

А.О. Пермякова, М.В. Сакович
**ВЛИЯНИЕ НОРТРИПТИЛИНА НА ЭКСПРЕССИЮ
ГЛЮКОКОРТИКОИДНОГО РЕЦЕПТОРА β , ГИСТОНДЕАЦЕТИЛАЗЫ 2
И ГИСТОНАЦЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ В ЕК-КЛЕТКАХ ПАЦИЕНТОВ
С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЁГКИХ**

Научный руководитель: канд. мед. наук, доц. А.Г. Кадушкин
Кафедра биологической химии
Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

A.O. Permiakova, M.V. Sakovich
**THE EFFECT OF NORTRIPTYLINE ON THE PRODUCTION
OF GLUCOCORTICOID RECEPTOR β , HISTONE DEACETYLASE 2
AND HISTONE ACETYLTRANSFERASE IN NK-CELLS FROM PATIENTS
WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE**

Tutor: associate professor A.G. Kadushkin
Department of Biological Chemistry
Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. При хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) часто назначаются ингаляционные глюкокортикостероиды (ИГКС), однако при этом заболевании наблюдается сниженная восприимчивость к ним клеток иммунной системы, в том числе естественных киллеров (ЕК-клетки). В статье оценивается влияние антидепрессанта нортриптилина, ИГКС и их комбинации на экспрессию глюкокортикоидного рецептора β (ГР β), гистондеацетилазы 2 (ГДА2) и гистонацетилазы в ЕК-клетках пациентов с ХОБЛ.

Ключевые слова: нортриптилин, стероидная резистентность, ХОБЛ, ЕК-клетки.

Resume. Inhaled glucocorticosteroids (IGCs) are often prescribed in chronic obstructive pulmonary disease (COPD), but there is a reduced susceptibility of immune system cells, including natural killer cells (NK-cells), in this disease. This article evaluates the effect of antidepressant nortriptyline, IGCs and their combination on the expression of glucocorticoid receptor β (GR β), histone deacetylase 2 (HDAC2) and histone acetyltransferase (HAT) in NK-cells of COPD patients.

Keywords: COPD, nortriptyline, NK-cells, steroid resistance.

Актуальность. Хроническая обструктивная болезнь лёгких (ХОБЛ) – это гетерогенное заболевание лёгких, характеризующееся хроническими респираторными симптомами (одышка, кашель, выделение мокроты), обусловленными воспалением дыхательных путей (бронхит, бронхиолит) и/или патологическим процессом в альвеолах (эмфизема), что приводит к стойкому, часто прогрессирующему ограничению воздушного потока [1]. ХОБЛ является третьей ведущей причиной смертности в мире, на долю которой в 2019 году приходилось 6% от общего числа летальных исходов [3]. Курение сигарет – один из основных факторов риска развития и прогрессирования ХОБЛ, который способен индуцировать развитие окислительного стресса, что в последующем приводит к формированию воспалительной реакции. Одними из основных препаратов в терапии ХОБЛ являются ингаляционные глюкокортикостероиды (ИГКС), однако у пациентов с этим заболеванием отмечается снижение восприимчивости к ИГКС клеток иммунной системы, в

частности естественных киллеров (ЕК-клеток), что ограничивает терапевтическую эффективность данных лекарственных средств [2].

Цель: оценить влияние антидепрессанта нортриптилина, ИГКС будесонида и их комбинации на экспрессию глюкокортикоидного рецептора β (ГР β), гистондеацетилазы (ГДА2) и гистонацетилтрансферазы (ГАТ) в ЕК-клетках (CD3-CD56+) крови пациентов с ХОБЛ.

Задачи:

1. Оценить влияние нортриптилина и будесонида на экспрессию ГР β .
2. Проанализировать влияние нортриптилина и будесонида на выработку ГДА2 и ГАТ ЕК-клетками.

Материалы и методы. В исследовании участвовал 21 пациент с ХОБЛ. Цельную кровь смешивали в стерильных пробирках с равным объемом культуральной среды RPMI 1640, обогащенной 10% инактивированной фетальной телячьей сывороткой. В дальнейшем клетки инкубировали в присутствии или отсутствии нортриптилина (1 и 10 мкМ), будесонида (10 нМ) и их комбинаций в течение 1 часа. После инкубации с препаратами лейкоциты стимулировали форбол-миристан-ацетатом (ФМА, 50 нг/мл) и иономицином (1 мкг/мл). Для ингибирования секреции цитокинов добавляли брэфельдин А (10 мкг/мл). Внутриклеточную продукцию цитокинов ЕК-клетками оценивали методом проточной цитометрии. Идентификацию клеток проводили с помощью моноклональных антител, конъюгированных с флуорохромами и специфичными к CD45, CD3, CD56, ГДА2, ГАТ и поликлональных антител к ГР β . Обработка данных выполнялась с использованием пакета статистического анализа данных GraphPad Prism (версия 7.00) и программного обеспечения Kaluza Analysis.

Результаты и их обсуждение. Внесение к клеткам цельной крови будесонида или нортриптилина в концентрации 1 мкМ на экспрессию ГР β не оказывало влияния, однако нортриптилин 10 мкМ эффективно подавлял экспрессию ГР β . Более того, комбинация нортриптилина (от 1 мкМ до 10 мкМ) с будесонидом значительно ослабляла экспрессию ГР β CD3-CD56+ клетками (таблица 1).

