

УДК 616.24-007.63

DOI: 10.14427/jipai.2018.4.82

Сравнительный анализ цитокинов IL-4, IL-10, IL-6, IL-8 при неаллергической бронхиальной астме и хронической обструктивной болезни легких

Е.Ю. Трушина, Е.М. Костина, Н.И. Баранова, Б.А. Молотиллов, В.А. Типикин

ПИУВ – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Пенза

Comparative analysis of IL-4, IL-10, IL-6, IL-8 cytokines in nonallergic bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease

E.Yu. Trushina, E.M. Kostina, N.I. Baranova, B.A. Molotilov, V.A. Tipikin

The Penza Institute for Further Training of Physicians – Branch Campus of the Federal State Budgetary Educational Institution of Further Professional Education «Russian Medical Academy of Continuous Professional Education» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Penza

Аннотация

В исследовании участвовали 163 человека. Целью исследования было проведение сравнительного анализа спонтанной и индуцированной продукции IL-4, IL-10, IL-6, IL-8 в сыворотке крови у больных неаллергической формы бронхиальной астмой (НАБА) и хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ). Материалом для исследования служил супернатант спонтанной и фитогемагглютинин - индуцированной продукции клеток исследуемых.

В основе нейтрофильного воспаления у больных НАБА и ХОБЛ ведущую роль играет как спонтанная, так и индуцированная продукция цитокинов IL-6, IL-8 ($p < 0,05$). Значения IL-8 были выше при ХОБЛ, тогда как при НАБА преобладала продукция IL-6 ($p < 0,05$). Уровень IL-4 и IL-10 были выше у больных НАБА ($p < 0,05$). Изучаемые цитокины играют важную роль в патогенезе астмы и ХОБЛ.

Ключевые слова

Цитокины, воспаление, бронхиальная астма, ХОБЛ.

Summary

163 people participated in the study. The study purpose was comparative analysis of spontaneous and induced production of IL-4, IL-10, IL-6, IL-8 in serum of patients with non-allergic bronchial asthma form (NABA) and chronic obstructive pulmonary disease (COPD). The investigative material was the spontaneous and phytohemagglutinin-induced production supernatant of the patient's cells.

In the basis of neutrophilic inflammation in patients with NABA and COPD, both spontaneous and induced production of IL-6 and IL-8 cytokines play a leading role ($p < 0.05$). IL-8 values were higher in COPD, whereas IL-6 production dominated in NABA ($p < 0.05$). IL-4 and IL-10 levels were higher in NABA patients ($p < 0.05$). Studied cytokines play an important role in the pathogenesis of both asthma and COPD.

Keywords

Cytokines, inflammation, bronchial asthma, COPD.

Введение

Иммунологические аспекты патогенеза играют важнейшую роль в формировании типов воспаления дыхательных путей. И при бронхиальной астме (БА), и при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) иммунопатогенез в целом определяет клиническую картину течения патологии и ответ на терапию.

Одним из ключевых звеньев в патогенезе воспаления при БА и ХОБЛ играют белковые медиаторы – цитокины, осуществляющие межклеточное взаимодействие. Цитокины синтезируются эпителиальными клетками, миоцитами, фибробластами и другими иммунокомпетентными клетками [1]. Они принимают участие в патогенезе бронхообструкции, образование бронхиального секрета, акти-

вазии и вовлечение воспалительных клеток в органы-мишени, тем самым способствуют патологическим изменениям в стенке бронха при БА и ХОБЛ [2].

Формирование воспаления дыхательных путей при БА может проходить по типу Th1 и Th2 иммуноопосредованному ответу. Th2 -лимфоциты продуцируют цитокины IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13. Th1-лимфоциты продуцируют цитокины IL-1 β , IL-6, IL-12, INF γ и другие, которые имеют в основном противовоспалительное действие [3].

Основными медиаторами воспаления респираторного тракта при ХОБЛ являются IL-1 β , IL-6, INF α , TNF- α , IL-8 и IL-17 [4, 5].

IL-4 стимулирует синтез IgE, играющего роль в развитие аллергических реакций и в частности в формировании БА [6]. IL-4 стимулирует дифференцировку Th0-лимфоцитов в Th2-лимфоциты, тем самым способствуя секреции IL-4, IL-5, IL-9 и IL-13 [7].

