

ИМУНОЛОШКИ ОДГОВОР НА ИМУНОТЕРАПИЈУ

Смилић Јб.

Интерна клиника, Медицински факултет Приштина, Косовска Митровица

IMMUNE RESPONSE TO IMMUNOTHERAPY

Смилић Јб.

Internal clinic, Medical faculty Pristina, Kosovska Mitrovica

SUMMARY

Allergen-specific immunotherapy (SIT) is the practice of administering gradually increasing quantities of an allergen extract to an allergic subject to ameliorate the symptoms associated with the subsequent exposure to the causative allergen. The major objectives of SIT in allergy disorders are, in the short term, to reduce the allergic triggers precipitating symptoms, and, in the long term, to decrease allergy inflammation and nonspecific bronchial hyperreactivity when bronchial remodeling is not prominent. The mechanisms of SIT are complex but it was convincingly shown to act by modifying Th2 cell responses either by immune deviation (increase in Th0/Th1) or T cell anergy (decrease in Th2/Th0) or more likely both. Specific immunotherapy is the only treatment that may alter the natural course of allergic diseases.

Keywords: Specific immunotherapy.

САЖЕТАК

Имунотерапија је метода лечења атопијских алергијских болести путем администрације специфичног алергенског екстракта у дозама које се субсеквентно повећавају у циљу мењања или изостајања алергијског одговора по излагању особе узрочном специфичном алергену. Циљеви оваквог вида лечења су како краткорочни, смањење симптома алергијске реакције, тако и дугорочни, који се огледају у смањењу имунолошке инфламације и бронхијалне хиперреактивности пре него што се успостави дефинитивно ремоделовање бронхијалног стабла. Механизми којим имунотерапија мења нормалан ток алергијске респонзивности су комплексни и могу да варирају зависно од алергена и начина имунизације. Новије студије различитих аутора све више показују да имунотерапија модификује Т ћелијски одговор, било имуним свичингом са Th/Th1 или ћелијском анергијом (смањењем Th2/Th) или укључивањем оба механизма.

Кључне речи: Специфична имунотерапија.

УВОД

Концепт алергијске имунотерапије, базира се на промени тока алергијске реактивности.(7) Уношењем, у почетку врло малих количина специфичног алергена, на који је особа алергична, уз постепено повећање дозе, све до губитка клиничких знакова сензибилизације, тај ток се мења и уједно третира. Наравно имунотерапију не треба радити код свих пацијената, некритично. За то је потребан правилан одабир пацијената уз коректну документованост и оправданост индикација за започињање овакве врсте терапије.

Имунотерапија у алергијским обољењима није новина. Пуно студија публиковано на ову тему, описује успешност оваквог вида лечења, нарочито када се ради о уобичајеним аерозагађењима као сто су: прашина, полени, анимални протеини, или рекомбинантни протеини добијени из њих, затим системски алергени, попут венома различитих врста инсеката, (углавном хиперпортера - пчеле и осе). Не могу се међутим занемарити пропратне реакције, које некада могу бити и фаталне, узроковане неконтролисаним анафилаксом. (4,10-12)

Са клиничке тачке гледишта, имунотерапија на веному инсеката пружа могућност за врло ефектно ку-

пирање потенцијално по живот опасних алергијских (анафилактогичких) одговора, на уједе инсеката, и са прагматичнијег имунолошког становишта, обезбеђује користан модел са јасно дефинисаним циљем (способности сензитивних субјеката да толеришу концентрације венома, много веће од оних које су садржане у природном убоду). (1-4)

Друга главна предност је да многи људи, који развију тешку алергијску осетљивост на ујед пчеле или осе, уопште нису атопичари, тако да анализирање алергијског одговора није компромитовано атопијским наслеђем.

