

Determinazione della IL 6 e della IL 10 in bambini asmatici trattati con vaccino E.P.D.

F. IPPOLITI, E. LOCOCO, S.M. BORELLA, G. MANDARELLO, W RAGNO, G. ZIRUOLO, L. BUSINCO

Introduzione

L'immunoterapia specifica con vaccino EPD (Enzyme Potentiated Desensitization) consiste nella inoculazione intradermica di dosi estremamente basse di allergeni coniugati all'enzima β -glicuronidasi che favorisce la fase di presentazione dell'antigene ai linfociti T da parte dei macrofagi. Mentre sui risultati clinici di tale vaccino sono stati pubblicati già alcuni lavori, poco si conosce sugli effetti esercitati dalla terapia sul sistema immunitario. I dati più rappresentativi descrivono un significativo aumento dei linfociti con fenotipo CD8 a probabile funzione soppressoria sui linfociti B IgE secernenti.

Poiché recentemente è stato descritto il ruolo immuno-modulatorio di talune citochine rilasciate preferenzialmente dai CD4h2 che come è noto sono coinvolti nella risposta agli allergeni, abbiamo voluto studiare l'andamento dei valori plasmatici della IL-6 e della IL-10 in condizioni basali e dopo terapia con EPD in un gruppo di bambini asmatici affetti da pollinosi stagionale.

La IL-6 è rilasciata dai macrofagi attivati da stimoli flogistici e dai CD4 Th2 ma nel caso della patologia allergica anche dai mastociti-basofili e dagli eosinofili. La IL-10 è una nuova citochina identificata come un prodotto dei CD4 Th2 che a sua volta gioca un ruolo nella regola-

Dip. Med. Sper. e Servizio Spec. Allergologia e Immunologia Clinica Pediatrica, Università "La Sapienza", Roma

zione dello sviluppo dei Th1 e Th2. Recentemente è stato descritto che la IL-10 è prodotta non solo dai Th2 ma anche dai monociti/macrofagi che rappresenterebbero la fonte principale di questa citochina. Inoltre è stato dimostrato che la stimolazione dei monociti porta inizialmente alla sintesi delle citochine pro-infiammatorie come IL-1, IL-6, TNF α e successivamente alla sintesi di IL-10 che regola in senso negativo l'espressione delle altre citochine.

Materiali e metodi

Il protocollo di indagine comprendeva 17 bambini di età compresa tra i 6-12 anni di entrambi i sessi affetti da allergia alle graminacee che si estrinsecava con sintomatologia asmatica di vario grado.

Il gruppo di controllo comprendeva 17 bambini che rientravano nella stessa fascia di età ma erano esenti dalla suddetta patologia.

I dosaggi dell'IL-6 e IL-10 venivano effettuati in 3 prelievi eseguiti in tempi diversi durante il mese di marzo 1994, quan-

do i pazienti erano ancora in assenza di sintomi:

- 1) tempo 0 (condizioni basali);
- 2) tempo 1 (dopo 24 ore dall'inoculazione del vaccino EPD - SARM - Roma);
- 3) tempo 2 (dopo 15 giorni dall'inoculazione del vaccino EPD).

I valori delle due Interleuchine sono stati ottenuti con metodo ELISA utilizzando kit forniti dalla ditta Genzyme - Cinisello Balsamo (MI).

I test sono stati eseguiti secondo le istruzioni della ditta produttrice, ed i risultati sono stati interpolati da una curva standard fornita dal kit.

Per l'analisi statistica è stato utilizzato il t-test di Student.

Discussione

Le prime citochine prodotte dal sistema immunitario nella fase iniziale del contatto con l'antigene, sono le IL-1, IL-6 e TNF- α ed è stato recentemente dimostrato che tali citochine possiedono un notevole effetto nella produzione di IL-10 da parte dei monociti. Questi dati suggeriscono, quindi, l'esistenza di una o più vie regolatorie integrate.

A nostro avviso l'EPD sembra interagire con questo meccanismo. Infatti già dopo 24 ore dalla somministrazione dell'allergene a bassa dose si nota un aumento della IL-6 e contemporaneamente un innalzamento della IL-10. Ma mentre dopo 15 giorni dall'inoculo dell'EPD i valori della IL-6 tendono a diminuire, quelli della IL-10 permangono elevati.

La IL-10 è nota per la funzione soppressoria non solo sulla cascata delle varie citochine, compresa la IL-6 ma anche sulla proliferazione antigene-specifica di alcuni cloni Th1. In altre parole la IL-10 contribuisce ad attenuare le reazioni infiammatorie che spesso si associano alle allergopatie e sono responsabili della sintomatologia più grave. L'asma persistente è infatti caratterizzato da infiammazione cronica della mucosa

bronchiale ove linfociti T ed eosinofili sono prevalenti, e macrofagi, neutrofili, mastociti risultano attivati.