По данным литературы IL-10 представляет собой регулятор иммунного ответа. Он может оказывать противовоспалительное действие за счет подавления синтеза многих белков воспаления, провоспалительных цитокинов [6]. В работах по изучению патогенеза БА описываются нарушения процессов транскрипции и секреции IL-10 [7].

Макрофаги, лимфоциты, фибробласты, эпителиальные и другие клетки способны к продукции IL-6. Он является медиатором межклеточного взаимодействия T- и B- лимфоцитов [6]. Роль IL-6 при аллергическом воспалении неоднозначна, с одной стороны он снижает количество эозинофилов и уровень IL-4, IL-5 в респираторном тракте, с другой стороны принимает участие в развитие пневмофиброза [8]. Авторы не исключают роль IL-6 в повреждении бронхолегочной ткани, что в последствие может привести к ремоделированию бронхов и потере эластичности эпителиальной ткани [9, 10].

Одним из провоспалительных цитокинов является IL-8, который, продуцируется макрофагами, эндотелиальными клетками, а также лимфоцитами, нейтрофилами, эпителиальными клетками, фибробластами, гепатоцитами [6]. IL-8 способствует притоку нейтрофилов и лимфоцитов в очаг воспаления [2].

Изучение роли различных цитокинов при разных типах воспаления у больных БА и ХОБЛ является актуальной проблемой. Это важно при сравнении фенотипа БА с нейтрофильным типом воспаления, а именно неаллергической формы и ХОБЛ в основе которого преимущественно

тоже лежит нейтрофильный тип воспаления. По клинической картине неаллергическая форма БА очень похожа на ХОБЛ и это создает трудности как в диагностике, так и в выборе терапии у клиницистов.

Цель исследования. Изучить роль цитокинов у больных с бронхообструктивными заболеваниями.

Материалы и методы

Под нашим наблюдением в пульмонологическом отделении Пензенской клинической больницы №4 находились 163 пациента с БА и ХОБЛ. Пациенты были распределены на четыре группы: 1 группа (n=49) больные с неаллергической формой БА (НАБА), 2 группа (n=50) больные с ХОБЛ, 3 группа сравнения (n=47) больные с аллергической формой БА (АБА), и 4 группа (n=17) – контрольная. Исследование одобрено Локально-этическим комитетом от 19.11.2014 г. (протокол № 108) и выполнено по теме научно-исследовательской работы кафедры.

Критерии включения в исследование: больные с диагнозом БА и ХОБЛ со среднетяжелым и тяжелым течением, вне обострения, возраст больных от 40 до 65 лет, информированное согласие пациентов на участие в исследовании. Критерии исключения: легкая и крайне тяжелая степень тяжести БА и ХОБЛ, постоянный прием пероральных глюкокортикостероидов, тяжелая декомпенсированная соматическая патология, беременность и период лактации, нежелание участвовать в исследовании.

Диагнозы БА и ХОБЛ выставлены на основании Международных документов GINA 2014 и GOLD 2014 [11, 12].

Проведено изучение IL-4, IL-10, IL-6, IL-8, как спонтанной, так и индуцированной продукции в Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) ПИУВ – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (заведующая ЦНИЛ – д.м.н., профессор Баранова Н.И.). Материалом для исследования служил супернатант спонтанной и фитогемагглютинин (ФГА) – индуцированной продукции клеток больных БА и ХОБЛ и здоровых лиц. Для исследования спонтанной и ФГА-индуцированной продукции цитокинов использовали тест *in vitro* [13]. Концентрации цитокинов IL-4, IL-10, IL-6, IL-8 определяли в сыворотке крови иммуноферментным методом с использованием отечественной тест-системы от АО «Вектор-Бест».

Статистическую обработку данных проводили в парадигмах непараметрической статистики,

используя прикладной программный комплект «Statistica» 6 версии. При этом определяли медиану, размах, 25-й и 75-й квартили данных в изучаемых группах. Различия между группами признавались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Учитывая различия в иммунопатогенезе, а, следовательно, и в типах воспаления дыхательных путей при различных фенотипах БА и ХОБЛ, нами проведена сравнительная оценка уровня изучаемых цитокинов при данной патологии (табл.1). Наиболее изучаемым фенотипом астмы является АБА, поэтому эту форму астмы взяли, как группу сравнения. С точки зрения типа воспаления, АБА представляет астму с эозинофильным эндотипом воспаления дыхательных путей. Патогенез при данной форме астмы развивается по Th2 типу иммунного реагирования. По полученным данным для АБА было характерно: повышение индуцированной продукции IL-4 (17,30 пг/мл), а также спонтанной и индуцированной продукции IL-10 (17,50 пг/мл; 161,80 пг/мл) в сравнении с контрольной группой, а так же с НАБА и ХОБЛ ($p < 0,05$). Изменений по

уровню спонтанной продукции IL-4 выявлено не было, возможно это связано с тем, что больные обследовались в период ремиссии заболевания. Данные подтверждают преобладание Th2 типа иммунного ответа при АБА, что является основой аллергического воспаления.