Тема овог рада се углавном базира на две студије које су се бавиле проучавањем одговарајућих имунолошких промена у току имунотерапије на веноме инсеката-публификоване у издању Клиничке и Експерименталне имунологије. У једној Jutel и сарадници обрађују феномен брзе десензибилизације (раш имунотерапија), алергијских ефекторних ћелија, праћене дозама одржавања, без индуковања анафилаксије, кроз кондезоване имунолошке протоколе од неколико сати уместо конвенционалних неколико месеци или недеља. Док се

студија Tsicoropoulos и сарадника бави проучавањем експресије извесних костимулаторних сигнала који можда могу бити важни у регулацији Т ћелијског одговора, у контексту антигенске презентације антиген-презентирајућим ћелијама. (АРС). (2) Пре него што се пређе на детаљније разматрање нових открића, неопходно је осврнути се на већ устаљен имунолошки одговор на имунотерапију, како би се новија открића и спекулације могле разматрати у том контексту.

ДИСКУСИЈА

Алергијска реактивност, је примарно изазвана интеракцијом алергена и антиген специфичних IgE везаних за Fc рецепторе јаког афинитета на површини мастоцита и базофила. Унакрсно премоставање IgE/рецептор комплекса резултује дегранулацијом ових ћелија и ослобађањем медијатора. Ови медијатори укључују вазоактивне аminer (као хистамин), ензиме (trypase и himaze) и метаболите арахидонске киселине (утлавном Леукотриен C4-(LTC4) и простагландин E2 (PGE2), између осталих, све са веома потентним ефекторским функцијама, који могу да мобилишу и активирају медијаторске ћелије касне фазе. Из овога чини се да би крајњи циљ имунотерапије био управо одстрањивање IgE из система. Експериментални резултати, указују међутим да се ово не дешава, бар не у индукционој фази третмана нити у неколико месеци стања одржавања, што међутим не искључује дужи период потом. Многе студије указују да се за време ефективне конвенционалне имунотерапије, нивои IgG значајно повећавају, нарочито IgG1 и IgG4 субкласа.

Уз обсервацију да пасивни трансфер специфичних IgE може да блокира стечени алергијски (IgE) одговор, дошло се до закључка да се IgE антитета директно такмиче за алерген и отуд IgE блокирајући след догађаја и такозвана хипотеза, "блокирајућих антитета". С друге стране, експериментални подаци показују слабу корелацију између нивоа IgG или њихових субкласа са IgE продукцијом, или њиховом ефективношћу у имунотерапији на вену то инсеката. То сугерише да се овај механизам вероватно не одиграва у већем обиму "in vivo" Најубедљивији доказ који не иде у прилог овој идеји је управо развој протокола за "раш-имунотерапију" где се хипосензибилизација успоставља за време када је немогуће да се синтетишу *de novo* антитета, иако стварање IgE и IgG субкласа (нарочито IgG4) може бити од приличног значаја из других разлога. То нарочито постаје евидентно у објашњавању механизма који одржавају хипосензибилизацију кроз дужи период. (2)

Са схватањем да Т ћелијски цитокини, нарочито интерферон γ , IL-4, имају дубоки утицај на регулацију IgE, и са открићем удаљеног Т helper ћелијског фенотипа у миша (Mosmann и Coffman) испољила се могућност да Т ћелијски медијатори могу бити одговорни за механизме десензибилизације, евидентне у имунотерапији. Функционалне студије показују да Th2 тип цитокина, (без обзира из ког су извора), су одговорни за појачавање хуманог имуног одговора, и одговарајуће су важности за алергијску реакцију, јер започињу

имуноглобулински свичинг са IgG на IgE (IL-4 и IL-13), стимулишу еозинофилно преживљавање (IL-5), терминалну Б ћелијску диференцијацију (IL-6) и инхибишу Th1 (IL-4 и IL-10). С друге стране Th1 тип цитокина контролише имуне механизме везане за ћелију, укључујући фагоцитозу и natural killer ћелијску активност. (IFN- γ и IL-12) унакрсно инхибирају Th-2 одговор. С тога се природно намеће закључак да специфична алергијска имунотерапија супримира Th2 и/или појачава Th1 одговор. (7)

