

Subpopulacje limfocytów krwi obwodowej u chorych na pyłkovicę poddanych immunoterapii swoistej

Peripheral blood lymphocyte subpopulations in patients with pollen allergy after specific immunotherapy

ANNA MARIA ROGALEWSKA^{1/}, ANNA STASIAK-BARMUTA^{2/}

^{1/} Klinika Alergologii i Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej w Białymstoku, ul. M. Curie-Skłodowskiej 24, 15-274 Białystok

^{2/} Zakład Alergologii Dziecięcej Akademii Medycznej w Białymstoku

Celem pracy była ocena wzajemnych zależności pomiędzy efektami klinicznymi immunoterapii swoistej (SIT) a zachowaniem się subpopulacji limfocytów krwi obwodowej u pacjentów chorych na pyłkovicę. Badania przeprowadzono w trzech grupach pacjentów – nie odczulanych (n=17), odczulanych z efektem klinicznym dobrym lub bardzo dobrym (12 pacjentów po 3-letnim i 5-pacjentów po rocznym kursie odczulania) oraz odczulanych z efektem klinicznym miernym lub brakiem poprawy (n=8). Wszystkie badania przeprowadzono w sezonie nasilonej ekspozycji alergenowej (czerwiec/lipiec). W ocenie fluorocytometrycznej analizowano wartości odsetkowe komórek CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺, NK oraz proporcji T/B i Th/Ts. W przeprowadzonej ocenie w grupie pacjentów odczulanych przez 1 sezon w odniesieniu do grupy pacjentów nie odczulanych stwierdzono znamienne niższą wartość odsetka komórek CD3⁺ (63,5±6,2 vs. 69,3±5,8%; p<0,05), niższą wartość odsetka komórek CD4⁺ (33,9±7,1 vs. 39,5±8,6%; p<0,09) oraz znamienne wyższą wartość odsetka komórek NK (19,8±6,4 vs. 11,7±5,1%; p<0,002). W grupie pacjentów odczulanych przez 3 lata z dobrą odpowiedzią na immunoterapię w odniesieniu do pacjentów nie odczulanych stwierdzono znamienne wyższą wartość odsetka komórek NK (18,8±6,9 vs. 11,7±5,1; p<0,002). Cechą wyróżniającą grupę pacjentów odczulanych przez 3 lata z wątpliwym efektem klinicznym była wartość odsetka komórek CD8⁺ i NK – najniższa spośród ocenianych.

W świetle uzyskanych wyników wydaje się, iż dobry efekt kliniczny stosowanej immunoterapii swoistej może być wynikiem kumulacji wpływów komórek o przewadze czynności supresorowo/cytotoksycznej tj. CD8 i NK. O pomyślnym przebiegu immunoterapii swoistej może decydować odpowiedź immunologiczna w pierwszym sezonie pylenia po jednym kursie odczulania.

Alergia Astma Immunologia, 2001, 6(1), 33-38

Słowa kluczowe: subpopulacje limfocytów, pyłkowica, immunoterapia swoista

The aim of this study was to evaluate peripheral blood lymphocyte subsets in pollen-sensitive patients during specific immunotherapy (SIT). The three groups of patients were examined: group I – patients who had not received immunotherapy (n=17), group II – patients who received immunotherapy with very good or good clinical response (n=17) and group III – desensitized with doubtful results (n=8). Group II was divided into 2 subgroups – 12 persons treated for 3 years with good or very good results and 5 persons treated for 1 year with marked improvement. The majority of desensitized patients had received preseasonally a grass pollen extract – Allergovit. CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺ and NK cells were determined by flow cytometry method. The study was carried out during natural allergen exposure (June/July). In comparison with the untreated group, the percent of CD3⁺ cells was significantly lower (63,5±6,2 vs. 69,3±5,8%; p<0,05) and the NK cells was significantly higher (19,8±6,4 vs. 11,7±5,1%; p<0,002) in the patients treated for one year. In the group of patients desensitized for three years with good response to SIT a significantly higher percentage of NK cells was observed in comparison to the patients without SIT (18,8±6,9 vs. 11,7±5,1; p<0,02). In patients with doubtful clinical results the percentage of CD8⁺ and NK cells was the lowest of all groups evaluated. Based on the results obtained it would seem that good clinical response to specific IT may be due to the cumulating of effects of suppressor/cytotoxic cells in peripheral blood. The good results of the first course of IT may predict the successful effects of subsequent immunotherapy.

