

Брагвадзе Белла Гелаевна

**ОСОБЕННОСТИ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА У ДЕТЕЙ С
БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ**

14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор
доктор медицинских наук, профессор
академик РАН

Ганковская Людмила Викторовна

Намазова-Баранова Лейла Сеймуровна

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор

Балмасова Ирина Петровна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лаборатория патогенеза и методов лечения инфекционных заболеваний, заведующая лабораторией

Доктор медицинских наук, профессор

Гариб Фируз Юсупович

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра иммунологии, профессор кафедры

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Курск.

Защита диссертации состоится «__»_____ 2019 года в _____ час. на заседании Диссертационного совета Д 208.072.05 на базе ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д.1; и на сайте www.rsmu.ru

Автореферат разослан «_____» _____ 2018 года

Ученый секретарь диссертационного совета

кандидат медицинских наук, доцент

Кузнецова Татьяна Евгеньевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Бронхиальная астма (БА) – это хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, которое сопровождается обструкцией и гиперреактивностью бронхов [Чучалин А.Г., 2007г.]. В настоящее время во всем мире насчитывается более 300 млн пациентов с БА [Baiz N., 2012г.].

На современном этапе исследования сконцентрированы на изучении патогенеза БА, выделению патогенетических и клинических фенотипов БА с целью разработки новых методов диагностики и лечения. В последнее время особое внимание уделяют исследованию механизмов врождённого иммунитета в патогенезе БА. Это обусловлено важной ролью врождённого иммунитета в развитии хронического воспаления, являющегося неотъемлемым компонентом формирования БА. А также тем фактом, что частые обострения астмы провоцируют острые респираторные инфекции. Более того, в настоящее время эпителию слизистой оболочки дыхательных путей отводят роль полноправного участника иммунных механизмов, выполняющего свою функцию путём удаления патогена за счёт мукоцилиарного клиренса, распознавания патогена Toll-подобными рецепторами (TLRs), секреции ряда цитокинов и противомикробных пептидов [Duechs M.J., 2011г.].

Противомикробные пептиды β -дефенсины, продуцируемые эпителием, обладают бактерицидной активностью и предотвращают вторжение патогенов в слизистую оболочку респираторного тракта. А реализация противовирусного иммунитета возможна благодаря продукции интерферонов (IFN). В последние годы исследуется роль интерлейкина 28 (IL-28B - IFN- λ 3) как медиатора врождённого иммунитета в патогенезе вирусиндуцированной астмы [Lester S. N., 2014г.].

Кроме этого, эпителиальные клетки слизистой оболочки оказывают выраженное влияние на характер активации дендритных клеток (ДК) и дальнейшее формирование Th1 или Th2 типов иммунного ответа [Hollams E.M., 2009г.]. Эта функция реализуется вследствие синтеза IL-33 и тимического стромального лимфопоэтина (TSLP). Эти цитокины играют важную роль в формировании аллергического типа воспаления, индуцируя продукцию иммуноглобулина Е (IgE). Более того, данные эффекторных молекул выступают в роли хемоаттрактантов для эозинофилов и базофилов, которые непосредственно влияют на гладкомышечные и слизистые клетки респираторного тракта [Reis A.C., 2015г.]. Данный процесс обуславливает развитие гиперреактивности дыхательных путей и хронической воспалительной реакции.

Синтез данных эффекторных молекул и цитокинов инициируется паттернраспознающими рецепторами, среди них ключевыми рецепторами являются TLRs [Bezemer G.F., 2012г.]. Наиболее информативным представляется изучение рецепторов TLR2, TLR4 и TLR9, т.к. они распознают широкий спектр лигандов бактериальной и вирусной природы.

В связи с этим, комплексный подход в изучении TLRs и эффекторных молекул: β -

дефенсина 1 (HBD1), IL-28B, цитокинов - представляется реальным шагом в понимании роли врожденного иммунитета в патогенезе БА. Внедрение молекулярно-генетических методов исследования врождённого иммунитета позволяет научно обосновать и разработать новые подходы в диагностике и терапии астмы.

Исходя из этого, сформулированы цель и задачи настоящего исследования.

Цель исследования:

Изучить особенности врожденного иммунитета у детей больных бронхиальной астмой разной степени тяжести на локальном и системном уровнях.

