

## КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКОЕ СОПОСТАВЛЕНИЕ ПРИ Th-ЗАВИСИМЫХ МЕХАНИЗМАХ ИММУННОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

Калинина Е.П.<sup>1</sup>, Виткина Т.И.<sup>2</sup>, Кнышова В.В.<sup>2</sup>, Федосеева Е.А.<sup>2</sup>,  
Новгородцева Т.П.<sup>2</sup>, Гвозденко Т.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Медицинский центр ООО «Мой доктор», г. Владивосток, Россия

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения –  
Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»,  
г. Владивосток, Россия

**Резюме.** Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является глобальной проблемой здравоохранения. Актуальным является изучение иммунологических особенностей и их сопряженности с клиническим течением ХОБЛ. Цель исследования – установить клинико-иммунологические особенности ХОБЛ разной степени тяжести при Th1- и Th17-зависимых типах иммунного ответа.

Обследовано 132 пациента с ХОБЛ и 32 практически здоровых лица. По клинико-функциональным вариантам пациенты с ХОБЛ разделены по группам: 36 человек (28%) с легкой степенью тяжести, 62 человека (48%) со средней степенью тяжести и 30 человек (23%) с тяжелой степенью тяжести. Проводилось клинико-функциональное и лабораторное исследование. Субпопуляции Th1- и Th17-лимфоцитов оценивали по уровню цитокинов в сыворотке крови (туморнекротизирующий фактор (TNF $\alpha$ ), интерлейкинов (IL) IL-4, IL-10, IL-17A, IL-21, IFN $\gamma$ ), трансформирующего фактора роста  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1)), определяли экспрессию рецептора IL-6R (CD126<sup>+</sup>) на зрелых Т-лимфоцитах (CD3<sup>+</sup>) и Т-хелперах (CD4<sup>+</sup>) периферической крови. Результаты исследования показали, что у больных ХОБЛ легкой степени тяжести определялись три разных фенотипа с превалированием Th1-зависимого иммунного ответа. Уровень экспрессии IL-6R представлен в большей степени на CD3<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> клетках при Th1/Th17-фенотипе и CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> клетках при Th17-зависимом типе иммунного ответа. У больных ХОБЛ средней степени тяжести соотношение между Th1-, Th17- и Th1/Th17-типами иммунного ответа определялось в равных долях. Уровень экспрессии IL-6R на зрелых Т-лимфоцитах и Т-хелперах возрастает в наибольшей степени при Th17-зависимом иммунном ответе. У больных ХОБЛ тяжелой степени преобладал иммунный ответ по Th17- и Th1/Th17-типам. Уровень экспрессии IL-6R увеличивается при Th17- и Th1/Th17-зависимых типах иммунного ответа, при этом наиболее значимое возрастание отмечается для CD4<sup>+</sup> клеток при Th17-фенотипе. Установлено, что с фенотипами иммунного ответа у пациентов с ХОБЛ сопряжены особенности клинического течения заболевания. Полученные данные позволяют определить фенотип воспаления, спрогнозировать течение хронического заболевания и подобрать адекватную терапию.

**Ключевые слова:** хроническая обструктивная болезнь легких, Th-зависимый тип иммунного ответа, IL-6 сигналин

### Адрес для переписки:

Кнышова Вера Васильевна  
Научно-исследовательский институт медицинской  
климатологии и восстановительного лечения  
690105, Россия, г. Владивосток, ул. Русская, 73г.  
Тел./факс: 8 (423) 278-82-01.  
E-mail: v.knyshova@mail.ru

### Address for correspondence:

Knyshova Vera V.  
Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation  
Treatment  
690105, Russian Federation, Vladivostok, Russkaya str., 73g.  
Phone/Fax: 7 (423) 278-82-01.  
E-mail: v.knyshova@mail.ru

### Образец цитирования:

Е.П. Калинина, Т.И. Виткина, В.В. Кнышова,  
Е.А. Федосеева, Т.П. Новгородцева, Т.А. Гвозденко  
«Клинико-иммунологическое сопоставление при  
Th-зависимых механизмах иммунного ответа  
у больных хронической обструктивной болезнью легких»  
// медицинская иммунология, 2018. Т. 20, № 6.  
С. 855-864. doi: 10.15789/1563-0625-2018-6-855-864  
© Калинина Е.П. и соавт., 2018

### For citation:

E.P. Kalinina, T.I. Vitkina, V.V. Knyshova, E.A. Fedoseeva,  
T.P. Novgorodtseva, T.A. Gvozdenko "Clinical and  
immunological comparisons in Th-dependent immune response  
mechanisms among patients with chronic obstructive pulmonary  
disease", *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya  
Immunologiya*, 2018, Vol. 20, no. 6, pp. 855-864.  
doi: 10.15789/1563-0625-2018-6-855-864  
DOI: 10.15789/1563-0625-2018-6-855-864

# CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL COMPARISONS IN Th-DEPENDENT IMMUNE RESPONSE MECHANISMS AMONG PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

Kalinina E.P.<sup>a</sup>, Vitkina T.I.<sup>b</sup>, Knyshova V.V.<sup>b</sup>, Fedoseeva E.A.<sup>b</sup>,  
Novgorodtseva T.P.<sup>b</sup>, Gvozdenko T.A.<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Medical Center "My Doctor", Vladivostok, Russian Federation

<sup>b</sup> Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Vladivostok, Russian Federation

**Abstract.** Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a global public health problem. Studies in immunological features and their correlations with clinical course of COPD are of importance. The aim of this study was to elucidate clinical and immunological features in COPD of different severity grade, concerning Th1- and Th17-dependent types of immune response.

