

М.В. Шевченко

**ИНГИБИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ МОМЕТАЗОНА И НОРТРИПТИЛИНА
НА ПРОДУКЦИЮ ФНО-А МОНОНУКЛЕАРНЫМИ КЛЕТКАМИ КРОВИ
ПАЦИЕНТОВ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМ РИНИТОМ В УСЛОВИЯХ
СТИМУЛИРОВАННОГО ИММУННОГО ОТВЕТА IN VITRO**

Научный руководитель: ст. преп. Т.В. Миронова

Кафедра биологической химии,

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

M.V. Shevchenko

**INHIBITORY EFFECT OF MOMETASONE AND NORTRIPTYLINE
ON TNF- α PRODUCTION BY BLOOD MONONUCLEAR CELLS FROM
PATIENTS WITH ALLERGIC RHINITIS UNDER STIMULATED IMMUNE
RESPONSE IN VITRO**

Tutor: senior lecturer T.V. Mironova

Department of Biological Chemistry

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. В статье представлены результаты исследования 6 пациентов с аллергическим ринитом, изучено влияние мометазона на культуру мононуклеарных клеток, сопоставлен эффект с влиянием нортриптилина.

Ключевые слова: аллергический ринит, мононуклеарные клетки, мометазон, нортриптилин.

Resume: The article presents the results of study of 6 patients with allergic rhinitis. Inhibitory effect of mometasone and nortriptyline has been established on TNF- α production by blood mononuclear cells from patients with allergic rhinitis.

Keywords: allergic rhinitis, mononuclear cells, mometasone, nortriptyline.

Актуальность. Аллергический ринит – атопическое заболевание, характеризующееся такими симптомами, как заложенность носа, ринорея, чихание, постназальным синдромом и т.д. Аллергический процесс в полости носа представляет собой реакцию гиперчувствительности, возникающую как воспалительный ответ при контакте различных аллергенов со слизистой оболочкой, опосредованный иммуноглобулином Е (IgE). Плохо контролируемый АР с выраженными симптомами представляет собой тяжелую хроническую болезнь верхних отделов дыхательных путей (severe chronic upper airway disease – SCUAD). АР обладает высокой коморбидностью и оказывает серьезное негативное влияние на качество жизни и социальную активность [1].

По данным ВОЗ до 40% населения в разных странах страдают сезонным АР и до 18% - круглогодичным АР. По другим оценкам, общее число пациентов с АР составляет 10–50% населения, т. е. более 500 млн человек имеют симптомы аллергического воспаления в полости носа.

Аллергический ринит, согласно принятой классификации, делится на сезонный и круглогодичный. Круглогодичный АР чаще возникает после воздействия аллергенов клещей домашней пыли, животных и птиц, инсектных аллергенов, аллергенов пищевых продуктов, некоторых препаратов, грибковой инфекции.

Сезонный АР зависит от географического положения, времени цветения растений, местного климата и вызывается пылью [1]. Согласно исследованиям, были установлена зависимость между генетической восприимчивостью и факторами окружающей среды, которые также играют роль в развитии АР [2].

Заболевание возникает в результате иммунного ответа при контакте с аллергеном. В частности, известна роль фактора некроза опухоли α (ФНО- α) в развитии АР, который необходим для синтеза антиген-специфического IgE, индукции цитокинов и хемокинов иммунного ответа 2-го типа (ИО 2-го типа). Также ФНО- α индуцирует экспрессию молекул адгезии для привлечения эозинофилов в место аллергического воспаления. Известно, что при ИО 17-го типа вырабатываются инетерлейкины 17A (ИЛ-17A) и ИЛ-17F, стимулирующие продукцию ФНО- α в эпителиальных клетках дыхательных путей, который, в свою очередь, принимает участие в контроле степени инфильтрации стенки бронхов гранулоцитами, главным образом, нейтрофилами [3].

