

УДК:612.017.11:616.248

DOI: 10.14427/jipai.2022.4.42

Противомикробные пептиды и оксид азота как прогностические критерии течения бронхиальной астмы

С.М. Юдина, И.А. Иванова, Т.С. Русанова, И.Ю. Макеева, М.Ю. Коршикова

Курский государственный медицинский университет, Курск, Россия

Antimicrobial peptides and nitric oxide as prognostic criteria for bronchial asthma

S.M. Yudina, I.A. Ivanova, T.S. Rusanova, I.Yu. Makeeva, M.Yu. Korshikova

Kursk State Medical University, Kursk, Russia

Аннотация

Цель: сравнительная оценка факторов врождённого иммунитета (продукции противомикробных пептидов и метаболитов оксида азота) и цитокинового профиля у больных бронхиальной астмой.

Материалы и методы. Под наблюдением находились 57 пациентов с бронхиальной астмой (средний возраст $39,8 \pm 5,7$ лет). Уровень цитокинов в сыворотке периферической крови и бронхоальвеолярной жидкости (БАЖ), содержание противомикробных пептидов (α -дефензинов – HNP1-3) определяли методом иммуноферментного анализа. Исследование уровня метаболитов оксида азота (NO) проводилось спектрофотометрическим методом по суммарной концентрации нитритов и нитратов с помощью реактива Грисса.

Результаты. Сывороточные концентрации провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β , IL-6) превышали значения доноров в среднем в 2,5 раза, IL-4 – цитокина с противовоспалительной активностью более чем в 3 раза. Существенных изменений в содержании IFN- γ и IL-10 не выявлено. В цитокиновом профиле БАЖ отмечены аналогичные изменения, а именно: уровень TNF- α и IL-1 β превышал контрольные значения в 2,5, IL-6 – в 3,5 раза и IL-4 – в 4,5 раза. Это сочеталось с уменьшением в 3,2 раза концентрации IFN- γ и отмеченной тенденцией к снижению содержания IL-10. Содержание α -дефензинов (HNP1-3) как в сыворотке, так и в БАЖ превышало показатели доноров в 4 и 7,5 раза соответственно. Исследование метаболитов NO выявило двукратное увеличение их содержания в сыворотке крови и в 3,8 раза – в БАЖ по сравнению с показателями доноров.

Выводы. Результаты проведённых исследований показали тесную взаимосвязь продукции цитокинов, α -дефензинов и метаболитов NO у пациентов с бронхиальной астмой, существенно влияющих на поддержание и прогрессирование воспаления в слизистой оболочке бронхов. Исследование этих биологических маркеров воспаления можно отнести к прогностическим критериям активности и тяжести течения воспалительного процесса в бронхиальном дереве, контроля эффективности лечения.

Summary

Aim: comparative assessment of innate immunity factors (production of PMP and NO metabolites) and cytokine profile in patients with bronchial asthma.

Materials and methods. 57 patients with bronchial asthma (mean age 39.8 ± 5.7 years) were under observation. The level of cytokines in the serum of peripheral blood and bronchoalveolar fluid (BAF), the content of PMP (α -defensins – HNP1-3) was determined by enzyme immunoassay. The study of the level of nitric oxide metabolites was carried out by the spectrophotometric method according to the total concentration of nitrites and nitrates using the Griess reagent.

Results. The level of pro-inflammatory cytokines exceeded the values of donors: TNF- α showed a 3-time increase, IL-1 β – 2,5-time and IL-6 – 1,5-time. A significant increase was seen in the concentration of IL-4 – more than 3 times (up to 68 pg/ml). There were no significant changes in the content of IFN- γ and IL-10. In the cytokine profile of the bronchoalveolar fluid, similar changes were noted: the level of TNF- α and IL-1 β exceeded the control values by 2.5 times, IL-6 by 3.5 times and IL-4 by 4.5 times. This was combined with a 3.2-fold decrease in the concentration of IFN- γ and a marked trend towards a decrease in the content of IL-10 in BAF. A sharp increase in the content of α -defensins in both serum and BAF was revealed. Moreover, in the blood serum their level was 4 times higher than the reference values, and in the BAF – 7.5 times higher than the donors. The study of the level of serum NO metabolites revealed a two-fold excess in blood serum and 3,8 times – a BAF compared with donors.