The study included 132 COPD patients and 32 healthy individuals. According to clinical and functional patterns, the patients with COPD were divided into 3 groups, i.e., 36 cases (28%) of mild severity; 62 individuals (48%), of moderate severity, and 30 patients (23%) of severe clinical grade. We have performed both clinical and immunological evaluation of the patients. The Th1- and Th17-specific lymphocyte subpopulations were assessed according to the serum levels of cytokines, i.e. tumor necrosis factor (TNF $\alpha$ ), IL-4, IL-10, IL-17A, IL-21, IFN $\gamma$ , as well as transforming growth factor  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1). We have also determined expression of IL-6R receptor (CD126<sup>+</sup>) on mature T lymphocytes (CD3<sup>+</sup>) and T helper cells (CD4<sup>+</sup>) from peripheral blood. We have obtained the following results: the patients with mild-grade COPD exhibited three different T cell phenotypes were determined, with a prevalence of Th1-dependent immune response. The IL-6R were mostly expressed on CD3<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> cells for the Th1/Th17 phenotype, and CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> cells in cases of Th17-dependent type immune response. In patients with COPD of moderate severity, the Th1, Th17, or Th1/Th17 types of immune response was revealed at similar rates. The level of IL-6R expression on mature T lymphocytes and T-helper cells increased to the greatest extent in cases of Th17-dependent immune response. In severe COPD patients, we have found a dominance of Th17 and Th1/Th17 type immune response. The levels of IL-6R expression were increased in Th17- and Th1/Th17-dependent types of immune response, the most significant increase was observed for CD4<sup>+</sup> cells in Th17 phenotype. Clinical features of COPD proved to be associated with the phenotypes of immune response. These results allow of specifying the inflammatory phenotype, predicting the course of chronic disease, and selecting appropriate therapy.

**Keywords:** chronic obstructive pulmonary disease, Th-dependent type immune response, IL-6 signaling

## Введение

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – одна из ведущих причин заболеваемости и смертности во всем мире. По данным некоторых исследований, распространенность ХОБЛ среди взрослого населения составляет 5-9%. Это единственная болезнь, смертность от которой продолжает увеличиваться. Летальность от ХОБЛ занимает 4-е место среди всех причин смерти в общей популяции, что составляет около 4% в структуре общей летальности [10].

ХОБЛ характеризуется повышением уровня маркеров воспаления в периферической крови (С-реактивный белок, фибриноген, лейкоциты, провоспалительные цитокины IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ ). Наличие системного воспаления у больных ХОБЛ стабильного течения показано в мета-

анализе W.Q. Gan, в котором было рассмотрено 14 исследований по изучению маркеров системного воспаления при ХОБЛ [9]. Предполагается, что взаимосвязь между местным бронхолегочным и системным воспалением осуществляют индуцированные из бронхолегочной системы в системную циркуляцию цитокины [1, 5, 9, 12]. Другим важным признаком системного воспалительного процесса являются клеточные факторы крови, среди которых особая роль отводится популяции Т-хелперов (Th). В настоящее время рассматривают четыре типа адаптивного иммунного ответа, которые регулируются разными популяциями Т-хелперов (Th), а именно Th1, Th2, Th17, и Т-регуляторными клетками (Treg) [4, 6, 7, 15]. Различные субпопуляции Th-клеток способны управлять развитием иммунного от-

вета, активируя соответствующие эффекторные клетки. В свою очередь, дифференцировка той или иной субпопуляции Th зависит от цитокинового микроокружения.

Многие исследователи предпринимали попытку охарактеризовать тип иммунного ответа у пациентов с ХОБЛ, но полученные результаты довольно противоречивы. В некоторых работах показано, что у пациентов с ХОБЛ преобладает Th1-модель иммунного ответа, в то время как другие отмечают Th2-фенотип [6]. В ряде исследований было обнаружено увеличение числа Th17 в периферической крови больных ХОБЛ, что говорит об усилении Th17-типа иммунного ответа [3, 7, 13]. Основным биологическим эффектом IL-17 является усиление образования нейтрофилов и поддержание их гомеостаза. При ХОБЛ поддержание персистирующего воспаления в дыхательных путях сопровождается преимущественно накоплением нейтрофилов и Т-лимфоцитов [6].

В последние годы значительный интерес вызывает роль IL-6 в прогрессировании ХОБЛ. Согласно проведенным исследованиям, повышенный системный уровень IL-6 является отличительной чертой ХОБЛ и коррелирует со степенью воспаления нижних дыхательных путей и снижением легочной функции [2, 14]. В связи с этим изучение молекулярных механизмов действия IL-6 при ХОБЛ вызывает большой интерес. Однако исследований, посвященных изучению сигналинга IL-6 у больных ХОБЛ при различных типах Т-клеточного иммунного ответа, не проводилось.

**Цель исследования** – установить клинико-иммунологические особенности ХОБЛ разной степени тяжести при Th1- и Th17-зависимых типах иммунного ответа.