Alergia Astma Immunologia, 2001, 6(1), 33-38

Key words: lymphocyte subsets, pollinosis, specific immunotherapy

Mimo, iż immunoterapia swoista (SIT) stosowana jest od ponad 80 lat, to wiele problemów związanych z mechanizmem jej działania, a także monitorowaniem skuteczności klinicznej pozostaje nadal nie wyjaśnionych [1-3]. Doniesienia na temat korzystnych efektów klinicznych SIT, opierają się przeważnie na ocenie zmniejszenia in-

tensywności objawów alergicznych i redukcji zużycia leków [4-6]. W miarę postępu wiedzy coraz częściej w wyjaśnianiu mechanizmów SIT i skuteczności tej terapii sięga się po inne metody – *in vivo* i *in vitro* [1]. U chorych poddanych immunoterapii, w badaniach *in vivo* stwierdzono zmniejszenie reaktywności skóry, a także zmniejszenie

odpowiedzi ze strony błony śluzowej nosa lub oskrzeli w teście prowokacji miejscowej ze swoistym alergenem [7-10]. Coraz więcej badań *in vitro* dotyczy wpływu SIT na poszczególne elementy układu immunologicznego, zarówno biorące udział w odpowiedzi wczesnej IgE-zależnej, jak i odpowiedzi późnej, zapalnej [11-16]. Jak dotąd trudno było jednak wykazać znamienne korelacje między obserwowanymi zmianami a wynikami leczenia. Ostatnio uwaga badaczy skupiła się na roli limfocytów i makrofagów oraz uwalnianych przez te komórki cytokinach i chemokinach i ich udziału w rozwoju późnej fazy zapalnej odczynu alergicznego [17-20]. Przypuszcza się, iż SIT powoduje zmianę reaktywności komórek T w wytwarzaniu tolerancji lub anergii klonów Th2, co może mieć istotne znaczenie w wyjaśnieniu roli SIT w przyczynowym leczeniu chorób alergicznych [1,12,19,21]. Złożone procesy immunologiczne i nie do końca wyjaśnione – zarówno w patogenezie odczynów alergicznych, jak i mechanizmach działania immunoterapii – wymagają dalszych, intensywnych badań wielu ośrodków alergologicznych i immunologicznych.

Celem prezentowanej pracy była ocena zachowania się odsetkowych wartości subpopulacji limfocytów krwi obwodowej poprzez oznaczanie ekspresji ich antygenów powierzchniowych u chorych na pyłkowicę poddanych tradycyjnej immunoterapii swoistej w porównaniu z grupą chorych nie odczulanych. Rozszerzeniem celu pracy było uwzględnienie efektu klinicznego w grupie poddanej immunoterapii w zestawieniu z wynikami immunologicznymi. Ze względu na klinikę pyłkowicy i możliwość uzyskania jednoczasowej oceny wyników wszystkie badania przeprowadzono w okresie naturalnej ekspozycji pyłkowej.

PACJENCI I METODY

Pacjenci

Do badań zakwalifikowano 42 pacjentów, w tym 15 kobiet i 27 mężczyzn w wieku od 15 do 35 r.ż. (średnia wieku 21,5 lat) leczonych ambulatoryjnie z powodu pyłkowicy. Alergia na pyłki traw i żyta została potwierdzona danymi z wywiadu, dodatnimi wynikami testów skórnych (*prick tests*), a u części pacjentów, oznaczaniem swoistych IgE metodą UniCAP. Wszyscy pacjenci wykazywali objawy alergicznego nieżytu nosa w okresie pylenia traw (wydzielina z nosa, zatkanie, świąd, kichanie). U znacznej większości występowały także objawy alergiczne ze strony spojówek (zaczerwienienie, łzawienie, świąd i pieczenie oczu). W ośmiu przypadkach stwierdzono objawy astmy sezonowej. Pacjentów podzielono na dwie podstawowe grupy: 17 osób nie odczulanych stanowiło grupę odniesienia (grupa I). Chorzy ci w okresie pylenia pozostawali tylko na leczeniu farmakologicznym. W grupie drugiej liczącej 25 osób, znaleźli się pacjenci poddani immunoterapii swoistej, w większości przez okres

