

ISSN 2225-6016

ВЕСТНИК

*Смоленской государственной
медицинской академии*

Том 14, №2

2015



УДК 616-018.1

ДЕФИЦИТ α -ИНТЕРФЕРОНА У БОЛЬНЫХ ПОЛЛИНОЗОМ© **Вавиленкова Ю.А.¹, Мезенцева М.В.², Мешкова Р.Я.¹**¹Смоленский государственный медицинский университет, Россия, 210019, Смоленск, ул. Крупской 28²ГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18

Резюме: Для аллергических заболеваний характерны сложные и недостаточно изученные особенности системы интерферона (ИФН). Изучали уровень продукции ИФН- α у больных поллинозом в разные периоды заболевания, а также на фоне различных методов терапии. Нами обследовано 75 больных поллинозом и 45 здоровых доноров. Индукцию ИФН осуществляли на клетках цельной крови по общепринятому модифицированному методу, позволяющему исследовать способность лейкоцитов продуцировать ИФН- α при вирусной стимуляции в системе *in vitro*. Выработку ИФН- α стимулировали вирусом болезни Ньюкасла (ВБН). Инкубацию и обработку клеток ВБН осуществляли в течение 24 ч при 37°C в атмосфере 5% CO₂. Титрование ИФН проводили на монослойной культуре фибробластов человека М19 в среде Игла с 10% бычьей сывороткой (10⁵ кл/мл). Содержание ИФН- α в супернатантах клеточных культур оценивали по 50% подавлению цитопатического действия 100 ТЦД₅₀ вируса энцефаломиокардита мышей. Активность интерферона выражали в единицах логарифма титра – log₂ (титр-1), для α -интерферона – 0,1 log₂ (титр-1). Установлено, что при поллинозе имеет место дефицит продукции ИФН- α . После проведения аллерген-специфической иммунотерапии (АСИТ) установлено стойкое достоверное повышение продукции ИФН- α . При проведении фармакотерапии не выявлено достоверного изменения продукции данного типа интерферона. Подавление ИФН-синтезирующей активности лейкоцитов в системе *in vitro* подтверждает антагонистические отношения IgE и ИФН- α .

Ключевые слова: поллиноз, система интерферона, интерферон- α , аллерген-специфическая иммунотерапия

 α -INTERFERON DEFICIENCY IN POLLEN ALLERGY PATIENTSVavilenkova J.A.¹, Mezentseva M.V.², Meshkova R.Y.¹¹Smolensk State Medical University, Russia, 214019, Smolensk, Krupskaya St. 28²SO SRIEM after N. F. Gamalei RAMS, Russia, 123098, Moscow, Gamaleya St. 18

Summary: Role of interferons in allergic diseases is complex and not clear enough. The aim of the study was to evaluate α -interferon production in patients with pollinosis during certain periods of the disease and following various types of therapy. A total of 75 patients with pollinosis and 45 healthy controls were enrolled in the study. We assessed the level of α -interferon production by activated leukocytes *in vitro*. Interferon level was measured with the cytopathic effect reduction assay. Interferon induction was performed in whole blood cells with Newcastle virus for 24 hours at 37°C with 5% CO₂. Interferon level in supernatant was measured with the cytopathic effect reduction assay using encephalomyocarditis virus and human M19 fibroblast cells cultured in Eagle medium with 10% fetal bovine serum (10⁵ cell/ml). We concluded that there can be α -interferon deficiency in patients with pollinosis. In allergen specific immunotherapy there was a significant stable increase in α -interferon production. We have not identified any significant change in α -interferon production following any medical therapy. Suppression of α -interferon production by leucocytes *in vitro* confirms inhibitory effect of IgE onto interferon synthesis.

Key words: pollinosis, interferon system, IFN- α , allergen specific immunotherapy

Введение

Для аллергических заболеваний характерны сложные и недостаточно изученные особенности системы интерферона (ИФН). Существует предположение о первичности нарушений в системе ИФН у лиц с аллергическими заболеваниями [6, 9, 12]. В частности, при исследовании уровня ИФН- γ у новорожденных детей с положительным семейным аллергологическим анамнезом, у части из них обнаружено снижение его секреции. Впоследствии у всех детей со сниженным уровнем данного цитокина развились аллергические заболевания, что позволило авторам выдвинуть предположение о прогностической значимости снижения синтеза ИФН в развитии атопии [6, 12].

