

ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ ЦИТОКИНОВ Th1- И Th17-ЛИМФОЦИТОВ У ЛИЦ С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

Лобанова Е.Г., Калинина Е.П., Денисенко Ю.К.

Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» — Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, г. Владивосток, Россия

Резюме. В исследовании 116 пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) легкой, средней и тяжелой степени тяжести изучался цитокиновый профиль Th1- и Th17-типов иммунного ответа. Субпопуляции Th1- и Th17-лимфоцитов оценивали по уровню цитокинов в сыворотке крови: TNF α , IL-6, IL-10, IL-17A, IL-21, IFN γ , TGF- β 1. Установлено, что у пациентов с ХОБЛ разной степени тяжести изменения баланса про- и противовоспалительных цитокинов характерны как для Th1-, так и для Th17-типов иммунного ответа. Разнообразие форм иммунного ответа достигалось за счет активации различных клеток-эффекторов: ответ по Th1-типу связан с активацией макрофагов и выработкой IFN γ ; при превалировании Th17-типа иммунного ответа активируются нейтрофилы и синтез IL-17, IL-21. При этом выявлено преобладание иммунного ответа по Th17-типу у больных ХОБЛ с тяжелой степенью тяжести. Таким образом, определенный тип иммунных нарушений при ХОБЛ диктует необходимость назначения комплексной терапии с включением иммунокорригирующих препаратов, действие которых направлено на подавление воспаления и на коррекцию дисбаланса цитокинов.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, Т-хелперы 1-го и 17-го типа, цитокины, иммунорегуляция

CYTOKINE CONTENTS IN Th1- AND Th17-TYPE LYMPHOCYTES IN CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

Lobanova E.G., Kalinina E.P., Denisenko Yu.K.

Far Eastern Research Centre of Respiratory Physiology and Pathology — Institute of Medical Climatology and Rehabilitation, Vladivostok Branch, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. We studied cytokine profiles relevant to the Th1 and Th17 modes of immune response in 116 patients with mild, moderate and severe chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Relative contents of Th1- and Th17-type lymphocytes were evaluated by serum levels of specific cytokines: TNF α , IL-6, IL-10, IL-17A, IL-21, IFN γ , TGF- β 1. We found that the shift in balance of pro- and anti-inflammatory cytokines

Адрес для переписки:

Лобанова Елена Григорьевна
Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения
690105, Россия, г. Владивосток, ул. Русская, 73г.
Тел.: 8 (423) 278-82-01.
E-mail: isachenko1@yandex.ru

Address for correspondence:

Lobanova Elena G.
Institute of Medical Climatology and Rehabilitation,
Vladivostok Branch
690105, Russian Federation, Vladivostok, Russkaya str., 73g.
Phone: 7 (423) 278-82-01.
E-mail: isachenko1@yandex.ru

Образец цитирования:

Е.Г. Лобанова, Е.П. Калинина, Денисенко Ю.К.
«Особенности содержания цитокинов Th1- и Th17-лимфоцитов у лиц с хронической обструктивной болезнью легких» // Медицинская иммунология, 2016. Т. 18, № 3. С. 287-290.
doi: 10.15789/1563-0625-2016-3-287-290

© Лобанова Е.Г., Калинина Е.П., Денисенко Ю.К., 2016

For citation:

E.G. Lobanova, E.P. Kalinina, Denisenko Yu.K. "Cytokine contents in Th1- and Th17-type lymphocytes in chronic obstructive pulmonary disease", *Medical Immunology (Russia)/ Meditsinskaya Immunologiya*, 2016, Vol. 18, no. 3, pp. 287-290.
doi: 10.15789/1563-0625-2016-3-287-290

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2016-3-287-290>

is typical to both Th1 and Th17 immune response types in COPD of different severity. The variety of immune response types was achieved due to activation of different effector cells. I.e., the Th1 response was associated with macrophage activation and IFN γ induction, whereas domination of Th17 response was accompanied by activation of neutrophils, and increased synthesis of IL-17, IL-21. The Th17 type of immune response was shown to prevail in severe COPD. Thus, the certain types of immune disorders in COPD presume application of combined therapy including immunocorrective drugs which are able to suppress inflammation and correct the cytokine imbalances.

