

В.Г. Сушко

**СНИЖЕНИЕ УРОВНЕЙ ИНТЕРЛЕЙКИНА-4 И ИНТЕРЛЕЙКИНА-9
В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМ РИНИТОМ ПОД ВЛИЯНИЕМ
ИНГИБИТОРОВ P38 МИТОГЕН-АКТИВИРУЕМОЙ ПРОТЕИНКИНАЗЫ
И C-JUN N-ТЕРМИНАЛЬНОЙ КИНАЗЫ**

Научный руководитель: ст. преп. В.В. Макаревич

Кафедра биологической химии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

V.G.Sushko

**EFFECT OF P38 MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE AND C-JUN
N-TERMINAL KINASE INHIBITORS ON INTERLEUKIN-4
AND INTERLEUKIN-9 SECRETION BY BLOOD MONONUCLEAR CELLS
OF PATIENTS WITH ALLERGIC RHINITIS**

Tutor: senior lecturer V.V. Makarevich

Department of Biological Chemistry

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. В статье приведен анализ способности ингибитора p38 митоген-активируемой протеинкиназы (памапимода) и ингибитора c-Jun N-терминальной киназы (CC-401) снижать секрецию интерлейкина-4 и интерлейкина-9 мононуклеарными клетками периферической крови пациентов с аллергическим ринитом.

Ключевые слова: аллергический ринит, интерлейкины, p38 митоген-активируемая протеинкиназа, c-Jun N-терминальная киназа.

Resume. The article presents an analysis of the ability of the p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor (pamapimod) and c-Jun N-terminal kinase inhibitor (CC-401) to reduce the secretion of interleukin-4 and interleukin-9 by peripheral blood mononuclear cells in patients with allergic rhinitis.

Keywords: allergic rhinitis, interleukins, p38 mitogen-activated protein kinase, c-Jun N-terminal kinase.

Актуальность. Аллергический ринит (АР) – это заболевание слизистой оболочки полости носа, вызываемое различными аллергенами, воспаление опосредовано иммуноглобулином Е (IgE). Основными симптомами АР являются заложенность носа, ринорея, чихание, зуд в носу, постназальный затек, а также симптомы конъюнктивита [3]. Аллергический ринит – одно из самых распространенных заболеваний дыхательных путей, так как встречается у почти 40% взрослых людей и у 25% детей. АР часто ассоциируется с бронхиальной астмой. Лечение аллергического ринита улучшает качество жизни пациентов, облегчает течение бронхиальной астмы и может снизить риск обострений [2, 6].

К главными этиологическим факторами аллергического ринита относят пыльцу растений, эпидермальные аллергены домашних животных, аллергены пылевых клещей, грибковые аллергены и др. [1].

В механизме развития аллергического ринита важная роль отводится интерлейкину (ИЛ)-4 и интерлейкину-9. Иммуный ответ при аллергическом рините связан с Th2-опосредованным воспалением, IgE-опосредованными ответными

реакциями и с врожденными механизмами, которые реализуются за счет врожденных лимфоидных клеток 2-го типа (ILC2). При данных видах ответа выделяются Th2-цитокины, такие как ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-9, ИЛ-13, которые способствуют воспалению. В присутствии ИЛ-4 наивные Th0-лимфоциты дифференцируются в Th-2, которые выделяют провоспалительные цитокины (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-9, ИЛ-13). ИЛ-4 стимулирует выработку наивных В-лимфоцитов, которые дифференцируются в плазмоциты, что обеспечивает синтез IgE [5].

Недавно была обнаружена новая подгруппа Th-лимфоцитов (Th9-клеток) с высокой экспрессией ИЛ-9. ИЛ-9 воздействует на эозинофилы, лимфоциты, тучные клетки, что стимулирует секрецию IgE, усиливает реакцию тучных клеток на аллергены [4].

На современном этапе существует ряд методов терапии АР. Однако, некоторые лекарственные средства являются низкоэффективными, а также могут вызывать развитие побочных реакций. Поиск альтернативных методов лечения все еще остается актуальным. Поскольку воспалительные реакции при аллергическом рините связаны с активацией протеинкиназ (и их факторов транскрипции) иммунокомпетентных клеток и дальнейшей выработкой медиаторов воспаления, применение ингибиторов протеинкиназ может оказаться эффективным подходом к лечению пациентов с АР [2].