Показано так же, что ИФН- α является антагонистом продукции IgE [11, 13]. Получены данные, свидетельствующие о способности данного цитокина влиять на экспрессию рецептора IL-12 и, что, в свою очередь, может повлиять на дифференцировку Th0-лимфоцитов в сторону Th1 [2, 10, 13]. С другой стороны, имеются сведения о роли ИФН- α в подавлении синтеза цитокинов Th1-лимфоцитами [10, 11, 13].

При бронхиальной астме показана зависимость интенсивности ИФН-генеза и содержания ИФН- α и ИФН- γ от периода заболевания [7]. В частности, авторами описано, что в период обострения астмы повышен уровень сывороточного ИФН, что сочеталось со снижением продукции ИФН- α и ИФН- γ . В период ремиссии аллергических заболеваний большинством исследователей отмечается угнетение ИФН-генеза [4, 5, 10, 12]. Ранее нами исследовано состояние системы ИФН при сезонной аллергии, показаны изменения активности синтеза ИФН различных типов [1]. Однако проведенный анализ литературы показал, что остается нерешенным вопрос об изменении продукции ИФН- α в зависимости от периода течения поллиноза и способа применяемой терапии.

Целью работы явилось изучение уровня продукции ИФН- α у больных поллинозом в разные периоды заболевания, а также на фоне различных методов терапии.

Методика

Нами обследовано 75 больных поллинозом и 45 здоровых доноров. Все пациенты были разделены на группы в зависимости от способа применяемой терапии: I группа – пациенты, получавшие предсезонную подкожную аллерген-специфическую иммунотерапию (АСИТ) (n=40); II группа – пациенты, получавшие фармакотерапию в соответствии с федеральными стандартами в период обострения поллиноза (n=35); III группа – здоровые доноры (n=40). Средний возраст пациентов I группы составил $26,7 \pm 11,5$ лет, II группы – $33,8 \pm 10,43$ года, в контрольной группе – $31,15 \pm 9,78$ год. Средняя давность заболевания в исследуемых группах составила 8,82 года (соответственно в I группе $9,26 \pm 5,54$, во II группе $8,38 \pm 6,77$ лет). Показатели системы интерферона исследовали в период межсезонной ремиссии (в I группе до и после курса АСИТ), а также в период палинции причинно значимых аллергенов.

Индукцию ИФН осуществляли на клетках цельной крови по общепринятому модифицированному методу, позволяющему исследовать способность лейкоцитов продуцировать ИФН- α при вирусной стимуляции в системе *in vitro* [1, 2]. Выработку ИФН- α стимулировали вирусом болезни Ньюкасла (ВБН). Инкубацию и обработку клеток ВБН осуществляли в течение 24 ч при 37°C в атмосфере 5% CO_2 . Титрование ИФН проводили на монослойной культуре фибробластов человека М19 в среде Игла с 10% бычьей сывороткой (10^5 кл/мл). Содержание ИФН- α в супернатантах клеточных культур оценивали по 50% подавлению цитопатического действия 100 ТЦД₅₀ вируса энцефаломиокардита мышей. Активность интерферона выражали в единицах логарифма титра – $0,1 \log_2$ (титр⁻¹) [3, 6].

При математической обработке результатов исследования использовали общепринятые методы вариационной статистики. Достоверность различия средних величин устанавливали с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате исследования установлено, что лейкоциты периферической крови здоровых лиц способны вырабатывать в среднем $2,05 \pm 0,11$ $0,1 \log_2$ ИФН- α , что соответствует циркуляции 128-640 МЕ/мл. В период межсезонной ремиссии больных поллинозом уровень синтеза составлял $0,385 \pm 0,009 \log_2$ ИФН- α . Титр индуцированного ИФН- α варьировал от 10 до 80 МЕ/мл и был достоверно ниже, чем в группе здоровых доноров (соответственно, $0,385 \pm 0,009$ и $2,05 \pm 0,11$, $p < 0,05$). Лейкоциты периферической крови больных в сезон палинции причинно значимых растений вырабатывали в среднем $0,43 \pm 0,0079 \log_2$ ИФН- α . Титр индуцированного ИФН- α варьировал в пределах от 1 до 7 \log_2 , что соответствует циркуляции от <10 до 160 МЕ/мл (лишь у 2 пациентов титр достиг нормальных величин) и оказался достоверно ниже, чем в группе здоровых доноров (соответственно, $0,43 \pm 0,0079$, $2,05 \pm 0,11$, $p < 0,001$) (табл. 1).