Задачи исследования:

1. Провести комплексную оценку экспрессии генов распознающих рецепторов (TLR2, TLR4, TLR9) в клетках слизистой оболочки полости носа и лейкоцитах периферической крови больных с бронхиальной астмой разной степени тяжести в сравнении с группой здоровых детей.
2. Изучить экспрессию гена HBD1 в клетках слизистой оболочки полости носа у больных бронхиальной астмой.
3. Провести анализ содержания IL-33 и TSLP на локальном и системном уровнях у детей с бронхиальной астмой.
4. Выявить особенности цитокинового профиля, включающего про- и противовоспалительные цитокины, в назальных смывах у пациентов с бронхиальной астмой.
5. Проанализировать изменения экспрессии противовирусного цитокина IL-28B на уровне гена и молекулы белка.
6. На основе разработанного подхода оценки показателей врождённого иммунитета определить молекулярно-генетические маркеры, ассоциированные с бронхиальной астмой у детей.

Научная новизна работы

В настоящей работе впервые проведено комплексное изучение показателей врождённого иммунитета, включая экспрессию генов распознающих рецепторов (TLR2, TLR4, TLR9) и β -дефенсина 1, IL-28, про- и противовоспалительных цитокинов, на уровне слизистой оболочки полости носа у пациентов с БА и здоровых детей.

Выявлен дефект врожденного иммунитета, характеризующийся высоким уровнем экспрессии генов рецепторов TLR2, TLR4, TLR9, снижением экспрессии гена противомикробного пептида HBD1 и противовирусного цитокина IL-28B у детей с БА средней и тяжелой степени тяжести.

Впервые у детей с тяжелой степенью БА в смывах из полости носа выявлено повышение уровня TSLP и IL-33, играющих важную роль в развитии аллергического воспаления.

Более того, в настоящем исследовании дисбаланс факторов врождённого иммунитета подтверждён высоким уровнем как провоспалительных (IL-1 β , TNF- α , IL-6), так и противовоспалительных (IL-1 α , IL-10, IL-4) цитокинов в назальных смывах. Выявлена прямая корреляция со степенью тяжести БА.

Впервые проведена сравнительная оценка показателей врождённого иммунитета на локальном и системном уровне. Более выраженные и информативные изменения у больных БА выявлены на локальном уровне (в слизистой оболочке полости носа).

Практическая значимость работы

Разработан подход для оценки врождённого иммунитета на уровне слизистой оболочки полости носа у детей с БА, основанный на определении экспрессии генов распознающих рецепторов (TLR2, TLR4, TLR9) и HBD1, а также оценки про- и противовоспалительных цитокинов в назальных смывах. Выявленный дисбаланс показателей врождённого иммунитета в группе пациентов с БА различной степени тяжести позволяет рекомендовать включение данного подхода в комплекс клинично-лабораторных методов обследования для получения информации о состоянии мукозального иммунитета у детей с БА, оценки прогноза заболевания и эффективности проводимого лечения.

Обоснована информативность использования для оценки врожденного иммунитета соскобов со слизистой оболочки полости носа.

Разработанный метод позволяет прогнозировать тяжёлое и инфекционно-зависимое течение БА и может быть применим для исследования врождённого иммунитета при различных воспалительных заболеваниях дыхательных путей у детей.

Основные положения, выносимые на защиту

1. У детей с бронхиальной астмой на уровне слизистой оболочки полости носа выявлены нарушения врожденного иммунитета. Выраженность нарушений зависит от степени тяжести заболевания. Дисбаланс мукозального иммунитета у детей со средней и тяжелой степенью бронхиальной астмы проявляется снижением экспрессии гена противомикробного пептида HBD1 и увеличением экспрессии генов распознающих рецепторов TLR2, TLR4, TLR9, что свидетельствует о нарушении локальных иммунных механизмов защиты.

2. В слизистой оболочке полости носа обнаружено нарушение в системе цитокинов, проявляющееся значительным повышением про- и противовоспалительных цитокинов (IL-1, IL-8, TNF- α , IL-10, IL-4 IL-1 α) и снижением противовирусного цитокина IL-28B, что свидетельствует о развитии хронического воспаления и снижении локального противовирусного иммунитета в дыхательных путях. Значительное увеличение содержания эпителиальных цитокинов IL-33 и TSLP в назальных смывах способствует формированию Th2 типа иммунного ответа и atopического воспаления. Снижение регуляторного цитокина TGF- β в назальных смывах

исследуемых групп с бронхиальной астмой может косвенно свидетельствовать о подавлении функциональной активности Treg.