Лечение включает в первую очередь избегание триггеров, однако для некоторых пациентов это не всегда применимо. Фармакотерапия включает прием пациентами антигистаминных препаратов, применение интраназальных стероидов, антагонистов лейкотриеновых рецепторов. При топическом назначении кортикостероидов возможны побочные эффекты в виде раздражения слизистой оболочки носа, жжения в носу, носовых кровотечений, кандидоза слизистой оболочки [4]. Некоторые пациенты с АР оказываются мало восприимчивы к такому виду терапии ввиду развития у них стероидорезистентности [5, 6]. Однако, уровень заболеваемости продолжает расти, поэтому применение существующих методов лечения недостаточно. Необходимы средства, способствующие повышению чувствительности к глюкокортикостероидам (ГКС), а также обладающие антиоксидантными свойствами, поскольку образование свободных радикалов является одним из факторов развития АР [7].

Нортриптилин представляет собой трициклический антидепрессант и основной активный метаболит другого трициклического антидепрессанта – амитриптилина. Этот препарат используется для лечения депрессии, тревоги и никотиновой зависимости. Нортриптилин продемонстрировал в ряде экспериментальных исследований противовоспалительные свойства, а также способность дополнять действие кортикостероидов [8, 9, 10]. Было показано, что он подавляет продукцию ФНО- α в клетках крови, относящихся к естественным киллерам (NK) у пациентов с хронической обструктивной болезнью лёгких (ХОБЛ) [11]. Эффект нортриптилина достигается за счёт увеличения экспрессии гистон деацетилазы 2 (ГДА2), что, в свою очередь, приводит к ингибированию транскрипции генов, кодирующих провоспалительные белки. Сочетанное использование кортикостероидов и нортриптилина позволяет замедлить внутриклеточную передачу сигналов и, как следствие, подавить выработку провоспалительных белков [11,12].

Можно предположить, что комбинация с нортриптилином также способна усилить действие ГКС, направленное на снижение уровня провоспалительных цитокинов в крови пациентов с АР. Исследований, включающих применение нортриптилина у таких пациентов, не проводилось.

Цель: изучить влияние мометазона на культуру моноклеарных клеток (МНК) пациентов с АР, сопоставив эффект с влиянием нортриптилина.

Задачи:

1. Оценить способность нортриптилина подавлять выработку ФНО- α клетками крови пациентов с АР *in vitro* в условиях модуляции ИО первого, второго и семнадцатого типа.

2. Оценить способность нортриптилина в комбинации с мометазоном подавлять выработку ФНО- α клетками крови пациентов с АР *in vitro* в условиях модуляции ИО первого, второго и семнадцатого типа.

Материалы и методы. Исследование проводилось с культурой клеток крови, полученной от 6-ти пациентов с АР (2 мужчин и 4 женщины, 19-22 года). Венозная кровь забиралась у пациентов утром, натощак в объёме 30 мл в пробирки с гепарином натрия в концентрации 10 ЕД/мл в качестве антикоагулянта. МНК периферической крови пациентов выделяли путем центрифугирования (30 минут, 400g) в градиенте плотности 1,077 с использованием раствора Lymphosep (Biowest, Франция). Клетки ресуспендировали в концентрации 10^6 клеток/мл в культуральной среде RPMI 1640 (Capricorn Scientific, Эбсдорфергруд, Германия) с 10% (по объёму) фетальной бычьей сывороткой (ФБС, Capricorn Scientific, регион сбора – Южная Америка), 2 mM глутамина, 100 ЕД/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина (Capricorn Scientific).

В лунки 96-луночного планшета помещали $2 \cdot 10^5$ клеток и культивировали их в присутствии мометазона (10^{-8} М) или нортриптилина (5 мкМ). Иммунный ответ 1-го, 2-го и 17-го типа стимулировали через 1 час после внесения ингибиторов путем добавления в среду культивирования рекомбинантных белков: ИЛ-12 (5 нг/мл) и ИЛ-2 (20 Ед/мл) (для стимуляции ИО 1-го типа), ИЛ-25 (50 нг/мл), ИЛ-33 (50 нг/мл), тимического стромального лимфопоэтина (ТСЛП) (50 нг/мл) и ИЛ-2 (20 Ед/мл) (для стимуляции ИО 2-го типа), ИЛ-1 β (50 нг/мл) и ИЛ-23 (50 нг/мл) (для стимуляции ИО 17-го типа). По истечении 3 суток культивирования клеток супернатанты отбирали автоматическим дозатором, центрифугировали (5 минут, 400g) и хранили до использования при температуре -70°C . В них методом иммуноферментного анализа определяли концентрацию ФНО- α с помощью набора реагентов АО «Вектор Бест», РФ.

