

ОСОБЕННОСТИ МОДУЛИРОВАНИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА КОМПОНЕНТАМИ МИКРОБИОТЫ ПРИ ОТДЕЛЬНЫХ ВАРИАНТАХ ТЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

Д.Д. Недорезова, Н.А. Кириллова, Ю.Б. Дорофеева, В.А. Петров

Научный руководитель: мл. науч. сотрудник, к. мед. н. К.В. Невская
Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России
Национальный исследовательский Томский политехнический университет
E-mail: darianedorez@icloud.com

По данным Всемирной организации здравоохранения, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) относится к числу самых распространенных во всем мире. Один из вариантов течения ХОБЛ характеризуется возникновением у пациентов частых обострений: 2 и более в год или хотя бы одно обострение, потребовавшее госпитализации в стационар [1]. Частые обострения являются неблагоприятным фактором, который способствует быстрому прогрессированию ХОБЛ за счет увеличения скорости снижения проходимости дыхательных путей и требует особого подхода к подбору базисной терапии [2, 3]. Нарушения в функционировании иммунной системы являются одними из ключевых звеньев патогенеза ХОБЛ, способствует развитию респираторной инфекции, что, в свою очередь, способствует поддержанию воспаления [4]. Характеристика влияния компонентов микробиоты дыхательных путей на дендритные клетки и их функции имеет ключевое значение в понимании процессов поддержания воспаления при ХОБЛ. Бактериальный геном, в отличие от ДНК позвоночных, включает в себя большое число метилированных деоксицитидил-деоксигуанозин (CpG) динуклеотидов [5]. Малые олигодеоксинуклеотиды (ODN) с метилированными CpG (CpG-ODN), аналогично бактериальной ДНК, способны оказывать модулирующее действие на иммунную систему. Выделяют три основных класса CpG-ODN, однако наибольший вклад в иммунный ответ, опосредованный антигенпредставляющими клетками, вносят классы А и В. В связи с этим представляется актуальным установление роли компонентов микробиоты (CpG-ODN классов А и В) в модификации иммунного ответа при хронической обструктивной болезни легких.

Материалы и методы

В соответствии с протоколом исследования, одобренным в Этическом комитете ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (выписка № 4640 от 24.02.2016), в исследование было включено 10 пациентов со стабильной ХОБЛ с частыми обострениями (возраст 69,0 лет (66,0; 75,0)) и 10 пациентов без частых обострений (возраст 66,0 лет (56,0; 68,0)). Периферическую венозную кровь у больных ХОБЛ в объеме 30 мл собирали из локтевой вены утром натощак в стерильную вакуумную пробирку с гепарином. Методами градиентного центрифугирования и магнитного сортирования из крови была выделена моноцитарная фракция. Далее моноциты культивировали в присутствии IL-4 (ProSpec, США) и GM-CSF (ProSpec, США) в течение 3 суток в CO₂ инкубаторе при температуре 37 °С. После чего для стимуляции созревания к полученным незрелым дендритным клеткам добавляли бактериальный липополисахарид, а также CpG-ODN классов А или В. Через 36 часов определяли иммунофенотипический профиль полученных клеток методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител к антигенам CD40, CD83, CD86 (BD Bioscience, США). Для определения антиген-представляющих свойств полученных дендритных клеток их сокультивировали с CD4⁺ лимфоцитами в течение 7 суток в присутствии IL-2 (ProSpec, США). По окончании времени культивирования оценивали фенотип Т-лимфоцитов с использованием антител к CD4, CD25, CD127 и CD45RO (BD Bioscience, США).

