

СОСТОЯНИЕ ЦИТОКИНОВОЙ СИСТЕМЫ У ПОДРОСТКОВ С ПОЛЛИНОЗОМ

И.И. Балаболкин¹, В.А. Булгакова¹, Е.В. Беляева², В.В. Ботвиньева¹,
И.Е. Смирнов¹, Е.Г. Филянская¹

¹ ФГАУ «Национальный научно-практический центр здоровья детей»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

² ГБУЗ «Детская городская поликлиника № 42 Департамента здравоохранения города Москвы»,
г. Москва, Россия

В статье представлены результаты комплексного обследования 45 подростков 10–17 лет, страдающих поллинозом. Содержание цитокинов в сыворотке крови определяли с помощью иммуноферментного анализа. Установлено, что у подростков, страдающих поллинозами, в период ремиссии болезни отмечается увеличение продукции IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, сопровождающееся повышением уровня общего IgE в сыворотке крови и свидетельствующее о превалировании T2-иммунного ответа и участии атопии в их развитии. Повышение у подростков, страдающих поллинозами, уровня IL-12 в сыворотке крови более выражено у больных с хронической воспалительной патологией ЛОР-органов и, возможно, направлено на усиление синтеза IFN- α и подавление избыточного T2-иммунного ответа. Развитие у обследованных подростков дисбаланса Th1/Th2 с преобладанием T2-иммунного ответа и изменения цитокинового статуса являются определяющими факторами для возникновения у них болезней, обусловленных пыльцевой сенсибилизацией. Исследование совокупности различных цитокинов при поллинозах позволяет судить о функциональной активности различных клеток иммунной системы, тяжести аллергического процесса, степени активации Th2- и Th1-лимфоцитов, что следует учитывать при лечении этих форм аллергической патологии у детей.

Ключевые слова: подростки, атопия, поллинозы, цитокиновый профиль, интерлейкины, интерфероны, общий IgE.

Cytokine status in adolescents with pollinosis

I.I. Balabolkin¹, V.A. Bulgakova¹, E.V. Belyaeva², I.E. Smirnov¹,
V.V. Botvinyeva¹, E.G. Filyanskaya¹

¹ FSAI «National Scientific and Practical Center of Children's Health» of the Ministry of Health
of the Russian Federation, Moscow, Russia

² Detskaya Gorodskaya Poliklinika № 42, Moscow, Russia

Comprehensively there were examined 45 adolescents of 10-17 years, suffering from hay fever. Serum cytokine content was determined by ELISA. Adolescents suffering from hay fever, in the remission of the disease were established to show an increase of production IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, accompanied by an increase in total serum IgE level. It indicates to the prevalence of Th2-immune response and participation of atopy in their development. The elevation of the IL-12 serum level in adolescents suffering from hay fever, more pronounced in patients with chronic inflammatory pathology of the upper respiratory tract, is possibly aimed at the reinforcement of the synthesis of IFN- α and suppression of the excessive Th2-immune response. The development of Th1/Th2 imbalance with predominance of Th2 immune response and changes in the cytokine status in examined adolescents are the determining factors for the occurrence of diseases due to pollen sensitization in them. The study of the assembly of various cytokines in pollinosis permits to destine about the functional activity of various cells of the immune system, the severity of the allergic process, the degree of activation of Th2 and Th1 lymphocytes, which should be considered in the treatment of these forms of allergic diseases in children.

Keywords: pollinosis, atopy, adolescents, cytokine profile, interleukins, interferons, total IgE.