## Материалы и методы

В исследовании на условиях добровольного информированного согласия участвовали 160 пациентов (96 мужчин и 64 женщины), средний возраст составил  $57,5 \pm 4,8$  года. Критерием разделения пациентов по группам была степень тяжести клинического течения ХОБЛ (GOLD, 2014) [10]. По клинико-функциональным вариантам пациенты разделялись по группам: 36 человек (28%) с легкой степенью, 62 человека (48%) со средней степенью и 30 человек (24%) с тяжелой степенью течения ХОБЛ. На момент обследования пациенты не получали регулярной противовоспалительной терапии. Критериями исключения из исследования явилось наличие у пациентов острых инфекционных заболеваний, хронических заболеваний внутренних органов в фазе обострения, хронической сердечной недостаточности в ста-

дии декомпенсации. В контрольную группу вошли 32 практически здоровых лица (6 мужчин и 26 женщин), некурящих, с нормальной функцией внешнего дыхания, средний возраст –  $42,0 \pm 3,4$  года.

Заболевания бронхолегочной системы диагностировали на основании данных анамнеза, объективного осмотра, пикфлоуметрии, спирометрии с выполнением бронхолитического теста (спирограф “FUK.UDA”, Япония), результатов тестов «шкала одышки» mMRC (Modified British Medical Research Council) и «оценка качества жизни» CAT (COPD Assessment Test), рентгенологического и лабораторного исследования. В соответствии с рекомендациями «Глобальной стратегии: диагностика, лечение и профилактика ХОБЛ» диагноз ХОБЛ выставляли при ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ < 0,70 [10]. По результатам спирометрии у пациентов с легкой степенью тяжести ХОБЛ постбронходилатационный показатель ОФВ<sub>1</sub> составил  $90,13 \pm 1,99\%$ , по данным опроса определялась одышка в 1 балл по шкале mMRC и качество жизни в 4-6 баллов по тесту CAT. У пациентов со среднетяжелой степенью ХОБЛ показатель ОФВ<sub>1</sub> составил  $73,9 \pm 2,56\%$ , определялась одышка в 2 балла по шкале mMRC и качество жизни в 7-9 баллов по тесту CAT. У пациентов с тяжелой степенью ХОБЛ показатель ОФВ<sub>1</sub> составил  $48,6 \pm 1,76\%$ , по шкале одышки mMRC определялись 2 балла и более, по тесту CAT – 10 баллов и более.

Субпопуляции Th1- и Th17-лимфоцитов оценивали по уровню цитокинов в сыворотке крови: туморнекротизирующий фактор альфа (TNF $\alpha$ ), интерлейкины (IL) IL-4, IL-10, IL-17A, интерферон-гамма (IFN $\gamma$ ) методом проточной цитометрии (тест-системы фирмы BD, США). Обработку данных проводили с использованием программы FCAP Array 3.0 (BD, США). Уровень содержания трансформирующего фактора роста  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) и IL-21 в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом (Genzyme diagnostics, США). Определяли экспрессию рецептора IL-6R (CD126<sup>+</sup>) на зрелых Т-лимфоцитах (CD3<sup>+</sup>) и Т-хелперах (CD4<sup>+</sup>) периферической крови методом проточной цитометрии с использованием реагентов фирмы BD (США).

Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета прикладных программ Statistica 6.0. Для выявления значимых различий сравниваемых показателей использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Различия считались значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

В рамках поставленной цели для выявления патогенетической значимости цитокинов Th1-

и Th17-типов иммунного ответа в формировании воспаления обследовали больных ХОБЛ разной степени тяжести.

В группе больных ХОБЛ легкой степени тяжести у 67% пациентов (24 чел.) выявлено увеличение концентрации TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$  и снижение уровня IL-4 по сравнению с контрольной группой (табл. 1). Дефицит IL-4 на фоне высокой концентрации провоспалительных цитокинов (TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ) указывает на дифференцировку наивных Т-лимфоцитов по Th1-зависимому пути. У 28% пациентов (10 чел.) наблюдалось повышение уровня провоспалительных (IL-17 и IL-21) и противовоспалительных (IL-10, TGF- $\beta$ 1) цитокинов, падение уровня IL-4 по сравнению с группой контроля. Это свидетельствует о формировании специфического цитокинового паттерна, приводящего к дифференцировке Т-хелперов 17 типа. У 5% пациентов (2 чел.) наблюдалось повышение IL-17, IL-21, IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$ , что свидетельствует о равнозначной по силе активации Т-хелперов 1-го и 17-го типов. Повышение уровней IL-21, IL-6 и TGF- $\beta$ 1, являющихся важнейшими факторами дифференцировки Th17-клеток, ведет к росту числа этих клеток при утяжелении течения ХОБЛ [15]. В свою очередь, Th17-клетки, посредством продукции IL-17A, активируют синтез клетками врожденного иммунитета TNF $\alpha$ , IL-6 и других провоспалительных факторов [11]. В то же время продуцируемый Th17-клетками провоспалительный цитокин IL-17 способствует активации легочных фибробластов, эпителиальных клеток и клеток гладкой мускулатуры бронхов. После активации эти клетки экспрессируют цитокины IL-6, IL-8 и гранулоцитарно-колониестимулирующий фактор (G-CSF), вызывающие инфильтрацию дыхательных путей нейтрофилами и усиление их пролиферации. Нейтрофилы, в свою очередь, выделяют протеолитические ферменты, разрушающие паренхиму легких, тем самым снижая их функцию [3, 7]. Таким образом, Th17 обеспечивают пролонгацию врожденного иммунного ответа, что обуславливает хронизацию воспаления. В ходе настоящего исследования выявлены изменения в количественном содержании Т-клеток, несущих на своей поверхности IL-6R (CD126<sup>+</sup>) в зависимости от степени тяжести ХОБЛ (табл. 2). У пациентов с легким течением ХОБЛ наблюдалась тенденция к повышению процентного содержания CD4<sup>+</sup> клеток, несущих на своей мембране IL-6R, в сравнении с группой контроля. У пациентов с Th1-зависимым иммунным ответом увеличилось количество CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> клеток на 37% ( $p < 0,05$ ) относительно контрольной группы. У пациентов с Th17-зависимым иммунным ответом возросло количество CD3<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> клеток