3. Сравнение показателей врожденного иммунитета (TLR2, TLR4, TLR9, IL-28B, IL-4, IL-33, TSLP, TGF- β) на локальном и системном уровнях показало, что слизистая оболочка носа является информативным объектом для диагностики нарушений мукозального иммунитета у больных бронхиальной астмой.

4. Выявлены иммунологически значимые маркеры врожденного иммунитета, ассоциированные с тяжелой формой бронхиальной астмы у детей: снижение экспрессии гена HBD1 более чем в 4 раза, увеличение экспрессии гена TLR2 более чем в 6,5 раз, TLR4 более чем в 2,5 раза, TLR9 более чем в 2,6 раз, увеличение содержания в назальных смывах IL-33 более чем в 2,2 раза, TSLP более чем в 2,4 раза, снижение противовирусного цитокина IL-28B более чем в 1,9 раз и регуляторного цитокина TGF- β более чем в 6,5 раз на уровне слизистой оболочки полости носа по сравнению с группой здоровых детей.

Апробация работы

Основные положения диссертационной работы были представлены на: Pediatric Allergy and Asthma Meeting (Берлин, Германия, 2015), 28-м Международном педиатрическом конгрессе IPA (Ванкувер, Канада, 2016), конгрессах Европейской академии аллергии и клинической иммунологии ЕААСI (Вена, Австрия, 2016; Хельсинки, Финляндия, 2017), Всероссийской научно-практической студенческой конференции с международным участием «Медицинская весна–2016» (Москва, 2016), Международном студенческом конгрессе биомедицинских наук ISCOMS (Гронинген, Нидерланды, 2017), на XII Международной Пироговкой научной конференции студентов и молодых ученых (Москва, 2017).

Апробация диссертации была проведена на заседании кафедры иммунологии медико-биологического факультета ФГБОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России 26 марта 2018 г. протокол № 18.

Внедрение результатов исследования

Результаты работы внедрены в клиническую практику в отделение стационарозамещающих технологий ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, а также в учебный процесс кафедры иммунологии МБФ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава России для студентов, ординаторов и аспирантов.

Получен патент “Способ оценки врождённого иммунитета у детей с бронхиальной астмой” №2618410 от 04.05.2017.

Публикации

По теме диссертационной работы опубликовано 18 печатных работ, в том числе 8 статей в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ.

Личный вклад автора

Автором были самостоятельно выполнены все этапы по подготовке диссертации: выбор направления исследования диссертационной работы, анализ и обобщение литературных источников, разработка дизайна исследования, определение цели и задач, забор биологического материала, выделение ДНК/РНК, проведение реакции обратной транскрипции и полимеразно-цепную реакции в режиме реального времени, внесение полученной информации в специально разработанные электронные таблицы и статистическая обработка данных с последующей интерпретацией и формулированием выводов. Автор лично участвовал в подготовке всех публикаций по выполненной работе, в апробации результатов исследования, а также лично написал и оформил рукопись.

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка использованной литературы. Работа изложена на 123 страницах и содержит 24 рисунка и 11 таблиц. Список литературы включает 170 библиографических источников, в том числе 27 отечественных и 143 зарубежных публикаций.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Характеристика групп обследуемых пациентов.

В исследование включено 178 детей. Исследуемую группу составили 111 пациентов с бронхиальной астмой в возрасте от 3-х до 12-ти лет, находившихся на обследовании и лечении в отделении стационарозамещающих технологий ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России. Перед включением в исследование было получено информированное согласие у родителей пациентов. Протокол клинического обследования утвержден на заседании Этического комитета ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (протокол №140 от 15 декабря 2014 г.)

Основными критериями для включения в исследование были верифицированный диагноз БА различной степени тяжести, подтвержденный атопический характер воспаления (положительные кожные пробы или повышение уровня сывороточного иммуноглобулина Е),

возраст от 3-х до 12 лет.

Группу сравнения составили 67 здоровых детей того же возраста, которые проходили плановую диспансеризацию в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России.

