

ЗНАЧИМОСТЬ КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В ОБЕСПЕЧЕНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ ОБЩЕВАРИАБЕЛЬНОЙ ИММУННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Сизякина Л.П., Андреева И.И., Данилова Д.И.

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
г. Ростов-на-Дону, Россия

Резюме. Стандартом лечения ОВИН является регулярное пожизненное использование заместительной терапии иммуноглобулинами класса G, однако не во всех случаях ее применения достигается полный контроль в отношении стабилизации очагов хронической инфекции. Цель – анализ изменений в клеточном компоненте адаптивного и врожденного иммунного ответа в зависимости от эффективности заместительной терапии пациентов с инфекционным фенотипом ОВИН. Группу наблюдения составили 15 человек с ОВИН, с раннего детства имеющие острые респираторные инфекции затяжного характера с последующим развитием осложнений и необходимостью продолжительного применения антибиотиков.

В среднем в возрасте после 15 лет интенсивность инфекционной манифестации недостаточности антителопродукции составляла 6-8 раз в течение года. После верификации диагноза пациенты получали заместительную терапию вначале в дозе насыщения, а после стабилизации IgG на уровне 7-8 г/л – ежемесячно в поддерживающей дозе. Анализировали клиническое течение заболевания в течение полного года заместительной терапии и оценивали показатели клеточного звена иммунитета.

У всех пациентов через год терапии, соответствующей клиническими рекомендациями, отмечено улучшение показателей качества жизни, уменьшение случаев рецидивов бактериальных инфекций. В то же время 40% из них продолжали болеть в среднем $5,4 \pm 1,1$ раза в год и имели потребность в продолжительных курсах антибиотикотерапии. Анализ результатов оценки иммунного статуса не выявил статистически значимых различий в насыщении плазмы IgG между группами пациентов с различной эффективностью лечения: 8,7 (8-9) г/л и 9,1 (8,5-10,5) г/л, при $p = 0,5$. Отличительные признаки связаны с характеристикой клеточных компонентов и проявляются тем, что при меньшем эффекте ВВИГ-терапии больше относительное количество Т-эффекторов, содержащих литические гранулы гранзима В и число $CD14^+CD284^+$ моноцитов, ниже способность к спонтанной продукции активных форм кислорода нейтрофилами, меньше циркулирующих в периферическом кровотоке $CD16^+$ натуральных киллеров.

Полученные данные иллюстрируют информативность мониторинга не только уровня сывороточных иммуноглобулинов G класса, но и параметров клеточного звена иммунного ответа. Такой

Адрес для переписки:

Андреева Ирина Ивановна
ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ
344022, Россия, г. Ростов-на-Дону,
Нахичеванский пер., 29.
Тел.: 8 (863) 263-44-41.
E-mail: iai3012@rambler.ru

Address for correspondence:

Andreeva Irina I.
Rostov State Medical University
344022, Russian Federation, Rostov-on-Don,
Nakhichevansky lane, 29.
Phone: 7 (863) 263-44-41.
E-mail: iai3012@rambler.ru

Образец цитирования:

Л.П. Сизякина, И.И. Андреева, Д.И. Данилова
«Значимость клеточного звена иммунной системы в обеспечении эффективности заместительной терапии у больных общевариабельной иммунной недостаточностью» // Медицинская иммунология, 2020. Т. 22, № 4. С. 799-804.
doi: 10.15789/1563-0625-IOC-1989

© Сизякина Л.П. и соавт., 2020

For citation:

L.P. Siziakina, I.I. Andreeva, D.I. Danilova "Importance of cellular immunity link for efficiency of replacement therapy in common variable immune deficiency", *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2020, Vol. 22, no. 4, pp. 799-804.
doi: 10.15789/1563-0625-IOC-1989

DOI: 10.15789/1563-0625-IOC-1989

анализ может иметь существенное значения в качестве прогностического критерия эффективности ВВИГ-терапии. Снижение ряда параметров клеток врожденного иммунитета служит основанием для формулирования концепции комбинированного лечения и применения средств, воздействующих на свойства иммунокомпетентных клеток.

