

ЭКСПРЕССИЯ НЕГАТИВНЫХ РЕГУЛЯТОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНОВ В МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТКАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Лим В.В., Иванов В.А., Сорокина Л.Н., Минеев В.Н., Нёма М.А., Трофимов В.И.

ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Были обследованы 60 пациентов с аллергической бронхиальной астмой (АБА) и 41 пациента с неаллергической бронхиальной астмой (НАБА), а также 23 практически здоровых лица. Экспрессию мРНК SOCS5 оценивали путем проведения ПЦР с обратной транскрипцией (RT-PCR).

Полученные данные показывают, что у больных бронхиальной астмой (независимо от клинико-патогенетического варианта) отмечается выраженное повышение уровня экспрессии мРНК SOCS5 по сравнению с контрольной группой (в 1,24 раза и 1,37 раза соответственно), что, по-видимому, является результатом повышения IL-4 и IL-13 сигнализации при бронхиальной астме.

Оценивая полученные данные, можно сделать выводы о том, что повышение экспрессии мРНК SOCS5 у больных БА рассматривается как протективный ответ, направленный против воспалительного процесса. Выявленные нами особенности экспрессии супрессоров цитокиновой сигнализации, вероятно, могут указывать на существование нарушений негативной регуляции клеточной сигнализации у больных бронхиальной астмой.

Полученные данные позволяют рассматривать сложность нарушений регуляции, возникающих на различных уровнях клеточной сигнализации, с позиций полифункциональности молекул семейства негативных регуляторов транскрипции генов SOCS1, SOCS3 и SOCS5, обеспечивающих комплексный контроль цитокиновой сигнализации одновременно в различных сигнальных путях.

Ключевые слова: бронхиальная астма, система SOCS-белков, SOCS3, SOCS5, мононуклеарные клетки

EXPRESSION OF NEGATIVE TRANSCRIPTION REGULATORS IN PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEARS IN PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA

Lim V.V., Ivanov V.A., Sorokina L.N., Mineev V.N., Nyoma M.A., Trofimov V.I.

The First St. Petersburg I. Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Sixty patients with allergic bronchial asthma (ABA) and forty-one, with non-allergic bronchial asthma (NABA), as well as 23 healthy controls were under study. Expression of the SOCS5 mRNA from mononuclear blood cells was analyzed by RT-PCR. In patients with bronchial asthma, (ABA and NABA) we

Адрес для переписки:

*Минеев Валерий Николаевич
ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский
государственный медицинский университет им. акад.
И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ
198516, Россия, Санкт-Петербург-Петродворец,
Санкт-Петербургский пр., 56, кв.15.
Тел.: 8 (812) 450-71-63, (921) 359-62-95.
E-mail: vnmineev@mail.ru*

Address for correspondence:

*Mineev Valeriy N.
The First St. Petersburg I. Pavlov State Medical University,
St. Petersburg, Russian Federation
198516, Russian Federation, St. Petersburg-Petrodvorets,
Sankt-Peterburgskiy ave, 56, apt 15.
Phone: 7 (812) 450-71-63, (921) 359-62-95.
E-mail: vnmineev@mail.ru*

Образец цитирования:

В.В. Лим, В.А. Иванов, Л.Н. Сорокина, В.Н. Минеев, М.А. Нёма, В.И. Трофимов «Экспрессия негативных регуляторов транскрипции генов в мононуклеарных клетках периферической крови больных бронхиальной астмой» // Медицинская иммунология, 2016. Т. 18, № 5. С. 451-458. doi: 10.15789/1563-0625-2016-5-451-458

© Лим В.В. и соавт., 2016

For citation:

V.V. Lim, V.A. Ivanov, L.N. Sorokina, V.N. Mineev, M.A. Nyoma, V.I. Trofimov "Expression of negative transcription regulators in peripheral blood mononuclears in patients with bronchial asthma", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2016, Vol. 18, no. 5, pp. 451-458. doi: 10.15789/1563-0625-2016-5-451-458

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2016-5-451-458>

determined a significant increase of mRNA expression levels for a SOCS5 negative transcription regulator in peripheral blood mononuclears, in comparison with control group. Thus, an increase of SOCS5-expression, and of the SOCS3 mRNA expression in patients with BA may be associated with protective anti-inflammatory response.

Keywords: bronchial asthma, SOCS-proteins, SOCS3, SOCS5, mononuclear blood cells

Введение

Изучение механизмов развития бронхиальной астмы дает основание полагать, что в патогенезе заболевания важную роль играют нарушения регуляторных процессов, в частности в системе негативной регуляции клеточной сигнализации [3, 5, 10].