Conclusions. Based on the results of the studies, a conclusion was made about the close relationship between the production of cytokines, α -defensins and NO metabolites, which significantly affect the maintenance and progression of inflammation in the bronchial mucosa. The study of these biological markers of inflammation can be attributed to the prognostic criteria for the activity and severity of the inflammatory process in the bronchial tree, the control of the effectiveness of the treatment of patients with bronchial asthma.

Ключевые слова

Бронхиальная астма, цитокины, противомикробные пептиды, оксид азота, бронхоальвеолярная жидкость.

Введение

Бронхиальная астма (БА) на протяжении ряда десятилетий продолжает оставаться одной из наиболее обсуждаемых тем современной медицины, что обусловлено распространённостью, тяжестью течения, существенным влиянием на качество жизни пациентов и социально-экономическим ущербом [1,2]. Многочисленными исследованиями установлена ключевая роль иммунных механизмов в развитии и поддержании воспаления в бронхиальном дереве [3,4]. Основными иницирующими факторами в патогенезе бронхиальной астмы являются продукция интерлейкинов (IL) 4, 5, 13 и инфильтрация слизистой оболочки активированными эозинофилами, нейтрофилами, тучными клетками и лимфоцитами [5,6]. Продуктируемые в процессе воспаления медиаторы вызывают спазм бронхов, гиперсекрецию слизи, усиление воспаления, что приводит к гиперплазии и гипертрофии миоцитов, развитию фиброза за счёт образования новых коллагеновых волокон в собственной пластинке слизистой оболочки бронхов [7,8]. Наряду с этим в последние годы в развитии воспаления, в том числе при БА, показана существенная роль гуморальных факторов врождённого иммунитета, в частности противомикробных пептидов (ПМП) и оксида азота (NO) [9-11]. Как известно, ПМП являются важным фактором защиты респираторного тракта, выполняющим роль хемоаттрактантов для нейтрофилов, макрофагов, эозинофилов, Т-лимфоцитов [12,13]. Вместе с тем высокие концентрации дефензинов токсичны для эпителиальных клеток бронхиального дерева, стимулируют секрецию муцина и прогрессирование воспаления [14,15]. Одним из факторов, провоцирующих развитие воспаления при БА, является оксид азота, усиливающий эозинофильную инфильтрацию, повреждение эпителия бронхов, подавление пролиферации Тх-1 типа, повышение активности Тх-2 типа и продукции IL-4, 5, 13, 17 [16-18]. Таким образом, иммунные механизмы, иницирующие развитие воспаления в бронхиальном дереве, создают «порочный круг», способствующий прогрессированию патологического процесса.

Keywords

Bronchial asthma, cytokines, antimicrobial peptides, nitric oxide, broncho-alveolar fluid.

Цель работы: сравнительная оценка факторов врождённого иммунитета (продукции ПМП – α -дефензинов и метаболитов NO) и цитокинового профиля у больных бронхиальной астмой.

Материалы и методы

Под наблюдением находились 57 пациентов с бронхиальной астмой (средний возраст $39,8 \pm 5,7$ лет), среди них женщин – 33 (58 %), мужчин – 24 (42 %). Критериями включения больных в исследование являлись: возраст пациентов от 18 до 65 лет, аллергический фенотип БА в стадии обострения, длительность заболевания от 3 до 10 лет, отсутствие тяжёлой сопутствующей патологии (аутоиммунные и онкологические заболевания, сахарный диабет), наличие информированного согласия пациентов на проводимое обследование и лечение. В исследование не включались больные моложе 18 и старше 65 лет, с тяжёлым течением бронхиальной астмы (стероидозависимость), наличием тяжёлой сопутствующей патологии.

При проведении специфического аллерго-обследования моносенсибилизация выявлена у 35 (61,4 %) пациентов, в том числе к аллергенам домашней пыли – у 22 (62,9 %), пыльцевым – у 11 (31,4 %) и эпидермальным аллергенам – у 2 (5,7 %). Поливалентная сенсibilизация отмечена у 22 (38,6 %) пациентов: у 19 (86,4 %) – к бытовым и пыльцевым аллергенам, у 3 (13,6 %) – к бытовым, пыльцевым и эпидермальным аллергенам. Все больные получали лечение согласно стандарту оказания медицинской помощи больным бронхиальной астмой.

