

УДК 615.234

# К ВОПРОСУ О РОЛИ ЦИТОКИНОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ И ВОЗМОЖНОСТЯХ АНТИЦИТОКИНОВОЙ ТЕРАПИИ

Г.Б. Федосеев, В.И. Трофимов, К.В. Негруца, В.Г. Тимчик, В.И. Голубева, В.А. Александрин, Т.С. Разумовская, К.Н. Крякунов

Кафедра госпитальной терапии им. акад. М.В. Черноруцкого Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова

**Ключевые слова:** цитокин, сенсibilизация, аллергия, бронхиальная астма легкое течение, бронхиальная астма течение средней тяжести, бронхиальная астма средней тяжести в сочетании с хронической обструктивной болезнью легких, хроническая обструктивная болезнь легких, внебольничная пневмония, иммуноглобулин, аллерген

Были исследованы 210 человек, из них 32 — бронхиальная астма легкого течения (БАЛТ), 39 — бронхиальная астма среднетяжелого течения (БАСТ), 39 — БАСТ+ХОБЛ, 38 — ХОБЛ, 17 — внебольничная пневмония (ВП), 25 — гипертоническая болезнь (ГБ) и ИБС (сравнительная группа), 20 — здоровые. Проведено определение IgE к аллергенам клеща, бытовой пыли, сборным аллергенам пыльцы луговых трав, деревьев, сорных трав и цветов, *Strept. pneumon.*, *Haemophil. influenzae*, *Neisseria perflava*. Исследовались цитокины: ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-17,  $\gamma$ -интерферон (ГИН), ФНО. Все больные были обследованы в фазу обострения болезни. У каждого обследованного проведено определение инфекционного потенциала (ИНФП) и аллергического потенциала (АТП). Результаты изучения уровней цитокинов, сочетаний цитокинов (цитокинного профиля) позволяют утверждать, что они не могут быть использованы для целей клинической диагностики — нозологической диагностики, оценки тяжести течения заболевания и выбора индивидуальной терапии, включая антицитокинные препараты.

Становится все более очевидной чрезвычайно гетерогенность бронхиальной астмы (БА). Более 30 лет назад, в 1977 г., мы указывали на наличие у больных БА семи клинико-патогенетических вариантов течения БА, названных в последующем фенотипами: инфекционнозависимого, атопического, гормонального, нервно-психического, аутоиммунного, выраженного адренергического дисбаланса и первично измененной реактивности бронхов [1]. Для каждого из этих вариантов были разработаны методы индивидуальной диагностики и терапии, результаты их апробации неоднократно публиковались. В последующем формулировка «первично измененная реактивность бронхов» была заменена на представления о БА физического усилия, дивовариальном и аспириновом клинико-патогенетических вариантах (фенотипах) БА, совершенствовались методы индивидуальной диагностики и терапии, и повышалась их эффективность.

*Адрес для корреспонденции*

Глеб Борисович Федосеев  
E-mail: fedoseevsp@mail.ru

Наиболее эффективными для лечения БА с полным на то основанием признаются ингаляционные кортикостероиды (ИГКС). Однако у 5–10% больных БА комплексное лечение даже с включением ИГКС неэффективно [2]. Хотя процент больных, резистентных к применению ИГКС, невелик, но на долю этих больных приходится 50% от общей стоимости лечения больных БА [3].

Недостаточная эффективность лечения существующими методами части больных БА служит поводом для изучения фенотипов и формирующих их эндотипов БА. Знание механизмов (эндотипов), формирующих фенотипы, создает перспективы для разработки новых методов лечения, учитывающих индивидуальные особенности БА у данного больного. Кластерный анализ двух больших европейских когорт выявил два фенотипа. Первый касается больных с ранним началом аллергической БА, а второй включает преимущественно женщин с поздним началом заболевания, без атопии, с высоким индексом массы тела [4].