Цель: изучить влияние ингибиторов p38 МАПК (памапимода) и с-Jun N-терминальной киназы (СС-401) на секрецию интерлейкинов ИЛ-4, ИЛ-9 активированными мононуклеарными клетками периферической крови (МПК-клетками) пациентов с аллергическим ринитом.

Задачи:

1. Проанализировать роль ИЛ-4 и ИЛ-9 в развитии воспалительного процесса при АР.
2. Оценить влияние эпителиальных аларминов (ИЛ-25, ИЛ-33, ТСЛП) в сочетании с ИЛ-2 на секрецию ИЛ-4 и ИЛ-9 МПК-клетками периферической крови пациентов с АР.
3. Изучить эффекты ингибиторов p38 митоген-активируемой протеинкиназы (памапимод) и ингибитора с-Jun N-терминальной киназы (СС-401) на угнетение продукции ИЛ-4 и ИЛ-9 в условиях стимуляции иммунного ответа второго типа.
4. Сравнить ингибирующую активность памапимода и СС-401 в отношении синтеза исследуемых цитокинов.

Материалы и методы. Из периферической крови пациентов с аллергическим ринитом были выделены мононуклеарные клетки (МПК-клетки), которые использованы для изучения секреции ИЛ-4, ИЛ-9 при воздействии различными ингибиторами. Объем выборки составил 6 человек (n=6). На начальном этапе МПК-клетки инкубировали с памапимодом (0,5 мкМ) и СС-401 (1 мкМ) в течение 1 часа. Далее на МПК-клетки воздействовали ИЛ-2, ИЛ-25, ИЛ-33 и тимическим стромальным лимфопоэтином (ТСЛП) для индуцирования иммунного ответа 2-го типа. Через 3 суток в собранных клеточных супернатантах определяли концентрацию ИЛ-4, ИЛ-9 методом иммуноферментного анализа. Наличие статистически значимых

различий до и после воздействий ингибиторов оценивали с помощью дисперсионного анализа (ANOVA) для зависимых выборок и апостериорного теста Тьюки.

Результаты и их обсуждение. При воздействии эпителиальными аларминами (ИЛ-25, ИЛ-33), ТСЛП и ИЛ-2 на МПК-клетки пациентов с АР выявлено значимое ($p < 0,05$) повышение концентрации ИЛ-4 по сравнению с контролем. Добавление ингибитора р38 МАПК (памапимода) привело к статистически значимому ($p < 0,05$) уменьшению уровня ИЛ-4 в исследуемых культурах клеток, активированных по 2-ому типу иммунного ответа. С другой стороны, по сравнению с контролем, значимых ($p > 0,05$) различий концентрации ИЛ-4 после добавления ингибитора не выявлено (Рис. 1)

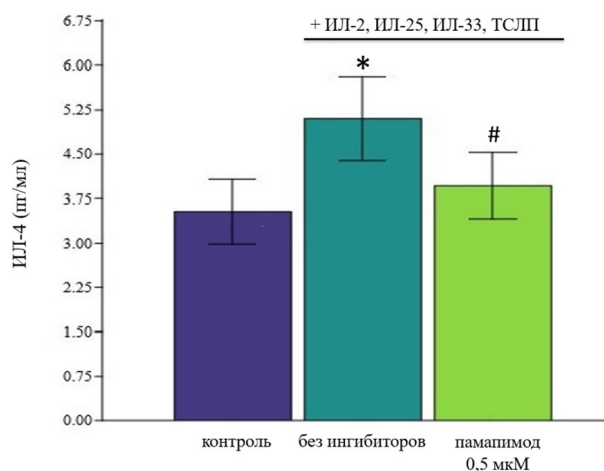


Рис. 1 – Изменение уровней ИЛ-4 при стимуляции ИЛ-2, ИЛ-25, ИЛ-33, ТСЛП и с добавлением памапимода (0,5 мкМ), $n = 6$. * $p < 0,05$ по сравнению с контролем (клетки инкубировались в отсутствие рекомбинантных белков), # $p < 0,05$ по сравнению со 2-ым типом иммунного ответа

Концентрация ИЛ-9 в образцах клеточных культур после воздействия эпителиальными аларминами (ИЛ-25, ИЛ-33), ТСЛП и ИЛ-2 также возрастала значимо ($p < 0,05$) при сравнении с контролем (Рис. 2)