Содержание цитокинов (TNF- α , IFN- γ и IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10) в сыворотке периферической крови и бронхоальвеолярной жидкости больных БА определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). Содержание ПМП (α -дефензинов – HNP1-3) в исследуемых жидкостях проводилось сэндвич-методом ИФА с применением тест-системы ELISAKit HyCult biotechnology (Нидерланды). Исследование содержания метаболитов оксида азота проводилось спектрофотометрическим методом по суммарной концентрации нитритов и нитратов с помощью реактива Грисса.

Лабораторные данные обрабатывали с помощью программы Statistica 8.0 с определением средних величин (M) и квадратичного отклонения (m). Для сравнения полученных результатов использовали непараметрический метод – U-критерий Манна-Уитни, критерием статистической достоверности полученных результатов считали принятую в медико-биологических исследованиях $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При исследовании сыворотки крови больных бронхиальной астмой выявлены суще-

ственные нарушения в цитокиновом профиле (рис. 1).

Наиболее значимые изменения отмечены в уровне TNF- α , IL-1 β , IL-6 и IL-4. Содержание провоспалительных цитокинов превышали значения доноров: TNF- α более чем в 3 раза, IL-1 – в 2,5 и IL-6 – в 1,5 раза. Обращало внимание также значительное увеличение концентрации IL-4 – цитокина с противовоспалительной активностью, более чем в 3 раза (до 68 пкг/мл). Существенных изменений в содержании IFN- γ и IL-10 не выявлено.

Как следует из данных, представленных на рисунке 2, аналогичные изменения спектра ис-

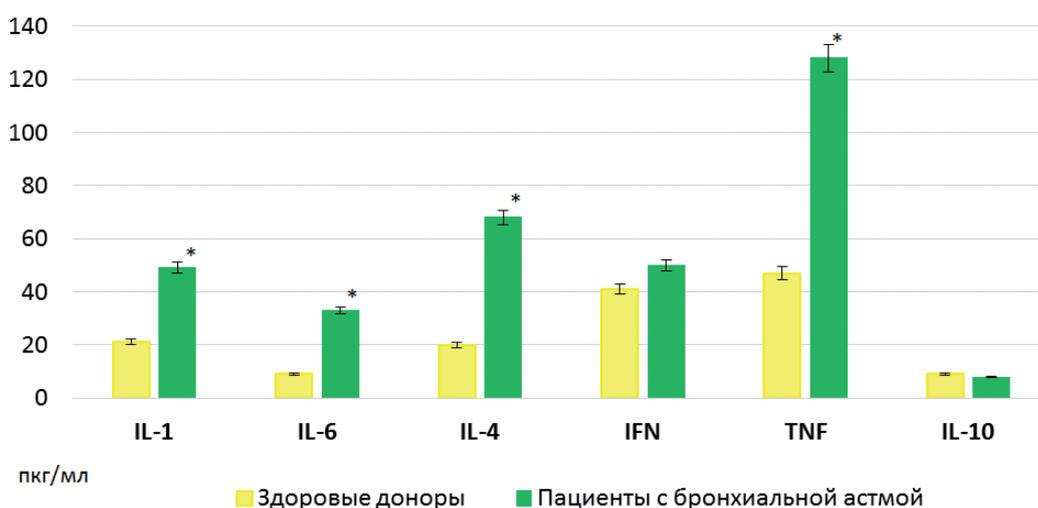


Рис. 1. Содержание цитокинов в сыворотке крови больных бронхиальной астмой

Примечание: * – $p < 0,05$ в сравнении с донорами.

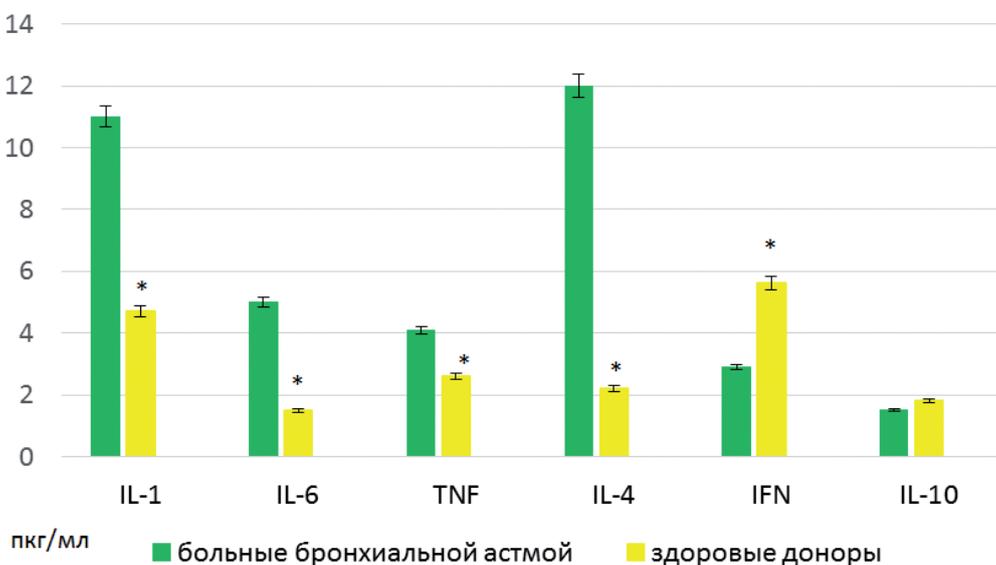


Рис. 2. Содержание цитокинов в бронхоальвеолярной жидкости больных бронхиальной астмой

Примечание: * – $p < 0,05$ в сравнении с донорами.

следуемых цитокинов наблюдались и в БАЖ, а именно: уровень TNF- α и IL-1 β превышал контрольные значения в 2,5, IL-6 – в 3,5 и IL-4 – в 4,5 раза.

Это сочеталось с уменьшением в 3,2 раза концентрации IFN- γ и отмеченной тенденцией к снижению содержания в БАЖ IL-10. Выявленные изменения в цитокиновом профиле сыворотки крови и БАЖ согласуются с данными литературы, свидетельствующими об их роли в развитии и поддержании хронического воспалительного процесса в бронхиальном дереве [19-21]. Гиперпродукция TNF- α , IL-1 β и IL-6 стимулирует секрецию иммунокомпетентными клетками большого количества биологически активных веществ (гистамина, лейкотриенов, тромбоксана и др.), индуцирующих процессы гиперреактивности бронхов и бронхоконстрикцию [22-24]. Повышенная продукция IL-4, как одного из основных факторов развития аллергического воспаления, вызывает усиленную секрецию IgE, экспрессию молекул адгезии на эндотелиальных клетках и миграцию эозинофилов из кровяного русла в бронхиальное дерево [25,26]. Таким образом, выявленный дисбаланс цитокинов в БАЖ обуславливает взаимосвязь системного и местного воспалительных процессов у пациентов с бронхиальной астмой и позволяет оценить активность патологического процесса [5,20].

Основываясь на данных ряда литературных источников о взаимосвязи между уровнем провоспалительных цитокинов и ПМП, в частности α -дефензинов, инициирующих дегрануляцию тучных клеток, усиление пролиферации дендритных клеток и привлечение в очаг воспаления нейтрофилов [10,13,17], представляло интерес определить их содержание в сыворотке крови и БАЖ (табл. 1).

При анализе полученных результатов было выявлено значительное увеличение содержания α -дефензинов (HNP1-3) как в сыворотке крови, так и в БАЖ. Причём сывороточный уровень HNP1-3 был в 4 раза выше референсных значений, а в БАЖ – в 5,5 раза превышал показатели доноров.

Как известно, уровень оксида азота существенно влияет на продукцию биологически активных веществ и прогрессирование воспалительного процесса [16-19]. При исследовании сывороточных метаболитов NO отмечено их двукратное повышение в сыворотке крови и в 3,8 раза – в БАЖ по сравнению с показателями доноров. На основании этого сделано предположение о том, что высокий уровень метаболитов оксида азота способствует накоплению свободных радикалов, усилению окисления липидов и, как следствие, увеличению сосудистой проницаемости, отёка и спазма бронхов [4,13,19].

Выводы

Таким образом, на основании результатов проведённых исследований сделан вывод о тесной взаимосвязи продукции цитокинов, α -дефензинов и метаболитов NO, существенно влияющих на поддержание и прогрессирование воспаления в слизистой оболочке бронхов. При этом наиболее высокие концентрации TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-4, а также IgE, α -дефензинов и метаболитов NO наблюдались на уровне органа-мишени – в БАЖ. Исследование этих биологических маркеров воспаления можно отнести к прогностическим критериям активности и тяжести течения воспалительного процесса в бронхиальном дереве, контроля эффективности лечения пациентов с бронхиальной астмой.

Таблица 1. Содержание метаболитов оксида азота и α -дефензинов в сыворотке крови и БАЖ больных бронхиальной астмой

Показатели	Сыворотка крови		Бронхоальвеолярная жидкость	
	референсные значения	больные бронхиальной астмой	референсные значения	больные бронхиальной астмой
NO, ммоль/мл	3,7 \pm 0,75	8,1 \pm 0,93*	5,1 \pm 0,96	20,6 \pm 1,3*
α -дефензины (HNP1-3), пкг/мл	53,7 \pm 4,2	218,3 \pm 8,1*	68,7 \pm 3,5	378,1 \pm 5,6*

Примечание: * – $p < 0,05$.