Keywords: chronic obstructive pulmonary disease, T helpers, Th1, Th17 type, cytokines, immune regulation

Введение

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является одной из ведущих причин заболеваемости и смертности современного общества и представляет собой значительную экономическую и социальную проблему, которая пока не имеет тенденции к улучшению [2]. Основным звеном патогенеза ХОБЛ является дисбаланс клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа, обуславливающий «неадекватное течение» воспалительной реакции [3]. В настоящее время рассматривают четыре типа адаптивного иммунного ответа, регулируемые разными популяциями Т-хелперов (Th), а именно Th1-, Th2-, Th17- и Т-регуляторными клетками (Treg) [5].

При ХОБЛ поддержание персистирующего воспаления в дыхательных путях сопровождается преимущественно накоплением нейтрофилов Т-лимфоцитов Th1-типа [6]. Главным регуляторным цитокином Th1-клеток является интерферон-гамма (IFN γ), который принимает участие в активации макрофагов и усилении фагоцитарной реакции. Существует «альтернативная» активация макрофагов, отличающаяся от «классической» активации под действием IFN γ . На начальных этапах тканевого воспаления и для защиты слизистых наиболее важен иммунный ответ, развивающийся по Th17-типу. Ряд авторов склоняются к мнению, что клетки Th17-типа являются не столько провоспалительными, сколько выступают в роли модуляторов иммунного ответа [5, 6]. Вместе с тем роль субпопуляции Th17-клеток в патогенезе ХОБЛ в настоящее время мало изучена.

Целью исследования явилась оценка цитокинового профиля Th1- и Th17-типов иммунного ответа и установление их значения в формировании воспаления при ХОБЛ разной степени тяжести.

Материалы и методы

В исследовании на условиях добровольного информированного согласия участвовали 116 пациентов (74 мужчины и 42 женщины), средний возраст составил $57,5 \pm 4,8$ года. Критериями разделения пациентов по группам была степень тяжести течения ХОБЛ (GOLD, 2011) [1]. По клинико-функциональным вариантам пациенты с ХОБЛ разделялись по группам: 36 человек

(31%) с легкой степенью тяжести, 52 человека (45%) со средней степенью тяжести и 24 человека (24%) с тяжелой степенью тяжести. На момент обследования пациенты не получали регулярной противовоспалительной терапии. Критериями исключения из исследования явилось наличие у пациентов острых инфекционных заболеваний, хронических заболеваний внутренних органов в фазе обострения, хронической сердечной недостаточности в стадии декомпенсации. В контрольную группу вошли 32 практически здоровых человека (6 мужчин и 26 женщин), не курящих, с нормальной функцией внешнего дыхания, средний возраст – $42,0 \pm 3,4$ года.

Заболевания бронхолегочной системы диагностировали на основании данных анамнеза, объективного осмотра, пикфлоуметрии, спирографии с выполнением бронхолитического теста (спирограф “FUK.UDA”, Япония), результатов тестов mMRC и CAT, рентгенологического и лабораторного исследования. В соответствии с рекомендациями «Глобальной стратегии: диагностика, лечение и профилактика ХОБЛ» диагноз ХОБЛ выставляли при ОФВ₁/ФЖЕЛ < 0,70 [1]. По результатам спирометрии у пациентов с легкой степенью тяжести ХОБЛ показатель ОФВ₁ составил $90,13 \pm 1,99\%$. По результатам опроса у пациентов определялась одышка в 1 балл по шкале mMRC и 4 балла по тесту CAT. У пациентов со среднетяжелой степенью тяжести ХОБЛ показатель ОФВ₁ составил $73,9 \pm 2,56\%$. По результатам опроса у пациентов определялась одышка в 2 балла по шкале mMRC и 9 баллов по тесту CAT. У пациентов с тяжелой степенью тяжести ХОБЛ показатель ОФВ₁ составил $48,6 \pm 1,76\%$, по шкале одышки mMRC определялись более 2 баллов и по тесту CAT не менее 10 баллов.

Субпопуляции Th1- и Th17-лимфоцитов оценивали по уровню цитокинов в сыворотке крови (туморнекротизирующий фактор (TNF α), интерлейкинов (IL) IL-4, IL-10, IL-17A, IFN γ) методом проточной цитометрии (тест-системы фирмы BD, USA). Обработку данных проводили с использованием программы FCAP Array 3,0 BD USA. Уровень содержания трансформирующего фактора роста β 1 (TGF- β 1) и IL-21 в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом (Genzyme diagnostics, USA).

Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета прикладных программ «Statistica 6.0». Для выявления значимых различий сравниваемых показателей использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В рамках поставленной цели для выявления патогенетической значимости цитокинов Th1- и Th17-типов иммунного ответа в формировании воспаления исследовали больных ХОБЛ разной степени тяжести.

В группах больных ХОБЛ легкой степени тяжести у 24 пациентов (67%) выявлено увеличение концентрации $TNF\alpha$ и $IFN\gamma$ и снижение уровня IL-4 по сравнению с контрольной группой (табл. 1). Высокая концентрация провоспалительных цитокинов ($TNF\alpha$, $IFN\gamma$) свидетельствует об активации воспалительного процесса у больных ХОБЛ легкой степени тяжести. Дефицит IL-4 и высокий уровень $IFN\gamma$ указывают на дифференцировку наивных Т-лимфоцитов по Th1-зависимому пути. У 12 больных (33%) ХОБЛ легкой степени тяжести наблюдалось повышение уровня провоспалительных – IL-17 и IL-21 и противовоспалительных цитокинов – IL-10, TGF- β 1, падение уровня IL-4 по сравнению с группой контроля. Это свидетельствует о формировании специфического цитокинового паттерна, приводящего к дифференцировке Т-хелперов 17 типа (табл. 1). Экспрессия $IFN\gamma$ и $TNF\alpha$ у данных пациентов незначительно уве-

личивалась по сравнению с группой контроля, но статистически значимо отличалась только у больных дифференцируемых по Th1-пути иммунного ответа (табл. 1). Таким образом, у больных ХОБЛ легкой степени тяжести выявлено преобладание Th1-типа иммунного ответа.

В группе больных ХОБЛ средней степени тяжести у 24 человек (46%) выявлен Th1-путь иммунного ответа, который характеризовался снижением уровня цитокинов IL-4, IL-21 и повышением продукции $TNF\alpha$ и $IFN\gamma$ по сравнению с контрольной группой (табл. 1). У 28 больных (54%) ХОБЛ средней степени тяжести установлен Th17-путь иммунного ответа, который поддерживался высокими значениями провоспалительных цитокинов IL-17A, IL-21 и противовоспалительных – IL-10, TGF- β 1 (табл. 1). Следовательно, у больных ХОБЛ средней степени тяжести соотношение между типами Th1 и Th17 иммунного ответа выявлялось в равных долях.

Среди пациентов ХОБЛ с тяжелой степенью тяжести у 6 человек (28%) выявлено динамическое нарастание синтеза $TNF\alpha$ и $IFN\gamma$ на фоне низких значений IL-21, что свидетельствует о поддержании Th1-типа иммунного ответа (табл. 1). У 18 больных (72%) ХОБЛ тяжелой степени тяжести диагностировали максимальные значения провоспалительных цитокинов IL-17, IL-21 и противовоспалительных – IL-10, TGF- β 1, что указывает на продуцирующую активацию Th17-лимфоцитов, играющих роль дирижера воспалительной реакции (табл. 1). Статистически значимое различие внутри группы

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА У ПАЦИЕНТОВ С ХОБЛ

Показатели, пг/мл	Группа контроля, n = 32	ХОБЛ легкая степень тяжести, n = 36		ХОБЛ среднетяжелая степень тяжести, n = 52		ХОБЛ тяжелая степень тяжести, n = 24	
		Th1-путь, n = 24	Th17-путь, n = 12	Th1-путь, n = 24	Th17-путь, n = 28	Th1-путь, n = 6	Th17-путь, n = 18
IL-4	77,9 (66,2-81,0)	45,4* (43,0-52,3)	59,3* (48,3-65,8)	56,2* (45,4-61,3)	62,4 (58,0-71,2)	64,3 (54,8-73,8)	81,2# (77,0-99,4)
IL-10	32,4 (31,1-33,7)	36,5 (29,0-41,0)	43,6* (36,3-46,1)	59,6* (52,4-62,4)	58,9* (40,3-66,7)	39,7 (33,0-43,0)	69,8# (61,0-92,1)
IL-17A	378,4 (360,0-395,1)	402,0 (352,0-412,0)	605,3# (601,9-620,5)	419,7 (337,3-502,1)	541,1# (508,1-725,0)	364,4 (303,1-425,7)	640,1# (526,1-705,3)
IL-21	75,5 (74,0-82,0)	81,6 (72,3-92,4)	200,0# (152,0-252,0)	68,0 (52,0-80,0)	208,5# (168,0-249,0)	51,5* (48,0-55,0)	254,0# (250,0-276,0)
$TNF\alpha$	46,3 (43,2-48,9)	93,0* (89,6-107,5)	59,4# (49,0-69,0)	59,9* (52,4-62,4)	55,7 (42,5-62,8)	146,7* (145,7-147,8)	70,2# (60,0-94,0)
$IFN\gamma$	103,5 (91,6-125,7)	325,3* (308,1-344,0)	125,9# (114,0-151,0)	155,2* (125,9-187,3)	110,2 (107,5-138,0)	195,6* (191,5-209,6)	108,0# (102,0-161,1)
TGF- β 1	150,0 (118,0-180,0)	162,0 (88,0-184,0)	180,0# (175,0-275,0)	158,5 (145,0-205,0)	204,5# (195,0-275,0)	215,0* (210,0-220,0)	280,0# (240,0-340,0)

Примечание. Данные представлены в виде медианных (Median) и диапазона квартильных значений ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$).

* – $p < 0,05$ – достоверность различий относительно группы контроля (Манна–Уитни);

– $p < 0,05$ – статистическая значимость различий Th1- и Th17-путей относительно показателей группы больных ХОБЛ (Манна–Уитни).

по уровню исследуемых цитокинов выявлено для всех показателей. Следовательно, у больных ХОБЛ тяжелой степени тяжести выявлено преобладание иммунного ответа по Th17-типу, который регулирует дифференцировку Т-регуляторных клеток.

Результаты исследования свидетельствуют, что у пациентов с ХОБЛ разной степени тяжести изменения баланса про- и противовоспалительных цитокинов характерны как для Th1-, так и для Th17-типов иммунного ответа. Разнообразие форм иммунного ответа достигается за счет активации различных клеток-эффекторов: ответ по Th1-типу связан с активацией макрофагов

и выработкой IFN γ ; при превалировании Th17-типа иммунного ответа активируются нейтрофилы, эпителиальные клетки и синтез IL-17, IL-21 [5, 6]. Важно подчеркнуть, что цитокины, продуцируемые Th17-клетками, при утяжелении ХОБЛ подавляют дифференцировку Th1-клонов и формируют свой независимый иммунорегуляторный путь, лимитирующий функцию Th1-лимфоцитов. Таким образом, определенный тип иммунных нарушений при ХОБЛ диктует необходимость назначения комплексной терапии с включением иммунокорректирующих препаратов, действие которых направлено на подавление воспаления и на коррекцию дисбаланса цитокинов.