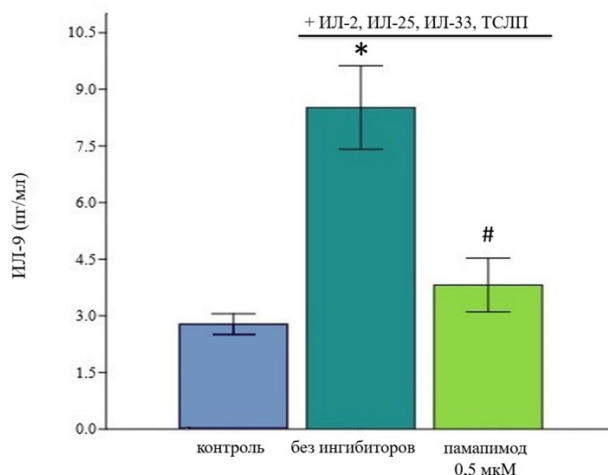


Рис. 2 – Изменение уровней ИЛ-9 при стимуляции ИЛ-2, ИЛ-25, ИЛ-33, ТСЛП и с добавлением памапимода (0,5 мкМ), $n = 6$. * $p < 0,05$ по сравнению с контролем (клетки инкубировались в отсутствие рекомбинантных белков), # $p < 0,05$ по сравнению со 2-ым типом иммунного ответа

Добавление ингибитора p38 МАПК (памапимода) способствовало значимому ($p < 0,05$) уменьшению уровня ИЛ-9, также как и ИЛ-4, в МПК-клетках пациентов с АР. При этом добавления ингибитора не продемонстрировало значимых различий ($p > 0,05$) концентрации ИЛ-9 по сравнению с контролем.

При исследовании влияния ингибитора СС-401 на МПК-клетки пациентов с АР на начальном этапе также выполнили анализ содержания ИЛ-4 в образцах клеточных культур при воздействии эпителиальными аларминами (ИЛ-25, ИЛ-33), ТСЛП и ИЛ-2. Было выявлено значимое ($p < 0,05$) возрастание концентрации противовоспалительных цитокинов ИЛ-4. Добавление ингибитора СС-401 привело к статистически значимому ($p < 0,05$) уменьшению уровня ИЛ-4 в исследуемых культурах клеток, активированных по 2-ому типу иммунного ответа (Рис. 3)

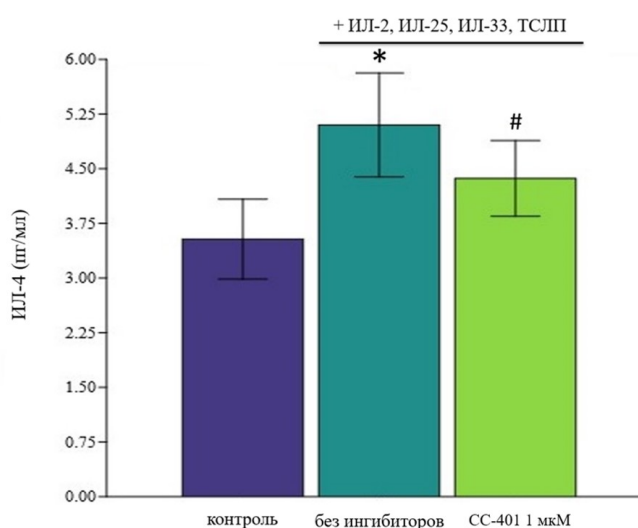


Рис. 3 – Изменение уровней ИЛ-4 при стимуляции ИЛ-2, ИЛ-25, ИЛ-33, ТСЛП и с добавлением СС-401 (1 мкМ), $n = 6$. * $p < 0,05$ по сравнению с контролем (клетки инкубировались в отсутствии рекомбинантных белков), # $p < 0,05$ по сравнению со 2-ым типом иммунного ответа

Анализ содержания ИЛ-9 в образцах клеточных культур после воздействия эпителиальными аларминами (ИЛ-25, ИЛ-33), тимическим стромальным лимфопоэтином и ИЛ-2 для индуцирования иммунного ответа 2-го типа, также показал значимое ($p < 0,05$) увеличение концентрации противовоспалительных цитокинов по сравнению с контролем (Рис. 4).