Статистическая обработка данных проводилась в программе MedCalc (MedCalc Software Ltd, Бельгия). Анализ осуществляли непараметрическими методами вариационной статистики и выражали в виде медианы (Me), верхнего и нижнего квартилей [25%-75%]. При изучении статистических различий между группами показателей использовался критерий Фридмана. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,005$.

Результаты и их обсуждение. В условиях стимуляции ИО 2-го типа мометазон статистически достоверно снизил концентрацию ФНО- α (медиана 2,2 пг/мл). В этих же условиях нортриптилин существенно уменьшил концентрацию ФНО- α (медиана 29,9 пг/мл). При стимуляции ИО 2-го типа комбинация мометазона и нортриптилина достоверно снизила концентрацию ФНО- α (медиана 1,9 пг/мл).

В эксперименте со стимулированным ИО 1-го типа мометазон статистически достоверно понизил концентрацию ФНО- α (медиана 2,6 пг/мл). В свою очередь, нортриптилин существенно уменьшил концентрацию ФНО- α (медиана 10,2 пг/мл). При стимуляции ИО 1-го типа комбинация мометазона и нортриптилина достоверно снизила концентрацию ФНО- α (медиана 2,3 пг/мл).

В условиях стимулированного ИО 17-го типа присутствие мометазона в среде культивирования клеток сопровождалось существенным уменьшением концентрации ФНО- α (медиана 14,8 пг/мл). Присутствие в культуральной среде нортриптилина сопровождалось статистически достоверным понижением концентрации ФНО- α (медиана 53,8 пг/мл). При стимуляции ИО 17-го типа комбинация мометазона и нортриптилина достоверно снизила концентрацию ФНО- α (медиана 11,0 пг/мл).

Табл. 1. Влияние мометазона и нортриптилина на секрецию ФНО- α МНК периферической крови в условиях стимулирования ИО 2-го, 1-го и 17-го типа

ИО	Без стим.	Стим. ИО	С доб. нортриптилина	С доб. мометазона	С доб. мометазона и нортриптилина
ИО 2-го типа	2,8 ^{#,▲, ■, ✓} [2,1-3,9]	34,74 ^{*,▲, ■, ✓} [29,8-85,6]	29,9 ^{*,#, ▲, ✓} [20,5-37,7]	2,2 ^{*,#, ■, ✓} [1,9-2,5]	1,9 ^{*,#, ▲, ■} [1,6-2,3]
ИО 1-го типа	4,3 ^{#,■, ✓} [3,2-23,5]	34,2 ^{*,▲,■, ✓} [26,1-172,8]	10,2 ^{*,#, ▲, ✓} [8,9-92,6]	2,6 ^{#,■} [2,3-3,1]	2,3 ^{*,#, ■} [2,1-2,3]
ИО 17-го типа	9,0 ^{#,▲,■} [2,8-32,5]	84,05 ^{*,▲,■, ✓} [52,2-181,9]	53,8 ^{*,#,▲, ✓} [21,2-121,3]	14,8 ^{*,#,■, ✓} [12,2-37,3]	11,0 ^{#,▲,■} [9,4-28,6]

Примечание: * – разница достоверна относительно контрольной группы; # – разница достоверна относительно группы с моделированным ИО; ▲ – разница достоверна относительно группы с моделированным ИО и добавлением мометазона; ■ – разница достоверна относительно группы с моделированным ИО и добавлением нортриптилина; ✓ – разница достоверна относительно группы с моделированным ИО и добавлением мометазона и нортриптилина; уровень значимости $p < 0,005$

Таким образом, и мометазон и нортриптилин оказали ингибирующий эффект на секрецию ФНО- α , при этом влияние мометазона было более выраженным. Как мометазон, так и нортриптилин оказались более эффективны в условиях стимуляции ИО 1-го и 2-го типов, по сравнению со стимуляцией ИО 17-го типа. Внесение в инкубационную среду комбинации мометазона и нортриптилина привело к достоверному снижению секреции ФНО- α в условиях стимуляции ИО 1-го, 2-го и 17-го типов, причём в условиях стимуляции ИО 2-го и 17-го типов это снижение оказалось достоверно более низким по сравнению с добавлением в инкубационную среду только мометазона.