Поллинозы являются распространенной аллергической патологией у детей подросткового возраста. По данным эпидемиологических исследований, ими страдают от 5 до 20%

подростков [1–3]. Развитие поллинозов определяется воздействием генетических и средовых факторов [4, 5]. Возникновение поллинозов как болезни обуславливается сенсибилизацией орга-

низма к пыльцевым аллергенам с образованием специфических IgE и существенным влиянием атопии [5, 6]. Известно, что молекулярные механизмы развития атопических болезней связаны с изменением баланса цитокинов, продуцируемых Th1- и Th2-лимфоцитами за счет превалирования Th2-цитокинового профиля [7–9]. Влияние цитокинов на аллергический процесс может происходить на уровне образования специфических IgE, роста и дифференцировки эффекторных клеток, образования ими медиаторов [10–12]. Исследование различных цитокинов в совокупности позволяет судить о функциональной активности различных клеток иммунной системы, тяжести аллергического процесса, степени активации Th2- и Th1-лимфоцитов [13, 14]. Указанный аспект этой проблемы применительно к поллинозам у подростков до сего времени оставался мало исследованным.

Цель работы – изучение роли цитокинов в патогенезе поллинозов у подростков и возможности использования определения их показателей для оценки эффективности иммунотерапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под наблюдением находилось 45 подростков, страдающих поллинозом. Возраст больных составил от 10 до 17 лет, из них мальчиков – 32, девочек – 13. У 10 пациентов симптомами поллиноза являлись аллергический ринит и аллергический конъюнктивит. У 24 подростков, помимо аллергического ринита и конъюнктивита, имела место бронхиальная астма как проявление поллиноза.

У 11 пациентов с поллинозом отмечались сочетанные проявления аллергического риноконъюнктивита, бронхиальной астмы, атопического дерматита и крапивницы. По данным проведенного аллергологического обследования, у большинства подростков с поллинозами причинно-значимой была сенсibilизация к пыльце деревьев и трав. У 38 (84,4%) подростков поллинозу сопутствовала пищевая аллергия. У 17 (38,8%) подростков имела место изолированная пыльцевая сенсibilизация, у 28 (61,2%) больных помимо пыльцевой сенсibilизации была выявлена сенсibilизация к клещам.

Содержание IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, TNF- α , IFN- α и sIL-2R определяли методом иммуноферментного анализа (ELISA) в сыворотке крови с использованием реактивов BiOSource International (USA). Полученные показатели указанных цитокинов у обследованных больных сравнивались с показателями у практически здоровых подростков. За норму принимали следующие средние показатели цитокинов у подростков: sIL-2R – 315 ± 20 (U/ml), IL-4 – $0,8 \pm 0,2$ pg/ml, IL-5 – $4,4 \pm 0,48$ pg/ml, IL-6 – $36,69 \pm 3,3$ pg/ml, IL-8 – $16,25 \pm 1,4$ pg/ml, IL-10 – $3,6 \pm 3,7$ pg/ml, IL-12 – $89,9 \pm 5,3$ pg/ml, IL-13 – $18,9 \pm 1,9$ pg/ml, TNF- α – $7,33 \pm 0,6$ pg/ml, IFN- α – $1,01 \pm 0,3$ pg/ml.

Определение уровня общего IgE в сыворотке крови осуществляли с помощью иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов «ДИА плюс» (Россия). Определение уровня IgA, IgM, IgG в сыворотке крови проводили методом радиальной иммунодиффузии в агапе Difko, США.

Сведения об авторах:

Балаболкин Иван Иванович – д.м.н., профессор, член-корр. РАН, главный научный сотрудник отделения пульмонологии и аллергологии ФГАУ «ННПЦЗД» Минздрава России, 119991, г. Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, e-mail: balabolkin.ivan@yandex.ru.

Булгакова Вилля Ахтямовна – д.м.н., главный научный сотрудник отдела прогнозирования и планирования научных исследований ФГАУ «ННПЦЗД» Минздрава России, 119991, г. Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, e-mail: irvilbulgak@mail.ru.

Беляева Екатерина Викторовна – к.м.н., врач аллерголог-иммунолог ГБУЗ «Детская городская поликлиника № 42 Департамента здравоохранения города Москвы», 117463, г. Москва, Голубинская ул., д. 23, корпус 2.

Ботвиньева Виктория Владимировна – д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «ННПЦЗД» Минздрава России, 119991, г. Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, e-mail: botvinjeva@nczd.ru.

