

антитл при острых респираторных заболеваниях различной этиологии у детей. //Медицинская иммунология, 2003, Т.5, №5-6,с.609-614.

2. Кочурова Е.В., Козлов С.В. Диагностические возможности слюны.// Биохимия, 2014, № 1, с. 13-15.

3. Augustine SA, Eason TN, Simmons KJ, Curioso CL, et al. Developing a saliva antibody multiplex immunoassay to measure human exposure to environmental pathogens.// Journal of visualized experiments, 2016, Sep 12; (115). Doi: 10.3791/54415.

4. Heaney JL, Phillips AC, Carroll D, Drayson MT. The utility of saliva for the assessment of anti-pneumococcal antibodies: investigation of saliva as a marker of antibody status in serum.// Biomarkers, 2016, №12, p. 1-8.

5. Мельников О.Ф., Заболотный Д.И. Диагностика иммунодефицитов при патологии слизистой оболочки на основе определения иммуноглобулинов в секретах.// – К.: Институт оториноларингологии им. Коломийченко АМН Украины, 2003. -31с.

ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРА К IL-6 У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

Виткина Т.И., Денисенко Ю.К., Новгородцева Т. П., Сидлецкая К.А.

Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, Владивосток.

EXPRESSION OF IL-6 RECEPTOR IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE OF VARYING SEVERITY

Vitkina T. I., Denisenko Yu. K., Novgorodtseva T. P., Sidletskaia K. A.

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

Одной из проблем современной молекулярной иммунологии является изучение сигнальных цитокиновых путей, активируемых при различных патологиях. В нашей статье мы рассматриваем эту проблему в контексте хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), которая занимает ведущее место по заболеваемости и смертности среди других бронхолегочных патологий. В основе патогенеза ХОБЛ лежит нарушение иммунных механизмов регуляции воспалительного процесса [4]. Воспаление при ХОБЛ носит системный характер и проявляется в повышении плазменного уровня цитокинов, ассоциированных с воспалением и иммунной реактивностью. Большую роль в развитии системной воспалительной реакции при ХОБЛ играет интерлейкин-6 (IL-6). Это подтверждается повышенным уровнем этого цитокина в крови больных ХОБЛ [1,2,7,8,9,14]. IL-6 представляет собой плеiotропный цитокин с молекулярной массой 21-28 кДа, продуцируется антиген-пре-

зентирующими клетками – дендритными клетками и макрофагами. IL-6 обладает как про- так и противовоспалительной активностью, играет важную роль в дифференцировке Т-хелперных клеток, которые являются основным компонентом приобретенного иммунного ответа, участвует в процессах клеточной пролиферации и апоптоза [9,10,11,12,15]. Реализация функций IL-6 осуществляется за счёт связывания лиганда (IL-6) с рецептором и последующей активации JAK/STAT-сигнального пути, завершающегося запуском экспрессии определенных генов в клетке-мишени. Выделяют два типа IL-6 сигналинга – классический и трансигналинг. При классическом сигналинге IL-6 взаимодействует с мембранной формой рецептора (IL-6R или CD126) и 2 молекулами gp130. Трансигналинг осуществляется с помощью растворимой формы рецептора (sIL-6R) и 2 молекул gp130. Gp130 экспрессируется на мембране большинства клеток, в то время как IL-6R присутствует в основном

на макрофагах, нейтрофилах, некоторых видах Т-клеток и гепатоцитах. Согласно недавним исследованиям, противовоспалительные свойства ИЛ-6 реализуются при классическом сигналинге, а провоспалительные опосредованы трансигналингом [5,8,9,10,11,15].

Целью данного исследования явилось изучение экспрессии рецептора к ИЛ-6 у пациентов с ХОБЛ разной степени тяжести.

Материалы и методы. Исследование осуществлялось на базе Владивостокского филиала «ДНЦ ФПД» – НИИ МКВЛ в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации (пересмотр 2013 г.) с одобрения локального Биоэтического комитета. На основании добровольного информированного согласия в исследование были включены 112 пациентов с ХОБЛ 1-го (36 человек), 2-го (52 человека) и 3-го (24 человека) спирометрического класса стабильного течения [4]. Средний возраст пациентов составил $57,5 \pm 4,8$ года. В контрольную группу вошли 32 практически здоровых лица, некурящих, с нормальной функцией внешнего дыхания, средний возраст составил $42,0 \pm 3,4$ года. В период обследования никто из пациентов не получал регулярной противовоспалительной терапии. Из исследования были исключены больные, имеющие сопутствующие хронические заболевания в фазе обострения. Заболевания бронхолегочной системы диагностировали на основании данных анамнеза, объективного осмотра, пикфлоуметрии, спирографии с выполнением бронхолитического теста (спирограф «FUKUDA», Япония), результатов тестов mMRC и CAT, рентгенологического и лабораторного исследования. В качестве материала для исследования использовали цельную кровь здоровых лиц и пациентов с ХОБЛ разной степени тяжести. Экспрессию рецептора ИЛ-6R (CD126⁺) определяли по процентному содержанию Т-лимфоцитов (CD3⁺ - клетки), Т-хелперов (CD4⁺-клетки), моноцитов и гранулоцитов, несущих на своей мембране исследуемый рецептор, методом проточной цитометрии (цитометр «BD FACSCantoII») с использованием реагентов фирмы BD (USA). Для определения экспрессии рецептора использовали антитела – CD126 (APC). В качестве маркирующих агентов использовали следующие антитела: CD45 (APC-H7), CD3 (FITC), CD4 (PE-Cy7). Статистическую обработку данных проводили с использованием программы «Statistica 6.0 для Windows».

Результаты описательной статистической обработки экспрессии рецептора представляли в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей. Статистическую значимость различий экспрессии рецептора между группами оценивали с помощью непараметрического критерия Краскела-Уоллиса. Различия считались статистически значимыми при уровне $p < 0,001; 0,01; 0,05$ [3].

Результаты и обсуждение. В ходе исследования было выявлено, что число циркулирующих иммунокомпетентных клеток, экспрессирующих поверхностный рецептор ИЛ-6R, повышено у пациентов с ХОБЛ в сравнении с контрольной группой. Статистически значимых различий между параметрами контрольной группы и группы пациентов с ХОБЛ лёгкой степени тяжести не прослеживалось. Но, тем не менее, у пациентов с ХОБЛ лёгкого течения была обнаружена тенденция к увеличению количества CD126⁺ - клеток в сравнении с контрольными значениями. В этой группе пациентов экспрессия ИЛ-6R в наибольшей степени возросла на субпопуляции Т-хелперов в сравнении с контрольными значениями. У больных среднетяжёлой ХОБЛ статистически значимо возрастал уровень экспрессии ИЛ-6R на иммунокомпетентных клетках. Экспрессия данного рецептора была наиболее выражена на популяциях гранулоцитов – увеличение числа CD126⁺ - клеток на 55,1 % ($p < 0,01$) и Т-хелперов – возрастание количества CD126⁺ - клеток в 2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными значениями. Статистически значимое увеличение относительного количества клеток с маркером CD126⁺ по сравнению с контрольными значениями наблюдалось и у пациентов с ХОБЛ тяжёлого течения. При этом у пациентов на этой стадии регистрировалось наибольшее процентное содержание CD4⁺CD126⁺ - клеток в сравнении с группой контроля (возрастание на 368,6 % ($p < 0,001$)). Число гранулоцитов, несущих ИЛ-6R, на этой стадии значительно повысилось в сравнении с контролем (на 298,4 % ($p < 0,001$)). Также увеличилось количество Т-лимфоцитов и моноцитов с маркером CD126⁺ по сравнению с контрольными значениями – на 188,9 % ($p < 0,001$) и на 150,9 % ($p < 0,001$) соответственно. В ходе проведения сравнительного анализа значений, полученных для пациентов с ХОБЛ лёгкой и тяжёлой степени тяжести, было выявлено, что относительное число CD4⁺CD126⁺ - клеток у больных ХОБЛ тя-

жёлтого течения повышается на 308,6 % ($p < 0,001$), $CD3^+CD126^-$ - клеток – на 164,5% ($p < 0,005$), моноцитов $CD126^+$ – на 136,9 % ($p < 0,001$), гранулоцитов $CD126^+$ – на 283,6 % ($p < 0,001$).

Таким образом, у больных ХОБЛ были выявлены изменения уровня экспрессии IL-6R в зависимости от степени тяжести заболевания. По мере прогрессирования ХОБЛ происходило увеличение числа Т-лимфоцитов, Т-хелперов, гранулоцитов и моноцитов, несущих на своей поверхности IL-6R. Классический путь передачи IL-6 сигнала опосредует противовоспалительные эффекты, подавляющие воспалительную реакцию и компенсирующие апоптотические изменения [8,9,10,11,13,15]. Следует отметить, что в наибольшей степени было повышено число $CD4^+CD126^+$ - клеток на всех стадиях ХОБЛ. Кроме того, по мере утяжеления ХОБЛ значительно возрастало число гранулоцитов с маркером $CD126^+$, большая часть которых представлена нейтрофилами. Возможно, большое количество циркулирующих $CD126^+$ - гранулоцитов связано с нейтрофильным характером воспаления при ХОБЛ [1,6]. Можно предположить, что Т-хелперы и гранулоциты являются основными клетками-мишенями для противовоспалительного действия IL-6.