Выводы:

1. Мометазон эффективно подавляет секрецию ФНО- α , вызванную иммунным ответом 1-го, 2-го и 17-го типов.

2. Присутствие в среде культивирования МНК нортриптилина в условиях активации иммунных ответов 1-го, 2-го и 17-го типов снижает секрецию ФНО- α .

3. Присутствие в инкубационной среде мометазона и нортриптилина приводит к достоверно более низкой концентрации ФНО- α , по сравнению с присутствием в среде только мометазона в условиях активации иммунных ответов 2-го и 17-го типов.

Литература

1. Никифорова Г. Н., Свистушкин В. М., Золотова А. В. Аллергический ринит. Современные возможности патогенетической терапии // МС. 2019. №8. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/allergicheskiy-rinit-sovremennye-vozmozhnosti-patogeneticheskoy-terapii>.
2. Куи, Ц. The Assessment of TNF- α Gene Polymorphism Association with the Risk of Allergic Rhinitis in the Chinese Han Population / Ц. Куи, Ц. Ли, Й. Ван // International journal of general medicine. – 2021. – Vol. 14. – P. 5183–5192. – DOI: 10.2147/IJGM.S325969.
3. Iwakura, Y., Ishigame, H., Saijo, S., & Nakaе, S. (2011). Functional specialization of interleukin-17 family members. *Immunity*, 34(2), 149–162.
4. Арефьева, Н. А. Иммунные реакции слизистой оболочки носа: цитологическая диагностика, методы лечения / Н. А. Арефьева, Л. Ф. Азнабаева // Consilium Medicum. – 2009. – Т. 11, № 11. – С. 30–33.
5. Ян, Г. An eosinophil-Sos1-RAS axis licenses corticosteroid resistance in patients with allergic rhinitis / Г. Ян [и др.] // Immunobiology. – 2022. – Vol. 227, iss. 3. – Art. no. 152215. – DOI: 10.1016/j.imbio.2022.152215.
6. Ohta, N. The expression of 11 beta hydroxysteroid dehydrogenase in severe allergic rhinitis / N. Ohta, N. Noguchi, T. Takahashi [et al.] // Otolaryngology – Head and Neck Surgery. – 2018. – Vol. 158, suppl. 1. – P. 102.
7. Han, M., Lee, D., Lee, S. H., & Kim, T. H. (2021). Oxidative Stress and Antioxidant Pathway in Allergic Rhinitis. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10(8), 1266
8. Kadushkin A., Tahanovich A., Movchan L., Levandovskaya O., Shman T. (2021) Nortriptyline enhances corticosteroid sensitivity of blood T cells from patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J. Physiol. Pharmacol.* Vol. 72, № 5. – P. 793–805.
9. Mercado N. [et al.] (2011) Nortriptyline reverses corticosteroid insensitivity by inhibition of phosphoinositide-3-kinase- δ . *J. Pharmacol. Exp. Ther.* Vol. 337, № 2. – P. 465–470.
10. J. Lehar [et al.] (2009) Synergistic drug combinations tend to improve therapeutically relevant selectivity. *Nat. Biotechnol.* Vol. 27, № 7. – P. 659–666.
11. Kadushkin A.G., Tahanovich A.D., Movchan L.V., Dziadzichkina V.V., Levandovskaya O.V., Shman T.V. (2022) Nortriptyline overcomes corticosteroid resistance in NK and NKT-like cells from peripheral blood of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Research Results in Pharmacology*. Vol. 8, № 1. – P. 59–70.
12. Кадушкин А.Г., Таганович А.Д., Ходосовская Е.В., Колесникова Т.С. (2023) Подавление продукции провоспалительных цитокинов в естественных киллерах крови пациентов с хронической обструктивной болезнью легких под влиянием нортриптилина. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. Т. 21, № 1. – С. 32–39. [Kadushkin A.G., Taganovich A.D., Khodosovskaya E.V., Kolesnikova T.S. (2023) Suppression of the production of proinflammatory cytokines in natural killer cells of patients with chronic obstructive pulmonary disease under the influence of nortriptyline. *Journal of Grodno State Medical University*. Vol. 21, No. 1. – P. 32–39.] / МС. 2019. №8. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/allergicheskiy-rinit-sovremennye-vozmozhnosti-patogeneticheskoy-terapii> (дата обращения: 26.05.2025).