Проведенные нами исследования семейства SOCS-белков (супрессоры цитокиновой сигнализации – Suppressors of cytokine signaling) подтвердили мнение ряда авторов о важности трех его представителей, а именно SOCS1, SOCS3 и SOCS5 в патогенезе заболевания [3, 5, 6].

В настоящее время считается, что негативный регулятор цитокиновой сигнализации SOCS5, наряду с уже рассмотренными нами ранее SOCS1 и SOCS3, участвует в Th-клеточной дифференцировке и может влиять на баланс Th1-/Th2-клеток [8]. SOCS3 в основном экспрессируется в Th2-клетках и ингибирует Th1-дифференцировку. И наоборот, SOCS5 в основном экспрессируется в Th1-клетках и ингибирует дифференциацию в Th2 [10].

Предполагается роль SOCS5 (и SOCS1) в регуляции цитокиновой сигнализации IL-4 и IL-13 [9]. Так, по результатам эксперимента [7], предполагалось, что SOCS5 может связываться с цитоплазматической частью IL-4R α , тем самым нарушая STAT6 сигнализацию, индуцированную IL-4 и IL-13.

Целью данного исследования является изучение экспрессии мРНК регулятора транскрипции SOCS5 в мононуклеарных клетках периферической крови больных аллергической и неаллергической БА.

Материалы и методы

Нами обследовано 23 практически здоровых лица, 60 с аллергической БА (АБА) и 41 с неаллергической БА (НАБА). Все обследованные больные БА находились на лечении в клинике госпитальной терапии им. акад. М.В. Черноруцкого Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова.

Всем больным проводили комплексное клинико-лабораторное обследование, а также аллергологическое и гормональное исследования. В каждой обследованной группе проводили исследование функции внешнего дыхания. Диагноз БА устанавливали в соответствии с классифика-

цией и критериями международного консенсуса по вопросам диагностики и лечения БА (Global Initiative of Asthma – GINA, 2013).

Выделение мононуклеарных клеток периферической крови и исследование экспрессии мРНК SOCS5 методом RT-PCR было подробно описано нами ранее [1, 4, 6]. Работа выполнена на базе лаборатории Научно-методического центра по молекулярной медицине на базе ПСПбГМУ им. И.П. Павлова.

Праймеры для SOCS5 были разработаны на основе известных последовательностей (GenBank).

SOCS5 5': 5'- TGTGAGCCCCACATTCAACAT-3'
и SOCS5 3': 5'- ATGGGTATGGCTGTCTCCAG -3'.

β -актин -5': 5'-TCCTGTGGCATCCACGAAACT-3'
и β -актин-3': 5'-GAAGCATTTGCGGTGGACGAT-3'.

Уровень экспрессии мРНК SOCS5 оценивали относительно уровня β -актина.

Статистическую обработку результатов исследований проводили с помощью стандартного пакета прикладного статистического анализа SPSS для Windows (русифицированная версия 13.0). Различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Рассмотрим результаты исследования экспрессии SOCS5 на транскрипционном, точнее, на посттранскрипционном уровне синтеза матричной РНК SOCS5 (табл. 1).

ТАБЛИЦА 1. УРОВНИ ЭКСПРЕССИИ мРНК SOCS5 В ОБСЛЕДОВАННЫХ ГРУППАХ (стандартизованы по отношению к экспрессии β -актина)

Обследованные группы	Значение*	Достоверность различий
Контрольная группа: n = 23 (1)	0,78 \pm 0,36	$p_{ANOVA} = 0,020$ $p_{1-2} = 0,045^{**}$ $p_{1-3} = 0,006^{**}$ $p_{2-3} > 0,05^{**}$
Больные АБА: n = 60 (2)	0,97 \pm 0,38	
Больные НАБА: n = 41 (3)	1,07 \pm 0,38	

Примечание. Использован однофакторный дисперсионный анализ ANOVA;
* – для выборок, подчиняющихся нормальному распределению, указаны среднее значение и значение стандартного отклонения ($M \pm \sigma$) (параметрическая статистика);
** – уровень значимости, определяющий достоверность различий. Для сравнения средних использован однофакторный дисперсионный анализ, применен критерий Тьюки (так как дисперсии не различаются).

Как видно из таблицы 1, у больных АБА и НАБА отмечается выраженное повышение уровня экспрессии мРНК SOCS5 в мононуклеарах периферической крови по сравнению с контрольной группой (в 1,24 раза и 1,37 раза соответственно).

Данные изменения при бронхиальной астме представляются достаточно закономерными, поскольку при этом заболевании, как известно, повышается IL-4 и IL-13 сигнализация.

Рассмотрим результаты исследования экспрессии SOCS5 в условиях действия IL-4 (табл. 2).