Литература

1. Мадиева Л.С., Мамашалиева С.Б., Бакирова Р.Е. и др. Некоторые аспекты патогенеза бронхиальной астмы: обзор литературы. Современные проблемы науки и образования. 2020; № 2. DOI: 10.17513/spno.29611.
2. Галицкая М.А., Курбачева О.М. Современные представления о роли врожденного и приобретенного иммунитета при бронхиальной астме. Российский аллергологический журнал. 2018; Т. 15, № 6: 7–17. DOI: 10.36691/RJA87.
3. Lambrecht B.N., Hammad H. The immunology of asthma. Nat. Immunol. 2015; Vol. 16, № 1:45–56. DOI:10.1038/ni.3049.
4. Ландышев Ю.С., Суров А.В., Лазуткина Е.Л. и др. Роль цитокинов и полиморфно-ядерных нейтрофилов в патогенезе бронхиальной астмы. Дальневосточный медицинский журнал. 2008; №8:134-139.
5. 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.
6. Ненашева Н.М. Биологическая терапия тяжелой астмы: новые цели и новые возможности лечения. Медицинский совет. 2019;(15):50-61. DOI: 10.21518/2079-701X-2019-15-50-61.
7. Борисова Т.В., Караулов А.В., Сокуренок С.И. Цитокины: участие в патогенезе и перспективы лечебного применения при бронхиальной астме. Клиническая практика. 2010; Т. 1, №2: 81-87. DOI: 10.17816/clinpract1281-87.
8. Скороходкина О.В., Хакимова М.Р., Тимербулатова Г.А. и др. Цитокины как биомаркеры эозинофильного воспаления при T2-эндотипе бронхиальной астмы. Вестник современной клинической медицины. 2021; Т. 14, вып. 6: 68–75. DOI: 10.20969/VSKM.2021.14(6).68-75.
9. Будихина А.С., Пинегин Б.В. Дефензины – антимикробные пептиды нейтрофилов: свойства и функции. Иммунология. 2008; Т. 29, № 5: 317-320.
10. Кокряков В.Н., Ковальчук Л.В., Алешина Г.М. и др. Катионные противомикробные пептиды как молекулярные факторы иммунитета: мультифункциональность. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2006; № 2: 98-105.
11. Никитин А.В., Золотарева М.А. Роль ферментативной активности в формировании окислительного стресса у больных бронхиальной астмой. Вестник новых медицинских технологий. 2013; Т. 20, № 2: 165-169.
12. Снимщикова И.А., Халилов М.А., Плотнокова М.О. Роль эндогенных антимикробных пептидов при инфекционно-воспалительных процессах. Российский иммунологический журнал. 2014; Т. 8, № 3 (17): 401-404.
13. Ghosh S., Erzurum S. Modulation of asthma pathogenesis by nitric oxide pathways and therapeutic opportunities. Drug Discov. Today Dis. Mech. 2012; 9 (3–4): e89–94. DOI: 10.1016/j.ddmec.2012.10.004.
14. Кокряков В.Н., Ковальчук Л.В., Алешина Г.М. и др. Катионные противомикробные пептиды как молекулярные факторы иммунитета: мультифункциональность. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2006; №2:98-105.
15. Окороченков С.А., Желтухина Г.А., Небольсин В.Е. Антимикробные пептиды: механизмы действия и перспективы практического применения. Биомедицинская химия. 2012; Т. 58, № 2: 131-143.
16. Козина О.В., Огородова Л.М. Образование и биологическая роль NO при аллергическом воспалении. Бюллетень сибирской медицины. 2009; 8 (3): 95–105.
17. Шаханов А.В., Бельских Э.С., Луняков В.А. и др. Клинико-патогенетическое значение определения оксида азота в крови больных бронхиальной астмой и гипертонической болезнью. Казанский медицинский журнал. 2017; 98 (4): 492–496. DOI: 10.17750/kmj2017-492.
18. Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе инфекционных и неинфекционных заболеваний человека. Медицинский академический журнал. 2013; №3:18-41.
19. Лобанова Е.Г., Калинина Е.П., Денисенко Ю.К. и др. Особенности регуляции воспаления у пациентов с бронхиальной астмой. Аллергология и иммунология. 2016; Т. 17, № 1: 33.
20. Ненашева Н.М. Терапия бронхиальной астмы, основанная на биомаркерах. Практическая пульмонология. 2018; № 4:3–11.
21. Diamant Z., Vijverberg S., Alving K., et al. Toward clinically applicable biomarkers for asthma: An EAACI position paper. Allergy. 2019; Vol. 74, № 10:1835–1851. DOI: 10.1111/all.13806.
22. Ненашева Н.М. T2-бронхиальная астма: характеристика эндотипа и биомаркеры. Пульмонология. 2019; Т. 29, № 2: 216–228. DOI: 10.18093/0869-0189-2019-29-2-216-228.
23. Commins S., Borish L., Steinke J. Immunologic messenger molecules: Cytokines, interferons and chemokines. J. Allergy Clin Immunol. 2010; Т. 125:53-72.
24. Pavord I.D., Afzalnia S., Menzies-Gow A., et al. The current and future role of biomarkers in type 2 cytokinemediated asthma management. Clinical & Experimental Allergy. 2017; Vol. 47, № 2:148–160. DOI: 10.1111/ cea.12881.
25. Kany S., Vollrath J.T., Relja B. Cytokines in inflammatory disease. International Journal of Molecular Sciences. 2019;20(23):6008. doi: 10.3390/ijms20236008.
26. Будихина А.С., Пенегин Б.В. Роль антимикробных пептидов в патологии заболеваний верхних дыхательных путей. Иммунология. 2017; Т.38(4): 234-238. DOI: 10.18821/0206-4952-2017-38-4-234-238.

Сведения об авторах

Юдина Светлана Михайловна – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ. E-mail: ksmu-immunology@mail.ru. SPIN ID: 4273-8540; ORCID ID: 0000-0001-5074-9595.

Иванова Инна Анатольевна – к.м.н., доцент, доцент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ. E-mail: ia.ivanova@mail.ru. SPIN ID: 9725-8582; ORCID ID: 0000-0002-6487-6795.

Русанова Татьяна Сергеевна - к.м.н., доцент, доцент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ. E-mail: rusanova.tatiana046@mail.ru. SPIN ID: 4273-8540; ORCID ID: 0000-0003-2566-798X.

Макеева Ирина Юрьевна – ассистент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ. E-mail: my-listik@mail.ru. SPIN ID: 2181-9200; ORCID ID: 0000-0002-7313-083X.

Коршикова Маргарита Юрьевна – к.м.н., доцент, доцент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ. E-mail: medmargarita1@yandex.ru. SPIN ID: 4829-6052.

Поступила 20.10.2022 г.