⁺ и CD4⁺ лимфоцитов регистрировалась эозинофилия. Иммунологический дисбаланс, наблюдавшийся нами у пациентов с неудовлетворительным эффектом, был более выражен, а по некоторым параметрам после проведения СИТ даже усугублялся (отмечалось увеличение количества эозинофилов, ЦИК). Таким образом, результаты наших исследований показывают, что исходное состояние иммунной системы оказывает существенное влияние на эффективность СИТ.

Достижимый под влиянием специфической гипосенсибилизации клинический эффект в значительной степени может быть обусловлен восстановлением функциональных резервов клеток. Так, даже один курс СИТ ликвидирует гиперактивацию нейтрофильного звена, приводя к снижению биоцидности нейтрофилов и тем самым к восстановлению их энергетического и трофического потенциала (рис. 3).

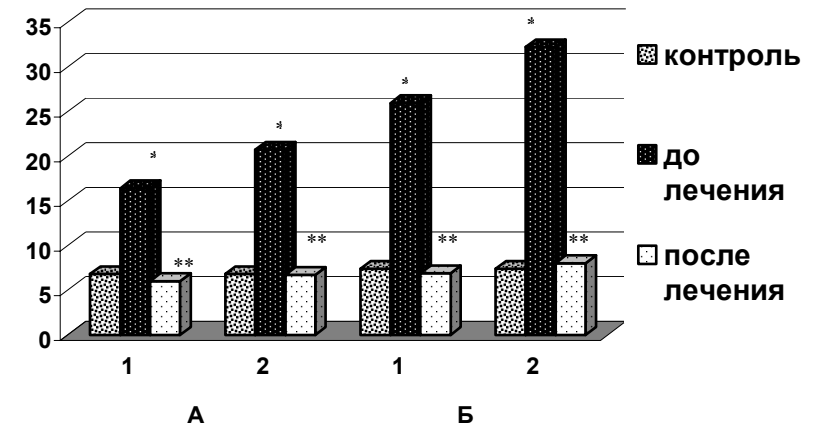


Рис.3 Показатели НСТ-теста у больных грибковыми респираторными аллергиями в процессе лечения (%).

*Примечания: 1 – больные с МФРА, 2 – больные БА, А – спонтанный НСТ-тест, Б – НСТ-тест, стимулированный ПЗА. *- р при сравнении с контрольной группой, **- р при сравнении с группой до лечения ($p < 0,001$).*

СИТ, через формирование аллергенспецифической толерантности, влияет на процент выхода в бластные формы лимфоцитов, как в спонтанном варианте, так и при воздействии митогенов (рис. 4). При сравнении этих параметров на разных этапах лечения оказалось, что на максимальной дозе вводимого ПЗА отмечается положительное влияние СИТ на функциональную активность лимфоцитов, но сохраняются достоверные отличия от показателей на поддерживающей дозе ПЗА ($p < 0,01$). Видимо, для изменения функциональной активности лимфоцитов нужен более длительный срок, чем 15-20 дней, в течение которых набирается максимальная доза аллергена.

При сравнении разных клинических форм РА оказалось, что величина отклонений показателей РБТЛ от нормы более выражена при средней тяжести БА и менее при МФРА. Достоверность различий касалась всех трех модификаций РБТЛ ($p < 0,05$).