Дети были распределены в группы по степени тяжести БА. Так группа с легкой БА включает 54 ребенка, что составляет 48% от всех исследуемых пациентов. В группе с БА средней степени тяжести 15 детей (14%). И 42 пациента (38%) вошли в группу детей с тяжелой БА.

Несмотря на atopический фенотип БА, подтвержденный анамнестически, клинически и лабораторно у исследуемых пациентов подтверждена связь обострений БА с острой респираторной инфекцией. В 67,5% случаев отмечаются частые респираторные заболевания, приводящие к бронхообструктивному синдрому, самый большой процент частоболеющих детей в группах среднетяжелой и тяжелой БА (80% и 96% соответственно).

Методы.

В качестве биологического материала в работе были использованы соскобы слизистой оболочки полости носа и носоглотки, полученные с помощью «цитощётки» тип D, смывы из полости носа, а также цельная кровь, собранная в пробирку с ЭДТА, сыворотка и лейкомасса.

С целью исследование экспрессии генов TLR2, TLR4, TLR9, HBD1 и IL-28B проводился метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Из соскобов со слизистой оболочки и лейкоцитарной массы выделяли общую РНК, используя набор для выделения РНК «АмплиПРАЙМРибо-сорб» (ИнтерЛабСервис, РФ) по инструкции производителя. Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием «Набора для проведения реакции обратной транскрипции» (Синтол, РФ). Реакцию проводили в амплификаторе ДТ-96 с применением «Набора реагентов для проведения ПЦР-РВ в присутствии SYBRGreenI» и праймеров, синтезированных на фирме «Синтол», РФ. Анализ результатов проводили относительным методом измерений по $\Delta\Delta C_t$, получая результаты в виде относительных единиц RQ(relative quantity), показывающих во сколько раз больше или меньше экспрессия исследуемого гена в образце по отношению к гену актина [Ребриков Д.В., 2014].

Экспрессию молекул TLR2 и TLR4 на лейкоцитах периферической крови оценивали на проточном цитометре Beckman Coulter Navios (BeckmanCoulter, США). Для идентификации клеток использовали следующие моноклональные антитела: CD14, меченые APC («e-Biosciences»), CD45, меченые ECD («e-Biosciences»), CD282 (TLR2) и CD 284 (TLR4), меченые Alexa Fluor 488 («e-Biosciences»), изотипический контроль Mouse IgG2a, меченые Alexa Fluor 488 («e-Biosciences»). Среднюю интенсивность флуоресценции рассчитывали, как отношение интенсивности флуоресценции образца на интенсивность флуоресценции изотипического контроля [Хорева М.В., 2016].

Содержание IL-33, IL-4 и TGF- β 1 в назальных смывах и сыворотке крови оценивали с помощью наборов для иммуноферментного анализа Human IL-33 Platinum ELISA, Human IL-4

Platinum ELISA, Human TGF beta 1 Platinum ELISA (Affymetrix eBioscience, San Diego, CA, USA) согласно инструкции фирмы-производителя. С целью количественного анализа TSLP применяли Quantikine ELISA Human TSLP Immunoassay (R&D systems, USA). Для определения содержания IL-28B использовали набор ELISA Kit for Interleukin 28B (Cloud-Clone Corp., USA) «Сэндвич»-методом строго по протоколу фирмы-производителя. Для определения содержания про- и противовоспалительных цитокинов (IL-1b, IL-1ra, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α) в назальных смывах проводили мультиплексный иммунофлюоресцентный анализ (Bio-Plex MAGPIX Multiplex Reader, USA), с помощью набора Bio-Plex Pro Assays строго по протоколу фирмы-производителя.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения Statistica 6. Данные представлены в виде медианы и 25-75 перцентилей. Достоверные различия между исследуемыми группами рассчитывали с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни. Достоверными считались данные с коэффициентом $p < 0,05$. Корреляционный анализ проводился с применением коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Общий дизайн исследования представлен на рисунке 1.



Рисунок 1. Схема эксперимента по изучению показателей врожденного иммунитета

Результаты работы и обсуждение

В настоящем исследовании разработан комплексный подход для оценки врожденного иммунитета на уровне слизистой оболочки слизистой полости носа у больных БА. Данный подход включает оценку экспрессии генов противомикробного пептида β -дефенсина-1 и распознающих рецепторов TLR2, TLR4, TLR9, а также уровня про и противовоспалительных цитокинов в назальных смывах.

Сравнивая показатели экспрессии генов распознающих рецепторов между группами больных БА было выявлено, что тяжесть течения заболевания коррелирует с уровнем экспрессии. У детей со среднетяжелой и тяжелой астмой выявлено значительное повышение экспрессии гена TLR2 относительно контроля в 5,6 и 6,5 раза соответственно ($p \leq 0,01$). При оценке экспрессии гена TLR9 в этих группах пациентов выявлено повышение уровня экспрессии в 2,6 раз относительно контроля ($p \leq 0,05$). Также в группе с тяжелой БА отмечается достоверное повышение экспрессии гена TLR4 в 2,5 раза ($p \leq 0,05$) (табл.1).

Таблица 1. Экспрессия генов TLR2, TLR4, TLR9, HBD1 в клетках слизистой оболочки полости носа у здоровых детей и детей больных бронхиальной астмой различной степени тяжести.

Исследуемый ген Группы наблюдения	Экспрессия гена, относительные единицы			
	HBD1	TLR2	TLR4	TLR9
Дети с БА легкой степени тяжести	1,3 (0,4; 2,8)	0,46(0,1; 1,8)	0,81(0,1; 2,1)	0,23(0,03;1)
Дети с БА средней степени тяжести	1,7(0,7;2,1)*	1 (0,5; 3,6)**	0,76(0,08;1,4)	0,78 (0,3; 1)*
Дети с тяжелой формой БА	0,9(0,4;1,5)*	1,1(0,7;2,5)**	1 (0,7;1,9) *	0,75 (0,1; 1) *
Здоровые дети	2,8 (2; 4,4)	0,17 (0,09; 1,7)	0,46(0,2; 1)	0,29 (0,06; 0,3)
Данные представлены в виде медианы (25 %; 75 %), * - статистически значимое отличие от группы здоровых доноров ($p \leq 0,05$). ** - статистически значимое отличие от группы здоровых доноров ($p < 0,01$).				

Исследование количественного уровня экспрессии гена HBD1 в соскобе со слизистой оболочки полости носа у детей с БА в сравнении со здоровыми донорами показало снижение экспрессии гена HBD1 в 3 раза (табл. 1). Возможно, именно выявленное снижение уровня экспрессии гена β -дефенсина 1, который выполняет важные защитные функции, влечет за собой ослабление локальных механизмов защиты и развитие БА. Несвоевременное распознавание и

уничтожение агентов инфекции приводит к их неконтролируемому размножению и реализации воспалительного ответа в организме больного БА.

На основании полученных данных об уровнях экспрессии генов HBD 1 и TLR2, TLR4, TLR9 была выдвинута гипотеза о их роли в патогенезе БА. Противомикробные пептиды, продуцируемые эпителием слизистой оболочки респираторного тракта, предотвращают вторжение патогенов в слизистую. Однако если продукция противомикробных пептидов снижена, а бактериальная нагрузка увеличена, то патогены распознаются TLRs эпителиальных клеток и запускается провоспалительный каскад, приводящий к индукции цитокинов и хемокинов. Это приводит к развитию хронической воспалительной реакции.

Проанализировав экспрессию в клетках слизистой оболочки респираторного тракта, было решено провести оценку уровня экспрессии генов рецепторов врожденного иммунитета, распознающих PAMPs бактериальной (TLR2, TLR4) и вирусной природы (TLR9) на системном уровне, а именно в лейкоцитах периферической крови. У детей с легкой степенью БА экспрессия гена TLR2 имела тенденцию к повышению, тогда как уровень экспрессии генов TLR4 и TLR9 в 1,5 и 2 раза соответственно ниже уровня экспрессии у здоровых детей. Экспрессия гена TLR2 в лейкоцитах в группе пациентов с тяжелой астмой оказалась достоверно сниженной в 3 раза по сравнению со здоровыми детьми ($p \leq 0,05$). Имеется нарушение в экспрессии гена TLR2, что, возможно обусловлено ингибированием транскрипции гена TLR2 и ведет к низкой экспрессии его на поверхность клетки и сниженной передачи сигнала в клетку в ответ на патогены и другие TLR2-лиганды. В этой же группе исследуемых пациентов экспрессия гена TLR4 в лейкоцитах снижена в 2 раз по сравнению с контролем.

Выявленное снижение экспрессии генов TLR2, TLR4 и TLR9 в лейкоцитах периферической крови в сравнении с показателями экспрессии в клетках слизистой оболочки, что говорит о выраженном локальном характере воспаления при БА.

Получив данные о снижении экспрессии генов TLR2 и TLR4 в лейкоцитах больных БА, была проведена оценка распознающих рецепторов (TLR2 и TLR4) на поверхности CD14⁺ - моноцитов, лимфоцитов и гранулоцитов периферической крови исследуемых пациентов по сравнению с группой здоровых детей. В группе детей с тяжелым течением БА обнаружено повышение количества гранулоцитов, экспрессирующих TLR2 ($p=0,049$), но изменений интенсивности экспрессии TLR2 на гранулоцитах не выявлено (табл. 2).

При анализе интенсивности экспрессии TLR2 на лейкоцитах периферической крови установили, что в группах больных со среднетяжелой и тяжелой астмой достоверно увеличена интенсивность экспрессии TLR2 на CD14⁺ моноцитах ($p=0,02$; $p=0,048$). Интенсивность экспрессии TLR2 на лимфоцитах периферической крови пациентов этих групп достоверно снижена по сравнению со здоровыми детьми ($p=0,005$; $p=0,03$) (табл. 2).

Таблица 2. Средняя интенсивность экспрессии TLR2 и TLR4 на клетках периферической крови у здоровых детей и больных бронхиальной астмой

		Здоровые дети	Дети с БА средней степени тяжести	Дети с тяжелой БА
TLR2	CD14+мон-ты	9,64 (8,73-10,8)	15,08(13,9-9,1)*	12,3(10,4-22,7)*
	Лимфоциты	1,39 (1,19-1,54)	1,08(1,03-,17)*	1,17(1,12-1,23)*
	Гранулоциты	2,27 (1,8-2,4)	2,4 (2,31-3,25)	2,62 (2,2-5,2)
TLR4	CD14+мон-ты	1,52 (1,48-1,67)	1,8 (1,6-2,62)*	2,16 (1,74-2,3)*
	Лимфоциты	1,08 (1,01-1,14)	1,08 (1-1,12)	1,04 (0,99-1,07)
	Гранулоциты	4,41 (3,33-4,84)	3,26 (2,5-3,6)*	2,51 (1,67-3)*
Примечание: СИФ представлены в относительных единицах.				
* - статистически значимое отличие от группы здоровых доноров ($p < 0,05$).				

При оценке экспрессии TLR4 на клетках периферической крови больных БА выявили повышение CD14⁺ - моноцитов, экспрессирующих TLR4 в обеих группах ($p=0,005$ в I группе и $p=0,002$ во II группе), также отмечено увеличение интенсивности экспрессии TLR4 на CD14⁺ моноцитах ($p=0,04$ в группе с БА средней степени тяжести и $p=0,009$ в группе с тяжелой БА). При этом, изменений количества лимфоцитов и гранулоцитов, экспрессирующих TLR4, не обнаружено. В обеих группах больных БА наблюдали снижение интенсивности экспрессии TLR4 на гранулоцитах по сравнению с показателями в группе здоровых детей ($p=0,04$ и $p=0,044$, соответственно) (табл. 2). Изменений интенсивности экспрессии TLR4 на лимфоцитах периферической крови у детей с БА не выявлено.

Таким образом, данное исследование показало увеличение экспрессии TLR2 и TLR4 на циркулирующих CD14⁺ моноцитах периферической крови у детей с бронхиальной астмой по сравнению с группой здоровых детей. Согласно данным литературы, циркулирующие моноциты периферической крови играют существенную роль в развитии и поддержании аллергического воспаления [Tashiro H., 2016]. Моноциты способны мигрировать в подслизистую оболочку бронхов, где продуцируют провоспалительные цитокины и хемокины, таким образом принимая участие в развитии и поддержании хронического воспаления. На основании выявленных изменений в экспрессии TLR2 и TLR4 на лейкоцитах периферической крови детей с БА можно предположить, что циркулирующие моноциты периферической крови у детей в исследуемых группах преактивированы.

