

## ЭКСПРЕССИЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ TLR2 и TLR4 У БОЛЬНЫХ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

© 2019 г. М. В. Хорева<sup>1\*</sup>, Т. В. Латышева<sup>2</sup>, А. Д. Огурцова<sup>1</sup>,  
Л. А. Грачева<sup>3</sup>, М. В. Захаров<sup>3</sup>, О. А. Свитич<sup>1</sup>,  
Л. В. Ганковская<sup>1</sup>

\*E-mail: markhoreva@yandex.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия;

<sup>3</sup>РДКБ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 26.03.2019

У больных контролируемой аллергической бронхиальной астмой повышены экспрессия генов *TLR2* и *TLR4* и функциональная активность *TLR2* и *TLR4* в мононуклеарных клетках периферической крови. В группе больных со среднетяжелым течением заболевания выявлены более высокие значения экспрессии и функциональной активности данных рецепторов по сравнению с группой больных с легкой формой. Выявленные изменения могут способствовать повышению восприимчивости пациентов к инфекционными агентам и в дальнейшем приводить к развитию осложнений.

**Ключевые слова:** аллергическая бронхиальная астма, *TLR2*, *TLR4*

DOI: 10.31857/S102872210006990-4

**Адрес:** 117997 Москва, ул. Островитянова, д. 1, ФГБОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова Минздрава России, кафедра иммунологии МБФ, Хорева Марина Викторовна  
Тел./факс: +7(495) 4343165, 89162940167 (моб.).

**E-mail:** markhoreva@yandex.ru

**Авторы:**

**Хорева М. В.**, д.м.н., профессор кафедры иммунологии МБФ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия;

**Латышева Т. В.**, д.м.н., профессор, руководитель отделений иммунопатологии и интенсивной терапии клиники ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия;

**Огурцова А. Д.**, ассистент кафедры иммунологии МБФ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия;

**Грачева Л. А.**, д.м.н., зав. лабораторией клинической иммунологии РДКБ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия;

**Захаров М. В.**, к.м.н., зав. отделением переливания крови и гравитационной хирургии крови РДКБ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия;

**Свитич О. А.**, д.м.н., член-корр. РАН, профессор кафедры иммунологии МБФ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия

**Ганковская Л. В.**, д.м.н., профессор, зав. кафедрой иммунологии МБФ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия.

В настоящее время активно исследуются механизмы врожденного иммунитета, как возможное звено патогенеза бронхиальной астмы [1, 2]. Ключевым элементом врожденного иммунитета являются Toll-подобные рецепторы (TLR), которые играют важную роль в иницировании воспалительных реакций, и в последующем развитии адаптивного иммунного ответа [3]. Известна двойственная роль TLR, с одной стороны, они участвуют в реализации реакций врожденного и приобретенного иммунитета, с другой стороны, гиперактивация рецепторов может приводить к гиперпродукции провоспалительных цитокинов, формированию хронического воспаления [4].

**Цель** данной работы – изучение экспрессии и функциональной активности *TLR2* и *TLR4* в МНК периферической крови у больных аллергической бронхиальной астмой.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Группу обследуемых составили 49 больных контролируемой аллергической бронхиальной

астмой (АБА) легкого ( $n=21$ ,  $29\pm 8$  лет) и среднетяжелого течения ( $n=28$ ,  $32\pm 7$  лет). Диагноз был установлен в отделении иммунопатологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России в соответствии с действующими клиническими рекомендациями. Группа здоровых доноров (ЗД) составила 30 человек в возрасте  $26\pm 6$  лет. Из периферической крови здоровых доноров и пациентов в градиенте плотности фикоколл-урографина ( $1,077$  г/см<sup>3</sup>) выделяли мононуклеарные клетки (МНК). Экспрессию генов *TLR2* и *TLR4* в МНК больных БА и здоровых доноров оценивали методом ПЦР-РВ. Уровни экспрессии TLR стандартизировали по гену *GAPDH*. Экспрессию генов TLR оценивали по методу  $\Delta\Delta C_t$ , данные представлены в виде относительной экспрессии *TLR2*, *TLR4* к *GAPDH*. Для определения функциональной активности *TLR2*, *TLR4* МНК периферической крови ( $1\times 10^6$ /мл) культивировали в присутствии пептидогликана (*S.aureus*, 2,5 мкг/мл «InvivoGen», США) и липополисахарида (*E.coli* 0111: B4, 0,1 мкг/мл, «Sigma», США) 24 часа в полной среде RPMI 1640 («HyClone», США). Концентрацию TNF $\alpha$  в супернатантах МНК определяли методом ИФА («e-Biosciences», США). Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения Statistica 6. Данные представлены в виде медианы и 25–75 перцентилей. Для оценки достоверности различий применяли непараметрический критерий Манна-Уитни. Различие показателей считалось достоверным при  $p<0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При исследовании экспрессии генов *TLR2* и *TLR4* в МНК периферической крови больных контролируемой аллергической бронхиальной астмой (АБА) выявили, что экспрессия гена *TLR2* в группе больных АБА в 2,3 раза превышает значения в группе ЗД,  $p<0,05$ . Увеличение экспрессии гена *TLR2* наблюдалось вне зависимости от степени тяжести заболевания (при легком течении – в 2 раза, при среднетяжелом – в 2,4 раза). Экспрессия гена *TLR4* в МНК больных АБА в 1,9 раз выше, чем у ЗД. Достоверное увеличение экспрессии гена *TLR4* наблюдали только в группе больных со среднетяжелым течением заболевания, в 5 раз по сравнению со ЗД,  $p<0,05$ . Функциональную активность *TLR2* и *TLR4* оценивали по индуцированной соответствующими лигандами продукции TNF $\alpha$  МНК периферической крови. У больных АБА выявили