По данным литературы известно, что при ХОБЛ преобладает нейтрофильный тип воспаления [5]. Однако, в последнее время даже при ХОБЛ выделяют эозинофильную инфильтрацию в респираторном тракте [14]. Это меняет подходы к проводимой терапии, особенно к назначению ингаляционных глюкокортикостероидов (ИГКС), и требует от врачей проведения более точной дифференциальной диагностики между НАБА и ХОБЛ.

Много дискуссионных вопросов остается по иммунопатогенезу НАБА. По литературным данным и результатам наших предыдущих исследований при НАБА преобладает нейтрофильный тип воспаления [15]. Это важный аспект делает НАБА похожей на ХОБЛ. Но все же по клинико-функциональным показателям НАБА и ХОБЛ имеют отличия. Пожалуй, в данный момент это единственное отличие двух патологий, поскольку

Таблица 1. Сравнительный анализ спонтанной и индуцированной продукции IL-4, IL-10, IL-6, IL-8 в сыворотке крови у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких

Цитокины, пг/мл	НАБА (n=49) Me [P25%; P75%]	ХОБЛ (n=50) Me [P25%; P75%]	АБА (n=47) Me [P25%; P75%]	Контрольная группа (n=17) Me [P25%; P75%]
IL-4 (спонт.)	0,00 [0,00-0,00]	0,00 [0,00-0,00]	0,00 [0,00-0,30]	0,00 [0,00-0,00]
IL-4 (индуц.)	13,40*,** [10,00-17,60]	9,60# [2,40-21,60]	17,30* [13,40-24,80]	8,90 [2,40-16,90]
IL-10 (спонт.)	8,95*,** [3,20-15,50]	3,01# [2,30-9,40]	17,50* [3,50-21,60]	3,19 [2,40-7,50]
IL-10 (индуц.)	139,00*,** [120,60-193,20]	129,03 [96,80-155,50]	161,80* [141,10-273,40]	130,31 [105,60-145,20]
IL-6 (спонт.)	399,00*,** [239,90-494,70]	293,30*,# [170,20-370,50]	94,40 [31,90-275,60]	54,10 [27,90-94,40]
IL-6 (индуц.)	9918,00*,** [9886,00-9930,00]	9886,00*,# [9860,00-9912,00]	9860,00* [9844,00-9886,00]	9844,00 [9840,00-9849,00]
IL-8 (спонт.)	586,20*,** [567,30-587,00]	587,10* [586,00-587,40]	450,50 [401,10-585,50]	427,40 [387,00-450,50]
IL-8 (индуц.)	9005,00*,** [8064,00-9034,00]	9022,00*,# [9002,00-9044,00]	6846,00 [6022,00-9016,00]	6014,00 [5786,00-6068,00]

Примечание:

* - статистически значимое различие показателей между группами больных АБА и НАБА и ХОБЛ и контрольной группой (Mann-Whitney тест, $p < 0,05$);

** - статистически значимое различие показателей между группами больных АБА и НАБА (Mann-Whitney тест, $p < 0,05$);

- статистически значимое различие показателей между группами больных НАБА и ХОБЛ (Mann-Whitney тест, $p < 0,05$).

спонт. - содержание цитокинов в супернатанте при спонтанной продукции клетками;

индуц. - содержание цитокинов в супернатанте при ФГА-индуцированной продукции клетками.

по типу воспаления преобладает нейтрофильный тип дыхательных путей при обеих нозологиях. Вышеизложенный факт делает важным проведение анализа роли наиболее значимых цитокинов между НАБА и ХОБЛ как ведущих биомаркеров патогенеза иммунного воспаления дыхательных путей.

