

Т.И. Виткина, Е.В. Кондратьева, И.Ю. Шадрин

Характеристика рецепторного профиля клеток адаптивного звена иммунитета и цитокинового статуса у пациентов с бронхиальной астмой

Владивостокский филиал ФГБ НУ «Дальневосточный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, Владивосток

Контактная информация: Кондратьева Елена Викторовна, e-mail: elena.v.kondratyeva@yandex.ru

Резюме

Бронхиальная астма – хроническая респираторная патология, которая характеризуется переходом от локального воспаления в дыхательных путях к системному воспалительному процессу. Цель работы – оценка характера нарушений функционирования Т-клеточного звена иммунного ответа при бронхиальной астме. В исследование *in vitro* вошли 68 человек: 46 из них имели лёгкую частично контролируемую бронхиальную астму, а 22 составили группу контроля. В группе лиц с бронхиальной астмой отмечается снижение числа Т-регуляторных клеток (на 75%, $p < 0,001$) и Т-хелперов (на 26%, $p < 0,01$). Количество Т-цитотоксических клеток возрастает на 22% ($p < 0,05$). Повышается экспрессия рецепторов к интерлейкинам 4 и 6: у Т-хелперов на 167% ($p < 0,001$) и 74% соответственно ($p < 0,001$), у Т-цитотоксических клеток – на 329% ($p < 0,001$) и 27% ($p < 0,05$) соответственно. Возрастает концентрация цитокинов в сыворотке крови: уровень интерлейкина 4 – на 13% ($p < 0,05$), а интерлейкина 6 – на 59% ($p < 0,01$). Данное исследование может послужить основой для оптимизации терапевтических стратегий при бронхиальной астме.

Ключевые слова: бронхиальная астма, интерлейкин 4, интерлейкин 6, рецепторный профиль Т-клеток

Elena V. Kondratyeva, Tatyana I. Vitkina, Ivan Yu. Shadrin

Characteristic of adaptive immunity cells' receptors profile and cytokine status in patients with bronchial asthma

Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, Vladivostok

Summary

Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, Vladivostok

Key words: bronchial asthma, interleukin 4, interleukin 6, receptor profile of T-cells

Введение

Бронхиальная астма (БА) – хроническая патология, которая начинается с локального воспаления в дыхательных путях и прогрессирует, переходя в системный процесс с участием разнообразных иммунокомпетентных клеток и регуляторных молекул [11]. БА характеризуется широким распространением и в данном аспекте наблюдается динамика к увеличению [2]. Отдельно стоит отметить ограниченные возможности лечения этого заболевания [6].

Системное воспаление при БА характеризуется нарушением внутриклеточного и межклеточного сигналинга. Выражается это в высоком уровне провоспалительных цитокинов, усилении окислительного стресса и повышении реактивности иммунокомпетентных клеток (ИКК) [11]. Точные причины формирования этого состояния до сих пор дискутируются и требуют детального изучения.

Цель работы – оценка характера нарушений функционирования Т-клеточного звена иммунного ответа при бронхиальной астме.

Материалы и методы. В исследование *in vitro* вошли 68 человек – у 46 из них была диагностирована лёгкая частично контролируемая бронхиальная астма, а 22 составили группу

контроля. Средний возраст обследуемых – $44 \pm 4,5$ года. Диагноз верифицирован в соответствии с Глобальной стратегией лечения и профилактики бронхиальной астмы, Федеральных клинических рекомендаций по диагностике и лечению бронхиальной астмы и международной классификации болезней 10-го пересмотра. Исследование было проведено с учетом требований Хельсинской декларации (2013), одобрено локальным этическим комитетом. На проведение обследования от каждого пациента было получено добровольное информированное согласие. Использовались следующие критерии исключения: острые инфекционные заболевания, хронические заболевания в фазе обострения, хроническая сердечная недостаточность в фазе декомпенсации, онкологические заболевания, сахарный диабет, подверженность влиянию вредных производственных факторов.

В периферической крови выделяли лейкоцитарную взвесь на фикоцеллюлозно-градиентном градиенте плотности. В исследовании *ex tempore* анализировали популяции Т-хелперов ($CD4^+$), Т-цитотоксических ($CD8^+$) и Т-регуляторных клеток. У данного спектра клеток оценивали активацию ($CD25^+$) и экспрессию рецепторов к интерлейкинам 4 ($CD124^+$) и 6 ($CD126^+$) реактивами фирмы BD (США). Уровень экспрессии перечисленных маркеров оценивали на проточном цитометре

BD FACSCanto II с оценкой 2,5 миллиона событий. Обработка результатов проводилась в программном обеспечении FACSDiva. В сыворотке крови иммуноферментным методом определяли концентрацию интерлейкинов 4 и 6 (реактивы фирмы «ВЕКТОР БЕСТ», Россия).