Иако слика није у потпуности јасна, изгледа да је управо то, оно што се догађа како у "раш" тако и у конвенционалној имунотерапији, на вену пчела у периферном крвотоку. Користећи "in vitro" систем где су алерген специфичне Т ћелије најпре селективно издвојене, а потом им омогућена пролиферација, Jutel и сар. су показали да се за време тока "раш-имунотерапије" нивои IL-4 смањују, док се вредности INF-у повећавају. У другачијем експерименту, који је акцендовао само примарну стимулацију у "in vitro" моделима такође, је било могуће добити исте резултате како у раш тако и у конвенционалној имунотерапији. (3) Иако се могу запазити нагле промене у продукцији цитокина вероватно оне и представљају систем из кога су и мерени, и да за време брзе имунотерапије алерген реактивне Т ћелије нестају из периферне крви било брзом миграцијом у инфламаторне фокусе, што је индуковано високом концентрацијом алергена, или секвестрацијом у лимфоидном ткиву, за време антигене презентације. С тога изгледа да механизми који резултују брзом десензибилизацијом нису директно изазвани цитокином продукцијом, али тај свич са доминантно Th2 на Th1 профил може бити одговоран за одржавање хипосензибилизације на дужи период. (4) Излагање специфичном алергену у контексту Th1 мемори одговора, теоретски би могао да буде довољан за успостављање алергијске хипореспонзивности. (13)

Пре него што се пређе на механизме ране десензибилизације, неопходно је осврнути се на већ поменути цитокински свич. Резултати многобројних студија указују да концентрација антигена и начин његове презентације могу да директно утичу на цитокину продукцију. Т ћелије из крви донора осетљивих на вену пчела имају повећане количине фосфолипазе A2 (PLA-2) (главни алерген у вену пчеле) што резултује продукцијом IL-4 при малим и средњим дозама, а PLA-2a и γ -INF при великим. Подаци документовани са различитих страна. (6,8) Уколико се овај феномен јавља за време имунотерапије где постоји кумулативно повећање алергена поставља се питање како се то постиже. Постоје три могућности које би сугерисала одговор.

Први - презентација антигена Th1 без одговарајућих ко-стимулаторних сигнала што има за последицу стање Ag-специфичне не респонзивности (анергије), јер су ти неопходни ко-стимулаторни сигнали између APC и Т ћелија модулисани дозом Ag, којој су APC изложене као и врстом APC. Тсиполоус и сарадници проучавали су CD 28 експресију на Th1 периферне крви, за време раш имунотерапије вену пчеле. Он је приметио да је концентрација CD 28 иако повећана у

особа алергичних на веноме инсеката (посебно CD8+ T ћелија) остала непромењена за време раш имунотерапије. Ово указује да промене у Т ћелијској реактивности (citoкински свич са Th2 на Th1-редукована Т ћелијска пролиферација) нису везане за свеопшту експресију CD 28 на Т ћелијама. С тога алерген специфична Т ћелијска енергија, не мора бити главни механизам супресије Т хелпер ћелијске сублиније. Ови резултати међутим не искључују могућност да алерген-специфичне Т ћелије могу бити регулисане овим механизмом уколико би њихов број у периферној крви био низак и редукован имунотерапијом. Оно на шта ово сигурно указује, је да CD 28/B7 ко-стимулација представља будућност веномске алергије. Уколико се докаже да је овај механизам довољно репрезентативан, могао би да буде главни ко-стимулаторни сигнал потребан за перпетуацију Th2 одговора, када су алергогени пептиди изложени у контексту MHC класе II CD3/Ti, Т ћелијском рецепторском комплексу.