Для классификации эндотипов у больных БА после кластерного анализа были выбраны 7 параметров: клинические характеристики, биомаркеры, физиология легких, генетика, гистопатология, эпи-

демиология и реакция на лечение. На основе этих параметров были предложены следующие эндотипы БА: 1) аспириночувствительная; 2) аллергическая астма; 3) астма у детей в дошкольном возрасте с хрипами; 4) тяжело протекающая астма с гиперэозинофилией и поздним началом; 5) астма у любителей беговых лыж [5].

В другом недавно проведенном исследовании иммунного ответа 2-го типа у больных БА было выявлено три фенотипа: 1) эозинофильного воспаления; 2) аллергической сенсибилизации с наличием антиген-специфического IgE и гиперреактивностью; 3) ремоделирования бронхов [6].

Очевидно, что приведенные выше и им подобные фенотипы и эндотипы не создают условий для разработки новых, персонализированных методов лечения. Необходимы маркеры, характеризующие механизмы патогенеза, эндотипы, формирующие различные фенотипы БА, воздействие на которые может иметь лечебный эффект.

В качестве маркера, определяющего характер воспаления у больных БА, была использована цитологическая характеристика индуцированной мокроты. Воспалительный процесс органов дыхания у больных БА неоднороден, а диагностика различных воспалительных фенотипов БА дает возможность определить патогенетический вариант БА у данного больного и открывает путь для персонализированной терапии. Simpson и соавт. (2006) [7] разработали четыре воспалительных фенотипа БА: нейтрофильный, эозинофильный, гранулоцитарный и малогранулоцитарный, возможны сочетания фенотипов. Мы считаем, что к этим клеточным фенотипам нужно добавить эпителиальный и макрофагальный фенотипы [8].

В настоящее время описан 161 биомаркер, свидетельствующий о наличии, выраженности и характере воспаления дыхательных путей при аллергических заболеваниях [9].

В качестве таких маркеров в последнее время используются цитокины (ЦК), которые участвуют в осуществлении иммунологических и других реакций и входят в число механизмов, формирующих эндотипы различных фенотипов БА.

### Основное о ЦК

ЦК – небольшие белки, осуществляющие сигнализацию между клетками и являющиеся группой гуморальных факторов системы как врожденного, так и адаптивного иммунитета. Связь между клетками, выполняемая цитокинами, необходима для осуществления различных функций (рост, хемотракция, клеточная пролиферация и дифференцировка и др.). Сочетанность и избыточность действия ЦК и плейотропия затрудняют оценку их роли в патогенезе различных патологических состояний.

Как и другие медиаторы воспаления, ЦК действуют на рецепторы мембран клеток с высокой степенью сродства [10].

ЦК по механизму действия могут быть разделены на три основные группы:

1. провоспалительные, участвующие в формировании воспалительного ответа (интерлейкины (ИЛ)-2, -6, -8, фактор некроза опухоли (ФНО)-альфа, интерферон-гамма (ГИН) и др.);

2. противовоспалительные, уменьшающие развитие воспаления (интерлейкины 4, 10, TGFβ и др.);

3. регуляторы клеточного и гуморального иммунитета (естественного или специфического), имеющие специфические функции (противовирусные, цитотоксические и др.) [11].

ЦК по функциональной направленности разделены на три группы:

1. ЦК, участвующие в цитотоксических (противовирусных и противораковых) гуморальных и клеточных реакциях (Th1 и Th17);

2. ЦК, участвующие в аллергических реакциях (Th2);

3. ЦК, участвующие в иммуносупрессивных, регуляторных реакциях (Treg) [12].

Из-за выраженной плейотропности функциональная направленность и механизмы действия ЦК в разных условиях функционирования могут проявляться по-разному.

На экспериментальных моделях астмы и по результатам исследования больных было установлено, что Th2-клетки индуцируют БА через массив ЦК (ИЛ-4, -5, -9, -10, -13, -25), которые активизируют воспаление дыхательных путей прямо или косвенно [13].