Список литературы / References

1. Всемирная организация здравоохранения. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) // Информационный бюллетень, 2011. № 315. [World Health Organization. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Informatsionnyy byulleten' = News Bulletin*, 2011, no. 315. (In Russ.)]
2. Зарембо И.А. Хроническая обструктивная болезнь легких: распространенность и смертность // Аллергология, 2006. № 1. С. 39-43. Zarembo I.A. Chronic obstructive pulmonary disease: prevalence and mortality. *Allergologiya = Allergy*, 2006, no. 1, pp. 39-43. (In Russ.)]
3. Калинина Е.П., Лобанова Е.Г., Антонюк М.В. Иммунометаболические фенотипы хронической обструктивной болезни легких у мужчин // Медицинская иммунология, 2014. Т.16, № 4. С. 375-380. [Kalinina E.P., Lobanova E.G., Antonyuk M.V. Immune phenotypes of chronic obstructive pulmonary disease in men. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2014, Vol. 16, no. 4, pp. 375-380. (In Russ.)] <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2014-4-375-380>
4. Лобанова Е.Г., Калинина Е.П., Кнышова В.В., Антонюк М.В., Гельцер Б.И., Денисенко Ю.К., Гвозденко Т.А. Особенности регуляции иммунного ответа у пациентов с коморбидным течением хронической обструктивной болезни легких и бронхиальной астмы // Пульмонология, 2014. № 6. С. 5-10. [Lobanova E.G., Kalinina E.P., Knyshova V.V., Antonyuk M.V., Geltser B.I., Denisenko Yu.K., Gvozdenko T.A. Features of the regulation of the immune response in patients with chronic obstructive pulmonary disease and concomitant asthma. *Pul'monologiya = Pulmonology*, 2014, no. 6, pp. 5-10. (In Russ.)]
5. Afzali B., Lombardi G., Lecher R.I., Lord G.M. The role of T helper 17 (Th17) and regulatory T cells (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease. *J. Clinical and Experimental Immunology*, 2007, Vol. 148, pp. 32-46.
6. Annunziato F., Cosmi L., Santarlasci V., Maggi L., Liotta F., Mazzinghi B., Parente E., Fili L., Ferri S., Frosali F., Giudici F., Romagnani P., Parronchi P., Tonelli F., Maggi E., Romagnani S. Phenotypic and functional features of human Th17 cells. *J. Exp. Med.*, 2007, Vol. 204, pp. 1849-1861.

Авторы:

Лобанова Е.Г. — к.м.н., научный сотрудник лаборатории биомедицинских исследований, Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» — Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, г. Владивосток, Россия

Калинина Е.П. — д.м.н., старший научный сотрудник лаборатории восстановительного лечения, Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» — Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, г. Владивосток, Россия

Денисенко Ю.К. — д.б.н., заведующая лабораторией биомедицинских исследований Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» — Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, г. Владивосток, Россия

Authors:

Lobanova E.G., PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Biomedical Research, Far Eastern Research Centre of Respiratory Physiology and Pathology/Institute of Medical Climatology and Rehabilitation, Vladivostok Branch, Vladivostok, Russian Federation

Kalinina E.P., PhD, MD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Rehabilitation Treatment, Far Eastern Research Centre of Respiratory Physiology and Pathology/Institute of Medical Climatology and Rehabilitation, Vladivostok Branch, Vladivostok, Russian Federation

Denisenko Yu.K. — PhD, MD (Biology), Head, Laboratory of Biomedicine Researches, Far Eastern Research Centre of Respiratory Physiology and Pathology/Institute of Medical Climatology and Rehabilitation, Vladivostok Branch, Vladivostok, Russian Federation

Поступила 09.12.2015

Принята к печати 11.12.2015

Received 09.12.2015

Accepted 11.12.2015