Исследование экспрессии мРНК SOCS5 в условиях действия IL-4 показало тенденцию к нарастанию этого показателя в группе больных АБА по сравнению с контрольной группой (табл. 2).

Учитывая, что IL-4 стимулирует в В-клетках транскрипцию ϵ -цепей и индуцирует переключение на синтез IgE, нас интересовал вопрос о непосредственной роли SOCS5 в регуляции IL-4 сигнализации.

ТАБЛИЦА 2. УРОВНИ ЭКСПРЕССИИ мРНК SOCS5 В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ IL-4 В ОБСЛЕДОВАННЫХ ГРУППАХ (стандартизованы по отношению к экспрессии β -актина)

Обследованные группы	Значение	Достоверность различий
Контрольная группа: n = 3 (1)	0,61±0,11*	$p_{ANOVA} = 0,581$ $p_{1-2} > 0,05^{**}$
Больные БА: n = 8 (2)	0,67±0,18*	

Примечание. Использован однофакторный дисперсионный анализ ANOVA;

* – для выборок, подчиняющихся нормальному распределению, указаны среднее значение и значение стандартного отклонения ($M \pm \sigma$) (параметрическая статистика);

** – уровень значимости, определяющий достоверность различий – для сравнения средних использован однофакторный дисперсионный анализ (с применением апостериорного Т-критерия, так как дисперсии не различаются).

ТАБЛИЦА 3. УРОВНИ ЭКСПРЕССИИ мРНК SOCS5 В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФАЗЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ (стандартизованы по отношению к экспрессии β -актина)

Фаза заболевания	Значения	Достоверность различий
Обострение (1) n = 19	1,01±0,40*	$p_{1-2} > 0,05^{**}$
Ремиссия (2) n = 19	0,88±0,42*	

Примечание. * – для выборок, подчиняющихся нормальному распределению, применяются методы параметрической статистики; указаны среднее значение и значение стандартного отклонения ($M \pm \sigma$);

** – уровень значимости, определяющий достоверность различий (для сравнения средних использован t-критерий для парных выборок).

Для анализа изменений экспрессии мРНК SOCS5 нами было проведено исследование экспрессии данного негативного регулятора в начале и по окончании лечения обострения бронхиальной астмы. Всем обследованным в динамике больным проводилась парентеральная глюкокортикостероидная терапия. Результаты исследования экспрессии SOCS5 в зависимости от фазы заболевания представлены в таблице 3.

Как видно из таблицы 3, отмечалось некоторое нарастание уровня экспрессии мРНК SOCS5 в фазе обострения бронхиальной астмы, но статистическая обработка данных свидетельствует об отсутствии значимых изменений уровня экспрессии мРНК SOCS5, в зависимости от фазы заболевания.

Данный факт, по-видимому, позволяет предполагать, что в условиях обострения бронхиальной астмы наблюдаемое повышение мРНК SOCS5 может быть обусловлено повышением активности IL-4 сигнализации.

При анализе отдельно по группам АБА и НАБА уровней экспрессии мРНК SOCS5 значимых различий между фазой обострения и ремиссии не обнаружено. Отсутствие значимых изменений при АБА косвенно может свидетельствовать о сохранении нарушений регуляции экспрессии мРНК SOCS5 и в фазе ремиссии (табл. 4, 5).

ТАБЛИЦА 4. УРОВНИ ЭКСПРЕССИИ мРНК SOCS5 В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФАЗЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ ПРИ НАБА (стандартизованы по отношению к экспрессии β -актина)

Фаза заболевания	Значение*	Достоверность различий
Обострение (1), n = 10	1,05±0,41	$p_{1-2} > 0,05^{**}$
Ремиссия (2), n = 10	1,04±0,29	

Примечание. * – для выборок, подчиняющихся нормальному распределению, применяются методы параметрической статистики; указаны среднее значение и значение стандартного отклонения ($M \pm \sigma$); ** – уровень значимости, определяющий достоверность различий (для сравнения средних использован t-критерий для парных выборок).

ТАБЛИЦА 5. УРОВНИ ЭКСПРЕССИИ мРНК SOCS5 В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФАЗЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ ПРИ АБА (стандартизованы по отношению к экспрессии β -актина)

Фаза заболевания	Значение*	Достоверность различий
Обострение (1), n = 9	0,98±0,39	$p_{1-2} > 0,05^{**}$
Ремиссия (2), n = 9	0,85±0,43	

Примечание. * – для выборок, подчиняющихся нормальному распределению, применяются методы параметрической статистики; указаны среднее значение и значение стандартного отклонения ($M \pm \sigma$); ** – уровень значимости, определяющий достоверность различий (для сравнения средних использован t-критерий для парных выборок).

