

ВЛИЯНИЕ НИКОТИНА НА СИСТЕМУ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЛЕГКИХ

Асфандиярова Н.С.

Пономарева И.Б., Киселев Р.С., Палванов А.А., Рубцова М.А.

¹ ФГБОУ ВРязанский государственный медицинский университет.

² ГБУ РО ОКБ, Рязань

Адрес для корреспонденции:
390044, Рязань, ул. Костычева, д. 7, кв. 148

INFLUENCE OF NICOTINE ON CELL-MEDIATED IMMUNITY IN PULMONARY DISEASES

Asfandiyarova N.S., Ponomareva I.B., Kiselev R.S., Palvanov A.A., Rubtsova M.A.

¹ Ryazan State Medical University

² Regional Clinic Hospital, Ryazan

Введение Табакокурение относится к одной из вредных привычек человека, обуславливающее развитие множества заболеваний, включая изменения и в системе иммунитета [1]. Никотин, являющийся важным компонентом сигаретного дыма, подавляет реакции как врожденного, так и адаптивного иммунитета [2]. Большинство исследователей сообщает о снижении уровня антиген индуцированной пролиферации Т-лимфоцитов, а также пролиферации в ответ на митогены [3], снижении образования антител на Т-зависимые антигены под влиянием никотина. Однако имеются и свидетельства стимулирующего его эффекта на активность дендритных клеток, что определяет большую пролиферативную активность лимфоцитов как в микст культуре, так и в ответ на неспецифические митогены [4,5].

Отсутствие единства взглядов на эффект никотина на пролиферацию лимфоцитов в ответ на митогены и определило основную цель настоящего исследования: изучить влияние никотина на пролиферативную активность лимфоцитов периферической крови в ответ на фитогемагглютинин (ФГА) у больных заболеваниями легких.

Материалы и методы исследования. Для решения поставленной цели методом случайной выборки в исследование были включены 35 больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) I-IV ст. (все мужчины, в возрасте 69 ± 3 года, с длительным стажем табакокурения: ИК 20-40 пачко-лет), 17 больных раком легкого (15 мужчин, 2 женщины, в возрасте 61 ± 4 года, с длительным стажем табакокурения: ИК 20-30 пачко-лет) и 36 лиц контрольной группы аналогичного пола и возраста без вредных привычек и наличия заболеваний органов бронхо-легочной системы. Диагноз ХОБЛ основывался на результатах клинико-лабораторных и инструментальных методов исследования, и устанавливался в соответствии с рекомендациями GOLD (2019),

диагноз рака легкого подтвержден морфологическими методами исследования. Пролиферативную активность лимфоцитов в ответ на ФГА и супрессорную активность простагландин синтезирующих клеток (ПГСК) определяли с помощью реакции бласттрансформации лимфоцитов периферической крови (морфологический метод оценки реакции). Для изучения влияния никотина на пролиферативную активность лимфоцитов, к культуре клеток добавляли никотин в разведении 1:1000, никотин совместно с ФГА, в контрольные культуры добавлялся физиологический раствор. Для изучения влияния никотина на функцию простагландин синтезирующих клеток его добавляли в культуру клеток наряду с ФГА и ингибитором циклооксигеназы индометацином (SOPHARMAAD, Болгария, 0,0025 мг на культуру клеток).

Исследование было двойным, слепым, рандомизированным. Полученные результаты обработаны с помощью методов вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента. Результаты исследования представлены в виде их средних значений \pm среднеквадратичное отклонение. Различие между группами считали статистически значимым при $p < 0,05$.

У пациентов ХОБЛ установлено снижение пролиферативной активности лимфоцитов периферической крови в ответ на митоген на всех стадиях патологического процесса, однако, при I стадии ХОБЛ, снижение не достигает статистически значимых величин ($66,7 \pm 3,2\%$ vs. $57,1 \pm 4,8\%$, $p > 0,05$). В то же время у больных с более выраженными нарушениями оксигенации крови, пролиферативная активность лимфоцитов снижена более значительно ($p < 0,001$). Данное нарушение ассоциировано с повышением активности супрессорных ПГСК и сопровождалось более частыми обострениями. При этом у больных ХОБЛ III, IV ст, пролиферативная активность лимфоцитов в ответ на ФГА сопоставима

с показателями больных раком легкого: $43,5 \pm 1,8\%$ vs $44,8 \pm 2,6\%$, соответственно.

Никотин не оказывал значимых изменений уровня пролиферации лимфоцитов в контрольной культуре клеток ни в сторону его увеличения, ни в сторону его уменьшения. Добавление никотина в культуру клеток крови совместно с ФГА у большей части пациентов как с ХОБЛ, так и раком легкого, а также у лиц контрольной группы сопровождалось снижением уровня пролиферации лимфоцитов (ХОБЛ: $48,9 \pm 3,1\%$ vs. $35,5 \pm 2,3\%$, $p < 0,01$; рак легкого $44,8 \pm 2,6\%$, vs. $34,5 \pm 3,7\%$, $p < 0,05$), однако в трети случаев во всех исследуемых группах отмечалось его стимулирующее влияние. Также отмечается разнонаправленное влияние никотина на активность ПГСК. Значимость иммуномодулирующего влияния никотина на пролиферативную активность лимфоцитов для клинических проявлений заболеваний (ХОБЛ и рак легкого) и их прогноза остается неясным.

Результаты и обсуждение. Общеизвестна роль табакокурения в развитии как ХОБЛ, так и рака легкого [1,6], при этом, снижение скорости воздушного потока отражается на реакциях клеточного иммунитета, что проявляется и в нарушении пролиферативной активности лимфоцитов, что выявлено в настоящем исследовании. Однако табачный дым представляет собой смесь различных веществ, относящихся к канцерогенам, токсинам, оксидантам и никотин составляет примерно от 1 до 2% от всех его компонентов. Отделить воздействие никотина от влияния табачного дыма на организм невозможно, поэтому большинство исследований, посвященных изучению эффекта никотина на систему иммунитета является экспериментальным, с использованием животных в качестве моделей, когда эффект никотина исследуется отдельно от влияния сигаретного дыма или исследуется влияние никотина *in vitro*. Добавление никотина к клеткам иммунной системы, стимулированных ФГА в концентрации, аналогичной концентрации его в крови курильщиков позволил нам обнаружить иммуносупрессивный эффект никотина на пролиферативную активность лимфоцитов у большинства больных ХОБЛ, раком легкого и лиц контрольной группы. Снижение уровня пролиферации в ответ на митоген обнаружено и другими авторами, проводивших, однако, исследование на экспериментальных моделях [3]. Несколько отличные результаты получены исследователями, отметившими иммуностимулирующий эффект никотина на пролиферацию лимфоцитов в ответ на митогены [4,5]. Расхождение результатов может быть связано как с различием используемых доз никотина, так и включение в протокол различных экспериментальных моделей. Следует подчеркнуть, что в настоящем исследовании, при использовании унифицированной методики и стандартизованных доз никотина

иммуносупрессия отмечена у 2/3 обследованных лиц всех групп, в то время как у остальных выявлен иммуностимулирующий эффект. Подавление пролиферации клеток в ответ на митоген под влиянием никотина может объясняться тем, что последний тормозит входение Т-лимфоцитов в G0/G1 фазу деления клеток. Возможно, этим и объясняется вялотекущий патологический процесс у больных ХОБЛ, когда сигаретный дым (не никотин!) активизирует аутоиммунные реакции, способствующие прогрессивности патологического процесса, а никотин не позволяет аутоагрессии к матриксу альвеолярной стенки развернуться в полном объеме. С другой стороны, иммуносупрессивный эффект никотина может способствовать развитию инфекции, а также инициации злокачественных клеток, что способствует развитию рака легкого. Вместе с тем, остается неясным увеличение пролиферативной активности у трети обследуемых лиц, включая и лиц контрольной группы. Возможно, правомочно утверждение Oloris S.C.S. et al. [7], что никотин, в зависимости от времени и других приводящих условий может действовать и как фактор улучшающий выживание лимфоцитов, и как фактор, индуцирующий апоптоз нормальных и трансформированных лимфоцитов. Значимость данного явления для течения и прогноза заболеваний (ХОБЛ, рак легкого) продолжает изучаться.

Заключение. Снижение показателей клеточного иммунитета обуславливает развитие инфекционных обострений у больных ХОБЛ. Никотин снижает пролиферативную активность лимфоцитов периферической крови в ответ на фитогемагглютинин у 2/3 больных заболеваниями легких (ХОБЛ, рак легкого), что может быть обусловлено активизацией холинергического сигнального пути. У трети пациентов выявляется иммуностимулирующий эффект никотина при одновременном добавлении к культуре клеток никотина и ФГА.