Друго, Varey и сарадници су у својим радовима показали да се B7-CD28/CTLA-4 експресија на моноцитима снажно инхибише унакрсним везивањем Fc рецептора (FcR). То има за последицу веома смањене способности ових моноцита да функционишу као APC и стимулишу Т ћелијску активацију. Механизам испољавања овог поремећаја изгледа да зависи од густине FcRs (G и E имуноглобулинских изотипова) на површини моноцита, (и других APC) које стимулише повећање нивоа имуноглобулина. Овај механизам енергије на нивоу APC се врло лепо уклапа у регистроване промене циркулишућих имуноглобулина о чему је већ било дискутовано, и могу бити од значаја у раној десензибилизацији везаној за FcR експресију, на маст ћелијама и базофилима. Резултати Tsicoroulova и сарадника, о непромењеној CD 28 експресији на Т ћелијама не одсликава експресију B7-1 или B7-2 на APC-ама. Такође не указује на то, да ли је, ко-стимулаторни функционални капацитет B7/CD28 компромитован, по путативном унакрсном везивању FcRs на моноцитима, услед повећане концентрације мултивалентног алергена.

Трећи аспект - представља механизам којим Т ћелијске сублиније могу бити регулисане: делецијом антиген специфичних ћелија и феноменом активације, која индукује апоптозу који се односи или на Т ћелије или APC. У оваквој ситуацији активисане Т ћелије не примају неопходне ко-стимулаторне сигнале и улазе у генетски предетерминiranу фазу ћелијске смрти. Отклањање ове сублиније, рецимо Th2 уступиће експанзију Th1-типа citoкинске експресије, по субсеквентном излагању алергену.

Уколико промене у имуноглобулинима или продукцији самих citoкина, нису одговорне на рану хипереспонзивност на венски изазов, који су то онда механизми који је уоквирују? Jutel и сарадници имају неке екстремно интересантне податке као могући одговор на то.

Да би се избегло окидање анафилактичке реакције за време раш или ултра-раш имунотерапије, мора да постоји брза инхибиција на нивоу инфламаторних

ефекторских ћелија које узрокују анафилактику ослобађањем медијатора.

Раније студије су показале да ослобађање медијатора из циркулишућих базофила омогућава бар иницијални окидач за анафилактичну реактивност. Маст ћелије плућа и коже, су важни извори потентних вазоактивних медијатора, иако се по Jutely у кожи њихова реактивност не мења за време имунотерапије веномом. Иако је постепена и субклиничка деплетација преформираних медијатора из маст ћелија и базофила као одговор на повећану концентрацију алергена за време имунотерапије потврђена, подаци да се системска реакција може јавити у било које време у току имунотерапије упућује на то, да ово не мора бити главни механизам десензибилизације.

Jutel и сарадници су мерили ослобађање хистамина и LTC-4 продукцију у базофилима и у целој популацији полиморфа како би испитали промене у респонзивности базофила за време имунотерапије веномом. Показали су да су вредности тоталног леукоцитног хистамина смањене за време ултра-раш терапије. Иако нису регистроване процентуалне промене тоталног хистамина по стимулацији са алергеном (венком пчеле, или PLA) или са анти IgE-рецептором, или са C5-a, на почетку и на крају имунотерапије, актуелне вредности антиген специфичног одговора су биле смањене. Ови аутори сматрају да успешна хипосензибилизација не индукује стање имунолошке не респонзивности, пре мења амплитуду и начин ослобађања медијатора. Ове парадоксалне налазе (Jutel и сар.) нису били у могућности да потврде у дози потребној да изазове ослобађање хистамина алергеном, анти IgE ат, или анти IgE рецептором, по веномској имунотерапији.(3)

Све у свему, ови резултати показују да је капацитет базофила да ослобађају преформирани и/или брзо створене медијаторе само умерено промењен специфичном алерген-имунотерапијом. али да је или садржај медијатора у базофилима или њихов укупни број (пропорционално гранулоцитима) редукован. То оставља отворено питање како настаје брза десензибилизација инфламаторних ћелија. Интригантна је могућност, слична оној везаној за citoкине, и имуноглобулинску контролу, да ефекат повећања концентрације алергена који интерагују са имуноглобулином IgE на почетку и IgG доцније, директно модулишу сигнале, спровођене FcRs. Ови сигнали кроз fcR1 у базофилима пацова зависе од мобилности и агрегације рецептора која је за узврат одређена концентрацијом и валенцијом лиганда (Ag). У тој студији је показано да при максималној IgE агрегацији, преношење сигнала је било не ефикасно чак и када су IgE били унакрсно везани моноклоналним анти-IgE. Шта више Shalt и LeviSchaffer су показали да када су перитонеални мастоцити пацова изложени градуисано повећаној концентрацији антигена у "in vitro" условима, настаје њихова рефрактерност.