на 65% ( $p < 0,05$ ), а с Th1/Th17-типом иммунного ответа – на 84% ( $p < 0,05$ ) относительно контрольной группы. У больных ХОБЛ легкой степени тяжести определялось три Т-клеточных фенотипа иммунного ответа с превалированием Th1-зависимого варианта. Уровень экспрессии IL-6R при легком течении ХОБЛ наиболее выражен при Th1-зависимом типе иммунного ответа на CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> клетках, при Th17- и Th1/Th17-фенотипах – на CD3<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> клетках.

В группе больных ХОБЛ средней степени тяжести в 39% случаев (24 чел.) выявлен Th1-путь иммунного ответа. Этот путь характеризуется снижением уровня цитокинов IL-4, IL-21 и повышением продукции TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$  по сравнению с контрольной группой (табл. 1). У 34% больного (21 чел.) установлен Th17-путь иммунного ответа, который поддерживается высокими значениями провоспалительных цитокинов IL-17A, IL-21 и противовоспалительных – IL-10, TGF- $\beta$ 1. У 27% пациентов (17 чел.) выявлен Th1/Th17-тип иммунного ответа с одновременной экспрессией IL-17A, IL-21, TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$  цитокинов. Среди пациентов ХОБЛ со среднетяжелым течением выявлено статистически значимое увеличение количества клеток с маркером CD126<sup>+</sup> относительно контрольной группы (табл. 2). У пациентов с Th1-зависимым иммунным ответом на 27% возросло количество CD3<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> клеток относительно контрольной группы. У пациентов с Th17-зависимым иммунным ответом было отмечено увеличение в 2 раза ( $p < 0,01$ ) количества CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> и на 53% ( $p < 0,05$ ) CD3<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> клеток относительно контрольной группы. У пациентов с Th1/Th17-типом иммунного ответа возросло количество как CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup>, так и CD3<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> клеток на 35% ( $p < 0,05$ ) и 31% соответственно, по сравнению с контрольной группой. У больных ХОБЛ среднетяжелой степени Th1-, Th17- и Th1/Th17-типы иммунного ответа встречались в равных долях. Уровень экспрессии IL-6R при среднетяжелом течении ХОБЛ на зрелых Т-лимфоцитах и Т-хелперах в наибольшей степени возрастает при Th17-типе иммунного ответа.

Среди пациентов с тяжелой степенью ХОБЛ Th1-тип иммунного ответа, характеризуемый высоким уровнем TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$  на фоне низких значений IL-21, выявлен у 6% (2 чел.) (табл. 1). У 43% больных (13 чел.) диагностированы максимальные значения провоспалительных цитокинов IL-17, IL-21 и противовоспалительных – IL-10, TGF- $\beta$ 1, что указывает на продуцирующую активацию Th17-лимфоцитов, играющих роль дирижера воспалительной реакции. У 50% пациентов (15 чел.) данной группы преобладала экспрессия IL-17, IL-21, TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$ , харак-