Результаты

Было установлено, что стимуляция CpG-ODN класса А приводит к увеличению содержания дендритных клеток с фенотипом CD40⁺CD83⁺ с 3,5% (1,4; 6,0) до 5,9% (3,1; 8,1) у больных ХОБЛ с частыми обострениями (p=0,027). Стимуляция CpG-ODN класса В у данной группы пациентов не сопровождается изменением содержания CD40⁺CD83⁺ пула клеток – 3,5% (1,4; 6,0) до стимуляции и 4,8% (1,5; 25,8) после. У больных ХОБЛ без обострений не выявлено статистически значимых изменений уровня дендритных клеток с фенотипом CD40⁺CD83⁺ при стимуляции CpG-ODN классов А и В. Статистически значимых различий по содержанию CD86⁺ клеток у больных ХОБЛ вне зависимости от частоты обострений и стимуляции CpG-ODN также не наблюдается. Полученное в рамках эксперимента увеличение содержания дендритных клеток с фенотипом CD40⁺CD83⁺ может свидетельствовать об активации Т-клеточного звена иммунного ответа под воздействием микробных агентов у больных ХОБЛ с частыми обострениями.

Сокультивирование стимулированных CpG-ODN класса А дендритных клеток с Т-клетками у больных ХОБЛ без обострений приводит к увеличению содержания лимфоцитов, несущих рецептор к IL-2 (CD25⁺) в отсутствие экспрессии на поверхности клеток маркера памяти – CD45RO: 3,4% (2,4; 5,9) до и 3,9% (2,7; 6,2) после стимуляции (p=0,0044). У больных ХОБЛ с частыми обострениями такой тенденции не было выявлено: клетки с иммунофенотипом CD25⁺CD45RO⁻ составляли 4,0% (1,7; 4,6) до и 4,1% (2,2; 4,2) от общей популяции после стимуляции CpG-ODN класса А. В ответ на стимуляцию CpG-ODN класса В у больных ХОБЛ без

обострений была отмечена тенденция к увеличению CD25⁺CD45⁺ пула Т-лимфоцитов с 3,4% (2,4; 5,9) до 4,3% (2,5; 6,1). Однако ввиду значительной вариабельности фенотипического профиля клеток у пациентов данной группы полученные изменения были статистически не значимыми. Известно, что IL-2 играет ключевую роль в поддержании воспаления при ХОБЛ [6, 7], в связи с чем полученные результаты могут свидетельствовать о дискоординации иммунного ответа при развитии хронической обструктивной болезни легких.

Таким образом, результаты проведенного исследования позволяют объяснить повышенную восприимчивость к бактериальным инфекциям при ХОБЛ особенно в группе лиц с частыми обострениями.

*Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ мол-а,
договор № 26 16-34-00418\16.*

Список литературы

1. Hurst J.R., Vestbo J., Anzueto A. et al. Susceptibility to exacerbation in chronic obstructive pulmonary disease // N. Engl. J. Med. – 2010. – Vol. 363. – P. 1128–1138.
2. Celli B.R., Thomas N.E., Anderson J.A. et al. Effect of pharmacotherapy on rate of decline of lung function in chronic obstructive pulmonary disease: results from the TORCH study // Am. J. Respir. Crit. Care. Med. – 2008. – Vol. 178. – P. 332–338.
3. Spencer S., Calverley P.M., Burge P.S. et al. Impact of preventing exacerbations on deterioration of health status in COPD // Eur. Respir. J. – 2004. – Vol. 23. – P. 698–702.
4. Shaykhiiev R., Crystal R.G. Innate immunity and chronic obstructive pulmonary disease: a mini-review // Gerontology. – 2013. – Vol. 59(6). – P. 481–489.
5. Hacker G., Redecke V., Hacker H. Activation of the immune system by bacterial CpG-DNA // Immunology. – 2002. – Vol. 105(3). – P. 245–251.
6. Mat Z., Grensemann B., Yakin Y., Knobloch J. et al. Effect of lipoteichoic acid on IL-2 and IL-5 release from T lymphocytes in asthma and COPD // Int. Immunopharmacol. – 2012. – Vol. 13(3). – P. 284–291.
7. Knobloch J., Chikosi S.J., Yanik S. et al. A systemic defect in Toll-like receptor 4 signaling increases lipopolysaccharide-induced suppression of IL-2-dependent T-cell proliferation in COPD // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. – 2016. – Vol. 310(1). – P. 24–39.