Ключевые слова: ОВИН, заместительная терапия ВВИГ, клетки иммунной системы

IMPORTANCE OF CELLULAR IMMUNITY LINK FOR EFFICIENCY OF REPLACEMENT THERAPY IN COMMON VARIABLE IMMUNE DEFICIENCY

Sizyakina L.P., Andreeva I.I., Danilova D.I.

Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Abstract. Lifetime use of IgG replacement therapy is the standard of CVID treatment. However, full control over stabilization of chronic infection loci is not always achieved, even if this therapy is continuously applied. The purpose of this study was to carry out comparative analysis of changes in cellular component of adaptive and innate immune response, depending on effectiveness of replacement therapy of patients with infectious CVID phenotype. The observation group consisted of 15 patients with CVID who were diagnosed since early childhood in 100% of cases. They had prolonged respiratory infections followed by the development of complications requiring continuous treatment with antibiotics.

After reaching mean age of 15 years old, the intensity of infection-associated antibody deficiency was 6-8 times per year. After verification of the diagnosis, the patients received replacement therapy, first at the saturation dose, and, after stabilization of IgG at the level of 7-8 g/l, at the monthly maintenance dose. The clinical course of the disease was traced during a full year of replacement therapy, and the cellular immunity indices were evaluated. In all patients, after a year of therapy corresponding to clinical guidelines, there was an improvement in quality of life indices, decreased rates of recurrent bacterial infections. At the same time, 40% of them continued to suffer, on average, 5.4 ± 1.1 times a year and required long-term courses of antibiotic therapy. Evaluation of immune status did not reveal statistically significant differences in IgG plasma saturation between the groups of patients with different treatment efficiency: 8.7 (8-9) g/l and 9.1 (8.5-10.5) g/l, at $p = 0.5$. The differences related to immune cell factors in cases of smaller effect of IVIG therapy are manifested in higher relative numbers of T effectors containing lytic Granzyme B granules and CD14⁺CD284⁺ monocytes, accompanied by lower spontaneous active oxygen forms produced by neutrophils, lesser contents of CD16⁺ natural killers in peripheral blood.

The obtained data illustrate the value of monitoring, not only serum IgG level, but also the parameters of the cellular immune response. Such analysis may be essential as a prognostic criterion for efficacy of IVIG therapy. Reduced levels of some parameters of innate immunity cells serves a basis to formulate the concept of combined treatment and usage of tools that alter functions of immunocompetent cells.

Keywords: CVID, IVIG replacement therapy, cellular immunity

Исследование проведено в рамках государственного задания на выполнение прикладных научных исследований, № госрегистрации: АААА-А18-118013090213-5.

Введение

Общевариабельная иммунная недостаточность (ОВИН) является наиболее частым пер-

вичным иммунодефицитом (ПИД) у взрослых с распространенностью 1:25 000 [5, 6]. Уже само определение этого варианта ПИД отражает его отличительную характеристику: разнообразие клинических фенотипов и гетерогенная группа генетических поломок. Вне зависимости от природы первичного дефекта, кульминацией ОВИН является недостаточность антител и поздняя кли-

ническая манифестация [8]. В связи с тем, что основным проявлением генетических ошибок иммунитета в данном случае является угнетение антителопродукции, логичным представляется факт применения иммуноглобулинотерапии для замещения недостающего эффекторного механизма адаптивной защиты. В силу данного факта в настоящее время стандартом лечения ОВИН является регулярное пожизненное использование внутривенных (ВВИГ) или подкожных иммуноглобулинов класса G. В отношении пациентов с инфекционным фенотипом ОВИН накопленный опыт демонстрирует эффективность такого лечения с позиции как субъективного улучшения качества жизни, так и объективного снижения частоты и тяжести инфекций [2, 7]. Однако далеко не во всех случаях улучшение клинической симптоматики существенно, при этом нет общепризнанных прогностических критериев эффективности заместительной терапии [3, 4, 10]. Тот факт, что в реализацию противоинфекционной защиты вовлечен не только гуморальный иммунитет, привлекает внимание к изучению особенностей клеточных факторов иммуногенеза в условиях проведения заместительной терапии.