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА У ПАЦИЕНТОВ С ХОБЛ, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)  
TABLE 1. INDICATORS OF CYTOKINE STATUS IN PATIENTS WITH COPD, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Показатели, Parameter (pg/ml)	Контрольная группа Control group n = 32	ХОБЛ легкая степень тяжести COPD mild severity n = 36			ХОБЛ средняя степень тяжести COPD moderate severity n = 62			ХОБЛ тяжелая степень тяжести COPD severe severity n = 30		
		Th1-путь Th1 path n = 24	Th17-путь Th17 path n = 10	Th1/Th17- путь Th1/Th17 path n = 2	Th1-путь Th1 path n = 24	Th17-путь Th17 path n = 21	Th1/Th17- путь Th1/Th17 path n = 17	Th1-путь Th1 path n = 2	Th17-путь Th17 path n = 13	Th1/Th17- путь Th1/Th17 path n = 15
IL-4	77,9 (66,2-81,0)	45,4* (43,0-52,3)	59,3* (48,3-65,8)	63,4 (51,9-67,1)	56,2* (45,4-61,3)	62,4 (58,0-71,2)	64,3 (54,8-73,8)	81,2* (77,0-99,4)	92,7° (87,6-98,5)	
IL-10	32,4 (31,1-33,7)	36,5 (29,0-41,0)	43,6* (36,3-46,1)	48,1* (39,5-55,7)	59,6* (52,4-62,4)	58,9* (40,3-66,7)	39,7 (33,0-43,0)	69,8* (61,0-92,1)	78,7*° (73,5-86,3)	
IL-17A	378,4 (360,0-395,1)	402,0 (352,0-412,0)	605,3*# (601,9-620,5)	583,2*° (563,6-623,4)	419,7 (337,3-502,1)	541,1*# (508,1-725,0)	364,4 (303,1-425,7)	640,1*# (526,1-705,3)	591,4*° (573,1-612,1)	
IL-21	75,5 (74,0-82,0)	81,6 (72,3-92,4)	200,0*# (152,0-252,0)	157,2*° (148,3-192,6)	68,0 (52,0-80,0)	208,5*# (168,0-249,0)	51,5* (48,0-55,0)	254,0*# (250,0-276,0)	212,9*° (201,7-223,6)	
TNFα	46,3 (43,2-48,9)	93,0* (89,6-107,5)	59,4*# (49,0-69,0)	70,8* (62,1-74,8)	59,9* (52,4-62,4)	55,7 (42,5-62,8)	146,7* (145,7-147,8)	70,2*# (60,0-94,0)	94,8*° (88,3-99,1)	
IFNγ	103,5 (91,6-125,7)	325,3* (308,1-344,0)	125,9# (114,0-151,0)	146,4° (142,9-154,3)	155,2* (125,9-187,3)	110,2 (107,5-138,0)	195,6* (191,5-209,6)	108,0# (102,0-161,1)	152,4* (149,4-179,4)	
TGF-β1	150,0 (118,0-180,0)	162,0 (88,0-184,0)	180,0*# (175,0-275,0)	172,5 (159,3-183,6)	158,5 (145,0-205,0)	204,5*# (195,0-275,0)	215,0* (210,0-220,0)	280,0*# (240,0-340,0)	254,1* (231,5-284,4)	
IL-6	38,2 (35,7-39,0)	40,0 (37,1-46,2)	78,1*# (64,7-80,3)	59,3 (54,2-66,1)	43,6 (37,0-53,6)	90,1*# (78,5-106,7)	60,5* (52,7-62,7)	79,0*# (69,1-84,5)	85,8*° (72,9-89,3)	

Примечание. \* p – достоверность различий с контрольной группой (p < 0,05); # p – достоверность различий показателей Th1- и Th17-пути в группе больных ХОБЛ (p < 0,05). ° p – достоверность различий показателей Th1- и Th17/Th17-пути в группе больных ХОБЛ (p < 0,05).

Note. \* p, significance of differences with the control group (p < 0.05); # p, significance of differences in the Th1 and Th17 pathways in the COPD group (p < 0.05); ° p, significance of differences in the Th1 and Th1/Th17 pathways in the COPD group (p < 0.05).

терная для Th1/Th17-типа иммунного ответа. Статистически значимое различие внутри группы по уровню исследуемых цитокинов выявлено для всех показателей. У пациентов тяжелого течения ХОБЛ с Th1-зависимым иммунным ответом определялось увеличение в 2 раза ( $p < 0,001$ ) количества CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> клеток по сравнению с контрольной группой. У пациентов с Th17-зависимым иммунным ответом отмечено значительное возрастание Т-клеток, экспрессирующих IL-6R относительно контрольной группы. В наибольшей степени увеличение затронуло Т-хелперы – на 286% ( $p < 0,001$ ). У пациентов с Th1/Th17-типом иммунного ответа количество CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> клеток возросло на 212% ( $p < 0,001$ ), количество CD3<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> – на 197% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с контрольной группой. У больных ХОБЛ тяжелой степени преобладали Th17- и Th1/Th17-типы иммунного ответа. Уровень экспрессии IL-6R при тяжелом течении ХОБЛ увеличивается в 3 раза при Th17- и Th1/Th17-зависимых типах иммунного ответа. Отмечено наиболее значимое возрастание CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> клеток при Th17-фенотипе.

Полученные данные показали, что по мере утяжеления ХОБЛ происходило увеличение числа Т-лимфоцитов, несущих на своей поверхности IL-6R. Это указывает на значимую роль IL-6 в развитии системного воспалительного процесса при ХОБЛ. IL-6 является важным фактором для дифференциации субпопуляций Т-клеток. Он обладает супрессорной активностью по отношению к Th1 и Treg и способствует развитию Th17-типа иммунного ответа [2, 11]. Кроме того, IL-6 способен подавлять апоптоз клеток посредством индукции антиапоптотических регуляторов. Предполагается, что благодаря этому IL-6 может способствовать развитию хронических заболеваний путем сохранения Т-клеток на участках воспаления. Усиливая активность Т-лимфоцитов, IL-6 способствует утяжелению хронического интерстициального воспаления в легких с различными системными эффектами.

В ходе исследования выявлены особенности клинической картины у пациентов с ХОБЛ в зависимости от фенотипа иммунного ответа (табл. 3). Так, у 59% больных ХОБЛ с Th1-фенотипом иммунного ответа одышка возникала при умеренных физических нагрузках, кашель с незначительным количеством мокроты слизистого характера беспокоил в период обострений. САТ-тест превышал 10 баллов. Ограничение скорости воздушного потока (ОФВ<sub>1</sub>) у этих больных уменьшалось в среднем до 65%. Течение заболевания характеризовалось развитием обострений 1-2 раза в год, чаще в холодное время года. Признаки сердечной недостаточности, развившей-

ся на фоне артериальной гипертензии и ИБС, появлялись у каждого третьего пациента. У 64% больных ХОБЛ с Th1/Th17-типом иммунного ответа течение заболевания характеризовалось одышкой при умеренных физических нагрузках (2 балла по шкале MRS), развитием обострений 3-4 раза в год. Ограничение скорости воздушного потока (ОФВ<sub>1</sub>) уменьшалось в среднем до 53%. Выраженность симптомов (кашель, выделение мокроты), оцененных по САТ-тесту, соответствовала в среднем 18 баллам. Количество сопутствующих заболеваний увеличилось, к сердечно-сосудистым заболеваниям у каждого второго обследуемого добавились метаболические нарушения. Для 77% больных ХОБЛ с Th17-типом иммунного ответа течение заболевания характеризовалось уменьшением скорости воздушного потока (ОФВ<sub>1</sub>) в среднем до 40%, прогрессированием хронической дыхательной недостаточности (3-4 балла по шкале MRS), т.е. одышка беспокоила во время повседневной деятельности, при медленной ходьбе по ровной поверхности, уборке постели, одевании. Таких пациентов постоянно беспокоил кашель с большим количеством отделяемой мокроты часто гнойного характера, САТ-тест более 20 баллов. Частота обострений у этих больных увеличилась до 5-7 раз в год. Среди сопутствующих заболеваний, которые беспокоили пациентов, в 100% случаев преобладали гипертоническая болезнь, ИБС, мерцательная аритмия, метаболический синдром, сахарный диабет и остеопороз. Таким образом, клинические проявления ХОБЛ при Th17-типе иммунного ответа отличаются от клинических проявлений при Th1- и Th1/Th17-типах иммунного ответа. При Th17-фенотипе увеличивается количество обострений заболевания в год, количество отделяемой мокроты, часто носящей гнойный характер, и количество сопутствующих заболеваний.

С учетом ведущей роли воспаления в патогенезе ХОБЛ, диагностика ключевых маркеров воспалительного процесса является первоочередной задачей. Результаты исследования показали, что по мере утяжеления клинического течения ХОБЛ возрастает число Th17-клеток и Т-клеток, экспрессирующих мембраносвязанный IL-6R, посредством которого происходит классическая передача сигнала в клетку. Известно, что при связывании IL-6 с IL-6R на поверхности Т-хелперных лимфоцитов в них запускается JAK/STAT (Janus Kinases – signal transducer and activator of transcription) сигнальный каскад либо MAPK (mitogen-activated protein kinase) сигнальный путь, контролирующие пролиферацию и дифференцировку клеток [8, 14]. Эти сигнальные каскады регулируют дифференцировку Th, влияют на их выживаемость посредством запу-

**ТАБЛИЦА 2. УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ КЛЕТОЧНОГО IL-6 РЕЦЕПТОРА НА Т-КЛЕТКАХ У ПАЦИЕНТОВ С ХОБЛ, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**  
**TABLE 2. LEVEL OF EXPRESSION OF CELL IL-6 RECEPTOR ON T CELLS IN PATIENTS WITH COPD, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

Показатели, % Parameter studied, %	Контрольная группа Control group n = 32	ХОБЛ легкая степень тяжести COPD mild severity n = 36			ХОБЛ средняя степень тяжести COPD moderate severity n = 52			ХОБЛ тяжелая степень тяжести COPD severe severity n = 24		
		Th1-путь Th1 path n = 24	Th17-путь Th17 path n = 10	Th1/Th17-путь Th1/Th17 path n = 2	Th1-путь Th1 path n = 24	Th17-путь Th1 path n = 21	Th1/Th17-путь Th1/Th17 path n = 7	Th1-путь Th1 path n = 6	Th17-путь Th17 path n = 13	Th1/Th17- путь Th1/Th17 path n = 5
CD3 <sup>+</sup>	2,25 (2,15-2,40)	2,80 (3,42-4,28)	3,72* (3,82-4,64)	2,85* (2,70-3,10)	3,45* (2,99-3,84)	2,95 (2,83-3,40)	4,50***# (4,20-4,80)	6,90***## (6,10-7,90)	7,02***## (6,70-7,80)	
CD126 <sup>+</sup>	1,75 (1,62-1,79)	2,4* (2,26-2,72)	2,58* (2,13-2,71)	1,50 (1,30-2,13)	3,79** (2,53-4,15)	2,36* (2,01-2,94)	3,70***# (3,40-4,20)	6,75***## (5,50-8,50)	5,20***## (5,40-6,89)	

**Примечание.** \* p – достоверность различий с контрольной группой (\* – p < 0,05; \*\* – p < 0,01; \*\*\* – p < 0,001); # p – достоверность различий между группами ХОБЛ легкой и тяжелой степени тяжести (# – p < 0,05; ## – p < 0,01).

Note. \* p, significance of differences with the control group (\*, p < 0.05, \*\*, p < 0.01, \*\*\*, p < 0.001); # p, significance of differences between COPD groups of mild and severe severity (\*, p < 0.05; ##, p < 0.01).

**ТАБЛИЦА 3. КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ХОБЛ С Тh-ЗАВИСИМЫМИ ТИПАМИ ИММУННОГО ОТВЕТА**

**TABLE 3. CLINICAL MANIFESTATIONS IN COPD PATIENTS WITH Th-DEPENDENT TYPES OF IMMUNE RESPONSE**

Группы пациентов Patient groups	Одышка, в баллах Shortness of breath, in points	Кашель, в баллах Cough, in points	Мокрота, в баллах Sputum, in points	SAT-тест, сред. балл CAT test, medium score	Количество сопутствующих заболеваний Number of concomitant diseases	Количество обострений в год Number of exacerbations per year	ОФВ <sub>1</sub> , сред. % FEV <sub>1</sub> , medium %
Th1-тип Th1 type n = 50	1,5	1,5	1,5	14	1,5	1,5	65
Th1/Th17-тип Th1/Th17 type n = 34	2,5*	2,5*	3*	18*	3,5*	3,5*	53*
Th17-тип Th17 тип type n = 44	4*	4*	5*	24*	7*	6,5*	40*

**Примечание.** \* p < 0,05 – статистическая значимость различий между группами с Th1- и Th17-типами иммунного ответа. # p < 0,05 – статистическая значимость различий между группами с Th1- и Th1/Th17-типами иммунного ответа.

Note. \* p, the statistical significance of the differences between groups with Th1 and Th17 types of immune response (p < 0.05); # p, the statistical significance of the differences between groups with Th1 and Th1/Th17 types of immune response (p < 0.05).

ска синтеза антиапоптотических регуляторов, модулируют продукцию эффекторных цитокинов этими клетками. Увеличение числа CD126-позитивных Т-клеток при прогрессировании ХОБЛ указывает на вовлечение классического IL-6 сигнального пути в патогенез заболевания.

## Заключение

Таким образом, у больных ХОБЛ определяются три Т-клеточных фенотипа иммунного ответа – Th1, Th17 и Th1/Th17. При ХОБЛ легкой степени тяжести превалирует Th1-зависимый иммунный ответ. Уровень экспрессии IL-6R представлен в большей степени на CD3<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> клетках при Th1/Th17-фенотипе и CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> клетках при Th17-зависимом типе иммунного ответа. У больных ХОБЛ средней степени тяжести Th1-, Th17- и Th1/Th17-типы иммунного ответа определяются в равных долях. Уровень экспрессии IL-6R на зрелых Т-лимфоцитах и Т-хелперах возрастает в наибольшей степени при Th17-зависимом иммунном ответе. У больных ХОБЛ тяжелой степени преобладает иммунный ответ по Th17- и Th1/Th17-типам. Уровень экспрессии IL-6R увеличивается при Th17- и Th1/Th17-зависимых типах иммунного ответа, при этом наиболее значимое увеличение отмечается для CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> клеток при Th17-фенотипе.

У пациентов с ХОБЛ определяются особенности клинической картины, сопряженные с фенотипом иммунного ответа. При Th1- и Th1/Th17-фенотипах иммунного ответа определяются умеренная степень ограничения скорости воздушного потока и умеренное влияние ХОБЛ на качество жизни пациента, которые сопровождаются редкими сезонными обострениями при Th1-фенотипе и частыми обострениями заболевания при Th1/Th17-фенотипе. У пациентов с Th17-фенотипом иммунного ответа определяется средняя степень тяжести ограничения скорости воздушного потока, выраженное влияние ХОБЛ на качество жизни пациента и частые обострения.

Результаты исследования демонстрируют, что на основе анализа уровня секреции цитокинов, играющих ключевую роль в организации воспалительного процесса, и экспрессии рецепторов можно определить степень активности основных эффекторных Т-клеток и фенотип воспаления. Это позволит спрогнозировать течение хронического заболевания, исход воспаления и определить назначение адекватной терапии с целью предотвращения прогрессирования главных морфологических составляющих ХОБЛ – фиброза, эмфиземы и ремоделирования легких.