Суммарный итог опубликованных в литературе данных о роли ЦК позволяет выделить основные позиции, характеризующие участие ЦК в иммунных реакциях: способствуют распознаванию антигенов, содействуют экспрессии на клетках иммунной системы молекул адгезии, влияют на миграцию иммунных клеток, активируют моноциты и макрофаги, являются кофакторами антигенов при активации и пролиферации лимфоцитов.

Известны вещества, которые оказывают подавляющее действие на ЦК:

1. ингибиторы синтеза ЦК – глюкокортикостероиды, циклоспорин А, такролимус, микрофеналат;

2. гуманизированные ингибирующие антитела к ЦК и их рецепторам;

3. растворимые частицы, блокирующие рецепторы ЦК;

4. антагонисты и лекарственные средства, блокирующие процесс трансдукции ЦК [14].

ЦК продуцируются различными иммунными и неиммунными клетками (лимфоцитами, эпителиальными и эндотелиальными клетками) [11].

### Взаимодействие ЦК и эозинофилов

Созревание, мобилизация и выживание эозинофилов в дыхательных путях определяется ИЛ-3, GM-CSF, но особенно ИЛ-5, который играет ключевую роль в посредничестве в дыхательных путях эозинофилов с другими клетками и формировании эозинофильного воспаления у больных БА [15]. ИЛ-5, ИЛ-3, GM-CSF содействуют развитию эозинофилов из CD34 гемопоэтических клеток-предшественников, хотя только ИЛ-5 оказывает специфическое влияние на эозинофилы в процессе развития и дифференцировки [6].

Эозинофилы участвуют в генерации ЦК: 1) эозинофилы активируют Th2-клетки, которые секретируют ЦК; 2) эозинофилы вызывают секрецию ЦК Th2-клетками [13].

Появляется все больше доказательств того, что эозинофильное воспаление является признаком БА, и его формирование связывают с повышенным уровнем ИЛ-5 в бронхах у этих больных [16].

Механизмы эозинофильного варианта БА включают стимуляцию Th2 аллергенами, что сопровождается высвобождением ЦК (ИЛ-4, -5, -9, -13). В биоптатах слизистой оболочки бронхов этих больных выявляется инфильтрация эозинофилами, активированными тучными клетками и Th2-клетками [17].

### Взаимодействие ЦК с другими клетками

Тучные клетки являются основным источником связанных с аллергией ЦК (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ФНО) [18]. Тучные клетки оснащены рецепторами для взаимодействия с ЦК (ИЛ-3R, ИЛ-4R, ИЛ-5R, ИЛ-9R, ИЛ-10R и др.) [19].

У больных с нейтрофильной БА выражена активность ИЛ-17. Тяжесть заболевания коррелирует с уровнем ИЛ-17 в сыворотке крови [20]. ИЛ-8 оказывает влияние на функционирование нейтрофилов [21], а ИЛ-17 привлекает нейтрофилы в зону воспаления и активной инфекции [22].

По способности продуцировать ЦК лимфоциты разделены на три группы: 1-я группа – производство INF-гамма, 2-я группа – производство ИЛ-5 и ИЛ-13, 3-я группа – ИЛ-17 и ИЛ-22 [23]. В связи с участием ИЛ-5 в формировании эозинофильного варианта БА этот ЦК получил название «эозинофильный колониестимулирующий фактор».

ИЛ-17 действует на эпителий дыхательных путей, стимулируя секрецию большого числа биологически активных веществ и в их числе ЦК ИЛ-4, ИЛ-5. Кроме того, ИЛ-17 является активатором эндотелиальных клеток, приводя к миграции нейтрофилов в зону воспаления [24].