Цель настоящего исследования — выявить изменения в клеточном компоненте адаптивного и врожденного иммунного ответа в зависимости от эффективности заместительной терапии пациентов с инфекционным фенотипом ОВИН.

Материалы и методы

Группу наблюдения составили 15 пациентов, 11 женщин и 4 мужчины. Средний возраст $39,7 \pm 11,7$ лет, возраст возникновения первых клинических проявлений 25 ± 10 лет, возраст выявления ОВИН $32,6 \pm 12,4$ лет. Диагноз верифицирован в соответствии с критериями International Union of Immunological Societies (IUIS) и Федеральными клиническими рекомендациями по диагностике и лечению пациентов с первичными иммунодефицитами гуморального звена. После выявления ОВИН пациенты получили курс терапии ВВИГ в режиме насыщения (0,8 г/кг массы тела), по стабилизации уровня IgG не менее 7,5–8,0 г/л дальнейшая заместительная терапия проводилась в поддерживающей дозе 0,4 г/кг массы тела, ежемесячно. В настоящей работе представлены данные ретроспективной оценки клинической манифестации заболевания в течение полного года регулярной заместительной терапии. За этот период проведен подсчет частоты ОРВИ с развитием осложнений либо без них, количества эпизодов обострений в очагах хронических инфекций, контроль уровня IgG перед каждой оче-

редней инфузией. Кроме того, каждые три месяца осуществлялась оценка параметров иммунного статуса в соответствии с методологией, направленной на комплексный анализ количественных и функциональных параметров клеточных и гуморальных компонентов адаптивного и врожденного иммунного ответа [1]. Использовали проточную цитофлюориметрию с соответствующим целям исследования набором моноклональных антител (производства Beckman Coulter, США), НСТ-тест со спектрофотометрическим учетом результатов, реакцию радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини. Статистическая обработка данных иммунологического анализа проведена с использованием программ Statistica 10 (StatSoft Inc., США) и R (версия 3.2, R Foundation for Statistical Computing, Австрия). Описательную статистику количественных признаков представляли в виде центральной тенденции медианы и межквартильного размаха (25 и 75 процентиля), представлено в тексте как Me ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$). Сравнение медиан в группах осуществляли с помощью теста Манна–Уитни. Сравнение средних уровней в группах проводилось с использованием критерия Вилкоксона для связанных выборок. Различия признавались статистически значимыми на уровне $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты анализа анамнестических данных пациентов, составивших группу наблюдения, показали, что в 100% случаев с раннего детства отмечались ОРВИ затяжного характера с последующим развитием осложнений и необходимостью продолжительного применения антибиотиков. У всех пациентов в анамнезе регистрировались ежегодные бронхиты при вариабельной частоте рецидивов в течение года. У 5 человек (33%) острый бронхит приводил к осложнениям в виде повторных эпизодов пневмоний, у одного развился адгезивный плеврит. У 5 человек (33%) диагностировали синуситы с потребностью в проведении пункций и применением антибиотиков с продолжительностью курсов выше стандартных схем. У троих пациентов (20%) проводилось лечение гнойного отита, в ряде случаев диагностировано снижение слуха. Помимо рецидивов бактериальных инфекций, у трех человек (20%) отмечались частые (до 5–7 эпизодов в год) рецидивы герпетических высыпаний. В среднем в возрасте после 15 лет интенсивность инфекционной манифестации недостаточности антителопродукции возросла и в среднем в группе составила 6–8 раз в течение года. У троих человек (20%) развилась бронхоэктатическая болезнь на