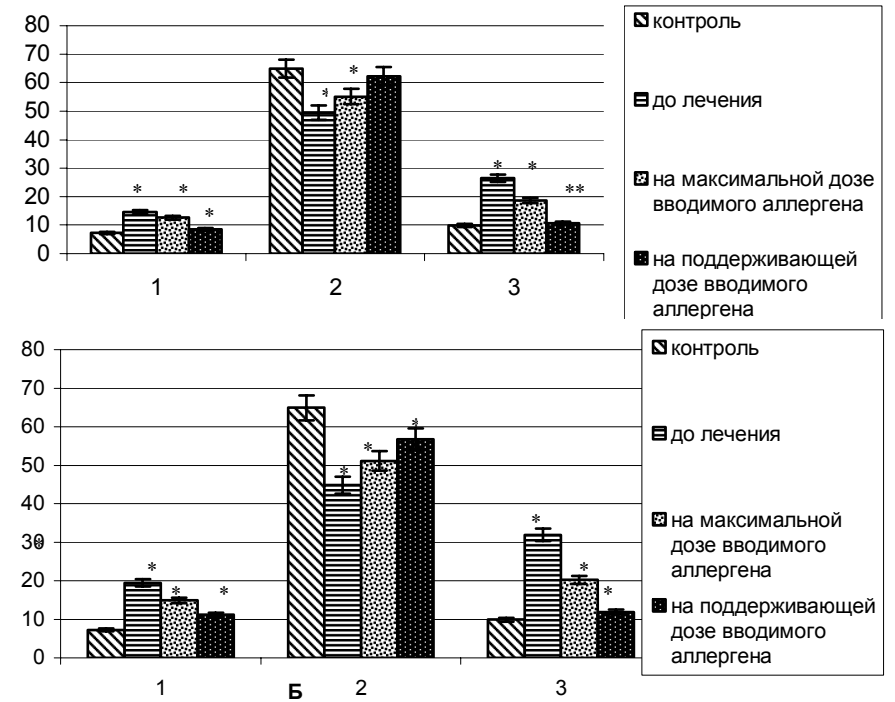


Рис. 4 Динамика показателей РБТЛ у больных с грибковой сенсibilизацией.

Примечания: А – больные с МФА, Б – больные БА, 1 – спонтанная РБТЛ, 2 – РБТЛ стимулированная ФГА, 3 – РБТЛ стимулированная ПЗА. * - $p < 0,001$, ** - $p < 0,01$, при сравнении с контрольной группой.

При проведении корреляционного анализа отмечается связь между показателями спонтанной РБТЛ ($r = 0,38$; $p < 0,05$), РБТЛ с ФГА ($r = -0,35$; $p < 0,05$), РБТЛ с ПЗА ($r = 0,41$; $p < 0,05$) и клинической формой заболевания. Мы предполагаем, что при большей площади патологического процесса у пациентов с БА существуют более глубокие иммунологические дефекты, которые не исправляются в ходе одного курса СИТ и требуют длительной этиопатогенетической терапии.

Примечательно, что у больных с наличием в патогенезе заболевания ГЗТ отмечается меньший прирост процента бластных

лимфоцитов в ответ на стимуляцию ФГА, что еще раз подтверждает функциональный дефект клеточного звена иммунитета при наличии аллергических реакций IV типа.

Оценивая динамику уровня IL-4 в ходе проведения СИТ, обращает на себя внимание зависимость продукции цитокина от нозологической формы РА (рис. 5). На поддерживающей дозе ПЗА достоверной разницы в концентрации IL-4 между больными с МФРА и БА нет, однако у пациентов с БА сохраняются отличия в сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$).

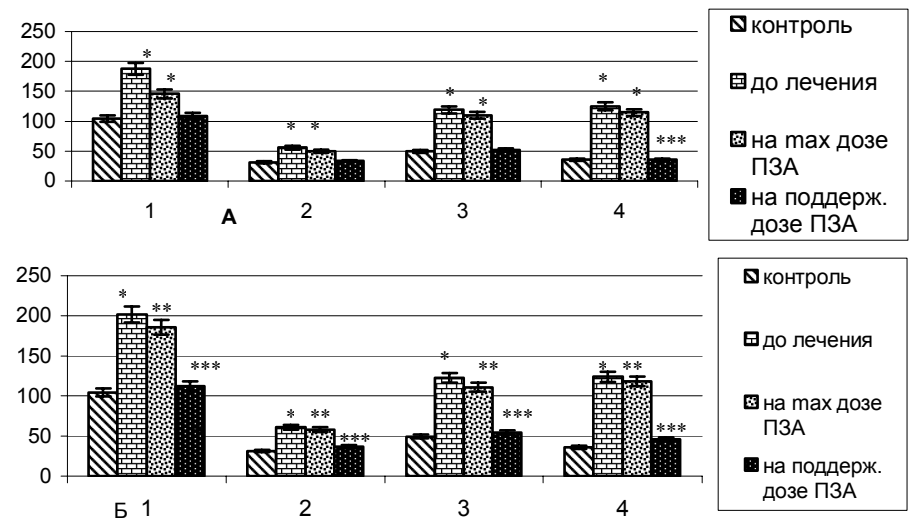


Рис. 5 Динамика IL-4 у больных с грибковой сенсibilизацией: А – при МФРА, Б – при БА, В – с кожной реактивностью по ГНТ, Г – с ГЗТ (пкг/мл).