Как и в случае с ИЛ-4, добавление ингибитора СС-401 способствовало значимому ($p < 0,05$) уменьшению уровня ИЛ-9 в собранных клеточных супернатантах пациентов с АР, активированных по 2-ому типу иммунного ответа. Следует отметить, что при сравнении концентрации ИЛ-9 в контроле и после добавления ингибитора значимых различий ($p > 0,05$) не выявлено.

Исходя из результатов исследования, оба ингибитора протеинкиназ (памапимод, СС-401) способствуют снижению уровней как ИЛ-4, так и ИЛ-9 в образцах клеточных культур пациентов с АР. При этом концентрация данных интерлейкинов при воздействии памапимода снижается в большей степени.

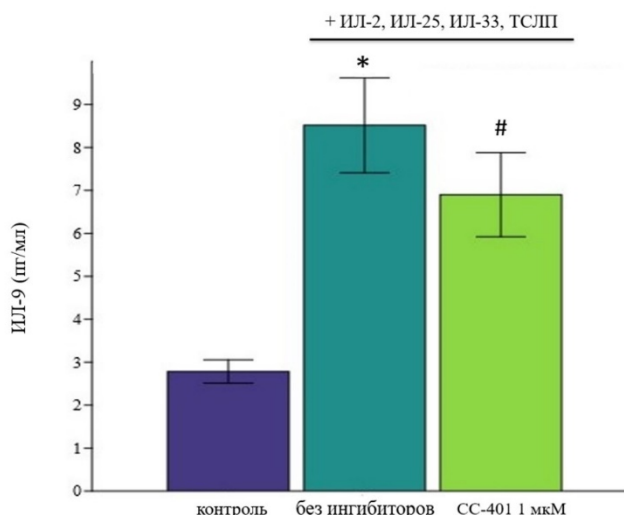


Рис. 4 - Изменение уровней ИЛ-9 при стимуляции ИЛ-2, ИЛ-25, ИЛ-33, ТСЛП и с добавлением СС-401 (1 мкМ), $n = 6$. * $p < 0,05$ по сравнению с контролем (клетки инкубировались в отсутствие рекомбинантных белков), # $p < 0,05$ по сравнению со 2-ым типом иммунного ответа

Выводы:

1. Использование ингибитора p38 митоген-активируемой протеинкиназы (памапимода) и ингибитора c-Jun N-терминальной киназы (СС-401) приводит к снижению секреции ИЛ-4 и ИЛ-9 МПК-клетками пациентов с АР.
2. В отношении уровней ИЛ-9 памапимод оказывал наиболее выраженный ингибирующий эффект по сравнению с СС-401.
3. Как следствие, использование памапимода и СС-401 открывает дальнейшие перспективы изучения их эффектов с целью снижения воспалительного процесса при АР.

Литература

1. Емельянов, А.В. Нерешенные вопросы ведения пациентов с тяжелым аллергическим ринитом и полипозным риносинуситом. Возможности анти-IgE терапии. / А.В. Емельянов, Н.И. Ильина, О.В. Карнеева и др. // Российская оториноларингология. – 2020. – Т. 3, № 106. – С. 88-89.
2. Реброва, С.А. Аллергический ринит: патогенез, диагностика, лечение. / Реброва С.А. // Consilium Medicum. – 2023. – Т. 25, № 3. – С.147–151.
3. Рязанцев, С.В. Затрудненное носовое дыхание в практике оториноларинголога: чем помочь? / С.В. Рязанцев, С.С. Павлова // Российская оториноларингология. – 2020. – Т. 2, № 105. – С. 107-15.
4. Anto, J. Mechanisms of the Development of Allergy (MeDALL): Introducing Novel Concepts in Allergy Phenotypes. / J. Anto, J. Bousquet, M. Akdis et al. // J Allergy Clin Immunol. – 2017. – Vol. 139, № 2. – P. 388-399.
5. Bousquet, J. Next-generation Allergic Rhinitis and Its Impact on Asthma (ARIA) guidelines for allergic rhinitis based on Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation (GRADE) and real-world evidence. / J. Bousquet, J.M. Anto, C. Bachert et al. // J Allergy Clin Immunol. – 2020. – Vol. 145, № 1. – P. 70-80.
6. Brozek, J.L. ARIA Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines – 2016 revision. / J.L. Brozek, J. Bousquet, I. Agache, et al. // J Allergy Clin Immunol. –2017. – Vol. 140, № 4. – P. 950-958.