Статистическая обработка результатов эксперимента производилась в программе «STATISTICA 10.0» для Windows OS. Результаты представлены в виде медианных значений (Me) и квартилей (Q25, Q75). Для проверки совпадения полученных распределений с нормальным использовался критерий Колмогорова-Смирнова. Гомогенность дисперсии оценивалась с помощью критерия Левена. Статистическая значимость различий между группами оценивалась по критерию Манна-Уитни. Критический уровень значимости (p) при проверке гипотез принимался при значениях <0,001, <0,01, <0,05.

Для анализа было вычислено процентное содержание показателей при БА относительно здоровых лиц, взятых за 100%.

Обсуждение результатов

Наше исследование показало, что у лиц с БА относительно здоровых добровольцев снижается количество

Т-хелперов на 26% (p <0,01), а Т-цитотоксических клеток становится больше на 22% (p <0,05). Активация в обеих этих группах значительно повышается – среди Т-хелперов на 206% (p <0,001), а среди Т-цитотоксических клеток на 243% (p <0,001). Число Т-регуляторных клеток сокращается на 75% (p <0,001). Исследование рецепторного ансамбля показало, что Т-хелперы характеризуются усилением экспрессии рецепторов к IL-4 на 167% (p <0,001) и к IL-6 на 74% (p <0,001). Среди Т-цитотоксических клеток наблюдается аналогичный тренд – количество CD8⁺CD124⁺ клеток возрастает на 329% (p <0,001), а CD8⁺CD126⁺ клеток становится больше на 27% (p <0,05). Концентрация соответствующих рецепторам интерлейкинов также увеличивается: интерлейкин 4 – на 13% (p <0,05), интерлейкин 6 – на 59% (p <0,01) (рис. 1).

Наше исследование показывает, что происходит снижение Т-хелперов, хотя эти клетки характеризуются большей активацией, что соотносится с литературными данными [1, 10]. Уменьшение числа CD4⁺ может объясняться дисбалансом клеточных субпопуляций, ассоциированным с БА, а повышение количества CD4⁺CD25⁺ – повышением реактивности иммунной системы. Количество Т-регуляторных клеток снижается, подобно иным результатам [1], что связано с хронизацией системного воспаления и сопут-

ствующим нарушением регуляторных механизмов иммунной системы.

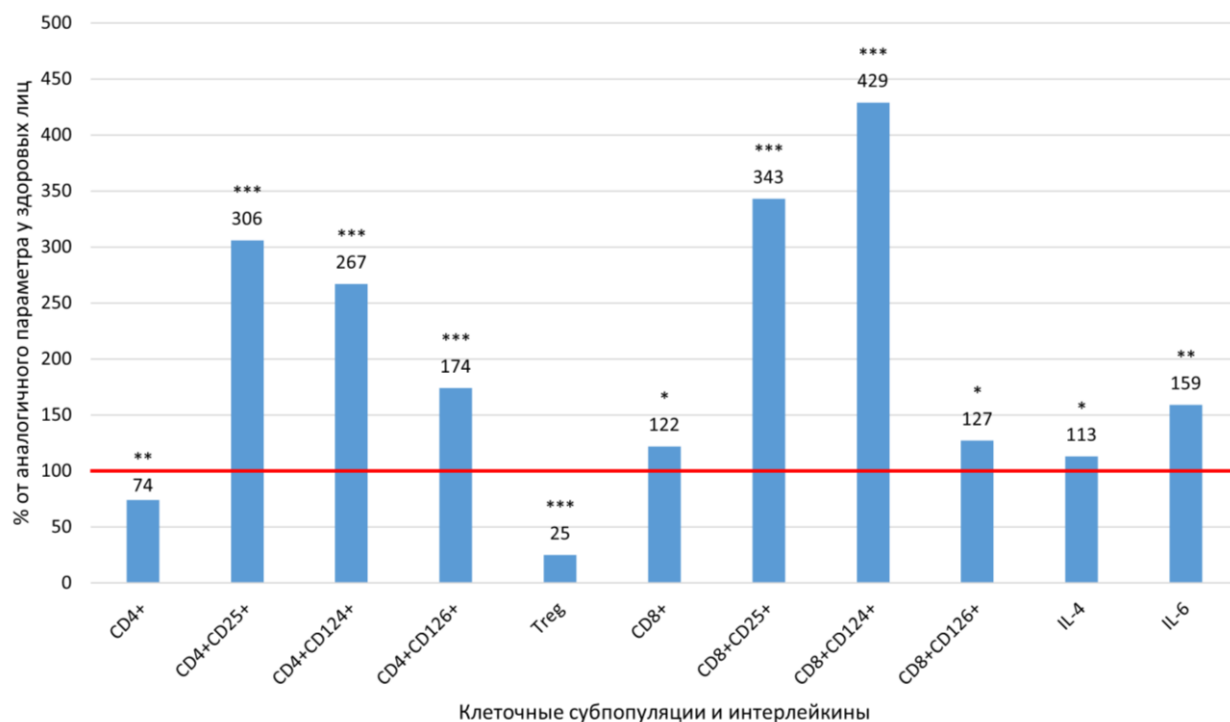


Рис. 1. Значение исследованных параметров у лиц с бронхиальной астмой.