У закључку, тумачење радова ова два аутора, представља могло би се рећи пре један неубичајени поглед на могуће имунолошке механизме имунотерапије, иако ће бити потребна и даље прилична истраживања у области овог врло интересантног подручја.

ЗАКЉУЧАК

Механизми којим имунотерапија мења нормалан ток алергијске респонзивности су комплексни и могу да варирају, зависно од алергена, и начина имунизације. Новије студије различитих аутора све више показују да имунотерапија модификује Т ћелијски одговор, било имуним свичингом са Th2/Th1 или ћелијском анергијом (смањењем Th2/Th) или укључивањем оба механизма. Тумачење радова ова два аутора, представља могло би се рећи још један допринос у тумачењу ових сложених механизма, чијом се спознајом отвара могућност, не само лечења постојећег специфичног обољења, него и његове превенције.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tsicopoulos A, Vorng H, et al, Lymphocyte mediated inhibition of platelet cytotoxic functions during Hymenoptera venom de; characterization of a suppressive lymphokine. *Eur J Immunol* 1990;20:11201-7.
2. Tilmant L, Dessaint JP, Tsicopoulos A, Tonnel AB, Capron Aconcomitant augmentation of CD4+CD45R+ helper/ inducer subset during rush hyposensitization in Hymenoptera venom allergy. *Clin Exp. Immunol* 1989;76:13-18.
3. Jutel M., W. J. Pichler, D. Skrbic, A. Urwyler, C. Dahinden, U. R. Muller. 1995. Bee venom immunotherapy results in decrease of IL-4 and IL-5 and increase of IFN- secretion in specific allergen-stimulated T cell cultures. *J. Immunol.* 154: 4187.
4. Bousquet J, Lockey R, Malling H. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. WHO Position Paper. *Allergy* 1998; 53(Suppl. 54).
5. Bousquet J, Van Cauwenberge P, Khaltaev N. Allergic rhinitis and its impact on asthma. ARIA. WHO Initiative. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: S147-S334
6. Leckie MJ, ten Brinke A, Khan J, Diamant Z, O'Connor BJ, Walls CM, Mathur AK, Cowley HC, Chung KF, Djukanovic JR, et al . . Effects of an interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyperresponsiveness, and the late asthmatic response. *Lancet* 2000; 356: 2144-2148.
7. Durham SR, Till SJ. Immunologic changes associated with allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102: 157-164.
8. Wilson DR, Nouri-Aria KT, Walker SM, Pajno GB, O'Brien F, Jacobson MR, Mackay IS, Durham SR. Grass pollen immunotherapy: symptomatic improvement correlates with reductions in eosinophils and IL-5 mRNA expression in the nasal mucosa during the pollen season. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 971-976.
9. Shekelle PG, Woolf SH, Eccles M, Grimshaw J. Clinical guidelines: developing guidelines. *Br Med J* 1999; 318: 593-596.
10. Abramson M, Puy R, Weiner J. Immunotherapy in asthma: an updated systematic review. *Allergy* 1999; 54: 1022-1041.
11. Barnes P. Is there a role for immunotherapy in the treatment of asthma? *No. Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 1227-1228.
12. Durham SR, Walker SM, Varga EM, Jacobson MR, O'Brien F, Noble W, Till SJ, Hamid QA, Nouri-Aria KT. Long-term clinical efficacy of grass-pollen immunotherapy. *N Engl J Med* 1999; 341: 468-475.
13. Jacobsen L, Dreborg S, Møller C, Valovirta E, Wahn U, Niggemann B. Immunotherapy as a preventive treatment (abstract). *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97: 232.