Таблица 1. Показатели продукции ИФН- α у больных поллинозом в разные периоды заболевания

Периоды течения поллиноза	Титр ИФН- α (M \pm m, МЕ/мл)
Межсезонная ремиссия	0,385 \pm 0,009*
Сезонное обострение	0,43 \pm 0,0079**
Контрольная группа (здоровые доноры)	2,05 \pm 0,11

Примечание: * $p < 0,05$ – степень достоверности различий уровня синтеза ИФН- α у больных в период межсезонной ремиссии в сравнении с контрольной группой; ** $p < 0,001$ – степень достоверности различий уровня синтеза ИФН- α у больных в период сезонного обострения в сравнении с контрольной группой

Как видно из представленных данных, достоверных различий продукции ИФН- α у больных поллинозом в период межсезонной ремиссии по сравнению с периодом сезонного обострения выявлено не было. Таким образом, выявленные нами изменения показывают, что у больных поллинозом имеет место выраженное достоверное снижение выработки ИФН- α по сравнению со здоровыми донорами независимо от периода заболевания.

Следующим этапом исследования было изучение влияния различных видов терапии поллиноза на изменение продукции ИФН- α у больных. В частности, при изучении влияния АСИТ нами выявлено, что по окончании курса терапии имеет место достоверное повышение продукции ИФН- α по сравнению с исходными данными у этих пациентов в исследуемой группе (соответственно 0,385 \pm 0,16, 0,567 \pm 0,09, $p < 0,05$). Тем не менее, следует отметить, что уровень ИФН- α не достигал уровня продукции данного цитокина в контрольной группе.

В период палинции причинно значимых растений в группе пациентов, получавших предсезонную АСИТ, продукция ИФН- α оставалась на уровне, достигнутом после окончания АСИТ и не снижалась, но также не достигала уровня ИФН- α в контрольной группе (соответственно 0,602 \pm 0,06 и 2,05 \pm 0,11, $p < 0,05$).

В группе пациентов, получавших в период палинции причинно-значимых растений фармакотерапию (табл. 2), синтез ИФН- α также сохранялся на низком уровне, достоверно отличаясь от такового у пациентов первой группы и здоровых доноров, соответственно 0,398 \pm 0,094, 0,602 \pm 0,06, 2,05 \pm 0,1 ($p < 0,001$).

Таблица 2. Влияние АСИТ и фармакотерапии на синтез ИФН- α у пациентов с поллинозом

Способ терапии		Период течения поллиноза	
		Межсезонная ремиссия	Сезон палинции причинно-значимых растений
АСИТ	До курса лечения	0,385 \pm 0,009*	0,602 \pm 0,06
	После курса АСИТ	0,567 \pm 0,09**	
Фармакотерапия		0,385 \pm 0,009 [#]	0,398 \pm 0,094 ⁺
Контрольная группа (здоровые доноры)		2,05 \pm 0,11	

Примечание: * $p < 0,001$ – степень достоверности различий уровня синтеза ИФН- α у больных в период межсезонной ремиссии до АСИТ в сравнении с контрольной группой; ** $p < 0,05$ – степень достоверности различий уровня синтеза ИФН- α у больных поллинозом до и по окончании курса АСИТ; [#] $p < 0,001$ – степень достоверности различий уровня синтеза ИФН- α у больных в период межсезонной ремиссии до начала фармакотерапии в сравнении с контрольной группой; ⁺ $p < 0,05$ – степень достоверности различий уровня синтеза ИФН- α у больных поллинозом в период палинции причинно-значимых растений на фоне фармакотерапии в сравнении с контрольной группой

Как видно из представленных данных, после проведения АСИТ имеет место стойкое достоверное повышение продукции ИФН- α ($p < 0,01$) как непосредственно после окончания курса АСИТ, так и сохранение тенденции к активации его синтеза в период палинции причинно значимых растений. В то же время при проведении фармакотерапии не выявлено достоверного изменения продукции данного типа интерферона.