Смирнов Иван Евгеньевич – д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории нейробиологии и фундаментальных основ развития мозга ФГАУ «ННПЦЗД» Минздрава России, 119991, г. Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, e-mail: smirnov@nczd.ru.

Филянская Елена Геннадьевна – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «ННПЦЗД» Минздрава России, 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, e-mail: filyanskaya@nczd.ru.

Уровни цитокинов IgA, IgM, IgG, IgE исследовались в сыворотке крови в период ремиссии болезни.

Статистическая обработка полученных данных проводилась методами вариационной статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ содержания цитокинов в сыворотке крови у подростков с поллинозами позволил установить изменение уровней большинства исследованных цитокинов (таблица 1).

($p=0,131$). Средний уровень IL-5 в сыворотке крови подростков с поллинозами был в 4,5 раза выше содержания его у здоровых подростков и составил $19,72 \pm 2,5$ pg/ml ($p<0,001$). Более высокие показатели IL-5 выявлялись у больных с поллинозами с большей продолжительностью болезни (более 5 лет) ($p<0,05$), а также при поливалентной сенсibilизации по сравнению с изолированной пыльцевой сенсibilизацией ($p<0,05$).

При исследовании уровня IL-10 у подростков, страдающих поллинозами, было выявлено существенно значимое превышение содержания его по

Таблица 1. Изменение уровня цитокинов у подростков с поллинозами

Характер изменения уровня цитокинов	Исследованные цитокины
Увеличение продукции цитокинов	sIL-2R, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12
Снижение продукции цитокинов	IL-6, IL-8, TNF- α
Не отмечено изменений продукции цитокинов	IL-13, IFN- α

У большинства подростков, страдающих поллинозами, выявились повышенные средние уровни sIL-2R, IL-4, IL-5, IL-10 и IL-12 в сыворотке крови.

При исследовании содержания sIL-2R у подростков с поллинозами было выявлено превышение его среднего уровня в сыворотке крови в 1,8 раза ($558,60 \pm 65,36$ U/ml, $p<0,01$). Более высокий уровень sIL-2R был обнаружен у подростков с сочетанной респираторной и кожными симптомами пыльцевой аллергии по сравнению с изолированными проявлениями респираторной аллергии ($p<0,05$). У подростков с поллинозами, имеющих клинические признаки пищевой аллергии, показатели sIL-2R имели тенденцию к более высоким значениям, чем у подростков с поллинозами без пищевой аллергии ($p=0,136$).

У подростков, страдающих поллинозами, также были выявлены высокие уровни IL-4 в сыворотке крови ($25,38 \pm 5,72$ pg/ml) по сравнению с группой сравнения ($0,6 \pm 0,2$, $p<0,01$). Тенденция к более высоким значениям IL-4 выявлена у девочек по сравнению с этим показателем у мальчиков ($p=0,155$), а также у всех подростков с меньшей продолжительностью болезни

сравнению с контрольной группой ($p<0,01$). Средний уровень IL-12 в сыворотке крови ($284,92 \pm 51,33$ pg/ml) у подростков с поллинозами более чем в 3 раза превышал значение его в группе контроля ($p<0,001$), при этом была выявлена тенденция к более высокому уровню IL-12 у пациентов, имеющих хроническую патологию со стороны ЛОР-органов ($p=0,10$).

Среднее значение уровня IL-6 в сыворотке крови у подростков с поллинозами ($2,99 \pm 0,59$ pg/ml) оказалось существенно ниже по сравнению с данными у здоровых подростков из группы контроля ($p=0,001$). Выявлена тенденция к более низким уровням IL-6 у девочек по сравнению с мальчиками ($p=0,120$).

Исследование содержания IL-8 в сыворотке крови подростков с поллинозами выявило снижение его среднего уровня ($9,50 \pm 1,88$ pg/ml) в 1,7 раза по сравнению со здоровыми подростками ($p<0,01$). У подростков с поллинозами и сопутствующим обострением атопического дерматита по сравнению с больными, у которых не было атопического дерматита, уровень IL-8 имел тенденцию к повышению ($15,00 \pm 7,60$ pg/ml и $8,00 \pm 1,26$ pg/ml соответственно, $p=0,130$).

Уровень TNF- α у подростков с поллинозами был ниже, чем у здоровых подростков ($4,71 \pm 0,56$ pg/ml, $p < 0,001$). Более низкое содержание TNF- α в сыворотке крови обнаруживалось у подростков с сочетанными респираторными и кожными проявлениями поллиноза по сравнению с подростками, у которых клиническая картина болезни в период цветения причинно-значимых растений проявлялась изолированными проявлениями аллергического ринита или аллергического риноконъюнктивита ($2,67 \pm 0,32$ pg/ml и $6,5 \pm 0,65$ pg/ml соответственно, $p < 0,05$).

сенсibilизации. В тоже время при длительности поллиноза менее 2 лет у них отмечался более высокий уровень IL-13 в сыворотке по сравнению с содержанием его у пациентов с большей продолжительностью болезни ($109,8 \pm 0,7$ pg/ml и $12,93 \pm 5,34$ pg/ml соответственно, $p < 0,001$). У подростков с сочетанными кожными и респираторными проявлениями отмечались более высокие уровни IL-13, чем у больных с обусловленной пылевой сенсibilизацией респираторной аллергией ($46,30 \pm 26,50$ pg/ml и $9,93 \pm 6,01$ pg/ml соответственно, $p < 0,05$).

Таблица 2. Содержание цитокинов в сыворотке крови при поллинозах у детей и подростков

Показатели	Подростки (10–17 лет) с поллинозами, n=15, M $\pm$ m	Дети (младше 10 лет) с поллинозами, n=12, M $\pm$ m
sIL-2R (U/ml)	558,60 $\pm$ 65,36	558,25 $\pm$ 59,95
IL-4 (pg/ml)	25,38 $\pm$ 5,72	19,75 $\pm$ 6,82
IL-5 (pg/ml)	19,72 $\pm$ 2,55	14,68 $\pm$ 4,63
IL-6 (pg/ml)	2,29 $\pm$ 0,59	2,29 $\pm$ 0,60
IL-10 (pg/ml)	5,16 $\pm$ 0,39*	2,46 $\pm$ 0,83*
IL-12 (pg/ml)	284,92 $\pm$ 51,33	259,29 $\pm$ 73,64
IL-13 (pg/ml)	18,03 $\pm$ 7,19	6,90 $\pm$ 2,75
INF- α (pg/ml)	1,03 $\pm$ 0,28	1,23 $\pm$ 0,45

Примечание: * $p < 0,01$ – уровень значимых различий изученных показателей между показателями у подростков и у детей с поллинозами.

У подростков, страдающих поллинозами, не было выявлено статистически значимых изменений содержания в сыворотке крови IL-13 по сравнению с показателями его в контрольной группе, а также в зависимости от пола, сопутствующих заболеваний и характера пылевой

При определении уровня INF- α в сыворотке крови у подростков с поллинозами не было выявлено статистически значимых различий по сравнению с показателями группы контроля, а также не было обнаружено различий у них в зависимости от пола, длительности и

клинических особенностей поллиноза, сопутствующих болезней и характера сенсибилизации.

Для выяснения влияния возраста больных (на момент начала возникновения заболевания поллинозом) на иммунологические показатели проведено сравнительное исследование уровней цитокинов (sIL-2R, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, TNF- α , IFN- α) и сывороточных иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG, IgE) у подростков с началом поллиноза до 10 лет (34 человека) и у больных с поздним дебютом болезни – после 10 лет (11 человек). Было установлено, что у подростков с поздним началом поллинозов отмечалось более высокое содержание IL-13 по сравнению с подростками, у которых первые клинические признаки пыльцевой сенсибилизации возникли в детском возрасте ($39,20 \pm 21,90$ pg/ml и $10,47 \pm 5,18$ pg/ml соответственно, $p < 0,05$). Уровни IL-4 и IL-10 у подростков с дебютом поллиноза после 10 лет жизни также были выше, чем у подростков с развитием данного заболевания в более младшем детском возрасте (IL-4: $39,14 \pm 13,49$ pg/ml и $21,79 \pm 6,04$ pg/ml соответственно, $p = 0,20$ и IL-10: $5,96 \pm 1,8$ pg/ml и $4,94 \pm 0,39$ pg/ml соответственно, $p = 0,20$). Результаты выполненных исследований цитокинового профиля могут свидетельствовать о развитии дисбаланса Th1/Th2 у подростков с поллинозами с преобладанием Th2-ответа.