Подводя итог всему вышесказанному, можно сделать вывод, что сигнальный путь, активируемый IL-6 по классическому пути, играет важную роль в регуляции системного воспалительного процесса при ХОБЛ. Возможно, данный цитокин способен влиять на цитокиновый баланс путем переключения своей активности с провоспалительной на противовоспалительную, действуя при этом классический путь передачи сигнала в клетку. В свою очередь, цитокиновый баланс определяет течение болезни и её исход. Таким образом, IL-6R, как важный участник классического IL-6 сигналинга, может рассматриваться в качестве мишени для лечения ХОБЛ.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Лобанова Е.Г., Калинина Е.П., 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.
2. Лобанова Е.Г., Калинина Е.П., Виткина Т.И., Денисенко Ю.К., Назаренко А.В., Юренко А.В. Т-клеточная иммунорегуляция и уровень цитокинов у больных хронической обструктивной болезнью легких // Медицинская иммунология. – 2015. – Т.17, №3с.

– С. 69-70.

3. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.

4. Global initiative for chronic obstructive lung disease: global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease, 2014 [Electronic resource]. URL: http://www.goldcopd.org/uploads/users/files/GOLD_Report_2014_Jun11.pdf. 2.

5. Goldsby R., Kindt T., Osborne B., Kuby J. Immunology: 5th ed. W. H. Freeman, 2003, 603 p.

6. Kalinina E., Karaman Yu., Vitkina T., Lobanova E., Novgorodtseva T., Antonyuk M., Gvozdenko T., Knyshova V. and Nazarenko A. The mechanisms of the regulation of immune response in patients with comorbidity of chronic obstructive pulmonary disease and asthma. Canadian Respiratory Journal, 2016, Vol. 2016, pp. 8.

7. Liang R., Zhang W., Song Y. M. Levels of leptin and IL-6 in lungs and blood are associated with the severity of chronic obstructive pulmonary disease in patients and rat models. Molecular medicine reports, 2013, T. 7, no. 5, pp. 1470-1476.

8. Rincon M., Irvin C.G. Role of IL-6 in Asthma and Other Inflammatory Pulmonary Diseases. Int. J. Biol. Sci., 2012, Vol. 8, no. 9, pp. 1281-1290.

9. Rose-John S. IL-6 trans-signaling via the soluble IL-6 receptor: importance for the pro-inflammatory activities of IL-6. Int. J. Biol. Sci., 2012, T. 8, no. 9, pp. 1237-1247.

10. Schaper F., Rose-John S. Interleukin-6: biology, signaling and strategies of blockade. Cytokine & growth factor reviews, 2015, T. 26, no. 5, pp. 475-487.

11. Scheller J., Chalaris A., Schmidt-Arras D., Rose-John S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. Biochimica et Biophysica Acta-Molecular Cell Research, 2011, Vol. 1813, no. 5, pp. 878-888.

12. Toumpanakis D., Vassilakopoulos T. Molecular mechanisms of action of Interleukin-6 (IL-6). Pneumon, 2007, T. 20, no. 1, pp. 154-67.

13. Vitkina T.I., Yankova V.I., Gvozdenko T.A., Nazarenko A.V., Golokhvast K.S., Kuznetsov V.L., Krasnikov D.V., Chaika V.V., Smagin S.V., Tsatsakis A.M., Engin A.B., Karakitsios S.P., Sarigiannis D.A. The impact of multi-walled carbon nanotubes with different amount of metallic impurities on immunometabolic parameters in healthy volunteers. Food and Chemical Toxicology, 2016, T. 87, pp. 138-147.

14. Vitkina T.I., Denisenko Yu.K., Davydova K.A. The changes in the profile of cytokines in progressing chronic obstructive pulmonary disease. International Research Journal, 2016, Vol.49, no. 7-3, pp. 6-8.

15. Young R. P., Hopkins R. J. Interleukin-6 and statin therapy: potential role in the management of COPD. Respiratory research, 2013, T. 14, no. 1, pp. 1.