

*Кадушкин А. Г.*

**ХЕМОКИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ Т-ЛИМФОЦИТОВ  
У КУРЯЩИХ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ  
БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ**

*Белорусский государственный медицинский университет  
Кафедра биологической химии*

Одной из главных проблем хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) являются трудности лечения. Ее терапия на современном этапе носит большей частью симптоматический характер и не позволяет замедлить прогрессирование заболевания. Поэтому продолжают изучаться механизмы развития ХОБЛ. Полагают, что в патогенезе этого заболевания важную роль выполняют Т-лимфоциты. Взаимодействие хемокиновых

рецепторов с соответствующими лигандами на поверхности Т-клеток стимулирует их миграцию из кровотока в легкие, где они участвуют в формировании воспалительной реакции. Наиболее активное участие в этом процессе принимают два вида хемокиновых рецепторов — CXCR3 и CCR5.

Ведущим фактором риска развития ХОБЛ признается курение. Однако роль курения и заболевания в изменении доли лимфоцитов, имеющих хемокиновые рецепторы, при ХОБЛ остается невыясненной. Показано повышение процента CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов крови, содержащих CXCR3, у курильщиков с ХОБЛ по сравнению с курящими людьми без ХОБЛ [1]. В другом исследовании относительное количество CXCR3<sup>+</sup> Т-клеток повышалось в крови у курящих пациентов с ХОБЛ, пациентов с ХОБЛ, бросивших курить, и здоровых курильщиков по сравнению со здоровыми некурящими людьми [2].

Целью настоящего исследования явилось определение закономерностей количественного изменения клеток, содержащих рецепторы CXCR3 и CCR5, в общей популяции лимфоцитов крови у курящих пациентов с ХОБЛ.

#### **Материалы и методы**

Обследовано 20 курящих пациентов с ХОБЛ и 21 здоровый курильщик. Характеристика участников исследования представлена в табл. 1. Все курящие пациенты с ХОБЛ и здоровые курильщики имели индекс курения более 10 пачек/лет.

*Таблица 1*

**Характеристика участников исследования**

<b>Показатель</b>	<b>Пациенты с ХОБЛ</b>	<b>Контроль</b>
n	20	21
Возраст, годы	64,5 (62,0–67,0)	61,0 (59,0–63,0)
Пол, м/ж	18/2	14/7
Статус курения (курящие/бывшие курильщики)	12/8	13/8
Индекс курения, пачек/лет	43,2 (21,3–50,3)	29,0 (20,0–37,5)
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	25,4 (23,2–27,7)	28,7 (26,1–31,1)
ОФВ <sub>1</sub> , % от должн.	49,5 (35,5–65,5)	96,0 (88,0–106,0)
ОФВ <sub>1</sub> /ФЖЕЛ, %	56,5 (51,0–65,0)	85,0 (80,0–89,0)

Критерием включения в исследование было отсутствие симптомов обострения ХОБЛ в течение последних 2 месяцев до взятия крови. Из исследования были исключены пациенты с наличием в анамнезе бронхиальной астмы, принимавшие системные глюкокортикостероиды не позднее, чем за 2 месяца до настоящего исследования.

Диагностика ХОБЛ, включая оценку ее степени тяжести, осуществлялась на основании общепринятых критериев. Пациенты, принимавшие участие в исследовании, имели ХОБЛ среднетяжелой и тяжелой степени (GOLD 2009) или ХОБЛ стадии В и С (GOLD 2011). В контрольные группы вошли условно здоровые добровольцы с нормальным уровнем ОФВ<sub>1</sub>

и нормальной величиной отношения объема форсированного выдоха за первую секунду к форсированной жизненной емкости легких (ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ), не имевшие в анамнезе патологии бронхолегочной системы и других хронических заболеваний. Все испытуемые дали письменное добровольное согласие на участие в исследовании.

Венозную кровь у обследуемых пациентов забирали рано утром натощак в объеме 3–5 мл в пробирку, содержащую этилендиаминтетраацет калия в качестве антикоагулянта. В пробирки помещали 100 мкл крови, добавляли по 10 мкл моноклональных антител. Панель антител включала антитела к Т-линейному антигену CD3, меченые аллофикоцианином, антитела к хемокиновому рецептору CCR5, меченые фикоэритрином, и антитела к рецептору CXCR3, меченые флюоресцеинизотиоцианатом (R&D Systems, США).

Анализ популяций лимфоцитов проводили на проточном цитометре Cytomics FC500 с использованием программного обеспечения CXP (Beckman Coulter, США). Для каждой пробы учитывали не менее 50 000 клеток.

Статистическую обработку проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica for Windows 8.0. Анализ проводили методами непараметрической статистики. Рассчитывались медиана и интерквартильный размах (25–75 %). Для сравнения данных между группами использовался U-критерий Манна–Уитни. При всех видах статистического анализа критическое значение уровня значимости принимали равным 5 %.

#### **Результаты и обсуждение**

Известно, что помимо Т-клеток, рецепторы CXCR3 и CCR5 могут экспрессироваться на В-лимфоцитах и естественных киллерах. У курящих пациентов с ХОБЛ отмечалась лишь тенденция к увеличению суммарного относительного количества лимфоцитов, содержащих рецепторы CXCR3, по сравнению с курящими здоровыми людьми (табл. 2). Однако повышение процента CXCR3+ Т-клеток в крови у курящих пациентов с ХОБЛ по сравнению со здоровыми курящими людьми было статистически достоверным. Тем самым, данные показывают, что в повышении относительного количества CXCR3+ Т-лимфоцитов определяющую роль играет ХОБЛ, а не курение.