Эти и последующие исследования обеспечат лучшее понимание патофизиологии

ХОБЛ, что в свою очередь позволит создать информированную основу для развития таргетной терапии и направленных методов профилактики.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. WHO Report on the Global Tobacco Epidemic, 2008
2. McAllister-Sistilli C.G., Caggiula A.R., Knof S., et al. The effects of nicotine on the immune system. *Psychoneuroendocrinol.* 1998; 23:175-187.
3. De Rosa M.J., Dionisio L., Agriello E., et al. Alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor modulates lymphocyte activation. *Life Sci.* 2009; 85(11):444-449. DOI: 10.1016/j.lfs.2009.07.010
4. Aicher A., Heeschen C., Mohaupt M., et al. Nicotine strongly activates dendritic cell-mediated adaptive im-

- munity: potential role for progression of atherosclerotic lesions. *Circulation*. 2003; 107(4):604-611.
5. Mili F., Flanders W.D., Boring J.R., et al. The associations of race, cigarette smoking, and smoking cessation to measures of the immune system in middle-aged men. *Clin Immunol Immunopathol*. 1991; 59:187-200.
 6. Stampfli MR, Anderson GP. How cigarette smoke skews immune responses to promote infection, lung disease and cancer. *Nat Rev Immunol*. 2009; 9:377-384.
 7. Oloris S.C.S., Frazer-Abel A.A., Jubala C.M., et al. Nicotine-mediated signals modulate cell death and survival of T lymphocytes. *Toxicol Appl Pharm*. 2010; 242(3): 299-309. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.10.020>

ПОЛИМОРФНЫЕ МАРКЕРЫ ГЕНА TLR2 ПРИ СКРЫТОМ СИФИЛИСЕ И СЕРОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

Л. Ю. Барычева, М. М. Минасян, И. А. Охонько

ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, г. Ставрополь, Россия

Адрес для коррес
355017, Ставрополь, ул. Мира, д. 310),
E-mail: stgmu.ru

POLYMORPHIC GENE TLR2 MARKERS IN LATENT SYPHILIS AND SERORESISTANCE

L. Yu. Barycheva, M. M. Minasyan, I. A. Ohon'ko

FGBO VO «Stavropol state medical university» Health Ministry of Russian Federation, Stavropol, Russia (355017, Stavropol, Mira street, 310)

Важным направлением современной медицины является поиск информативных биомаркеров персистирующих инфекций, которые могут использоваться для оценки потенциального риска развития заболевания и реализации его клинических фенотипов [1, 2]. Исследования последних лет показали, что полиморфизмы генов рецепторов врожденного иммунитета (TLR) ассоциированы с развитием грамположительных инфекций, туберкулеза [3], инфекционного эндокардита [5], сепсиса [4]. Установлено, что ключевое значение среди полиморфизмов, влияющих на функции TLR имеют однонуклеотидные мутации (SNP) в областях, ответственных за внешний (LRR) и внутренний (TIR) домены рецепторов, трансформация структуры и функции которых обуславливает дефекты проведения сигнала внутрь клетки [1, 2]. Известно, что нарушение экспрессии и функции TLR проявляется в снижении продукции цитокинов, определяющих интенсивность реакций врожденного и адаптивного иммунитета и способствует развитию персистирующей инфекции [1, 2].

Цель исследования. Изучение генного полиморфизма рецептора врожденного иммунитета – TLR2 Arg753Gln (rs5743708) у пациентов с серорезистентным, ранним и поздним скрытым сифилисом.

Материал и методы. Иммуногенетические исследования выполнены у 100 человек с сифилитической

инфекцией, находившихся под наблюдением в Краевом клиническом кожно-венерологическом диспансере. В группу I вошли 35 пациентов с ранним скрытым сифилисом, в группу II – 24 пациента с поздним скрытым сифилисом, в группу III – 41 пациент с серорезистентным сифилисом. Контрольную группу составили 50 здоровых жителей русской популяции Южного региона России, сопоставимых по возрасту и полу.

Типирование SNPs TLR2 TLR6 осуществляли методом ПДРФ (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) с выполнением амплификации интересующего участка и последующей обработкой эндонуклеазой рестрикции. В работе использовали диагностические наборы для выявления полиморфизмов в геноме человека методом полимеразной цепной реакции «SNP-экспресс» ООО НПФ «Литех», г. Москва. Амплификацию проводили с помощью многоканального амплификатора «Терцик» (ООО «ДНК-Технология», Россия). Разделение продуктов амплификации выполняли в 3% агарозном геле методом горизонтального электрофореза с использованием комплекта оборудования «BioRad Laboratories», США.

Иммунофенотипирование лимфоцитов осуществляли методом проточной цитометрии с использованием одно- и двухпараметрических реагентов линии IQTest: CD19-PC5, HLA-DR-PC5, CD3-FITC/CD4-PE,