Нами показано (табл. 1), что у больных НАБА было выявлено не только повышение IL-4 и IL-10, но также значимое повышение IL-6 и IL-8, как спонтанной, так и индуцированной продукции в сравнении с контрольной группой и АБА ($p < 0,05$) [15]. В отличие от АБА при НАБА преобладала продукция IL-6 и IL-8. В основе фенотипа НАБА лежат патогенетические механизмы, отличные от аллергического фенотипа. Можно предположить, что при НАБА преобладает нейтрофильный тип воспаления. Поскольку продукция IL-6 и IL-8 отражает функциональную активность нейтрофилов и напряженность противоинфекционного звена иммунитета, логично предположить, что при НАБА цитокины участвуют в формировании воспалительного процесса. Различные фенотипы БА имеют разный иммунопатогенез, который формирует разный тип иммунного реагирования и разный тип воспаления респираторного тракта. Клиническое течение НАБА значительно отличается от АБА. При НАБА может быть необратимая обструкция, что делает этот фенотип схожим с ХОБЛ, основная часть пациентов получают высокие дозы стероидов, отмечается недостаточный контроль астмы на фоне лечения в сравнении с пациентами с АБА.

При изучении цитокинов у больных ХОБЛ [16] были получены высокие значения IL-6 и IL-8, как спонтанной, так и индуцированной продукции в сравнении с контрольной группой и АБА ($p < 0,05$), данный факт отражает наличие персистенции хронического воспаления респираторного тракта и включение Th1 типа иммунного реагирования в патогенезе ХОБЛ. Это является важным фактом в патогенезе ХОБЛ.

При сравнительном анализе обработанных данных у больных НАБА и ХОБЛ были получены следующие результаты. У больных НАБА наблюдалось повышение уровня индуцированной продукции IL-4 в 1,3 раза выше, спонтанной продукции IL-10 в 3 раза выше чем в группе больных

ХОБЛ ($p < 0,05$). Повышенные значения по IL-4 и IL-10 отражают Th2 тип иммунного реагирования при НАБА. Известно, что данный механизм может реализоваться посредством активации инфекционными агентами (вирусами, бактериями) иммунокомпетентных клеток. При этом может формироваться атопия к бактериальным аллергенам, что ранее многими авторами описывалась как инфекционно-зависимая БА [17,18].

Также при сравнении данных между НАБА и ХОБЛ имелись различия по IL-6 и IL-8. Выявлен повышенный уровень IL-6 как спонтанной, так и индуцированной продукции у больных НАБА, хотя уровень индуцированной продукции IL-8 был статистически выше у больных с ХОБЛ ($p < 0,05$). Данные результаты могут свидетельствовать о значении Th1 типа иммунного ответа при НАБА. Исходя из выше сказанного, воспаление при НАБА может происходить по двум путям иммунного ответа. IL-6 провоцирует ремоделирование бронхиального дерева у больных БА, снижая эластичность стенок бронхов, формируя необратимость обструкции. IL-8 является продуктом нейтрофилов, тем самым поддерживает нейтрофильное воспаление дыхательных путей как у больных НАБА, так и у больных ХОБЛ. Для НАБА хоть и в меньшей степени, чем при ХОБЛ характерна рефрактерная мало обратимая обструкция и преобладание нейтрофильного типа воспаления.

Вывод

Таким образом, цитокины имеют важное значение в патогенезе воспаления респираторного тракта при БА и ХОБЛ. В основе НАБА и ХОБЛ преимущественно лежит нейтрофильный тип воспаления дыхательных путей, который более выражен при ХОБЛ. Полученные результаты, несомненно, необходимо учитывать при выборе препаратов для лечения. Так у больных НАБА целесообразно применение высоких доз ИГКС и усиление бронхолитической терапии (комбинация длительно действующих β_2 -агонистов (ДДБА) и длительно действующие антихолинергических препаратов (ДДАХП)). У пациентов с ХОБЛ наоборот желательна отмена стероидов и раннее назначение двойной бронходилатационной терапии.

Литература

1. Barnes P.J. Cytokine-directed therapies for the treatment of chronic airway diseases. Cytokine Growth Factor Rev. 2003; №14 (6): 511-522.

2. Barnes P.J. The cytokine network in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. J. Clin. Invest. 2008; №118 (11): 3546-3556. doi: 10.1172/JCI36130.