3 lat, jedynie 5 pacjentów było odczulanych przez 1 rok (grupa II). Immunoterapię prowadzono metodą klasyczną, podając szczepionkę alergenową przed sezonem, rozpoczynając w miesiącach październik/listopad, a kończąc na dwa tygodnie przed spodziewanym pyleniem traw. Ponad połowa odczulanych (15 osób) otrzymywała preparat Allergovit wg zaleceń producenta, początkowo dawki podstawowe, a następnie leczenie podtrzymujące, aż do zakończenia odczulania w danym sezonie. U 5 osób stosowano Pollinex Ray (szczepionkę podawano w ciągu 1 roku), zaś 4 pacjentów odczulano preparatem Catalet T zgodnie z instrukcją producentów. Chorych odczulanych (grupa II) podzielono zależnie od efektu klinicznego prowadzonej immunoterapii na dwie podgrupy: podgrupa IIA – pacjenci dobrze lub bardzo dobrze odpowiadający na immunoterapię (17 osób); podgrupa IIB – pacjenci słabo odpowiadający na immunoterapię (8 osób). Ponadto w części wynikowej poddano dodatkowej analizie pacjentów, u których wykazano dobre lub bardzo dobre wyniki już po pierwszym kursie odczulania (podgrupa IIA1). Do kryteriów stanowiących podstawę zaliczenia do powyższych grup należały *score* objawów nosowych, objawów ze strony oczu oraz występowania objawów ze strony oskrzeli. Zmniejszenie sumy przyjętych punktów oceny dla każdego objawu od 60 do 80% uznano za wynik dobry lub bardzo dobry, poniżej 60 do 30% za wynik mierny, a wyniki poniżej 30% kwalifikowano jako brak poprawy. Ważnym kryterium była także ilość przyjmowanych leków, która u pacjentów z dobrym i bardzo dobrym wynikiem immunoterapii uległa istotnemu zmniejszeniu. W przypadku wystąpienia lub zaostrzenia objawów pacjenci przyjmowali leki przeciwhistaminowe doustne lub miejscowe, a w razie potrzeby leki przeciwastmatyczne lub inne preparaty objawowe. W żadnej z grup nie zalecano steroidów, które mogłyby w poważnym stopniu wpływać na wyniki, aczkolwiek nie można wykluczyć, iż pojedynczy pacjenci w przypadku silnej blokady nosa nie sięgali po miejscowe leki glikokortykosteroidowe. Wszystkie badania przeprowadzono w okresie naturalnej ekspozycji alergenowej, w sezonie pylenia traw (czerwiec, lipiec).

Metody

Oceny wartości odsetkowych limfocytów krwi obwodowej dokonano w oparciu o metodę znakowania przeciwciałami monoklonalnymi w odczycie cytometrii przepływowej.

Krew żylną w ilości 2 ml pobierano do probówki zawierającej EDTA. Do 100 µl krwi pełnej dodawano po 10 µl następujących dwukolorowych przeciwciał monoklonalnych (Becton Dickinson): CD14-PE(Leu-M3)/CD45-FITC(Hle-1), CD3-FITC (Leu-4)/CD19-PE(Leu-12), CD4-FITC(Leu-3a)/CD8-PE(Leu-2a); CD3-FITC(Leu-)/CD16(Leu-11c)+CD56(Leu-19)-PE. Do każdego zestawu stosowano zgodne izotypowo kontrole negatywne.

Po 20 minutach inkubacji w temperaturze pokojowej, w ciemni, każdą z próbek poddawano procesowi automatycznej lizy i analizowano w cytometrycznym przepływowym (Coulter EPICS XL). Każdorazowo liczone po 10⁴ komórek. Wyniki podawano jako wartości odsetkowe.

Analiza statystyczna

Medianę, P25 i P75 obliczano wg procedur ANOVA/MANOVA. Różnice pomiędzy średnimi dla poszczególnych grup, w przypadku każdego ocenianego parametru niezależnie, wobec braku cech rozkładu normalnego, oceniano nieparametrycznym testem U Manna-Whitney'a i Wilcoxon'a, przyjmując różnicę na poziomie p<0,05 jako znamiennej.

WYNIKI

W przeprowadzonych badaniach fluorocytometrycznych oceniano wartości odsetkowe subpopulacji limfocytów krwi obwodowej: CD3⁺, CD19⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺+56⁺ oraz wartości proporcji odsetka komórek T (CD3⁺) do B (CD19⁺) oraz Th (CD4⁺) do Ts (CD8⁺) w poszczególnych grupach pacjentów chorych na pyłkovicę. Wyniki oceny przedstawiono w kolejnych tabelach i rycinach.

W przeprowadzonej analizie w grupie IIA stwierdzono znamiennej wyższą średnią wartość odsetka komórek NK w odniesieniu do wartości stwierdzanych w grupach pozostałych. Nie stwierdzono natomiast znamiennej różnicy pomiędzy średnimi wartościami odsetka komórek CD3⁺, CD19⁺ oraz wartością proporcji T/B (tab. I).

Średnie wartości odsetkowe komórek CD4⁺, CD8⁺ oraz proporcji Th/Ts stwierdzane w ocenianych grupach pacjentów chorych na pyłkovicę przedstawiono w tabeli II.

Jak wynika z tabeli wykazano znamiennej niższą średnią wartość odsetka komórek CD8⁺ w grupie IIB (pacjenci odczulani z klinicznym efektem miernym lub brakiem

Tabela I. Średnie wartości ± odchylenie standardowe odsetka komórek CD3⁺, CD19⁺, NK oraz proporcji T/B (CD3⁺/CD19⁺) w poszczególnych grupach pacjentów chorych na pyłkovicę

Oceniane grupy	CD19(%)	CD3(%)	T/B	NK(%)
I pacjenci nie odczulani (n=17)	15,8±4,3	69,3±5,9	11,7±5,1	4,7±1,5
IIA efekt b.dobry/dobry (n=17)	14,1±2,9	65,5±8,1	18,8±6,9	4,8±1,5
IIB efekt mierny/brak poprawy (n=8)	14,4±3,6	73,2±6,0	9,5±3,9	5,3±1,5
analiza statystyczna	nz	nz	nz	I vs. IIA; p<0,002 IIA vs. IIB; p<0,01

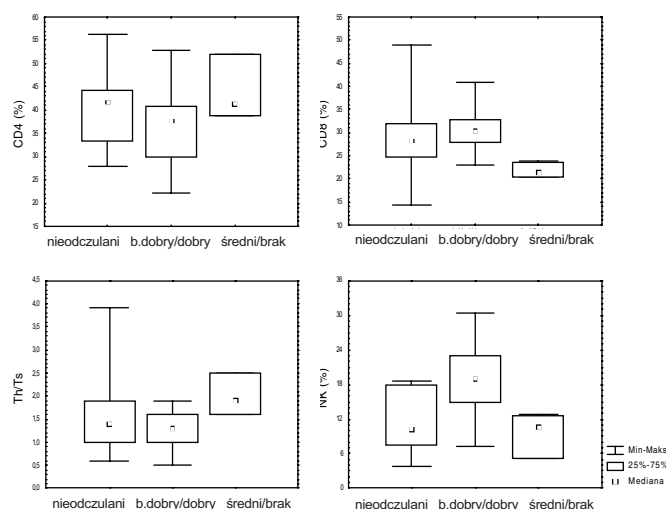
Tabela II. Średnie wartości ± odchylenie standardowe odsetka komórek CD4⁺, CD8⁺ oraz proporcji Th/Ts (CD4⁺/CD8⁺) w poszczególnych grupach pacjentów chorych na pyłkovicę

Oceniane grupy	CD4(%)	CD8(%)	Th/Ts
I pacjenci nie odczulani (n=17)	39,5±8,6	27,9±8,1	1,6±0,8
IIA efekt b.dobry/dobry (n=17)	36,5±8,2	29,9±4,6	1,3±0,4
IIB efekt mierny/brak poprawy (n=8)	44,0±7,0	21,8±1,7	2,0±0,5
analiza statystyczna	nz	I vs.IIB; p<0,08 IIA vs.IIB; p<0,03	I vs.IIB; p<0,05 IIA vs.IIB; p<0,04

poprawy) w odniesieniu do wartości stwierdzanych w grupie IIA (pacjenci z efektem dobrym lub bardzo dobrym) oraz grupie I (pacjenci nie odczulani). Nie stwierdzono znamiennej różnicy pomiędzy wartościami średnimi odsetka komórek CD8⁺ w grupach I i IIA. Znamiennej wyższą była wartość proporcji Th/Ts w grupie IIB w odniesieniu do stwierdzanej w grupach pozostałych.

Wartości mediany, minimum i maksimum oraz P25 i P75 odsetka komórek CD4⁺, CD8⁺, NK oraz współczynnika Th/Ts przedstawiono na rycinie 1.

Analogicznie do wartości średnich, w zakresie odsetka komórek NK w grupie pacjentów odczulanych z klinicznym efektem dobrym lub bardzo dobrym stwierdzono wyższą wartość mediany w odniesieniu do grup pozostałych. Nie stwierdzono różnic pomiędzy wartością mediany w grupie pacjentów nie odczulanych i odczulanych z klinicznym efektem miernym lub bez poprawy. W grupie pacjentów odczulanych z efektem klinicznym dobrym lub bardzo dobrym stwierdzono niższą wartość mediany odsetka komórek CD4⁺ w odniesieniu do wartości stwier-