фоне ежегодных эпизодов пневмонии в течение нескольких лет. В возрастном промежутке от 20 до 30 лет этим больным было проведено хирургическое лечение (билобэктомия и пульмонэктомия). У одного пациента (6,6%) диагностирован адгезивный плеврит на фоне двух рецидивов пневмоний в течение года. У двух пациенток (13%) зарегистрированы частые рецидивы бактериальных инфекций придаточных пазух носа, приведшие к развитию менингита. У двух других больных диагностированы ежегодные синуситы с потребностью в проведении пункций 1-2 раза в год, гнойные отиты.

После верификации диагноза и насыщения IgG на уровне 7-8 г/л пациенты получали ежемесячную терапию ВВИГ в поддерживающей дозе. Длительный клинико-иммунологический мониторинг пациентов с ОВИН позволил провести ретроспективную оценку эффективности заместительной терапии в условиях ее регулярного проведения в течение года.

У всех пациентов через год патогенетической терапии, соответствующей клиническими рекомендациями, отмечено улучшение показателей качества жизни, значительное уменьшение случаев рецидивов бактериальных инфекций, сокращение частоты и длительности приема антибиотиков. Так, если до начала заместительной терапии средняя частота обострений очагов хронических инфекций в наблюдаемой группе была в пределах $6,9 \pm 1,0$, то уже через год составила $3,1 \pm 1,8$. Угрожающих жизни состояний, таких как сепсис, менингит, пневмония, не регистрировалось. Между тем, несмотря на то, что условия заместительной терапии были соблюдены у всех (значения претрансфузионного уровня сывороточных иммуноглобулинов не снижались менее 7 г/л), имелись различия в степени выраженности клинических проявлений в группе в целом. Так, если у 9 человек (в 60% случаев) частота эпизодов инфекций за год в среднем составила $1,3 \pm 1$ при длительности приема антибиотиков не более 7 дней, то 6 человек (40 %) продолжали болеть в среднем $5,4 \pm 1,1$ раз в год и имели потребность в продолжительных курсах антибиотикотерапии (10-14 дней). Соответственно, для решения поставленных нами задач и выявления возможных отличий в показателях иммунного реагирования, все пациенты была разделена на 2 группы в зависимости от степени выраженности клинической манифестации ОВИН в условиях регулярного применения ВВИГ. При сопоставлении данных о насыщении плазмы IgG статистически значимых различий между группами не выявлено: 8,7 (8-9) г/л и 9,1 (8,5-10,5) г/л, $p = 0,5$. Не отлича-

лись группы и по числу В-лимфоцитов периферической крови $CD20^+$ ($\times 10^9$ /л) 0,15 (0,12-0,21) и 0,13 (0,05-0,18), $p = 0,6$. Сопоставление параметров, отражающих Т-систему адаптивного иммунитета, не показало статистически достоверной разницы в количестве Т-клеток $CD3^+$ ($\times 10^9$ /л) 1,4 (1,1-1,6) и 1,5 (1,2-1,5), $p = 0,66$. Не отличались группы между собой и по распределению субпопуляций Т-лимфоцитов: $CD3^+CD4^+$ ($\times 10^9$ /л) 0,59 (0,37-0,81) и 0,55 (0,46-0,72), $p = 0,8$; $CD3^+CD8^+$ ($\times 10^9$ /л) 0,46 (0,42-0,51) и 0,49 (0,43-0,52), $p = 0,6$. Следует отметить тенденцию к увеличению относительного числа Т-регуляторных клеток при меньшей эффективности ВВИГ: $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ (%) 1,8 (1,1-2,5) и 1,3 (1-2,2), $p = 0,08$. Единственным показателем, имеющим достоверный критерий отличия $p = 0,0001$, является относительное содержание функционально активных Т-эффекторов. При менее выраженном эффекте заместительной терапии число Т-клеток, содержащих литические гранулы гранулы В, больше, чем при лучшей эффективности: $CD8^+Gr^+$ (%) 26 (21-30) и 40 (33-42), $p = 0,0001$.