*Примечания: содержание IL-4: 1 - в сыворотке крови, 2 - в культуральной жидкости спонтанной РБТЛ, 3 - в культуральной жидкости РБТЛ с ФГА, 4 - в культуральной жидкости РБТЛ с ПЗА. *- $p < 0,001$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,05$, при сравнении с контрольной группой.*

Следует отметить, что у всех больных уровень IL-4 в ответ на воздействие ПЗА остается выше контрольных значений. По-видимому, это происходит за счет сохраняющегося пула антигенспецифических Т-клеток. Таким образом, состояние клинического улучшения у больных с

грибковыми РА в результате проведения СИТ не идентично нормализации иммунологических параметров. Поэтому, использование РБТЛ с ПЗА в качестве модели для определения содержания IL-4 может служить одним из наиболее чувствительных критериев скрытой сенсibilизации организма. Интересные данные были получены при изучении продукции IL-4 в зависимости от эффективности лечения. Оказалось, что содержание IL-4 в сыворотке крови ($r = 0,43$; $p < 0,05$), а также в супернатанте спонтанной РБТЛ ($r = 0,73$; $p < 0,01$) и стимулированной ФГА ($r = 0,38$; $p < 0,05$) коррелировало с конечным результатом лечения, то есть у больных, изначально имеющих высокое содержание этого цитокина, эффект от СИТ был выше. Однако не прослеживается связи между эффективностью лечения и уровнем IL-4 после проведенного курса аллерговакцинации. Кроме того, нивелируются существующие ранее различия содержания данного цитокина у больных в зависимости от типов иммунного ответа на грибковые антигены (ГНТ и ГЗТ).

Таким образом, проведение СИТ способствует угнетению вызванной специфическим аллергеном продукции IL-4 в сыворотке крови и культуральной жидкости РБТЛ, как при наличии одного только реактивного механизма гиперчувствительности в развитии грибковых РА, так и при сочетании его с ГЗТ. Механизмы воздействия специфической гипосенсибилизации направлены на торможение функциональной активности Th2 и соответственно выработку IL-4, не влияя на ГЗТ. Неудовлетворительные результаты лечения больных с сочетанием ГНТ и ГЗТ ставят под сомнение рациональность проведения у них аллергенспецифической гипосенсибилизации, которая эффективна и показана только при IgE-опосредованном механизме аллергии.

ВЫВОДЫ

1. Грибковая сенсibilизация формируется с участием разных типов иммунного ответа на аллерген: ГНТ с ранней фазой, ГНТ с ранней и поздней фазой, сочетание поздней фазы ГНТ и ГЗТ, сочетание ранней и поздней фаз ГНТ с ГЗТ. С наибольшей частотой регистрируются реакции к аллергенам *Fusarium* и *Rhizopus*, реже – к *Alternaria* и *Candida*, еще реже – к *Aspergillus* и *Penicillium*. Моносенсибилизация к одному

виду гриба встречается только в 24,7% случаев, а более чем у половины обследованных больных (64,3%) аллергия к грибам сочетается с бытовой сенсibilизацией.

2. У больных с аллергией к грибам выявлен клеточно-гуморальный дисбаланс показателей, выраженность которого зависит от клинической формы заболевания и типа кожной гиперчувствительности на грибковый аллерген. При этом в период ремиссии обнаруживается усиление спонтанной реакции бласттрансформации лимфоцитов, наличие функциональной недостаточности Т-лимфоцитов при стимуляции ФГА и повышенный пролиферативный ответ клеток на причинно-значимый аллерген, выявляется повышение спонтанного НСТ теста, увеличение числа формазанположительных нейтрофилов в тестах, стимулированных специфическими грибковыми аллергенами.

3. Содержание сывороточного и культурального IL-4 у больных с грибковой сенсibilизацией достоверно превышает уровень данного показателя по сравнению с контрольной группой, коррелирует с содержанием общего IgE ($r=0,7$), характеризуется вариабельностью, которая зависит от типа кожных реакций на микоаллерген, нозологической формы заболевания и степени тяжести бронхиальной астмы.

4. Под влиянием специфической иммунотерапии происходит снижение пролиферативного ответа лимфоцитов к причинно-значимому аллергену, уменьшение содержания IL-4, восстановление функциональной активности нейтрофилов периферической крови, отмечается тенденция к нормализации показателей клеточного звена иммунитета и его функциональной активности. Клиническая эффективность специфической иммунотерапии коррелирует с продолжительностью заболевания и с типом кожной гиперчувствительности на микоаллерген, зависит от наличия дисбаланса в иммунной системе и не связана с возрастом пациента и клинической формой аллергоза.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Традиционного аллергологического обследования при грибковой сенсibilизации недостаточно. Для полноценной диагностики и проведения адекватного лечения целесообразно комплексное исследование, включающее оценку нейтрофильного звена иммунитета, изучение реакции бласттрансформации лимфоцитов, особенно при стимуляции их причинно-значимым аллергеном, определение специфических IgE антител, определение содержания IL-4.