Связь ЦК с клетками обеспечивает выполнение их основной функции – формирование взаимодействия между клетками в процессе осуществления

иммунологических и других реакций. Эта связь ЦК с клетками может быть наглядно проиллюстрирована на примере реакции иммунной системы на воздействие антигенного стимула. Антиген через антиген-представляющие клетки воздействует на Th0-клетки, приводя их к дифференциации в Th2, в этом событии принимает участие ИЛ-4. Затем с участием ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-13 происходит активация В-клеток с образованием аллерген-специфических IgE, которые фиксируются на поверхности тучных клеток. При стимуляции антигеном тучные клетки секретируют гистамин, простагландины и лейкотриены, что приводит к бронхоспазму, гиперсекреции и отеку слизистых дыхательных путей. Одновременно Th2-клетки через воздействие ИЛ-5 стимулируют эозинофилы на образование лейкотриенов и активных форм кислорода. Все это в совокупности в условиях нормального функционирования направлено на элиминацию антигена, а у больных приводит к обструкции и формированию воспаления [20].

### Периостин

Первая публикация о периостине была сделана в 1993 г. [25], и первоначальное название этого белка было «остеобластов-специфический фактор 2». Периостин – внеклеточный многофункциональный белок, который у человека кодируется геном POSTN и опосредует активацию клеток путем связывания с рецепторами [25].

Внимание к периостину было привлечено в ситуациях, связанных с переломами костей [27]. Последующие исследования показали, что периостин экспрессируется многими органами взрослого человека и тканями плода, в том числе плацентой, сердцем, легкими, щитовидной железой, надпочечниками [28], эпителиальными клетками, фибробластами, эозинофилами [29]. Основными источниками периостина у больных бронхиальной астмой являются эпителиальные, эндотелиальные клетки и фибробласты [30]. Экспрессия периостина эпителиальными клетками дыхательных путей регулируется Th2 с участием ИЛ-4 и ИЛ-13 [30].

С повышенной экспрессией периостина связывают развитие различных дефектов органов и заболеваний костей, зубов, клапанов сердца, развитие различных опухолей, нарушение рубцевания после перенесенного инфаркта миокарда [31], анкилозирующий спондилоартрит [32], интерстициальную пневмонию [33], воспаление почек и фиброз [34], рак [35], эзофагит [36].

Периостин экспрессируется более активно у пациентов, которые находятся в условиях, связанных с повышенным делением клеток и активного ангиогенеза [25]. Отмечается связь высокого уровня периостина с формированием хронического воспаления и ремоделированием тканей [37].

Установлены связи уровня периостина с механизмами патогенеза БА: формированием фенотипа Th2, повышенной экспрессией медиаторов воспаления и гиперэозинофилией [38]. Аллергены стимулируют секрецию иммунными клетками ИЛ-4 и ИЛ-5, тем самым стимулируя эозинофилы секретировать периостин и мобилизуя эозинофилы в зону аллергического воспаления [39]. Как в эксперименте, так и в клинических исследованиях больных БА было установлено, что периостин мобилизует эозинофилы в органы дыхания, повышает их адгезию, что происходит с участием ИЛ-5, ИЛ-13 и GM-CSF [40].

Стимулированная периостином Th2 система воспаления и связанная с этим секреция иммунными клетками ИЛ-4 и ИЛ-13 активируют фибробласты и как следствие формируют развитие у больных БА субэпителиального фиброза [26].

Предполагают, что периостин играет важную роль в формировании эозинофильного фенотипа БА [29] и в тяжелом, злокачественном ее течении [26].

Уровни периостина в сыворотке крови у больных БА были значительно выше, чем у здоровых доноров [41]. Установлена связь между высоким уровнем периостина в сыворотке крови, поздним началом БА, гиперэозинофилией и сочетанием БА с синуситом [42]. У больных БА с наличием непереносимости аспирина выявлен высокий уровень периостина в сыворотке крови [43]. У этих больных констатирован эозинофильный фенотип БА, полипозный синусит, низкая эффективность лечения ИГКС и тяжелое течение БА [44]. У больных с хроническим риносинуситом и полипами в носу уровень периостина в сыворотке крови был значительно выше, чем у больных с риносинуситом, но без полипов [45]. Сывороточный уровень периостина у больных с atopическим дерматитом был значительно выше, чем у больных с псориазом и здоровых контрольной группы [46].