## Список литературы / References

1. Антонович Ж.В., Царев В.П., Гончарова Н.В. Естественные регуляторные Т-клетки и цитокины у больных бронхиальной астмой в разные периоды заболевания // Иммунопатология, аллергология, инфектология, 2012. № 4. С. 35-44. [Antonovich Zh.V., Tsarev V.P., Goncharova N.V. Natural regulatory T cells and cytokines in patients with bronchial asthma in different periods of the disease. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya = International Journal of Immunopathology, Allergology, Infectology*, 2012, no. 4, pp. 35-44. (In Russ.)]
2. Виткина Т.И., Денисенко Ю.К., Сидлецкая К.А. Изменение экспрессии рецептора к IL-6 на поверхности иммунокомпетентных клеток при прогрессировании хронической обструктивной болезни легких // Медицинская иммунология, 2017. Т. 19, № 2. С. 191-196. [Vitkina T.I., Denisenko Yu.K., Sidletskaya K.A. Changes in the expression of receptor for IL-6 on the surface of immunocompetent cells in the progression of chronic obstructive pulmonary disease. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2017, Vol. 19, no. 2, pp. 191-196. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2017-2-191-196.
3. Калинина Е.П., Лобанова Е.Г. Особенности цитокинового профиля у больных хронической обструктивной болезнью легких // Медицинская иммунология, 2012. Т. 14, № 6. С. 501-506. [Kalinina E.P., Lobanova E.G. Peculiarities of cytokine profile in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, Vol. 14, no. 6, pp. 501-506. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2012-6-501-506.
4. Кириллова Н.А., Деев И.А., Кремер Е.Э., Огородова Л.М., Черногорюк Г.Э. Субпопуляции Т-регуляторных клеток при бронхиальной астме и гетерогенных фенотипах хронической обструктивной болезни легких // Бюллетень сибирской медицины, 2011. № 1. С. 48-54. [Kirillova N.A., Deev I.A., Kremer E.E., Ogorodova L.M., Chernogoryuk G.E. A subpopulation of regulatory T-cells in bronchial asthma and the heterogeneous phenotypes of chronic obstructive pulmonary disease. *Byulleten sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine*, 2011, Vol. 1, pp. 48-54. (In Russ.)]
5. Bade G., Khan M.A., Srivastava A.K., Khare P., Solaiappan K.K., Guleria R., Palaniyar N., Talwar A. Serum cytokine profiling and enrichment analysis reveal the involvement of immunological and inflammatory pathways in stable patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.*, 2014, Vol. 5, no. 9, pp. 759-773.
6. Barnes P.J. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Nat. Rev. Immunol.*, 2008, Vol. 8, no. 3, pp. 183-192.



7. Cosmi L., Liotta F., Annunziato F. Th17 regulating lower airway disease. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*, 2016, Vol. 16, no. 1, pp. 1-6.
8. Durham A.L., Caramori G., Chung K.F., Adcock I.M. Targeted anti-inflammatory therapeutics in asthma and chronic obstructive lung disease. *Transl. Res.*, 2016, Vol. 167, no. 1, pp. 192-203.
9. Gan W.Q., Man S.F., Senthilselvan A., Sin D.D. Association between chronic obstructive pulmonary disease and systemic inflammation: systematic review and meta-analysis. *Thorax*, 2004, Vol. 59, no. 7, pp. 574-580.
10. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease, Inc. (2014).
11. Hunter C.A., Jones S.A. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nat. Immunol.*, 2015, Vol. 16, no. 5, pp. 448-457.
12. Kalinina E.P., Denisenko Y.K., Vitkina T.I., Lobanova E.G., Novgorodtseva T.P., Antonyuk M.V., Gvozdenko T.A., Knyshova V.V., Nazarenko A.V. The mechanisms of the regulation of immune response in patients with comorbidity of chronic obstructive pulmonary disease and asthma. *Can. Respir. J.*, 2016, 4503267, 8 p. doi: 10.1155/2016/4503267.
13. Li X.N., Pan X., Qiu D. Imbalances of Th17 and Treg cells and their respective cytokines in COPD patients by disease stage. *Int. J. Clin. Exp. Med.*, 2014, Vol. 7, no. 12, pp. 5324-5329.
14. Matera M.G., Page C., Rogliani P., Calzetta L., Cazzola M. Therapeutic monoclonal antibodies for the treatment of chronic obstructive pulmonary disease. *Drugs*, 2016, Vol. 76, no. 13, pp. 1257-1270.
15. Wang H., Ying H., Wang S., Gu X., Weng Y., Peng W., Xia D., Yu W. Imbalance of peripheral blood Th17 and Treg responses in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Clin. Respir. J.*, 2015, Vol. 9, no. 3, pp. 330-341.

**Авторы:**

**Калинина Е.П.** — д.м.н., главный врач, Медицинский центр ООО «Мой доктор», г. Владивосток, Россия

**Виткина Т.И.** — д.б.н., профессор РАН, ведущий научный сотрудник лаборатории биомедицинских исследований, Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения — Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Владивосток, Россия

**Кнышова В.В.** — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории восстановительного лечения, Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения — Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Владивосток, Россия

**Authors:**

**Kalinina E.P.**, PhD, MD (Medicine), Head Physician, Medical Center "My Doctor", Vladivostok, Russian Federation

**Vitkina T.I.**, PhD, MD (Biology), Professor, Russian Academy of Sciences, Leading Research Associate, Laboratory of Biomedical Research, Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Vladivostok, Russian Federation

**Knyshova V.V.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Rehabilitation Treatment Laboratory, Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Vladivostok, Russian Federation

**Федосеева Е.А.** — аспирант, Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения — Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Владивосток, Россия

**Новгородцева Т.П.** — д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории биомедицинских исследований Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения — Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Владивосток, Россия

**Гвозденко Т.А.** — д.м.н., профессор РАН, главный научный сотрудник лаборатории восстановительного лечения, Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения — Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Владивосток, Россия

**Fedoseeva E.A.**, Postgraduate Student, Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Vladivostok, Russian Federation

**Novgorodtseva T.P.**, PhD, MD (Biology), Professor, Chief Research Associate, Laboratory of Biomedical Research, Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Vladivostok, Russian Federation

**Gvozdenko T.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Russian Academy of Sciences, Chief Research Associate, Rehabilitation Treatment Laboratory, Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Vladivostok, Russian Federation

---

Поступила 20.03.2018

Отправлена на доработку 22.03.2018

Принята к печати 09.04.2018

---

Received 20.03.2018

Revision received 22.03.2018

Accepted 09.04.2018