Нами был проведен анализ экспрессии мРНК SOCS5 в зависимости от тяжести течения бронхиальной астмы (табл. 6, 7).

Как видно из таблицы 6, при АБА уровень экспрессии мРНК SOCS5 отличается в зависимо-

ТАБЛИЦА 6. УРОВНИ ЭКСПРЕССИИ мРНК SOCS5 В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ПРИ АБА (стандартизованы по отношению к экспрессии β-актина)

Обследованные группы	Значение*	Достоверность различий
Легкое течение АБА(1) n = 25	0,69±0,26	p = 0,769* p ₁₋₂ = 0,004** p ₁₋₃ = 0,042** p ₂₋₃ = 0,951** p _{1-2-3 ANOVA} = 0,002***
Средней тяжести АБА(2) n = 28	0,98±0,37	
Тяжелое течение АБА(3) n = 7	1,02±0,21	

Примечание. Использован однофакторный дисперсионный анализ ANOVA;

* – для выборок, подчиняющихся нормальному распределению (по критерию Колмогорова–Смирнова $p > 0,05$), используется параметрическая статистика: указаны среднее значение и значение стандартного отклонения ($M \pm \sigma$);

** – уровень значимости, определяющий достоверность различий. Для сравнения средних использован однофакторный дисперсионный анализ, применен критерий Тьюки (так как дисперсии не различаются).

*** – уровень значимости различий между группами ANOVA.

ТАБЛИЦА 7. УРОВНИ ЭКСПРЕССИИ мРНК SOCS5 В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ПРИ НАБА (стандартизованы по отношению к экспрессии β-актина)

Обследованные группы	Значение*	Достоверность различий
Легкое течение НАБА(1) n = 5	1,12±0,10	p = 0,78* p ₁₋₂ = 0,953** p ₁₋₃ = 0,882** p ₂₋₃ = 0,951** p _{1-2-3 ANOVA} = 0,887***
Средней тяжести НАБА(2) n = 23	1,07±0,43	
Тяжелое течение НАБА(3) n = 13	1,03±0,38	

Примечание. Использован однофакторный дисперсионный анализ ANOVA;

* – для выборок, подчиняющихся нормальному распределению (по критерию Колмогорова–Смирнова $p > 0,05$), используется параметрическая статистика: указаны среднее значение и значение стандартного отклонения ($M \pm \sigma$);

** – уровень значимости, определяющий достоверность различий. Для сравнения средних использован однофакторный дисперсионный анализ, применен критерий Тьюки (так как дисперсии не различаются).

*** – уровень значимости различий между группами ANOVA.

сти от тяжести течения заболевания. При легкой степени АБА он ниже, чем при средней и тяжелой АБА. Различий в уровнях экспрессии мРНК SOCS5 при средней и тяжелой АБА не отмечается.

При НАБА уровни экспрессии мРНК SOCS5 значимо не меняются в зависимости от степени тяжести заболевания (табл. 7).

Нами проведен анализ уровней экспрессии мРНК SOCS5 в зависимости от наличия системной глюкокортикостероидной терапии (табл. 8).

Оценивая полученные данные, прежде всего, надо отметить, что больные БА, получающие системную глюкокортикостероидную терапию, имеют значительно более высокие показатели экспрессии мРНК SOCS5 в сравнении с контрольной группой.

Что касается больных, не получающих терапию системными ГКС (в том числе больных

ТАБЛИЦА 8. УРОВНИ ЭКСПРЕССИИ мРНК SOCS5 (RT-PCR) В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТИПА ПРИМЕНЯЕМОЙ ГЛЮКОКОРТИКОСТЕРОИДНОЙ ТЕРАПИИ (стандартизованы по отношению к экспрессии β-актина)

Обследованные группы	Значение*	Достоверность различий
Практически здоровые лица, n = 23 (1)	0,78±0,36	p ₁₋₂ = 0,981** p ₁₋₃ = 0,999** p ₁₋₄ = 0,010** p ₁₋₅ = 0,53** p ₂₋₃ = 0,948** p ₂₋₄ = 0,162** p ₂₋₅ = 0,801** p ₃₋₄ = 0,003** p ₃₋₅ = 0,444** p ₄₋₅ = 0,999** p _{1-2-3-4-5 ANOVA} = 0,001***
Больные БА, не получающие терапию системными ГКС, n = 16 (2)	0,84±0,31	
Больные БА, получающие терапию ингаляционными ГКС, n = 26 (3)	0,76±0,26	
Больные БА, получающие терапию системными парентеральными ГКС, n = 53 (4)	1,07±0,39	
Больные БА, получающие терапию системными пероральными ГКС, n = 6 (5)	1,03±0,33	

Примечание. Использован однофакторный дисперсионный анализ ANOVA;

* – для выборок, подчиняющихся нормальному распределению (по критерию Колмогорова–Смирнова $p > 0,05$), используется параметрическая статистика: указаны среднее значение и значение стандартного отклонения ($M \pm \sigma$);

** – уровень значимости, определяющий достоверность различий. Для сравнения средних использован однофакторный дисперсионный анализ, применен критерий Тьюки (так как дисперсии не различаются) ($p = 0,726$).

с ингаляционной терапией ГКС), то их значения экспрессии мРНК SOCS5 сопоставимы с контрольной группой. Вероятно, это связано с мало-выраженными изменениями экспрессии регуляторов клеточной сигнализации при отсутствии терапии ГКС.

С целью оценки роли исследуемого регулятора клеточной сигнализации SOCS5 был проведен

корреляционный анализ, результаты которого представлены в таблицах 9, 10.

Анализируя результаты проведенного нами корреляционного анализа (табл. 9, 10), необходимо обсудить следующие факты. Во-первых, отмечается наличие особенностей корреляционных связей при АБА и НАБА, что заставляет предполагать существование различий в патогенезе этих вариантов заболевания. Еще одним важным

ТАБЛИЦА 9. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КОРРЕЛЯЦИОННЫХ СВЯЗЕЙ МЕЖДУ УРОВНЕМ ЭКСПРЕССИИ мРНК SOCS5 И КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ У БОЛЬНЫХ АБА

Показатель	n	Коэффициент корреляции*	Знак связи	Достоверность связи
Уровень экспрессии SOCS3 после IL-4 (иммуноблоттинг)	35	0,276	+	p = 0,020*
Концентрация IL-5 (пг/мл)	10	0,581	-	p = 0,032**
Тяжесть заболевания	60	0,247	+	p = 0,044***
Фаза АБА	60	0,226	-	p = 0,026**
Наличие пищевой сенсibilизации	60	0,219	+	p = 0,030**
Наличие бытовой сенсibilизации	60	0,209	-	p = 0,044*
МОС50 выдоха в % от должного до бронхолитика (л/с)	52	0,219	-	p = 0,022**
МОС50 выдоха в % от должного после бронхолитика (л/с)	51	0,202	-	p = 0,036**
Содержание базофилов в мокроте (%)	60	0,321	-	p = 0,011*

Примечание. * – для выборок, подчиняющихся нормальному распределению, использован коэффициент корреляции Пирсона;
– при распределениях, отличающихся от нормального, использованы коэффициенты корреляции Кендалла (**) и Спирмена (***).

ТАБЛИЦА 10. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КОРРЕЛЯЦИОННЫХ СВЯЗЕЙ МЕЖДУ УРОВНЕМ ЭКСПРЕССИИ мРНК SOCS5 И КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ У БОЛЬНЫХ НАБА

Показатели	n	Коэффициент корреляции*	Знак связи	Достоверность связи
Длительность курения (годы)	11	0,610	+	p = 0,046*
Наличие антибактериальной терапии	41	0,419	-	p = 0,001**
Наличие вазомоторного ринита	41	0,337	+	p = 0,029***
МОС75 выдоха в % от должного до бронхолитика (л/с)	39	0,244	+	p = 0,029**
МОС50 выдоха в % от должного после бронхолитика (л/с)	41	0,310	+	p = 0,003**
Содержание эозинофилов в мокроте (%)	31	0,523	+	p = 0,003*

Примечание. * – для выборок, подчиняющихся нормальному распределению, использован коэффициент корреляции Пирсона;
– при распределениях, отличающихся от нормального, использованы коэффициенты корреляции Кендалла (**) и Спирмена (***).

моментом является возможная роль SOCS5 в механизмах утяжеления заболевания (как при АБА, так и при НАБА). Так, наличие при АБА положительных корреляционных связей между уровнем экспрессии SOCS5 как негативного регулятора транскрипции генов и наличием бытовой, пищевой сенсibilизации, тяжестью, фазой АБА представляется закономерным. Важным является и существование значимых отрицательных корреляционных связей с концентрацией IL-5 в плазме крови, с уровнем базофилов в мокроте и положительных связей с экспрессией белка-регулятора SOCS3, с экспрессией мРНК STAT4, что отражает регуляторную роль мРНК SOCS5 (RT-PCR) в клеточных cross-talk взаимодействиях. Выявленные нами отрицательные корреляционные связи мРНК SOCS5 (RT-PCR) с показателями скорости и сопротивления дыхательных путей при исследовании функции внешнего дыхания также могут косвенно отражать его роль в механизмах утяжеления заболевания.

Представляется немаловажной положительная корреляционная связь экспрессии мРНК SOCS5 с уровнем эозинофилов в мокроте, что указывает на важную регуляторную роль SOCS5 в цитокиновой сигнализации при НАБА. Показательно, что при АБА подобная связь отсутствует.

Достаточно важным для НАБА является и существование отрицательной связи между экспрессией SOCS5 и наличием антибактериальной терапии: по-видимому, она характеризует повышение экспрессии данного негативного регулятора в отсутствие антибактериальной терапии. Не случайна и связь между уровнем SOCS5 и стажем курения, наличием вазомоторного (а не аллергического) ринита у больных НАБА.

Обсуждение

В результате исследования особенностей экспрессии негативного регулятора транскрипции генов SOCS5 на примере лимфоцитов периферической крови в контрольной группе и у больных бронхиальной астмой нами были сделаны следующие выводы:

1. У больных АБА и НАБА отмечается выраженное повышение уровня экспрессии мРНК SOCS5 по сравнению с контрольной группой (в 1,24 раза и 1,37 раза соответственно), что, по-видимому, является результатом повышения IL-4 и IL-13 сигнализации при бронхиальной астме.

2. При АБА уровень экспрессии мРНК SOCS5 отличается в зависимости от тяжести течения заболевания. При легкой степени АБА он ниже, чем при средней и тяжелой АБА. Различий в уровнях экспрессии мРНК SOCS5 при средней и тяжелой АБА не отмечается.

3. При НАБА уровни экспрессии мРНК SOCS5 значимо не меняются в зависимости от степени тяжести заболевания. При исследовании по группам АБА и НАБА уровней экспрессии мРНК SOCS5 различий между фазой обострения и ремиссии не обнаружено.

4. Больные БА, получающие системную глюкокортикостероидную терапию, имеют значительно более высокие показатели экспрессии мРНК SOCS5 в сравнении с контрольной группой. Что касается больных, не получающих терапию системными ГКС (в том числе больных с ингаляционной терапией ГКС), то их значения экспрессии мРНК SOCS5 сопоставимы с контрольной группой.

5. Выявленные нами корреляционные связи позволяют заключить: характер корреляционных связей при АБА и НАБА различен, что указывает на возможное существование различий в патогенезе этих вариантов заболевания; очевидна роль SOCS5 в механизмах утяжеления заболевания (более выраженная у больных АБА).

Ранее нами подробно рассматривались экспрессии других белков из семейства SOCS, а именно SOCS1 и SOCS3, как отмечалось, наиболее важных в патогенезе бронхиальной астмы [1, 2]. Сейчас с использованием новых данных с целью интегральной характеристики негативных регуляторов транскрипции генов нами был разработан интегральный коэффициент, учитывающий баланс соотношений их уровней экспрессии у каждого обследованного и рассчитываемый как произведение экспрессий мРНК всех трех супрессоров цитокиновой сигнализации:

$$E_i = \text{мРНК SOCS1} \times \text{мРНК SOCS3} \times \text{мРНК SOCS5}$$

Результаты исследования представлены в таблице 11.

Кроме того, для более точной и тонкой оценки суммарного вклада всех исследованных нами регуляторов нами был проведен анализ суммарной экспрессии мРНК SOCS-супрессоров цитокиновой сигнализации по формуле (что позволило учесть и минимальные значения экспрессии у отдельных больных):

$$E_{\Sigma} = \text{мРНК SOCS1} + \text{мРНК SOCS3} + \text{мРНК SOCS5}$$

Анализируя данные таблиц 11 и 12, можно сделать вывод об изменении SOCS-регуляции при бронхиальной астме. При этом в группе больных аллергической бронхиальной астмой отмечается существенное снижение рассчитанных нами коэффициентов, что, по-видимому, может рассматриваться как комплексное изменение кооперативной регуляции с помощью супрессоров цитокиновой сигнализации, в основе которого

ТАБЛИЦА 11. ИНТЕГРАЛЬНЫЙ КОЭФФИЦИЕНТ ЭКСПРЕССИИ мРНК SOCS-РЕГУЛЯТОРОВ E₁ В ОБСЛЕДОВАННЫХ ГРУППАХ (стандартизованы по отношению к экспрессии β-актина)

Обследованные группы	Значение	Достоверность различий
Контрольная группа n = 21 (1)	0,091 (0,04; 0,17)*	p ₁₋₂₋₃ = 0,007** p ₁₋₂ = 0,019*** p ₂₋₃ = 0,002*** p ₁₋₃ = 0,614***
Больные АБА n = 37 (2)	0,046 (0,012; 0,11)*	
Больные НАБА n = 39 (3)	0,149 (0,037; 0,22)*	