Эозинофильный фенотип у больных БА с высоким уровнем периостина сыворотки крови сочетается с экспрессией ИЛ-5 и ИЛ-13, высоким уровнем сывороточного IgE, системной и легочной эозинофилией, увеличением толщины базальной мембраны и снижением чувствительности к ИГКС [47].

Значимые корреляции уровня периостина с различными характеристиками течения БА служат поводом для предложений использовать этот белок в качестве маркера особенностей течения болезни: выраженности 2-го типа иммунного ответа [41], для выявления больных с высокой активностью ИЛ-13, прогноза эффективности ИГКС терапии [48]. Уровни периостина в сыворотке крови у больных БА слабо связаны с выраженностью обструкции бронхов, и этот показатель не может быть значимым маркером тяжести течения БА [49]. Высказываются мнения, что периостин может стать терапевтической мишенью для лечения БА [26].

С момента появления первой публикации о периостине прошло 24 года, и, как можно судить по литературным данным, периостин активно и многосторонне изучается, но результаты исследований носят иногда противоположный характер. По данным одного исследования, содержание периостина в сыворотке крови и эозинофилия тесно связаны. В другом исследовании получены результаты, в соответствии с которыми уровни периостина в сыворотке крови не дифференцируют эозинофильный и неэозинофильный фенотипы течения БА [50].

#### Антицитокиновая терапия

Число научных публикаций по астме превышает 1 500 000 статей, причем почти 6% из них содержат отчеты о результатах рандомизированных контролируемых исследований, связанных с лечением БА. Однако, несмотря на эти исследования, варианты лечения астмы остаются ограниченными, а среди лекарственных препаратов доминируют стероиды [51]. Открытие различных фенотипов воспаления у больных БА и связанного с этим молекулярного фенотипирования благодаря новым технологиям в области молекулярной биологии и иммуногенетики позволили синтезировать специфические моноклональные, в том числе антицитокиновые антитела [52]. Анти-ИЛ моноклональные антитела должны уменьшать воспаление дыхательных путей и предотвращать активацию эозинофилов [53].

Меполизумаб (mepolizumab) – гуманизированное моноклональное антитело, блокирующее ИЛ-5, который мобилизует из костного мозга и активирует эозинофилы [54]. Ortega и соавт. (2014) [55] применили меполизумаб для лечения 539 больных БА. По сравнению с плацебо частота обострений болезни оказалась ниже на 47%. Положительный эффект при лечении меполизумабом как при внутривенном, так и при подкожном введении был достигнут у 50% больных. Vel и соавт. (2014) [56] лечили меполизумабом 135 больных БА. Средний процент снижения дозы принимаемых через рот глюкокортикоидов составил 50% у больных основной группы. В группе плацебо снижения дозы лекарства не было. В 2015 г. FDA США и Европейский ЕМА одобрили меполизумаб в качестве поддерживающей терапии тяжело протекающей эозинофильной БА у взрослых [57].

Реслизумаб (reslizumab) – гуманизированное моноклональное антитело к ИЛ-5. Castro и соавт. (2011) [58] лечили реслизумабом 53 взрослых больных с тяжело протекающей эозинофильной БА. Было отмечено улучшение клинического состояния, уменьшение содержания эозинофилов в крови и мокроте и увеличение ОФВ<sub>1</sub>. Лечение оказалось наиболее эффективным у больных с полипозом полости носа.

Бенрализумаб (benralizumab) – гуманизированное моноклональное антитело к рецептору ИЛ-5.