повышение спонтанной продукции TNF $\alpha$  МНК периферической крови по сравнению с группой ЗД (615 (385–922) пг/мл и 103 (59–312) пг/мл, соответственно), увеличение продукции TNF $\alpha$  было характерно как для больных с легким течением заболевания 668 (340–904) пг/мл, так и для больных со среднетяжелым течением (578 (422–929) пг/мл). ПГ-индуцированная продукция TNF $\alpha$  МНК периферической крови в группе больных АБА выше, чем в группе ЗД (2085 (1730–2748) пг/мл и 1081 (967–1198) пг/мл,  $p<0,05$ ). В группе больных со среднетяжелым течением заболевания ПГ-индуцированная продукция TNF $\alpha$  МНК периферической крови выше, чем у больных с легким течением заболевания (2628 (2116–3068) пг/мл и 1846 (1182–2053) пг/мл,  $p<0,05$ ). В группе больных АБА продукция TNF $\alpha$  в ответ на ЛПС выше, чем у ЗД (1457 (1112–1912) пг/мл и 956 (782,03–1407) пг/мл,  $p<0,05$ ). Выявили так же, что ЛПС-индуцированная продукция TNF $\alpha$  МНК периферической крови достоверно выше у больных со среднетяжелым течением АБА (1900 (1326–2318) пг/мл), чем у больных АБА легкой степени тяжести (1304 (1052–1564) пг/мл).

## ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе показано, что у больных аллергической бронхиальной астмой увеличена экспрессия генов *TLR2* и *TLR4* и функциональная активность *TLR2* и *TLR4* в МНК периферической крови по сравнению со здоровыми донорами, более высокие значения выявлены у больных со среднетяжелым течением заболевания. Полученные данные об увеличении экспрессии и функциональной активности *TLR2* и *TLR4* свидетельствуют о вовлечении данных рецепторов в патогенез и поддержание воспаления при аллергической бронхиальной астме, что может способствовать повышению восприимчивости пациентов к инфекционным агентам и в дальнейшем усугублять тяжесть течения заболевания. Выявленные изменения экспрессии и функциональной активности *TLR2* и *TLR4* могут служить потенциальными маркерами степени тяжести и прогноза заболевания.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. He M., Ichinose T., Yoshida Y., Arashidani K., Yoshida S., Takano H., Sun G., Shibamoto T. Urban Pm2.5 Exacerbates Allergic Inflammation In The Murine Lung Via A Tlr2/Tlr4/Myd88-Signaling Pathway. Sci Rep 2017, 7 (1), 1–9.

2. Athari S.S., Athari S.M., Beyzay F., Movassaghi M., Mortaz E., Taghavi M. Critical Role Of Toll-Like Receptors In Pathophysiology Of Allergic Asthma Eur J Pharmacol, 2017, Vol. 808, p. 21–27.
3. Ковальчук Л. В., Хорева М. В., Никонова А. С. Распознающие рецепторы врожденного иммунитета (NLR, RLR И CLR) // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2011. No 1. С. 93–100. [Kovalchuk L.V., Khoreva, M.V., Nikonova A.S. Recognition receptors of innate immunity (NLR, RLR and CLR). Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology, 2011, no. 1, pp. 93–100. (In Russ.)]
4. Bezemer G.F., Sagar S., van Bergenhenegouwen J., Georgiou N.A., Garssen J., Kraneveld A.D., Folkerts G. Dual role of Toll-like receptors in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. Pharmacol. Rev., 2012, no. 64, pp. 337–358.

## EXPRESSION AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF TLR2 AND TLR4 IN PATIENTS WITH ALLERGIC BRONCHIAL ASTHMA

© 2019 M. V. Khoreva<sup>1\*</sup>, T. V. Latisheva<sup>2</sup>, A. D. Ogurtsova<sup>1</sup>, L. A. Gracheva<sup>3</sup>,  
M. V. Zakharov<sup>3</sup>, O. A. Svitch<sup>1</sup>, L. V. Gankovskaya<sup>1</sup>

\*E-mail: markhoreva@yandex.ru

<sup>1</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

<sup>2</sup>National Research Center – Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency  
of Russia, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Russian Children's Clinical Hospital, Moscow, Russia

**Received:** 14.03.2019. **Accepted:** 26.03.2019

TLR2 and TLR4 expression and functional activity in peripheral blood mononuclear cell of patients with controlled allergic bronchial asthma were increased. TLR2 and TLR4 expression and functional activity in peripheral blood mononuclear cell were higher in patients with moderate asthma than in patients with mild asthma. The identified changes may increase the susceptibility of patients to infectious agents and lead to complications.

*Key words:* allergic bronchial asthma, TLR2, TLR4

### Authors:

**Khoreva M. V.**, ✉ PhD, MD (Medicine), Professor of Department of Immunology, Faculty of Medical Biology, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia. E-mail: markhoreva@yandex.ru;

**Latisheva T. V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Immunopathology and Intensive Therapy, National Research Center – Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russia;

**Ogurtsova A. D.**, assistant of Department of Immunology, Faculty of Medical Biology, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

**Gracheva L. V.**, PhD, MD (Medicine), Head of the Laboratory of Clinical Immunology, Russian Children's Clinical Hospital, Moscow, Russia;

**Zakharov M. V.**, Ph.D., Head of the Department of blood transfusion and gravitational surgery, Russian Children's Clinical Hospital, Moscow, Russia;

**Svitch O. A.**, PhD, MD (Medicine), Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Professor of Department of Immunology, Faculty of Medical Biology, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

**Gankovskaya L. V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Immunology, Faculty of Medical Biology, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia.