

С.Н. Недельская, О.П. Пахольчук, Т.Г. Бессикало, И.В. Солодова, В.И. Мазур, И.А. Жиленко, Т.Е. Шумная, Л.И. Кляцкая

НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ В ДИАГНОСТИКЕ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Запорожский государственный медицинский университет

Ключові слова: *еотаксин, алергічні захворювання.*

Ключевые слова: *еотаксин, аллергические заболевания.*

Key words: *eotaxin, allergic diseases.*

У статті представлено дані щодо можливості використання нового хемокіна – еотаксину в діагностиці, прогнозуванні перебігу, оцінці ефективності лікування алергічних захворювань.

В статье представлены данные о возможности использования нового хемокина – эотаксина в диагностике, прогнозировании течения, оценки эффективности лечения аллергических заболеваний.

There are data about new chemoattractant – eotaxin in diagnostics, prognosis, assessment of the treatment of the allergic diseases.

Согласно определению экспертов ВОЗ, БА – хроническое аллергическое воспалительное заболевание дыхательных путей, в патогенезе которого основную роль играют тучные клетки (ТК), эозинофилы (Э) и Т-лимфоциты (Т-л). Результатом персистирующего воспаления является усиление реактивности дыхательных путей в ответ на ряд стимулов [7].

Считается, что Э играют важную провоспалительную роль в патогенезе астмы [1, 11, 15, 16]. Активированные Э и их медиаторы постоянно обнаруживаются в ткани легких, мокроте и бронхальвеолярном лаваже у больных астматиков. Исследования, проведенные Р.Грин и соавт. (Великобритания, 2003) показали, что гиперреактивность дыхательных путей имеет более сильную корреляцию с тучноклеточной инфильтрацией гладких мышц дыхательных путей, чем с такими факторами, как присутствие Э, утолщение базальной мембраны, наличие активированных Т-х2 в подслизистом слое дыхательных путей. Однако, патофизиология обострений астмы сложна и включает отек слизистой, гиперсекрецию слизи и сужение просвета бронхов от накопления клеточного дебриса и от сокращения гладких мышц. Представленные данные говорят в пользу определяющей роли Э в этом процессе, ведь подавление эозинофильной инфильтрации за счет применения глюкокортикостероидов дает обычно ослабление симптоматики и улучшение параметров дыхания. Исследования показали, что содержание Э в мокроте – более ценный косвенный маркер обострений, чем другие показатели [1, 3, 16].

Э при активации выделяют целый спектр провоспалительных медиаторов: MBP, эозинофильный катионный протеин (ECP), EDN, а также около 28 цитокинов, хемокинов и факторов роста. Недавно было обнаружено, что Э являются не только эффекторными клетками, но также способны презентировать аллергены Тх (CD4+) [14, 16]. Целый ряд медиаторов способен привлечь Э из крови (тромбоцитарный фактор активации, лейкотриены, продукты распада бактерий, макрофагальный воспалительный протеин-1а, RANTES). Так или иначе, ни один из перечисленных цито- и хемокинов не является специфическим промотором эозинофильной инфильтрации. Не так давно был выделен протеин с эозинофил-селективными хемоаттрактантными свойствами – эотаксин (Эо), в последствии еще 2 – эотаксин-2 (Эо-2) и эотаксин-3 (Эо-3), имеющие

40% гомологию с Эо [14].

Достаточно хорошо изучены Эо животных. Ген, отвечающий за синтез Эо у человека, расположен в хромосоме 17q11.2 в С-С хемокин (СС) кластере, гены Эо-2 и Эо-3 – в хромосоме 7q11.2. Промоторный регион СС хемокинов содержит участки транскрипции нуклеарного κВ-фактора и AP-1 фактора, которые известны как важные регуляторы воспалительного процесса [3]. Исследования показали, что генетические вариации локуса CCL11 – важная детерминанта уровня сывороточного IgE у пациентов с БА [13].

Согласно классификации хемокинов (1992, Австрия, Международный симпозиум по цитокинам) Эо относится к классу СС-хемокинов (β-хемокины). Среди хемокинов СС-семейства лучше всего охарактеризован MCP-1 (monocyte chemotactic protein 1), несколько меньше – другие СС-хемокины: I-309, RANTES и HC14 (или MCP-2) [14]. Основными продуцентами Эо являются эпителиальные и эндотелиальные клетки и Э. На различных моделях *in vivo* показано, что Эо привлекает в очаг аллергического воспаления исключительно эозинофилы. Э человека экспрессируют большое число CCR3-рецепторов для Эо (350000 на 1 клетке) [3]. Этот рецептор также связывает RANTES, MCP-3 и MCP-4. В отличие от других СС-хемокинов, эотаксин имеет высокую селективность в отношении к своему рецептору. Эо не активен в отношении нейтрофилов и моноцитов, т.к. они не экспрессируют CCR3, но является слабым хемоаттрактантом для Т-л и базофилов, активированных интерлейкином-2 (Ил-2) [7]. При эндобронхиальном введении аллергена больным БА наблюдается индукция продукции Эо в бронхальвеолярной жидкости (БАЗ), однако, по сравнению с RANTES, в меньших концентрациях.

Эотаксин-2 – хемоаттрактант для Э, известный также как СКβ6 и MIP1F-2. Эотаксин-2 является самым большим среди Эо (119 аминокислот, по сравнению с Эо-1 и Эо-3 – 94 и 97 аминокислот соответственно). Также как Эо-1, эотаксин-2 является аттрактантом для базофилов и индуцирует выброс гистамина и LTC4 базофилами, активированными Ил-3. Внутривенное введение Эо-2 обезьянам индуцирует выход Э в зону инъекции [9]. Эо-3 пока еще мало изучен в связи с отсутствием удобной тест-системы [14].

Эксперименты на животных моделях БА также показали, что локальная продукция Эо коррелирует с количеством Э в тканях [3], а уровень Эо в сыворотке крови – с длительно-



стью контакта с аллергеном [15]. Детальное изучение кинетики продукции Эо показало, что после введения аллергена пик продукции Эо в тканях легкого и в бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ) наблюдается уже через 6 часов, еще через 6-12 ч его концентрация падает и сохраняется на низком уровне до 24 ч. Как уже было сказано выше, уровень Эо коррелирует с количеством Э, вышедших в ткани легких, однако повышение уровня Э в БАЛ наблюдается значительно позже (12-24ч). Однако, степень корреляции варьирует в зависимости от вида животного, выбранного триггера и аллергена, фазы ответа. Причиной этого, по-видимому, являются другие CCR3 лиганды, другие рецепторы хемокинов на Э (в частности CCR1 у мышей) нехемокинны хемоаттрактанты. В то же время введение антител, нейтрализующих Эо, показало редукцию аккумуляции Э в тканях легкого, БАЛ, обратимость гиперреактивности дыхательных путей [3]. Большинство данных свидетельствуют в пользу того, что Эо – «главная скрипка» именно в поздней фазе аллергического воспаления [15]. В ходе аллергического ответа на раздражитель в другом эксперименте, Эо был связан с ранней (6ч) тканевой эозинофилией, в то время, как Эо-2 и моноцитарный хемоаттрактантный протеин-4 скорее отвечали за позднюю (24ч) инфильтрацию тканей этими CCR3+ клетками [3].

Исследования биоптатов легких у пациентов с БА показали повышенный уровень в тканях мРНК Эо и CCR3 рецепторов. Также была найдена корреляция между сывороточным уровнем Эо, наличием диагноза БА и снижения функции внешнего дыхания. Кроме того, уровни Эо были повышены у астматиков как с атопией, так и без. Повышение уровня Эо было также обнаружено при аллергическом риносинусите и в коже у больных с активным атопическим дерматитом и острой крапивницей [3, 14]. Другие данные показывают, что концентрация Эо в плазме крови значительно выше у астматиков в стадии обострения, нежели у больных БА в стадии ремиссии, кроме того прямо коррелирует с тяжестью обострения [14].

Известно, что многие клетки способны продуцировать Эо-1 (эпителий дыхательных путей, гладкомышечные клетки, Э), Эо-2 (макрофаги) и Эо-3 (эндотелий сосудов) под действием цитокинов, выделяемых Тх-2 (Ил4, Ил13, ФНО-а) [3, 5]. Ил13 в большей мере потенцирует образование Эо и эозинофильную инфильтрацию, также как и гиперсекрецию бронхов, фиброз и гиперреактивность [12]. И Ил4, и Ил13 способны индуцировать Эо-3 мРНК экспрессию в эндотелии сосудов человека. Исследования *in vitro* показали, что Ил4 и ФНО повышают выделение Эо фибробластами в дыхательных путях. Ил5 же, напротив, не влияет на синтез хемокина. Аллерген индуцирует образование Ил13, который, в свою очередь, индуцирует образование Эо-2. Эо-2 же участвует в привлечении Э в отличной от Эо-1 манере. Эо-1 и Эо-2 работают скооперировано, в частности Эо-1 регулирует ИЛ13-индуцированную эозинофилию в тканях легкого, а Эо-2 – в просвете бронхов [12].

В норме Э циркулируют в крови в небольшом количестве (1-2% лейкоцитов крови). Исследования показали, что

Ил-5 и Эо действуют синергично и вызывают выход Э из костного депо [2, 3, 7, 9, 10]. В дополнение Эо, а не Ил-5, приводит к выходу предшественников Э из костного мозга, которые часто выявляются в крови у аллергиков. Ил-5 же в основном стимулирует пролиферацию и дифференциацию Э в костном мозге, а также тормозит апоптоз Э в местах аллергического воспаления [3]. Блокирование CCR3 рецепторов на тучных клетках и Э с помощью специфических антител, приводит к регрессии воспаления и тканевому ремоделированию легких [11].

Содержание Эо в сыворотке крови БАЛ определяют с помощью однофазного сэндвич-метода ELISA [14]. Как показывают исследования, оно находится в прямой зависимости от пола и возраста, как у здоровых людей, так и у больных с атопическими заболеваниями. У лиц женского пола, независимо от наличия аллергии и возраста, уровень сывороточного Эо выше, чем у лиц мужского в соответствующих группах. Предполагается, что это связано с половыми гормонами [14]. В исследованиях *in vitro* было обнаружено стимулирующее влияние эстрадиола и прогестерона на выделение цитокинов Тх2 типа, с одной стороны, и ингибирующее влияние андрогенов на Тх 1 типа, с другой стороны [14]. Также была подтверждена способность бета-эстрадиола и прогестерона усиливать дегрануляцию Э и их адгезию к эндотелию слизистой (Хамано Н. и соавт., 1998г.). В связи с этим, пока еще трудно определить истинную причину гендерной разницы в сывороточной концентрации Эо, однако она должна учитываться в исследованиях.

Говоря о влиянии возраста на уровень Эо, не следует забывать, что эозинофильная инфильтрация – прежде всего маркер обострения хронического аллергического воспаления [6, 14]. Если же речь идет о впервые возникшем приступе БА или о так называемых «infantile weezers», то ожидаемым должен быть низкий уровень хемокина, поскольку, как показали исследования (Норзила М.З. и соавт., 2000), нейтрофилы, а не Э, здесь играют ведущую роль. «Infantile weezers» – неоднозначное состояние, так как приступы удушья могут провоцироваться как аллергенами, так и инфекцией. Тем не менее, механизмы рекрутирования нейтрофилов в легочную ткань также до конца не изучены [14].

Исследования, посвященные изучению хемокинов при БА у детей, показали повышенные уровни в БАЛ как Эо-1, так и Эо-2, а также RANTES. Однако пробы с нейтрализацией антителами позволили утверждать, что в случае БА у ребенка с сенсибилизацией к аллергенам домашней пыли, особенно таракана, именно Эо-1 играет определяющую роль в рекрутировании Э и развитии обострения (Розенштейн Д.Л. и соавт., 1997). Эти данные перекликаются с подобными исследованиями, проведенными у взрослых (Уинг С. И соавт., 1999; Ламкхиоид В. И соавт., 1997; Накамура Х. и соавт., 1999) [14].

Так или иначе, динамические исследования показали, что играет роль не сколько биологический возраст ребенка, как «возраст болезни и настоящего обострения». То есть, помимо упомянутого выше персистирующего течения БА, на содержание Эо в сыворотке, будет влиять время, прошед-

шее с начала развития обострения хронического процесса. Предполагается, что различные разновидности Эо отвечают за различные фазы рекрутирования Э из крови в ткани [8]. Изучения модели БА на животных показали, что связывание лишь нескольких хемокинов из этого оркестра, приводило к абортированию воспалительного ответа [14].

Таким образом, на сегодняшний день мы получили возможность более комплексной оценки аллергического воспаления, более точного прогнозирования его течения. Хотя эотаксин все еще требует дальнейшего изучения, его открытие несомненно стало еще одним шагом на пути познания истинных механизмов аллергии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грин Р. Обострения астмы и содержание эозинофилов в мокроте. Рандомизированное контролируемое исследование / Р.Грин, К. Брайтлинг, С. МакКена, Б. Харгадон, Д. Паркер, П. Бреддинг, Э. Вордло, Й. Паворд // Международный медицинский журнал. -2003. -Т.6, №2. - С. 130-139.
2. Choi E.N. A parallel signal-transduction pathway for eotaxin- and interleukin-5-induced eosinophil shape change / E.N. Choi, M.K. Choi, C. Park, I.Y. Chung // Immunology.-2003.-108(2).- P. 245-256.
3. Conroy D.M. Eotaxin and the attraction of eosinophils to the asthmatic lung / D.M. Conroy, T.J. Williams // Respir Res.-2001.-№2.- P. 150-156.
4. Culley F.J. Eotaxin is specifically cleaved by hookworm metalloproteases preventing its action in vitro and in vivo / F.J. Culley, A. Brown, D.M. Conroy, I. Sabroe, D.I. Pritchard, T.J. Williams // The Journal of Immunology.-2000.-№165.- P. 6447-6453.
5. Hogan S.P. Chemokines in eosinophil-associated gastrointestinal disorders / S.P. Hogan, M.E. Rothenberg, E. Forbes, V.E. Smart, K.I. Mathaei, P.S. Foster // Curr Allergy Asthma Rep.-2004.-№4(1).- P. 74-82.
6. Jahnz-Rozyk K. Effect of influenza vaccinations on immune response and serum eotaxin level in patients with allergic bronchial asthma / K. Jahnz-Rozyk, L.B. Brydak, T. Targovsky, M. Machala, T. Plusa // Mediators of Inflammation.-2004.-№13(3).- P. 195-199.
7. Lemiere C. Airway inflammation assessed by invasive and non-invasive means in severe asthma eosinophilic and noneosinophilic phenotypes / C. Lemiere, P. Ernst, R. Olivenstein, Y. Yamauchi, K.

Govindaraju, M.S. Ludwig, J.G. Martin, Q. Hamid // J Allergy Clin Immunol.-2006.-№118(5).- P. 1033-1039.

8. Lilly C.M. Expression of eotaxin by human lung epithelial cells. Introduction by cytokines and inhibition by glucocorticosteroids / C.M. Lilly, H. Nakamura, H. Kesselman, C. Nagler-Anderson, K. Asano, E.A. Garsia-Zepeda, M.E. Rothenberg, J.M. Drazen, A.D. Luster // J. Clin. Invest.-1997.-Vol.99,№7.- P. 1767-1773.

9. Mishra A. Peyer's patch eosinophils: identification, characterization, and regulation by mucosal allergen exposure, interleukin-5 and eotaxin / A. Mishra, S.P. Hogan, E.B. Brandt, M.E. Rothenberg // Blood.-2000.- Vol.96, №4.- P. 1538-1544.

10. Mishra A. Fundamental signals that regulate eosinophil homing to the gastrointestinal tract / A. Mishra, S.P. Hogan, J.J. Lee, P.S. Foster, M.E. Rothenberg // J Clin Invest.-1999.-№103.- P. 1719-1727.

11. Munitz A. Reversal of airway inflammation and remodeling in asthma by a bispecific antibody fragment linking CCR3 to CD300a / A. Munitz, I. Bachelet, F. Levi-Schaffer // J Allergy Clin Immunol.-2006.-№118(5).- P. 1082-1089.

12. Pope S.M. Identification of a cooperative mechanism involving interleukin-13 and eotaxin-2 in experimental allergic lung inflammation / S.M. Pope, P.C. Fulkerson, C. Blanchard, H.S. Akei, N.M. Nikolaidis, N. Zimmermann, J.D. Molkenin, M.E. Rothenberg // J Biol Chem.-2005.-Vol.280(14).- P. 13952-13961.

13. Raby B.A. Eotaxin polymorphisms and serum total IgE levels in children with asthma / B.A. Raby, K. Van Steen, R. Lazarus, J.C. Celedan, E.K. Silverman, S.T. Weiss // J Allergy Clin Immunol.-2006.-№117(2).- P. 298-305.

14. Rojas-Ramos E. Role of the chemokines RANTES, monocyte chemoattractant proteins-3 and -4 and eotaxins-1 and -2 in childhood asthma / E. Rojas-Ramos, A.F. Avalos, L. Perez-Fernandez, F. Cuevas-Schacht, E. Valencia-Maqueda, L.M. Teran // Eur Respir J.- 2003.-№22.- P. 310-316.

15. Targovski T. Influence of age and gender on serum eotaxin concentration in healthy and allergic people / T. Targovski, K. Jahnz-Rozyk, T. Plusa, E. Glodzinska-Wyszrodzka // J Invest Allergol Clin Immunol.-2005.-Vol.15(4).- P. 277-282.

16. Walsh G.M. Mechanisms of steroid action and resistance in inflammation. Corticosteroids, eosinophils and bronchial epithelial cells new insights into the resolution of inflammation in asthma / G.M. Walsh, D.W. Sexton, M.G. Blaylock // Journal of Endocrinology.-2003.-178.- 37-43.

Сведения об авторах:

Недельская С.Н., профессор, д.мед.н., зав. кафедрой факультетской педиатрии ЗГМУ, зав. аллергологическим отделением Запорожской детской многопрофильной больницы №5.

Пахольчук О. П., аспирант каф. факультетской педиатрии ЗГМУ.

Бессикало Т. Г., к.мед.н., асс. каф. факультетской педиатрии ЗГМУ.

Солодова И. В., к.мед.н., доцент каф. факультетской педиатрии ЗГМУ.

Мазур В. И., к.мед.н., доцент каф. факультетской педиатрии ЗГМУ.

Жиленко И. А., к.мед.н., асс. каф. факультетской педиатрии ЗГМУ.

Шумная Т. Е., к.мед.н., асс. каф. факультетской педиатрии ЗГМУ.

Кляцкая Л. И., асс. каф. факультетской педиатрии ЗГМУ.

Адрес для переписки: 69076, г.Запорожье, ул. Новгородская, 28-а.

Тел: 80612249407.