В параметрах, отражающих механизмы реализации врожденных иммунных реакций, различия между группами сравнения затрагивают все обследованные нами виды клеточных элементов. Так, у пациентов с меньшей эффективностью ВВИГ-терапии моноциты обладают готовностью к распознаванию большего числа паттернов через TLR4. Этот факт документирует количество $CD14^+CD284^+$ клеток, (%): 21 (16,5-31,5) в условиях большего эффекта и 41 (36-48) при менее выраженной эффективности, $p = 0,003$. Различия в показателях нейтрофильного фагоцитоза также иллюстрируют статистически подтвержденную разницу в значениях метаболической активности этих клеток. При меньшей эффективности заместительной терапии способность к спонтанной продукции активных форм кислорода ниже, нежели при менее значимом эффекте: НСТсп (у. е.) 93 (92-94) и 102 (95-104) соответственно, при $p = 0,002$. Статистически достоверные отличия нашли отражения и в показателях системы натуральных киллеров. Так, у пациентов с менее выраженным эффектом лечения посредством замещения иммуноглобулинов, меньшее относительное число NK по отношению к пациентам из группы сравнения: $CD16^+$ (%) 6 (4-10) и 9 (6-12), $p = 0,04$.

Таким образом, полученные нами результаты отчетливо демонстрируют, что ВВИГ-терапия ОВИН, приводя к насыщению иммуноглобулинами класса G до уровня практически здоровых, не у всех пациентов обеспечивает полную ста-

близацию инфекционной симптоматики. Не умаляя безусловной значимости заместительной терапии при ПИД гуморального звена, следует отметить, что ее применение не всегда имеет достаточный эффект в контроле клинической манифестации. Представленные данные согласуются с публикациями других исследователей, в которых показано сохранение выраженной инфекционной симптоматики нарушения анти-телообразования при нормальных значениях IgG и, наоборот, ее отсутствие при уровнях IgG менее 7 г/л (4-9). Объяснение недостаточной эффективности ВВИГ-терапии находят в невозможности только за счет IgG обеспечить полноценность мукозальной иммунной защиты. Отсутствие либо значительное угнетение IgA и IgM у пациентов с ОВИН даже в условиях регулярной ВВИГ-терапии нарушает мукоцилиарный клиренс, приводит к активации бактериальной адгезии, что, в свою очередь требует высоких эффекторных потенциалов клеточных компонентов местного иммунитета [3]. Полученные нами результаты анализа показателей системного иммунитета убедительно демонстрируют роль клеточных факторов в клинической манифестации неполноценности гуморального звена. Так, на фоне регулярной заместительной терапии в группе пациентов, подверженных в большей степени острым респираторным инфекциям и развитию осложнений, снижены функциональные характеристики фагоцитарного звена, угнетены

процессы созревания полноценно реагирующих натуральных киллеров. С другой стороны, усиление экспрессии моноцитами TLR4 и повышение доли цитолитически активных Т-эффекторов в условиях неполного эффекта заместительной терапии служит иллюстрацией дальнейшего вовлечения компенсаторных ресурсов врожденной и адаптивной иммунной защиты.

Заключение

У пациентов при неполной компенсации клинической картины ОВИН на фоне ВВИГ, в сравнении с благоприятным вариантом ее течения, выявлена редукция количественных параметров лимфоцитов врожденного иммунитета, кислородпродуцирующей активности нейтрофилов, повышение экспрессии TLR4 и цитолитической активности Т-клеток. Динамическое наблюдение за пациентами с ОВИН, получающими ВВИГ-терапию, диктует необходимость мониторингирования параметров клеточного звена иммунного ответа в качестве прогностического критерия эффективности лечения. Полученные данные о снижении функциональных параметров клеток врожденного иммунитета на фоне заместительной терапии служат основанием для формулирования концепции комбинированной терапии, где регулярное введение ВВИГ можно сочетать с применением иммуномодуляторов, воздействующих на функциональные свойства клеток иммунной системы.