У подростков с поллинозами выявлено превышение среднего уровня общего IgE в сыворотке крови в среднем до $390,50 \pm 37,25$ МЕ/мл. Содержание общего IgE в сыворотке крови обследованных подростков с более ранней манифестацией клинических проявлений поллинозов (до 10 лет) имело тенденцию к выявлению более высоких уровней его по сравнению с больными, у которых поллиноз развивался в подростковом возрасте ($417,36 \pm 44,05$ МЕ/мл и $294,57 \pm 60,31$ МЕ/мл соответственно).

При исследовании сывороточных иммуноглобулинов классов А, М, G у обследованных подростков, страдающих поллинозами, выявлена тенденция к повышению их уровня по сравнению с нормальными показателями.

Было проведено сопоставление уровней исследованных цитокинов у подростков, страдающих поллинозами, с этими же показателями

при поллинозах у детей младше 10 лет (таблица 2). В результате проведенного анализа обнаружилось, что средний уровень сывороточного IL-10 в группе подростков в 2 раза выше по сравнению с группой детей ($p < 0,01$). Статистически значимых различий в содержании других цитокинов между показателями у подростков и у детей выявлено не было.

Между изучаемыми показателями у подростков был выявлен ряд корреляционных связей. Установлена прямая зависимость между уровнями: IL-4 и IL-6 ($r = 0,92$; $p < 0,05$), IL-10 и IL-13 ($r = 0,67$; $p < 0,01$), что, возможно, обусловлено повышенной активацией Th2-лимфоцитов, синтезирующих указанные цитокины.

Обнаружены положительные корреляционные связи между количеством эозинофилов в периферической крови и содержанием в сыворотке крови таких цитокинов, как IL-6 ($r = 0,36$; $p < 0,05$), IL-13 ($r = 0,45$; $p = 0,05$), TNF- α ($r = 0,61$; $p < 0,05$), что может быть связано с влиянием этих цитокинов на процессы пролиферации, дифференцировки и активации эозинофильных лейкоцитов.

У подростков, страдающих поллинозами, выявлена прямая взаимосвязь между уровнями TNF- α и IgG ($r = 0,36$; $p < 0,05$), что может быть объяснено влиянием IFN- α на процесс созревания плазматических клеток, синтезирующих IgG [15, 16].

У больных поллинозом подростков обнаружена прямая корреляция между содержанием в сыворотке крови TNF- α и IL-6 ($r = 0,46$; $p < 0,05$), что, возможно, связано со способностью TNF- α индуцировать синтез других провоспалительных цитокинов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У подростков, страдающих поллинозами, в период ремиссии болезни отмечается увеличение продукции IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, сопровождающееся повышением уровня общего IgE в сыворотке крови и косвенно свидетельствующее о превалировании Th2-иммунного ответа и участии атопии в их развитии.

Выявленное увеличение уровня растворимых рецепторов IL-2 свидетельствует о возможной активации Т-лимфоцитов в период ремиссии поллинозов.

Обнаруженное повышение уровня IL-10, обладающего иммунорегуляторными свойствами, может рассматриваться как компенсаторная реакция организма, направленная на уменьшение гиперактивации Th2-лимфоцитов.

Повышение у подростков, страдающих поллинозами, уровня IL-12 в сыворотке крови, наиболее выраженного у больных с хронической воспалительной патологией ЛОР-органов, возможно, направлено на усиление синтеза IFN- α и подавление избыточного Th2-иммунного ответа.