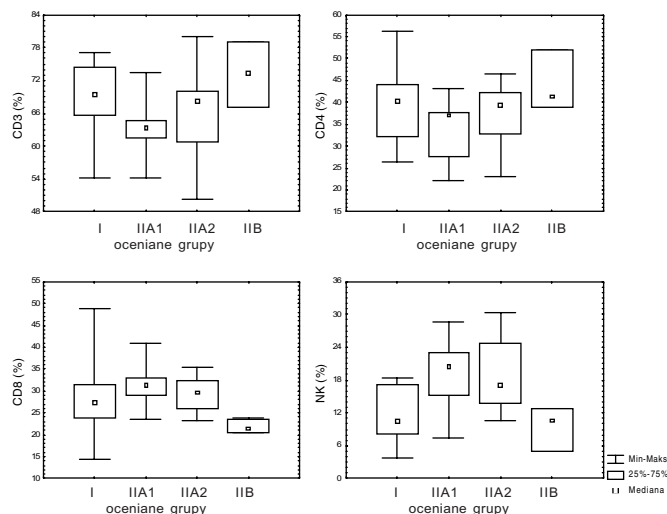


Rycina 1. Mediana, P25, P75, minimum i maksimum wartości odsetkowych komórek CD4⁺, CD8⁺ i NK oraz współczynnika Th/Ts w ocenianych grupach pacjentów

dzanych w grupach pozostałych. W grupie pacjentów odczulanych z klinicznym efektem miernym lub trudnym do oceny zwraca uwagę niższa w odniesieniu do stwierdzanej w grupie IIA, wartość mediany odsetka komórek CD8⁺ oraz wyższa wartość mediany proporcji Th/Ts.

Zachęcające kliniczne efekty immunoterapii uzyskane w grupie 5 pacjentów odczulanych tylko przed jednym sezonem (podgrupa IIA1), skłoniły nas do podjęcia próby oceny dynamiki procesu poprzez analizę zmian wartości wybranych parametrów immunologicznych. Wyniki oceny porównawczej z grupą I i grupą IIA2 (chorzy z dobrym wynikiem odczulani 3 lata po wydzieleniu pacjentów odczulanych przed 1 sezonem) przedstawiono w tabeli III i na rycinie 2.

W podgrupie IIA1 w odniesieniu do wartości uzyskanych w podgrupie I stwierdzono statystycznie niższą wartość średnią odsetka komórek CD3⁺ oraz wyższą średnią odsetka komórek NK (odpowiednio $p < 0,05$; $p < 0,002$).



Rycina 2. Mediana, P25, P75, minimum i maksimum wartości odsetkowych komórek CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ oraz NK w ocenianych grupach pacjentów z pyłkowicą nie odczulanych (grupa I), poddanych rocznej (grupa IIA1) i 3-letniej immunoterapii swoistej (grupa IIA2) z efektem bardzo dobrym lub dobrym oraz 3-letniej z efektem miernym lub brakiem poprawy (grupa IIB)

Niższa, aczkolwiek nieznamiennie, była również wartość odsetka komórek CD4⁺ i proporcji Th/Ts ($p < 0,09$). W przeprowadzonej ocenie nie stwierdzono statystycznie różnic pomiędzy wartościami średnimi ocenianych parametrów w podgrupach IIA1 i IIA2 (pacjenci odczulani przez 3 sezony z efektem dobrym lub bardzo dobrym), jakkolwiek obserwowano pewne tendencje, co wyraźnie obrazuje rycina 2. W grupie IIA1 obserwowano najniższą spośród ocenianych, wartość mediany komórek CD3⁺, CD4⁺ oraz najwyższą wartość mediany odsetka komórek CD8⁺ i NK.

DYSKUSJA

Celem niniejszej pracy była ocena wzajemnych zależności pomiędzy efektami klinicznymi immunoterapii swoistej a zachowaniem się subpopulacji limfocytów krwi obwodowej u pacjentów chorych na pyłkowicę.

Badania przeprowadzono w trzech grupach pacjentów – nie odczulanych, odczulanych z efektem klinicznym dobrym lub bardzo dobrym oraz odczulanych z efektem klinicznym miernym lub brakiem poprawy. Równolegle do analizy klinicznej przeprowadzono badania immunologiczne w zakresie oceny wartości odsetkowych i wzajemnych proporcji limfocytów krwi obwodowej. Badania przeprowadzono w okresie optymalnym dla oceny skuteczności immunoterapii swoistej, tj. w czasie nasilonej ekspozycji alergenowej – w czerwcu i lipcu, po uprzednim zakończeniu, u większości pacjentów, 3-letniego kursu odczulania. Jedynie u 5 pacjentów oceny dokonano po zakończeniu jednego kursu odczulania.

Wykazano, iż 3-letnia immunoterapia swoista pozostaje bez wpływu na wartości odsetkowe limfocytów CD3⁺, CD4⁺ i CD19⁺. Dobry lub bardzo dobry efekt immunoterapii swoistej zdaje się też nie wynikać ze zmian ilościowych dotyczących subpopulacji CD8⁺ oraz wzajemnych relacji pomiędzy komórkami Th i Ts. Z drugiej strony brak lub słaba odpowiedź na immunoterapię może wiązać się ze statystycznie niższą średnią wartością odsetka komórek CD8⁺, a w konsekwencji wyższą wartością proporcji Th/Ts. Cechą wyróżniającą grupę pacjentów

Tabela III. Średnie wartości \pm odchylenie standardowe odsetka ocenianych subpopulacji komórkowych u chorych na pyłkowicę poddanych rocznej i 3-letniej immunoterapii swoistej

Oceniana grupa	CD3 (%)	CD4 (%)	CD8 (%)	Th/Ts	NK (%)
I (n=17)	69,3 \pm 5,8	39,5 \pm 8,6	27,8 \pm 8,1	1,6 \pm 0,8	11,7 \pm 5,1
IIA1 (n=5)	63,5 \pm 6,2	33,9 \pm 7,1	30,6 \pm 5,3	1,1 \pm 0,4	19,8 \pm 6,4
IIA2 (n=12)	66,0 \pm 9,3	37,3 \pm 7,6	29,2 \pm 4,3	1,3 \pm 0,3	19,0 \pm 7,0
analiza statystyczna	I v. IIA1; $p < 0,05$	I v. IIA1; $p < 0,09$	nz	I v. IIA1; $p < 0,09$	I v. IIA1; $p < 0,002$ I v. IIA2; $p < 0,006$

grupa I – pacjenci nie odczulani

grupa IIA1 – pacjenci odczulani 1 rok z efektem b.dobrym/dobrym

grupa IIA2 – pacjenci odczulani 3 lata z efektem b.dobrym/dobrym

z miernym efektem klinicznym jest niska średnia wartość odsetka komórek CD8⁺ i NK. W kontekście stwierdzonych zmian jest bardzo prawdopodobne, iż brak poprawy wynika niejako z pierwotnej areaktywności limfocytów o przewadze aktywności supresorowo-cytotoksycznej [21-24]. Z drugiej strony, jedną z przyczyn niepowodzenia stosowanej terapii może być podanie zbyt małej dawki alergenu, co w efekcie faworyzuje odpowiedź typu Th2 [25,26]. Bez względu jednak na przyczynę, niższa w odniesieniu do stwierdzanej w grupach pozostałych, jak też opracowanych uprzednio wartości referencyjnych, średnia wartość odsetka komórek CD8⁺ koreluje z brakiem poprawy klinicznej [27,28]. Badania oceniające skuteczność immunoterapii swoistej dowiodły ważnej roli limfocytów CD8⁺ w generowaniu pozytywnych efektów klinicznych. Cechą wyróżniającą grupę pacjentów odczuwanych z efektem dobrym lub bardzo dobrym była natomiast wyższa w odniesieniu do obserwowanej w grupach pozostałych, wartość odsetka komórek NK.

Większość prac dotyczących komórek NK eksponuje ich rolę głównie w procesach infekcyjnych i obronie przeciwnowotworowej [29,30]. Niewiele prac dotyczy ich udziału w indukowaniu zmian o charakterze zapalenia alergicznego, gdzie jakość wyrażanej przez komórki NK odpowiedzi efektorowej zdaje się wynikać z rodzaju stymulującego je bodźca cytokinowego. I tak w następstwie stymulacji IL-4, IL-13, przy braku IFN- γ komórki NK syntetyzują IL-5, po stymulacji IL-12 czy IL-18 syntetyzują IFN- γ [31-36]. Dowiedziono również, iż rodzaj syntetyzowanych cytokin zależy również od stopnia dojrzałości komórek NK [37,38].

Wyodrębnienie spośród pacjentów z pomyślnym efektem klinicznym, 5 osobowej podgrupy chorych odczuwanych tylko przez jeden sezon (podgrupa IIA1), pozwoliło na próbę oceny dynamiki zmian wartości wybranych parametrów immunologicznych. Ze względu na małą liczebność podgrupy przeprowadzona ocena nie jest wiążąca i wskazuje jedynie na pewne tendencje kierunku zachodzących zmian. W świetle przedstawionych wyników, pierwszy sezon naturalnej ekspozycji alergicznej, po zakończeniu pierwszego kursu immunoterapii, wydaje się decydować o powodzeniu lub niepowodzeniu leczenia. W okresie tym obserwowano obniżenie wartości odsetka komórek CD3⁺ i CD4⁺. Tłumaczyć to można immunosupresyjnym wpływem stosowanej terapii na grasiczozależną komponentę układu odpornościowego; podobny efekt obserwuje się w przebiegu glikokortykoterapii [39-41]. Niedobór ilościowy limfocytów T, kompensowany był wzrostem wartości odsetka komórek NK, co być może decyduje o pomyślnym efekcie stosowanego leczenia. Dobry efekt kliniczny stosowanej immunoterapii swoistej może być wynikiem kumulacji wpływów komórek o przewadze czynności supresorowo/cytotoksycznej tj. CD8 i NK. Uzyskane przez nas wyniki oceny immunologicznej zdają się potwierdzać tezę o wpływie immunoterapii swoistej na zmianę reaktywności limfocytów T [21-24]. Przyczyn niepowodzenia immunoterapii upatrywać można w areaktywności limfocytów T na podany preparat alergiczny.

Podjęty przez nas problem zasługuje naszym zdaniem na kontynuację. Objęcie obserwacją większej liczby chorych oraz poszerzenie zakresu badań o ocenę funkcji analizowanych subpopulacji, może wzbogacić kryteria kwalifikacyjne i rokownicze o nowe parametry.

Piśmiennictwo

1. WHO Position Paper. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. Bousquet J, Lockey RF, Malling HJ (red). *Allergy* 1988; 53(suppl. 44): 1-42.
2. Norman PS. Allergen-specific immunotherapy: Past and present, W: *Immunotherapy in Asthma*. Bousquet J, Yssel H (ed), New York Marcell Dekker Inc. 1999; 155-178.
3. Romański B. Immunoterapia wczoraj, dziś i jutro. *Alergia Astma Immunologia* 2000; 5(supl. 2): 23-26.
4. Abramson MJ, Puv RM, Weiner JM. Allergen immunotherapy effective in asthma? A meta-analysis of randomised control trials. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151, 969-974.
5. Bousquet J, Demoly P. Specific immunotherapy for allergic rhinitis in children. *Allergy Clin Immunol Inter* 1996; 8: 145-150.
6. Malling HJ. Immunotherapy as an effective tool in allergy treatment. *Allergy* 1998; 53: 461-472.
7. Klimek L, Dormann D, Jarman ER i wsp. Short-term preseasonal birch pollen allergoid immunotherapy influences symptoms, specific nasal provocation and cytokine levels in nasal secretions, but not peripheral T-cell responses, in patients with allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 1326-1335.
8. Siergiejko Z, Rogalewska AM. Wpływ immunoterapii swoistej na nadreaktywność oskrzeli u chorych na astmę oskrzelową. *Pol Merk Lek* 2000; 9: 641-644.
9. Abramson MJ, Weiner JM, Puy RM. Allergen-specific immunotherapy for asthma. Metaanalysis of randomized controlled trials. W: *Immunotherapy in asthma*. Bousquet J, Yssel H (ed), New York, Marcel Dekker, Inc. 1999; 207-237.
10. Hoyne G, Bourne T, Kirstensen N i wsp. From epitopes to peptides to immunotherapy. *Clin Immunol Immunopathol* 1996; 80: 23-30.
11. Jutel M, Skrbic D, Urwyler A i wsp. Bee venom immunotherapy results in decrease of IL-4 and IL-5 and increase of IFN- γ secretion in specific allergen stimulated T-cell cultures. *Immunol* 1995; 154: 4187-4194.
12. Durham SR, Till SJ. Immunologic changes associated with allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102: 157-164.
13. Keskin G, Inal A, Ali Sari R i wsp. Serum IFN-gamma and IL-10 levels before and after specific immunotherapy in patients with allergic rhinitis. *Allergol Immunopathol* 1999; 27: 261-264.
14. Ohashi Y, Nakai Y, Tanaka A i wsp. Allergen-specific immunotherapy for allergic rhinitis: a new insight into its clinical efficacy and mechanism. *Acta Otolaryngol Suppl* 1998; 538: 178-190.
15. de Vries JE, Yssel H. Modulation of the IgE response. *Eur Respir J Suppl* 1996; 22: 58s-62s.

16. Rocklin RE. Immune mechanisms in allergen-specific immunotherapy. *Clin Immunol Immunopathol* 1989; 53(2 Pt 2): S119-131.
17. Durham SR, Kay AB, Hamid Q. Changes in allergic inflammation associated with successful immunotherapy. *Int Arch Allergy Immunol* 1995; 107: 282-284.
18. Jenmalm MC, Björkstén B, Macaubas C i wsp. Allergen-induced cytokine secretion in relation to atopic symptoms and immunoglobulin E and immunoglobulin G subclass antibody responses. *Pediatr Allergy Immunol* 1999; 10: 168-177.
19. Bonno M, Fujisawa T, Iguchi K i wsp. Mite-specific induction of interleukin-2 receptor on T lymphocytes from children with mite-sensitive asthma: modified immune response with immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97: 680-688.
20. Soderlund A, Gabrielsson S, Paulie S i wsp. Allergen induced cytokine profiles in type I allergic individuals before and after immunotherapy. *Immunol Lett* 1997; 57: 177-181.
21. Kemeny DM, Noble A, Holmes BJ i wsp. The role of CD8⁺ cells in immunoglobulin IgE regulation. *Allergy* 1995; 50(25 suppl): 9-14.
22. Lack G, Nelson HS, Amran D i wsp. Rush immunotherapy results in allergen-specific alterations in lymphocyte function and interferon-gamma production in CD4⁺ T cells. *A Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 530-538.
23. Romagnani S. Biology of human TH1 and TH2 cells. *J Clin Immunol* 1995; 15: 121-129.
24. Kay AB. Origin of type 2 helper T cells. *N Engl J Med* 1994; 30: 567-569.
25. Kahler H, Stuwe H, Cromwell O i wsp. Reactivity of T cells with grass pollen allergen extract and allergoid. *Int Arch Allergy Immunol* 1999; 120: 146-157.
26. Marcelletti JF, Katz DH. Antigen concentration determines helper T cell subset participation in IgE antibody responses. *Cell Immunol* 1992; 143: 405-419.
27. Stasiak-Barmuta A, Iwazkiewicz-Pawłowska A, Żak J i wsp. Wartości referencyjne subpopulacji limfocytów krwi obwodowej dzieci zdrowych w wieku od 3 do 15 roku życia oceniane metodą fluorocytometryczną. *Nowiny lek* 1998; 67: 531-539.
28. Iwazkiewicz-Pawłowska A, Stasiak-Barmuta A, Żak J. Ocena subpopulacji limfocytów oznaczanych metodą cytometrii przepływowej u zdrowych dzieci. *Wiadomości Lek* 1998; 51: 2-7.
29. Warren HS. NK cell proliferation and inflammation. *Immunol Cell Biol* 1996; 74: 473-480.
30. Biron CA. Activation and function of natural killer cell responses during viral infections. *Curr Opin Immunol* 1997; 9: 24-34.
31. Cai G, Kastelein RA, Hunter CA. IL-10 enhances NK cell proliferation, cytotoxicity and production of IFN-gamma when combined with IL-18. *Eur J Immunol* 1999; 29: 2658-2665.
32. Hayakawa K, Salmeron MA, Kornbluth J i wsp. The role of IL-4 in proliferation and differentiation of human natural killer cells. Study of an IL-4-dependent versus an IL-2-dependent natural killer cell clone. *J Immunol* 1991; 1, 146: 2453-2460.
33. Walker C, Checkel J, Cammisuli S i wsp. IL-5 production by NK cells contributes to eosinophil infiltration in a mouse model of allergic inflammation. *J Immunol* 1998; 15, 161: 1962-1969.
34. Korsgren M, Persson CG, Sundler F i wsp. Natural killer cells determine development of allergen-induced eosinophilic airway inflammation in mice. *J Exp Med* 1999; 1, 189: 553-562.
35. Warren HS, Kinnear BF, Philips JH i wsp. Production of IL-5 by human NK cells and regulation of IL-5 secretion by IL-4, IL-10, and IL-12. *J Immunol* 1995; 15, 154: 5144-5152.
36. Hoshino T, Winkler-Pickett RT, Mason AT i wsp. IL-13 production by NK-cells: IL-13-producing NK and T cells are present in vivo in the absence of IFN-gamma. *J Immunol* 1999; 162: 51-59.
37. Hunter CA, Gabriel KE, Radzanowski T i wsp. Type I interferons enhance production of IFN-gamma by NK cells. *Immunol Lett* 1997; 59: 1-5.
38. Leite-De-Moraes MC, Moreau G, Arnould A i wsp. IL-4 producing NK T cells are biased towards IFN-gamma production by IL-12. Influence of the microenvironment on the functional capacities of NK T cells. *Eur J Immunol* 1998; 28: 1507-1515.
39. Sharma KC, Stevens D, Casey L i wsp. Effects of high-dose inhaled fluticasone propionate via spacer on cell-mediated immunity in healthy volunteers. *Chest* 2000; 118: 1042-1048.
40. Ashwell JD, Lu FW, Vacchio MS. Glucocorticoids in T cell development and function. *Annu Rev Immunol* 2000; 18: 309-345.
41. Shimizu T, Kawamura T, Miyaji C i wsp. Resistance of extrathymic T cells to stress and the role of endogenous glucocorticoids in stress associated immunosuppression. *Scand J Immunol* 2000; 51: 285-292.