Список литературы / References

1. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Ярилин А.А. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы: руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 352 с. [Khaitov R.M., Pinigin B.V., Yarilin A.A. Guidelines for clinical immunology. Diagnosis of diseases of the immune system: a guide for doctors]. Moscow: GEOTAR-Media, 2009. 352 p.
2. Ameratunga R., Woon S.T., Gillis D., Koopmans W., Steele R. New diagnostic criteria for common variable immune deficiency (CVID), which may assist with decisions to treat with intravenous or subcutaneous immunoglobulin. *Clin. Exp. Immunol.*, 2013, Vol. 174, no. 2, pp. 203-211.
3. Baumann U., Miescher S., Vonarburg C. Immunoglobulin replacement therapy in antibody deficiency syndromes: are we really doing enough? *Clin. Exp. Immunol.*, 2014, no. 178, pp. 83-85.
4. Edwards E.S.J., Bosco J.J., Aui P.M., Stirling R.G., Cameron P.U., Chatelier J., Hore-Lacy F., O'Hehir R.E., van Zelm M.C. Predominantly antibody-deficient patients with non-infectious complications have reduced naive B, Treg, Th17, and Tfh17 cells. *Front. Immunol.*, 2019, no. 10, 2593. doi: 10.3389/fimmu.2019.02593.
5. Gathmann B., Binder N., Ehl S., Kindle G. The European internet-based patient and research database for primary immunodeficiencies. ESID Registry Working Party. *Clin. Exp. Immunol.*, 2012, Vol. 167, no. 3, pp. 479-491.
6. Li R., Zheng Y. Common variable immunodeficiency with genetic defects identified by whole exome sequencing. *BioMed Res. Int.*, 2018, 3724630. doi: 10.1155/2018/3724630.
7. Quinti I., Soresina A., Guerra A., Rondelli R., Spadaro G., Agostini C., Milito C., Trombetta A.C., Visentini M., Martini H., Plebani A., Fiorilli M. Effectiveness of immunoglobulin replacement therapy on clinical

outcome in patients with primary antibody deficiencies: results from a multicenter prospective cohort study. *J. Clin. Immunol.*, 2011, Vol. 31, no. 3, pp. 315-322.

8. Tangye S.G., Al-Herz W., Bousfiha A., Chatila T., Cunningham-Rundles C., Etzioni A., Franco J.L., Holland S.M., Klein C., Morio T., Ochs H.D., Oksenhendler E., Picard C., Puck J., Torgerson T.R., Casanova J.L., Sullivan K.E. Human inborn errors of immunity: 2019 update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J. Clin. Immunol.*, 2020, Vol. 40, pp. 24-64.

9. Shillito B., Gennery A. X-Linked agammaglobulinaemia: outcomes in the modern era. *Clin. Immunol.*, 2017, Vol. 183, pp. 54-62.

10. Sizyakina L., Andreeva I., Antonova E., Kharitonova M. Effect of replacement therapy on the T-cell function in patients with primary agammaglobulinemia. *J. Clin. Immunol.*, 2014, Vol. 34, pp. 696-747.

Авторы:

Сизякина Л.П. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой клинической иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

Андреева И.И. — д.м.н., профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

Данилова Д.И. — аспирант кафедры клинической иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

Authors:

Sizyakina L.P., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Clinical Immunology and Allergology, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Andreeva I.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Clinical Immunology and Allergology, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Danilova D.I., Graduate Student, Department of Clinical Immunology and Allergology, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Поступила 20.03.2020

Отправлена на доработку 20.04.2020

Принята к печати 23.04.2020

Received 20.03.2020

Revision received 20.04.2020

Accepted 23.04.2020