Заключение

Таким образом, нами установлено, что при поллинозе имеет место дефицит продукции ИФН- α как в период сезонного обострения, так и в ремиссию заболевания. После проведения АСИТ установлено стойкое достоверное повышение продукции ИФН- α ($p < 0,01$) непосредственно после

окончания курса и сохранение тенденции к активации его синтеза в период палинации причинно значимых растений. При проведении фармакотерапии не выявлено достоверного изменения продукции данного типа интерферона. Подавление ИФН-синтезирующей активности лейкоцитов в системе *in vitro* подтверждает антагонистические отношения IgE и ИФН- α . Поскольку поллиноз – это классическое IgE-опосредованное заболевание, и известны сведения о том, что АСИТ снижает синтез IgE, при этом повышается синтез ИФН- α , это делает возможным в дальнейшем включение ИФН- α в комплекс терапии у больных поллинозом.

Литература

1. Алферов В.П., Ариненко Р.Ю., Аникин В.Б., Малиновская В.В. Система интерферона и интерферонотерапия: новые возможности и перспективы // Рос. семейный врач. – 1998. – №1. – С.35-41.
2. Вавиленкова Ю.А. Современные представления о системе интерферона // Вест. СГМА. – 2012. – №2. – С. 74-82.
3. Вавиленкова Ю. А., Мезенцева М.В., Мешкова Р.Я. Состояние системы интерферона у больных поллинозом и ее изменения при аллергенспецифической иммунотерапии // Рос. аллерг. журнал. – 2008. – №1 (Прил. 1). – С. 54-55.
4. Георгадзе И.И., Чурадзе Т.А., Миминошвили И.Т. Роль интерферона в патогенезе и течении бронхиальной астмы у детей // Педиатрия. – 1988. – №10. – С. 110-111.
5. Ершов Ф.И. Система интерферона в норме и при патологии. – М.: Медицина, 1996. – 155 с.
6. Медуницын Н.В. Цитокины и аллергия, опосредованная IgE // Иммунология. – 1993. – №5. – С. 11-13.
7. Порядин Г.В., Оршанко А.М., Салмаси Ж.М. и др. Активационные процессы в лимфоцитах пациентов с латентной сенсibilизацией // Патофиз. и эксперим. терапия. – 2012. – №1. – С. 9-18.
8. Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г. Роль интерферонов в противовирусной защите организма // Сиб. мед. журнал. – 2000. – №3. – С. 5-9.
9. Щеврук А.Н., Вдовиченко В.П., Бронская Г.М. и др. Интерфероны в современной фармакотерапии // Вест. СГМА. – 2014. – Т.13, №2. – С. 66-73.
10. Essayan D.M., Krishnaswamy G. Differential regulation of antigen-induced IL-4 and IL-13 generation from T-lymphocytes by IFN-alpha // J. Allergy Clin. Immunol. – 1999. – V.103, N1. – P. 451-452.
11. Hillyer R., Raviv N. Subtypes of I type IFN differentially enhance cytokine expression by suboptimally stimulated CD4(+) T cells // Eur. J. Immunol. – 2013. – V.43, N12. – P. 3197-3198.
12. Scadding G., Durham S. Mechanisms of sublingual immunotherapy in preschool children // Pediatr. Allergy Immunol. – 2012. – V.23. – P. 688-689.
13. Vandebroek K., Goris A. Cytokine gene polymorphisms in multifactorial diseases: gateways to novel targets for immunotherapy? // Trends Pharm. Sci. – 2003. – V.24, N6. – P. 132-136.

Информация об авторах

Вавиленкова Юлия Анатольевна – ассистент кафедры клинической иммунологии и аллергологии ГБОУ ВПО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: vavilenkova@gmail.com

Мезенцева Марина Владимировна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Центра по интерферонам ГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН. E-mail: vavilenkova@gmail.com

Мешкова Раиса Яковлевна – заслуженный врач РФ, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой клинической иммунологии и аллергологии ГБОУ ВПО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: klinimall@smolgmu.ru.