Примечание: данные представлены в процентах относительно здоровых лиц, взятых за 100% и отмеченных на рисунке красной линией. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

В частности, к подобным нарушениям относится дисбаланс медиаторов, направляющих дифференцировку Т-регуляторных клеток и Th17-клеток [8]. Уровень Т-цитотоксических клеток возрастает, что, по литературным данным, ассоциировано с усугублением бронхиальной астмы [5], поскольку Т-цитотоксические клетки также являются важным источником цитокинов, при этом данная субпопуляция не подвержена действию кортикостероидов [7]. Литературные данные по концентрации в сыворотке крови как

интерлейкина 4 [3], так и интерлейкина 6 [12] соотносятся с нашими данными, показывая увеличение уровня данных веществ. Увеличение концентрации этих веществ, являющихся ключевыми патофизиологическими медиаторами при бронхиальной астме, свидетельствует об ухудшении состояния.

Показано, что присутствие рецептора к интерлейкину 4 на субпопуляции Т-цитотоксических клеток связано с переключением перфорин-гранзимовой активности на FasL-опосредованную [4]. И хотя детально данный вопрос, особенно в контексте бронхиальной астмы, не исследо-

ван, нельзя отрицать вклад этого механизма в регуляцию иммунного ответа и апоптоз иммунных клеток. Повышение экспрессии рецептора к интерлейкину 6 на Т-цитотоксических клетках индуцирует выработку ими интерлейкина 21. Данный цитокин активирует ряд клеток врождённого иммунитета, из-за чего воспалительный процесс усиливается [15]. Повышенный уровень интерлейкина 6, как и увеличение экспрессии рецептора к нему на Т-хелперах, усугубляет воспалительный процесс и сдвигает воспаление в сторону Th2-ответа [9], что негативно сказывается на состоянии пациентов с atopической бронхиальной астмой. Также имеются данные о роли этого рецептора в активации Т-хелперов и в образовании Th-17 клеток и ассоциированном с этим утяжелении бронхиальной астмы [14]. Повышение экспрессии рецептора к интерлейкину 4 у Т-хелперов стимулирует их дифференцировку по Th2-фенотипу. Поскольку данные клетки способны выделять интерлейкин 4 самостоятельно, формируется положительная обратная связь [13]. Данные изменения способны в значительной степени усугублять состояние лиц с бронхиальной астмой, постепенно снижая контроль над забо-

леванием. Однако, несмотря на наличие в литературе вышеприведённых данных, субпопуляции Т-клеток пока не были подробно описаны в вопросе экспрессии данных рецепторов и реакций, связанных с ними. В контексте бронхиальной астмы ещё меньше подобных исследований, что и обуславливает ценность нашего комплексного исследования.

Заключение

При бронхиальной астме происходит дисбаланс Т-клеточных субпопуляций в сторону усугубления воспалительного процесса: уменьшается количество регуляторных клеток, одновременно с чем повышается экспрессия как интерлейкинов, так и рецепторов к ним у Т-хелперов и Т-цитотоксических клеток. Подобное усиление системного воспалительного процесса в перспективе ведёт к снижению контроля бронхиальной астмы и ухудшению состояния пациента.

Список литературы.

1. Зенкина Л.В., Смирнова С.В., Кадричева С.Г. Бронхиальная астма: концентрация IL2, IL4, IL6, IFN и TNFα в сыноворотке периферической крови и изменения в иммунном статусе при atopии и псевдоатопии // Вестник Клинической больницы №51 – 2008. – Т. 2, № 3. – С. 42–47.