Perciò la stimolazione al rilascio di IL-10 che consegue alla terapia con EPD, potrebbe spiegare l'azione antiallergica di detto vaccino e non esclude la possibilità di un ruolo dei differenti cloni CD8+ induttori di IL-10. Ulteriori studi sono necessari per chiarire meglio il meccanismo d'azione dell'EPD.

Risultati

I valori plasmatici della IL-6 osservati nei pazienti allergici alle Graminacee prima della vaccinazione risultano più elevati rispetto a quelli dei soggetti di controllo, almeno nella maggioranza dei casi. Dopo 24 ore dalla somministrazione del vaccino EPD, si evidenzia un aumento della citochina che però dopo 15 giorni, scende al di sotto dei valori basali (Grafico 1).

L'IL-10 presenta un comportamento sovrapponibile a quello della IL-6 per quanto riguarda i valori basali e quelli osservati dopo 24 ore dalla somministrazione del vaccino EPD. A differenza della IL-6, però, dopo 15 giorni la IL-10 si mantiene ancora elevata (Grafico 2).

Sebbene i prelievi siano stati effettuati nel mese di marzo, quando la concentrazione pollinica per le Graminacee era molto bassa ed i pazienti non presentavano ancora sintomi, i livelli plasmatici sia di IL-6 che di IL-10 sono risultati significativamente più elevati nei bambini asmatici rispetto a quelli dei controlli nella maggior parte dei casi. Nei pazienti sono state osservate anche differenze significative tra i valori plasmatici delle due citochine ai vari tempi studiati dopo la vaccinazione con EPD. Infatti, mentre i valori di IL-6 non si modificano dopo 24 ore, tendono a diminuire significativamente ($p < 0.02$) dopo quindici giorni. Nel caso della IL-10, i valori aumentano fin dalle 24 ore dalla vaccinazione ($p < 0.05$) e si mantengono elevati dopo 15 giorni ($p < 0.06$).

Tabella 1. Concentrazione plasmatica della IL-6, espressa in pg/ml, nei soggetti allergici prima, dopo ventiquattro ore e dopo quindici giorni dalla somministrazione unica del vaccino EPD

Determinazione plasmatica della IL-6			
	Pazienti	Controlli	p
Basale	17,08 ± 8,09	5,84 ± 2,15	p < 0.02
24 ore	20,54 ± 12,37	6,89 ± 4,20	p < 0.05
15 giorni	10,64 ± 6,29	9,10 ± 4,72	ns

Tabella 2. Concentrazione plasmatica della IL-10, espressa in pg/ml, nei soggetti allergici prima, dopo ventiquattro ore e dopo quindici giorni dalla somministrazione unica del vaccino EPD

Determinazione plasmatica della IL-10			
	Pazienti	Controlli	p
Basale	112,46 ± 18,51	64,39 ± 10,15	p < 0.05
24 ore	146,54 ± 26,31	53,65 ± 12,73	p < 0.05
15 giorni	143,04 ± 12,57	66,87 ± 18,54	p < 0.05

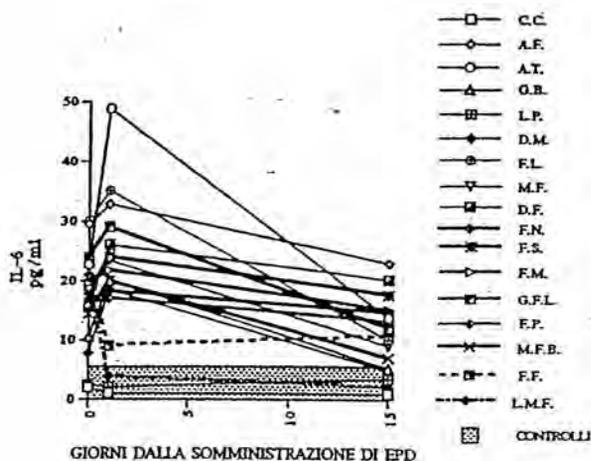


Fig. 1.

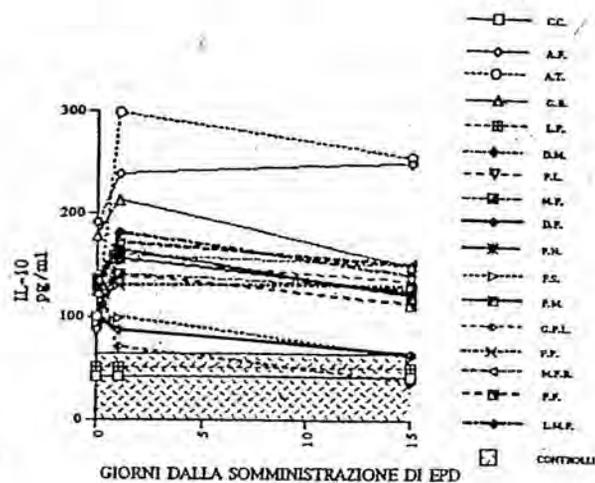


Fig. 2.