2. Для прогнозирования эффективности специфической иммунотерапии рекомендуется учитывать исходные показатели клеточного и гуморального иммунитета, а так же их динамику на фоне лечения. При выявленном иммунологическом дисбалансе и наличии гиперчувствительности замедленного типа оправдано назначение иммунокорректирующей терапии.

3. Специфическую иммунотерапию предпочтительнее проводить больным грибковыми РА с длительностью заболевания менее 5 лет и не имеющим кожные реакции на микоаллергены по типу ГЗТ, независимо от клинической формы аллергоза.

4. Использование реакции бласттрансформации лимфоцитов с причинно-значимым аллергеном в качестве модели для определения содержания IL-4 может служить критерием скрытой сенсibilизации организма.

5. Проведение специфической иммунотерапии у больных с наличием гиперчувствительности замедленного типа на грибковые антигены (по данным кожного тестирования) нецелесообразно из-за низкой эффективности этого вида лечения у таких пациентов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.

1. Динамика содержания интерлейкина-2 у больных атопической бронхиальной астмой при проведении специфической иммунотерапии // Современные проблемы фундаментальной и клинической медицины: Сб. статей молодых ученых и сотрудников.

- Томск, 1999. – С. 181-183 (в соавт. с Т.Ю. Чикановой, И.В. Гавриловой).
2. ИЛ-2 и ИЛ-4 при бронхиальной астме с разным спектром сенсибилизации / II съезд иммунологов России, Сочи, 6-10 сентября 1999г. // Russian Journal of Immunology. – 1999. - V.4. – Supp.1. – P. 119 (в соавт. с В.В. Климовым, Т.В. Кошовкиной и др.)
3. Клинико-иммунологическая интерпретация грибковой сенсибилизации при респираторных аллергиях // Научная молодежь на пороге XXI века. Наука о человеке: Матер. Междунар. Конгресса, г. Томск, 18-19 мая 2000 г. – Томск, 2000. – С. 48-49. (в соавт. с Т.Ю. Чикановой, О.В. Гузырь).
4. Специфическая иммунотерапия как метод лечения аллергических ринитов // Научная молодежь на пороге XXI века. Наука о человеке: Матер. Междунар. Конгресса, г. Томск, 18-19 мая 2000 г. – Томск, 2000. – С. 35-36. (в соавт. с О.В. Гузырь).
5. Динамика содержания ИЛ-4 у больных микогенными респираторными аллергиями при проведении специфической иммунотерапии // Вестник СГМУ 2000.- Томск, 2000. - №1. – С.68-69.
6. Особенности цитокинового профиля у пациентов с аллергическим ринитом. // Цитокины и воспаление. Матер. международной научно-практической школы-конференции “Цитокины. Воспаление. Иммунитет”, СПб, 23-26 июня 2002 г. – СПб, 2002 - Том 1. - №2. – С. 93-94 (в соавт. О.В. Гузырь, В.А. Клисак).
7. Specific Hyposensibilization Changer IL-2/IL-4 paradigm in bronchial asthma // 6th international Expert Forum in Immunotherapy and Gene Therapy. – Florence, 1998. – P.91. (with V.V. Klimov, N.S. Koshkarova et al.).
8. IL-2 and IL-4 Mediated Sensibilization From to Mould and Dast Mite Allergen in Bronchial Asthma Clinical Immunology. – <http://www.academicpress.com/clinim/#9> (with V.V. Klimov, N.S. Koshkarova et al.).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БА -	бронхиальная астма
ГЗТ -	гиперчувствительность замедленного типа
ГНТ -	гиперчувствительность немедленного типа
МФРА -	малые формы респираторных аллергозов
НСТ-тест	тест восстановления нитросинего тетразолия
ПЗА -	причинно-значимый аллерген
РА -	респираторные аллергозы
РБТЛ -	реакция бласттрансформации лимфоцитов
СИТ -	специфическая иммунотерапия
ФГА -	фитогемагглютинин
ЦИК -	циркулирующие иммунные комплексы
IL -	интерлейкины