*Таблица 2*

**Сравнение субпопуляций лимфоцитов крови у пациентов с ХОБЛ и контрольной группы**

Субпопуляция лимфоцитов, %	ХОБЛ	Контроль	Уровень значимости, р
CXCR3+	24,1 (21,2–32,8)	24,0 (20,5–28,8)	0,5839
CD3+CXCR3+	40,5 (38,2–49,7)	37,3 (30,2–39,5)	0,0011
CCR5+	2,9 (1,8–5,4)	2,3 (1,3–3,8)	0,1003
CD3+CCR5+	4,6 (2,6–7,3)	3,1 (1,8–4,3)	0,0314

*Примечание:* данные представлены как медиана (25–75 %).

Другие исследователи также продемонстрировали повышение относительного количества CD8+ Т-лимфоцитов крови, содержащих рецепторы CXCR3, у курильщиков с ХОБЛ по сравнению с курящими людьми без ХОБЛ [1]. Имеется и другая точка зрения. Она основывается на данных, согласно которым процент CXCR3+ Т-клеток повышался в крови у курящих пациентов с ХОБЛ, пациентов с ХОБЛ, бросивших курить, и здоровых курильщиков по сравнению со здоровыми некурящими людьми [2]. При этом, не было выявлено статистически достоверной разницы в относительном количестве Т-лимфоцитов, содержащих рецепторы CXCR3, между курящими пациентами и здоровыми курильщиками.

Как показали полученные нами результаты, значимые различия относительного количества CCR5+ лимфоцитов между курящими пациентами с ХОБЛ и здоровыми курильщиками, как и в случае CXCR3-содержащих клеток, отсутствовали. Однако у курящих пациентов с ХОБЛ было выявлено увеличение относительного количества CD3+CCR5+ лимфоцитов по сравнению со здоровыми курящими людьми. Другие исследователи также обнаружили повышение доли CCR5+ Т-лимфоцитов в общей популяции лимфоцитов у курящих и бросивших курить пациентов с ХОБЛ по сравнению с некурящими здоровыми людьми, однако не выявили разницы в относительном количестве этих клеток между курильщиками с ХОБЛ и курящими здоровыми людьми [2].

Полученные нами данные свидетельствуют об увеличении в кровотоке популяции лимфоцитов, обладающих рецепторами CCR5 и CXCR3. Причем, оно обусловлено ХОБЛ. Обследование, проводившееся в период ремиссии вне нахождения пациентов в стационаре, позволяет отвергнуть влияние лечения на уровень определяемых показателей. Стандартная поддерживающая фармакотерапия включала  $\beta$ 2-агонисты, антихолинергические препараты и ингаляционные глюкокортикостероиды. Считается, что эти препараты не оказывают влияния на экспрессию лимфоцитами CCR5 и CXCR3 рецепторов.

Можно предполагать, что обнаруженное по результатам нашего исследования явление увеличения CXCR3- и CCR5-содержащих Т-лимфоцитов у пациентов с ХОБЛ предрасполагает к миграции Т-лимфоцитов из крови в легкие. Это происходит в результате связывания CCR5 и CXCR3 рецепторов со своими лигандами — хемокинами. Известно, что с CXCR3 рецепторами специфически взаимодействуют белки CXCL9, CXCL10 и CXCL11. Для рецепторов CCR5 хемокинами являются белки CCL3, CCL4 и CCL5 [3]. Данные литературы дают основание полагать, что ХОБЛ сопровождается увеличением концентрации некоторых из них в крови и ткани легких [3].

#### **Выводы:**

1. ХОБЛ характеризуется увеличением количества Т-лимфоцитов, содержащих хемокиновые рецепторы CXCR3, независимо от курения.

2. Ведущую роль в увеличении субпопуляции CCR5<sup>+</sup> Т-лимфоцитов у курящих пациентов с ХОБЛ играет заболевание, а не курение.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Modification* of surface antigens in blood CD8<sup>+</sup> T-lymphocytes in COPD : effects of smoking / A. Koch [et al.] // Eur. Respir. J. 2007. Vol. 29. P. 42–50.

2. *Chemotactic* mediators of Th1 T-cell trafficking in smokers and COPD patients / S. Bronzyna [et al.] // COPD. 2009. Vol. 6. № 1. P. 4–16.

3. *Кадушкин, А. Г.* Роль хемокинов в патогенезе хронической обструктивной болезни легких / А. Г. Кадушкин, А. Д. Таганович // Медицинский журнал. 2012. № 2. С. 139–144.

***Kadushkin A. H.***

#### **Chemokine receptors of T-lymphocytes in smoking patients with chronic obstructive pulmonary disease**

Chemokine receptors are considered to play an important role in regulating the migration of immune cells, including T-cells, from the peripheral blood into inflamed tissue, such as the lung. However their role is not yet certain in smoking patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). The aim of the study was to determine the percentage of CD3+CXCR3<sup>+</sup> and CD3+CCR5<sup>+</sup> lymphocytes in blood of COPD patients. For analysis of lymphocytes subtypes the flow cytometry method was used. The study population consisted of 20 smokers with COPD and 21 healthy smokers. The percentage of T-cells containing receptors CXCR3 and CCR5 was significantly higher in blood of smokers with COPD when compared to healthy smokers (CXCR3<sup>+</sup> T-lymphocytes: median value was 40.5 % vs 37.3 %, respectively, p=0.001; CCR5<sup>+</sup> T-cells: 4.6 % vs 3.1 %, respectively, p < 0.05). Our findings suggest that T-cells in smoking COPD patients have an increased capacity to migrate from blood into the airways.