2. Храмова Р.Н., Елисеева Т.И., По-
тёмина Т.Е. Дисфункция эпите-
лиального барьера при бронхи-
альной астме // Вестник меди-
цинского института «Реавиз»: ре-
абилитация, врач и здоровье –
2022. – Т. 4, № 58. – С. 56–61.
DOI: 10.20340/vmi-
rvz.2022.4.MORPH.3
3. Aghajani M., Rafiei A., Ghaffari J.,
Valadan R., Kardan M., Soltani M.,
Tahaghoghi-Hajghorbani S. Im-
mune Dysregulation in Children
with Allergic Asthma: A Close Re-
lationship Between IL-17 but not
IL-4 or IFN-g // Research in Molec-
ular Medicine – 2019. – Vol. 6, №
1. – P. 14.
DOI:10.18502/rmm.v6i1.3926
4. Aung S., Graham B.S. IL-4 Dimin-
ishes Perforin-Mediated and In-
creases Fas Ligand-Mediated Cyto-
toxicity In Vivo // The Journal of
Immunology – 2000. – Vol. 164, №
7. – P. 3487–3493. DOI:
10.4049/jimmunol.164.7.3487
5. Bryant N., Muehling L.M. T-cell re-
sponses in asthma exacerbations //
Annals of allergy, asthma & immu-
nology: official publication of the
American College of Allergy,
Asthma, & Immunology – 2022. –
Vol. 129, № 6. – P. 709–718. DOI:
10.1016/j.anai.2022.07.027
6. Calhoun W.J., Chupp G.L. The new era of
add-on asthma treatments: where do we
stand? // Allergy, Asthma & Clinical
Immunology – 2022. – Vol. 18. DOI:
10.1186/s13223-022-00676-0
7. Hinks T.S.C., Hoyle R.D., Gelfand E.W.
CD8⁺ Tc2 cells: underappreciated con-
tributors to severe asthma // European
respiratory review: an official journal of
the European Respiratory Society – 2019.
– Vol. 28, № 154. DOI:
10.1183/16000617.0092-2019
8. Jiang H., Wu X., Zhu H., Xie Y., Tang S.,
Jiang Y. FOXP3⁺Treg/Th17 cell imbal-
ance in lung tissues of mice with asthma
// International journal of clinical and ex-
perimental medicine – 2015. – Vol. 8, №
3. – P. 4158–4163.
9. Jones G.W., McLoughlin R M., Hammond
V.J., Parker C.R., Williams J.D., Mal-
hotra R., Scheller J., Williams A.S.,
Rose-John S., Topley N., Jones S.A. Loss
of CD4⁺ T Cell IL-6R Expression during
Inflammation Underlines a Role for IL-6
Trans Signaling in the Local Maintenance
of Th17 Cells // The Journal of Immunol-
ogy – 2010. – Vol. 184, № 4. – P. 2130–
2139. DOI: 10.4049/jimmunol.0901528
10. Lee S.Y., Kim S.J., Kwon S.S., Kim
Y.K., Kim K.H., Moon H.S., Song J.S.,
Park S.H. Distribution and cytokine pro-
duction of CD4 and CD8 T-lymphocyte
subsets in patients with acute asthma at-
tacks // Annals of allergy, asthma & im-

- munology: official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology – 2001. – Vol. 86, № 6. – P. 659–664. DOI: 10.1016/S1081-1206(10)62295-8
11. Novgorodtseva T.P., Gvozdenko T.A., Vitkina T.I., Denisenko Yu.K., Antonyuk M.V., Knyshova V.V. Regulatory signal mechanisms of systemic inflammation in respiratory pathology // Russian Open Medical Journal – 2019. – Vol. 8, № 1. – P. 106. DOI:10.15275/RUSOMJ.2019.0106
12. Pan R., Quai S., Li Q., Zhu X., Wang T. Diagnostic value of IL-6 for patients with asthma: a meta-analysis // Allergy, Asthma & Clinical Immunology – 2023. – Vol. 19, № 1. – P. 39.
13. Silva-Filho J.L., Caruso-Neves C., Pinheiro A.A.S. IL-4: an important cytokine in determining the fate of T cells // Biophysical Reviews – 2014. – Vol. 6. – P. 111–118. DOI: 10.1007/s12551-013-0133-z
14. Xu E., Pereira M.M.A., Karakasilioti I., Theurich S., Al-Maarri M., Rappl G., Waisman A., Wunderlich F.T., Brünig J.C. Temporal and tissue-specific requirements for T-lymphocyte IL-6 signalling in obesity-associated inflammation and insulin resistance // Nature Com-
- munications – 2017. – Vol. 8. DOI: 10.1038/ncomms14803
15. Yang R., Masters A.R., Fortner K.A., Champagne D.P., Yanguas-Casás N., Silberberger D.J., Weaver C.T., Haynes L., Rincon M. IL-6 promotes the differentiation of a subset of naive CD8⁺ T cells into IL-21-producing B helper CD8⁺ T cells // The Journal of experimental medicine – 2016. – Vol. 213, № 11. – P. 2281–2291. DOI: 10.1084/jem.20160417