3. Afshar R., Medoff B.D., Luster A.D. Allergic asthma: a tale of many T cells. *Clin. Exp. Allergy*. 2008; №38 (12):1847-57. doi: 10.1111/j.1365-2222.2008.03119.x.
4. Новиков Д.К., Смирнова О.В. Иммунологические фенотипы хронической обструктивной болезни легких: перспективы иммуннокоррекции. *Вестник ВГМУ* 2014; Т.13 (4): 102-109.
5. Chung K.F. Cytokines in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur. Respir. J.* 2001; 18 (34): 50-59.
6. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: ООО «Издательство Фолиант», 2008, 552 с.
7. Дугарова И.Д., Анаев Э.Х., Чучалин А.Г. О роли цитокинов при бронхиальной астме. *Пульмонология* 2009; №4: 96-101.
8. Wang J., Homer R.J., Chen Q. et al. Endogenous and exogenous IL-6 inhibit aeroallergen-induced Th2 inflammation. *J. Immunol.* 2000; №165: 4051-4061.
9. Whittaker L., Niu N., Temann U.A. et al. Interleukin-13 mediates a fundamental pathway for airway epithelial mucus induced by CD4 T cells and interleukin-9. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2002; Vol. 27: 593-602.
10. Zhu Z., Homer R.J., Wang Z. et al. Pulmonary expression of interleukin-13 causes inflammation, mucus hypersecretion, subepithelial fibrosis, physiologic abnormalities, and eotaxin production. *J. Clin. Invest.* 1999; Vol. 103: 779-788.
11. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention (GINA). National Institutes of Health; National Heart, Lung, and Blood Institute. Updated 2014. URL: <https://ginasthma.org/wp-content/uploads/2019/01/2014-GINA.pdf> (дата обращения: 21.02.2019).
12. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention (GOLD). National Institutes of Health; National Heart, Lung, and Blood Institute. Updated 2014. URL: https://goldcopd.org/wpcontent/uploads/2016/04/GOLD_Report_Russian_2014.pdf (дата обращения: 19.02.2019).
13. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Ярилин А.А. Руководство по клинической иммунологии. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009, 352 с.
14. McDonald V.M., Higgins I., Wood L.G. et al. Multidimensional assessment and tailored interventions for COPD: respiratory utopia or common sense? *Thorax*. 2013; 68(7): 691-694.
15. Трушина Е.Ю., Костина Е.М., Баранова Н.И. и др. Роль цитокинов как молекулярных маркеров воспаления при неаллергической бронхиальной астме. *Современные проблемы науки и образования*. 2018; № 4.
16. Трушина Е.Ю., Костина Е.М., Молотилов Б.А. и др. Роль цитокинов IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 в иммунопатогенезе хронической обструктивной болезни легких. *Медицинская иммунология*. 2019; Т 21, № 1: 89-98.
17. Пыцкий В.И. Механизмы возникновения и развития бронхиальной астмы и основные принципы их лечения. М.: Фармус Принт Медиа, 2008, 56с.
18. Федосеев Г.Б., Трофимова В.И., Петрова М.А. Бронхиальная астма. С-Пб. – Нордмедиздат, 2011, 344 с.

Сведения об авторах:

Трушина Елена Юрьевна, аспирант кафедры аллергологии и иммунологии ПИУВ – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, г. Пенза. Контактный адрес: 440005, Россия, Пенза, Военный городок корпус 205, кв. 18. Тел.: +7-953-024-14-17. E-mail: trushina.lena@mail.ru

Костина Елена Михайловна – д.м.н., профессор кафедры аллергологии и иммунологии ПИУВ – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, г. Пенза. Контактный адрес: 440068, Россия, Пенза, ул. Терновского 172, кв. 231. Тел.: +7-905-367-58-14. E-mail: elmihkostina@yandex.ru

Баранова Надежда Ивановна – д.б.н., профессор, заведующая Центральной научной лабораторией ПИУВ – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, г. Пенза. Контактный адрес: 440060, Россия, Пенза, ул. Тернопольская 7, кв. 206. Тел.: +7-937-408-16-90. E-mail: baranova.nadezhda.2014@mail.ru

Молотилов Борис Александрович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой аллергологии и иммунологии ПИУВ – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, г. Пенза. Контактный адрес: 440006, Россия, Пенза, ул. Ладожская 113, кв. 136. Тел.: +7-927-649-07-98. E-mail: borismolotilov@yandex.ru

Типикин Валерий Александрович – к.м.н., доцент, заведующий кафедрой пульмонологии и фтизиатрии, зам. директора по учебной работе ПИУВ – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, г. Пенза. Контактный адрес: 440062, Россия, Пенза, ул. Ладожская 71, кв. 88. Тел.: +7-960-325-71-42. E-mail: giuv@sura.ru

Поступила 10.12.2018 г.