Табл. 1. Средняя интенсивность флуоресценции (СИФ) ГР, ГР β в ЕК-клетках крови пациентов с ХОБЛ

	ФМА + Ион	ФМА + Ион + Буд 10 нМ	ФМА + Ион + Нт 1 мкМ	ФМА + Ион + Нт 10 мкМ	ФМА + Ион + Буд 10 нМ + Нт 1 мкМ	ФМА + Ион + Буд 10 нМ + Нт 10 мкМ
СИФ ГР	30,87±2,26	27,73±2,30	33,43±1,14	32,92±1,34	32,40±1,05	31,80±1,91
СИФ ГР β	3,56±0,25	3,43±2,24	3,30±0,25	3,17±0,23*♦	3,16±0,23*♦	2,99±0,19*♦

Примечания: * – $P < 0,05$ по сравнению с ФМА + Ион; ♦ – $p < 0,05$ по сравнению с ФМА + Ион + Буд 10 нМ; Буд – будесонид; ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; ГР – глюкокортикоидный рецептор; Ион - иономицин; ЕК-клетки - естественные киллерные клетки; Нт – нортриптилин; ФМА – форбол-миристан-ацетат.

Нортриптилин самостоятельно не влиял на экспрессию ГДА2, но значительно подавлял экспрессию ГАТ, индуцированную ФМА/иономицином, в CD3-CD56+ клетках. В то же время комбинация нортриптилина (от 1 мкМ до 10 мкМ) с будесонидом увеличивала долю ЕК-клеток, экспрессирующих ГДА2, и снижала экспрессию

ГАТ (рис.1).

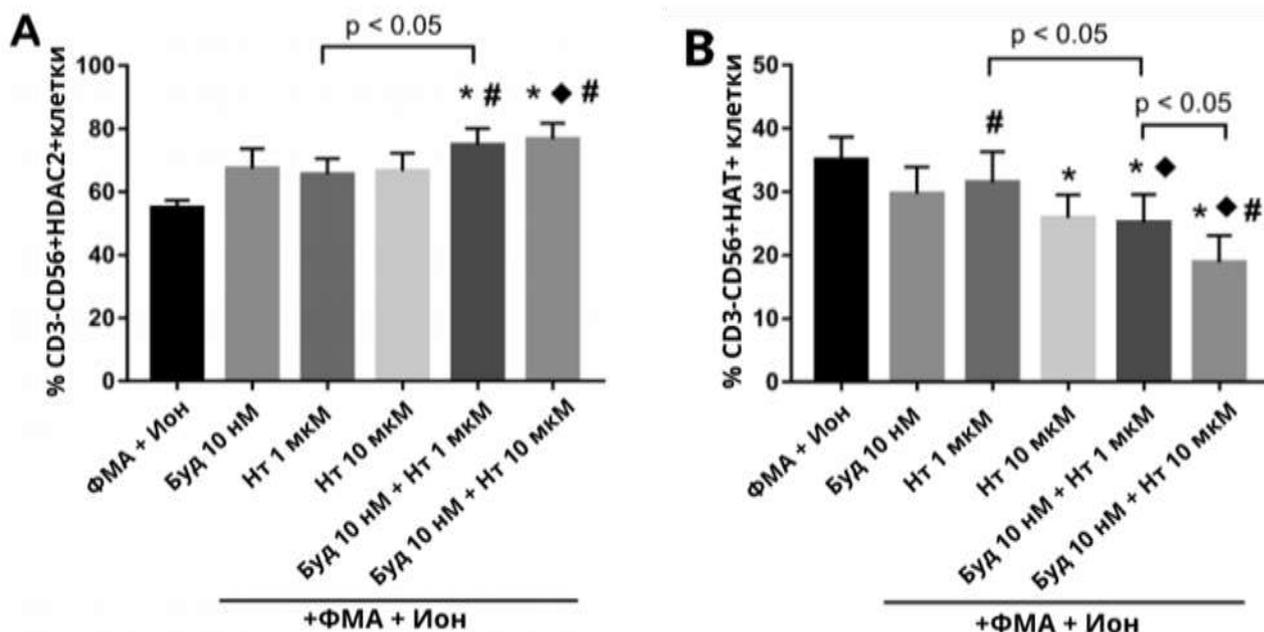


Рис. 1 – Процент ЕК-клеток (CD3-CD56+) периферической крови пациентов с ХОБЛ, экспрессирующих ГДА2 (HDAC2) и ГАТ (НАТ), после инкубации с будесонидом и нортриптилином. Примечания: * – $p < 0,05$ в сравнении с ФМА + Ион; ◆ – $p < 0,05$ по сравнению с Буд 10 нМ; # – $p < 0,05$ по сравнению с Нт 10 мкМ.

Выводы:

1. Нортриптилин способен усиливать эффекты ГКС путём изменения экспрессии ГАТ, ГДА2, ГРβ, р38 МАПК.
2. Полученные данные являются убедительным обоснованием возможности использования нортриптилина с будесонидом для лечения пациентов с ХОБЛ.

Литература

1. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease (2023 report) // Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease URL: <https://gold-copd.org/2023-gold-report-2/> (дата обращения: 01.10.2023).
2. Hodge G., Hodge S. Therapeutic Targeting Steroid Resistant Pro-Inflammatory NK and NKT-Like Cells in Chronic Inflammatory Lung Disease // Int. J. Mol. Sci. – 2019. – №1511.
3. 10 ведущих причин смерти в мире // Всемирная организация здравоохранения URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> (дата обращения: 01.10.2023).