Примечание. * – распределение отличается от нормального (по критерию Колмогорова–Смирнова $p < 0,05$), поэтому используется непараметрическая статистика: Медиана (25-75 процентиля); ** – распределение отличается от нормального, поэтому использован критерий Н независимых выборок Краскела–Уоллеса ($p = 0,004$) и критерий Джонкхиера–Терпстры для попарного сравнения между собой более двух групп ($p = 0,007$); *** – уровень значимости для сравнения двух независимых выборок (использован U-критерий Вилкоксона–Манна–Уитни).

лежат дефекты негативного регуляторного контроля. НАБА, напротив, характеризуется некоторым повышением значений данных коэффициентов, что косвенно позволяет предполагать индукцию SOCS-регуляции в ответ на повышенную цитокиновую сигнализацию у этой группы больных.

Выявленные нами особенности экспрессии супрессоров цитокиновой сигнализации, вероятно, могут указывать на существование наруше-

ТАБЛИЦА 12. КОЭФФИЦИЕНТ ОБЩЕЙ ЭКСПРЕССИИ мРНК SOCS-РЕГУЛЯТОРОВ E_Σ В ОБСЛЕДОВАННЫХ ГРУППАХ (стандартизованы по отношению к экспрессии β-актина)

Обследованные группы	Значение	Достоверность различий
Контрольная группа n = 21 (1)	1,68±0,55*	p _{ANOVA} = 0,001 p ₁₋₂ = 0,033*** p ₂₋₃ = 0,0001*** p ₂₋₃ = 0,001** p ₁₋₃ >0,05**
Больные АБА n = 37 (2)	1,39±0,46*	
Больные НАБА n = 39 (3)	1,86±0,56*	

Примечание. Использован однофакторный дисперсионный анализ ANOVA; * – для выборок, подчиняющихся нормальному распределению, указаны среднее значение и значение стандартного отклонения ($M \pm \sigma$); ** – уровень значимости, определяющий достоверность различий (для сравнения средних использован однофакторный дисперсионный анализ с применением апостериорного критерия Тьюки [дисперсии не различаются]); ***- использован t-критерий для несвязанных выборок.

ний негативной регуляции клеточной сигнализации у больных бронхиальной астмой.

Полученные данные позволяют рассматривать сложность нарушений регуляции, возникающих на различных уровнях клеточной сигнализации, с позиций полифункциональности молекул семейства негативных регуляторов транскрипции генов SOCS1, SOCS3 и SOCS5, обеспечивающих комплексный контроль цитокиновой сигнализации одновременно в различных сигнальных путях.

Список литературы / References

1. Лим В.В., Сорокина Л.Н., Минеев В.Н., Нёма М.А., Трофимов В.И. Экспрессия негативных регуляторов транскрипции генов SOCS3 и SOCS5 в мононуклеарных клетках периферической крови больных бронхиальной астмой // Медицинская иммунология, 2014. Т. 16, № 2. С. 149-154. [Lim V.V., Sorokina L.N., Mineev V.N., Nyoma M.A., Trofimov V.I. The expression of mRNA SOCS3 and SOCS5 in peripheral blood mononuclears of patient with bronchial asthma. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2014, Vol. 16, no. 2, pp. 149-154. (In Russ.)] <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2014-2-149-154>.
2. Минеев В.Н., Сорокина Л.Н. Современные представления о JAK-STAT системе как новой сигнальной системе и ее нарушениях при иммунной патологии // Аллергология, 2005. № 4. С.38-44. [Mineev V.N., Sorokina L.N. Modern opinions about new signal system JAK STAT and its disturbance in immunity pathology. *Allergologiya = Allergology*, 2005, no. 4, pp. 38-44. (In Russ.)]
3. Минеев В.Н., Сорокина Л.Н. Экспрессия STAT6 в лимфоцитах периферической крови больных аллергической бронхиальной астмой // Медицинская иммунология, 2007. Т. 9, № 4-5. С. 405-410. [Mineev V.N., Sorokina L.N. The expression STAT6 in peripheral blood lymphocytes in patients with allergic bronchial asthma. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2007, Vol. 9, no. 4-5, pp. 405-410. (In Russ.)] <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2007-4-5-405-410>.
4. Минеев В.Н., Сорокина Л.Н., Лим В.В., Нёма М.А., Иванов В.А., Липкин Г.И. Роль SOCS-белков в негативной регуляции JAK-STAT сигнализации // Цитокины и воспаление, 2012. Т. 11, № 2. С. 10-15. [Mineev V.N., Sorokina L.N., Lim V.V., Nyoma M.A., Ivanov V.A., Lipkin G.I. The role of SOCS proteins in negative regulation of JAK-STAT signaling. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2012, Vol. 11, no. 2, pp. 10-15. (In Russ.)]
5. Минеев В.Н., Сорокина Л.Н., Трофимов В.И. Фундаментальные и клинические аспекты JAK-STAT-сигнализации. СПб.: BBM, 2010. 120 с. [Mineev V.N., Sorokina L.N., Trofimov V.I. Fundamental and clinical aspects of the JAK-STAT-signaling]. St. Petersburg: BBM, 2010. 120 p.