Выявленное снижение уровня IL-6, IL-8, TNF- α и повышение IL-12 свидетельствует о возможном возникновении нарушений в системе регуляции синтеза провоспалительных цитокинов при поллинозах у подростков.

Развитие у подростков дисбаланса Th1/Th2 с преобладанием Th2-иммунного ответа и изменений в цитокиновом статусе является определяющим фактором для возникновения у них болезней, обусловленных пыльцевой сенсибилизацией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Szeftler S.J. Examining causes of the urban (inner city) asthma epidemic: Implementing new management strategies // *AllergyAsthmaProc.* 2016. Vol. 37, №1. P. 4–8.
2. Epidemiology of allergic conjunctivitis: clinical appearance and treatment patterns in a population-based study / A. Leonardi, A. Castegnaro, A.L. Valerio et al. // *Curr. Opin Allergy Clin. Immunol.* 2015. Vol. 15, №5. P. 482–488.
3. Broide D.H. The pathophysiology of allergic rhinoconjunctivitis // *Allergy Asthma Proc.* 2007. Vol. 28, №4. P. 398–403.
4. Links between pollen, atopy and the asthma epidemic / P.E. Taylor, K.W. Jacobson, J.M. House et al. // *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2007. Vol. 144, №2. P. 162–170.
5. Балаболкин И.И., Корюкина И.П., Ксензова Л.Д. Поллинозы у детей. М.: Медицинская книга, 2004. 158 с.
6. The paradigm of cytokine networks in allergic airway inflammation / R. Pawankar, M. Hayashi, S. Yamanishi et al. // *Curr. Opin Allergy Clin. Immunol.* 2015. Vol. 15, №1. P. 41–48.
7. Effector cell signature in peripheral blood following nasal allergen challenge in grass pollen allergic individuals / M.H. Shamji, V. Bellido, G.W. Scadding et al. // *Allergy.* 2015. Vol. 70, № 2. P. 171–179.
8. Современный взгляд на развитие бронхиальной астмы у детей / И.И. Балаболкин, В.А. Булгакова, И.Е. Смирнови др. // *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского.* 2014. Т. 93, №3. P. 92–100.
9. Cytokine profiles in nasal fluid of patients with seasonal or persistent allergic rhinitis / K. König, C. Klemens, K. Ederet et al. // *Allergy Asthma Clin. Immunol.* 2015. Vol. 11, №1. P. 26.
10. Иммуномониторинг в оценке эффективности иммунотерапии атопической бронхиальной астмы у детей / В.А. Булгакова, И.И. Балаболкин, И.Е. Смирнови др. // *Российский педиатрический журнал.* 2013. №4. P. 15–19.
11. Current and future biomarkers in allergic asthma / U.M. Zissler, J. Esser-von Bieren, C.A. Jakwerth et al. // *Allergy.* 2016. Vol. 71, №4. P. 475–494.
12. Cytokine production in peripheral blood cells during and outside the pollen season in birch-allergic patients and non-allergic controls / K. Wosinska-Becler, H. Plewako, L. Hekansson et al. // *Clin. Exp. Allergy.* 2004. Vol. 34, №1. P. 123–130.
13. Cook E.B. Tear cytokines in acute and chronic ocular allergic inflammation // *Curr. Opin Allergy Clin. Immunol.* 2004. Vol. 4, №5. P. 441–445.
14. Scadding G. Cytokine profiles in allergic rhinitis // *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2014. Vol. 14, №5. P. 435.
15. Meritet JF, Maury C., Tovey M.G. Effect of oromucosal administration of IFN- α on allergic sensitization and the hypersensitive inflammatory response in animals sensitized to ragweed pollen // *J. Interferon Cytokine Res.* 2001. Vol. 21, №8. P. 583–593.
16. Popescu F.D. Molecular biomarkers for grass pollen immunotherapy // *World J. Methodol.* 2014. Vol. 4, №1. P. 26–45.