6. Сорокина Л.Н., Минеев В.Н., Лим В.В., Нёма М.А., Трофимов В.И. Экспрессия негативного регулятора транскрипции генов белка SOCS1 в мононуклеарах периферической крови больных бронхиальной астмой // Цитокины и воспаление, 2012. Т. 11, № 2. С. 49-54. [Sorokina L.N., Mineev V.N., Lim V.V., Nyoma M.A., Trofimov V.I. SOCS1 expression in peripheral blood mononuclears of patients with bronchial asthma. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2012, Vol. 11, no. 2, pp. 49-54. (In Russ.)]
7. Fichtner-Feigl S., Fuss I.J., Young C.A., Tomohiro Watanabe, Edward K. Geissler, Hans-Jürgen Schlitt, Atsushi Kitani, Warren Strober. Induction of IL-13 triggers TGF-beta1-dependent tissue fibrosis in chronic 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid colitis. *J. Immunol.*, 2007, Vol. 1/178, no. 9, pp. 5859-5870.
8. Inoue H., Kubo M. SOCS proteins in T helper cell differentiation: implications for allergic disorders? *Expert. Rev. Mol. Med.*, 2004, Vol. 6, no. 22, pp. 1-11.
9. Seki Y., Hayashi K., Matsumoto A., Seki N., Tsukada J., Ransom J., Naka T., Kishimoto T., Yoshimura A., Kubo M. Expression of the suppressor of cytokine signaling-5 (SOCS5) negatively regulates IL-4-dependent STAT-6 activation and Th2 differentiation. *PNAS*, 2002, Vol. 99, no. 20, pp. 13003-13008.
10. Yoshimura A., Suzuki M., Sakaguchi R., Hanada T., Yasukawa H. SOCS, inflammation, and autoimmunity. *Front. Immunol.*, 2012, Vol. 3, p. 20.

Авторы:

Лим В.В. — к.м.н., старший лаборант, кафедра госпитальной терапии с курсом аллергологии и иммунологии им. акад. М.В. Черноруцкого ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Иванов В.А. — очный аспирант, кафедра госпитальной терапии с курсом аллергологии и иммунологии им. акад. М.В. Черноруцкого ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Сорокина Л.Н. — д.м.н., профессор, кафедра госпитальной терапии с курсом аллергологии и иммунологии им. акад. М.В. Черноруцкого ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Минеев В.Н. — д.м.н., профессор, кафедра госпитальной терапии с курсом аллергологии и иммунологии им. акад. М.В. Черноруцкого ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Нёма М.А. — к.м.н., ассистент, кафедра госпитальной терапии с курсом аллергологии и иммунологии им. акад. М.В. Черноруцкого ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Трофимов В.И. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой госпитальной терапии с курсом аллергологии и иммунологии им. акад. М.В. Черноруцкого ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Lim V.V., PhD (Medicine), Senior Laborant, M. Chernorutsky Hospital Therapy Department with a Course of Allergology and Immunology, The First St. Petersburg I. Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Ivanov V.A., Postdoc Fellow, M. Chernorutsky Hospital Therapy Department with a Course of Allergology and Immunology, The First St. Petersburg I. Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Sorokina L.N., PhD, MD (Medicine), Professor, M. Chernorutsky Hospital Therapy Department with a Course of Allergology and Immunology, The First St. Petersburg I. Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Mineev V.N., PhD, MD (Medicine), Professor, M. Chernorutsky Hospital Therapy Department with a Course of Allergology and Immunology, The First St. Petersburg I. Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Nyoma M.A., PhD (Medicine), Assistant Professor, M. Chernorutsky Hospital Therapy Department with a Course of Allergology and Immunology, The First St. Petersburg I. Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Trofimov V.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief, M. Chernorutsky Hospital Therapy Department with a Course of Allergology and Immunology, The First St. Petersburg I. Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Поступила 13.11.2015
Принята к печати 07.12.2015

Received 13.11.2015
Accepted 07.12.2015