В настоящее время внимание исследователей приковано к изучению роли цитокинов IL-33 и TSLP, секретируемых эпителиальными клетками слизистой оболочки дыхательных путей при взаимодействии аллергенов с TLRs, в патогенезе БА. Нами проведено определение содержания IL-33 в назальных смывах больных БА. У больных с тяжелой формой БА и неконтролируемым

течением выявлено достоверное увеличение содержания IL-33 (42,5 пг/мг) по сравнению с группой здоровых детей (20 пг/мг, $p=0,016$). Полученные данные представлены на рисунке 2.

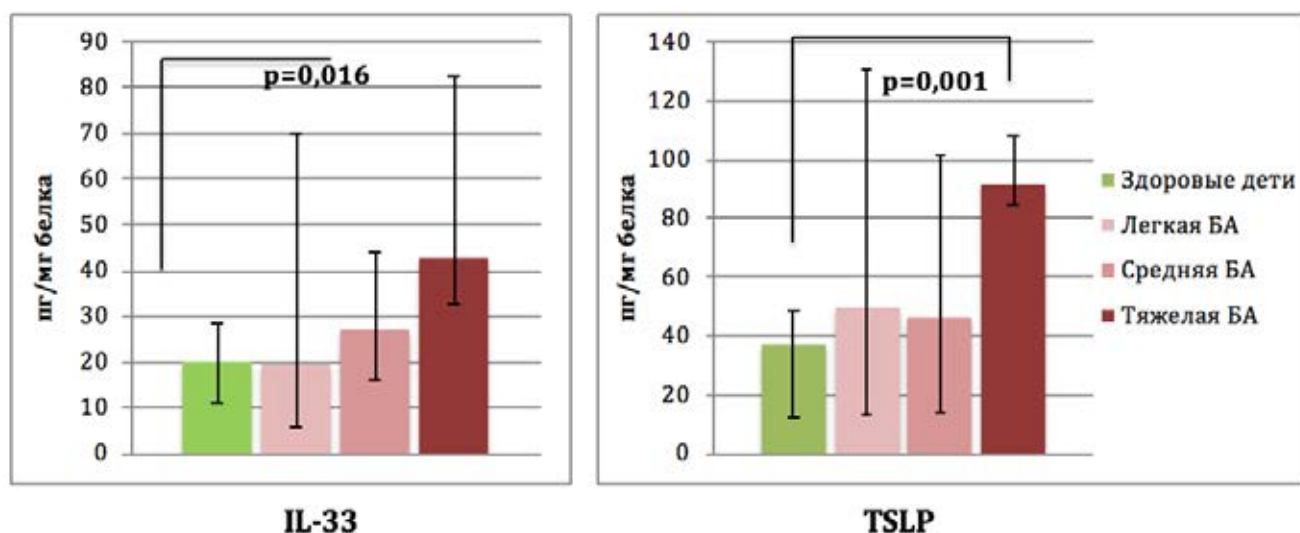


Рисунок 2. Содержание IL-33 и TSLP в смывах со слизистой полости носа у здоровых детей и детей больных бронхиальной астмой различной степени тяжести

При оценке показателей концентраций цитокина IL-33 в сыворотке крови в исследуемой и контрольной выборках были выявлены схожие результаты. Причем более выраженные изменения обнаружены на локальном уровне, содержание IL-33 в смывах из полости носа в значительно превышает его уровень в сыворотке крови пациентов с тяжелой БА.

У больных с легкой и среднетяжелой формой БА выявлена тенденция к увеличению содержания TSLP в назальных смывах. При этом у пациентов с тяжелой БА содержание TSLP в 2,4 раза превышает показатель группы контроля ($p \leq 0,05$) (рис.2).

При оценке показателей концентраций TSLP на системном уровне в исследуемой и контрольной выборках значимых различий между группами не выявлено. Более того содержание цитокина в сыворотке крови исследуемых пациентов было значительно ниже относительно его содержания в назальных смывах. Так уровень TSLP в сыворотке пациентов с тяжелой БА составил 8,9 пг/мл, что значительно ниже его уровня в смывах из полости носа. Выявленный факт подтверждает локальную роль данного цитокина на слизистых оболочках респираторного тракта.

Как известно, взаимодействие TLRs с лигандами, в качестве которых могут выступать аллергены, патогены и др. факторы, индуцирует выработку различных провоспалительных цитокинов. Увеличение их продукции приводит к дальнейшему усилению синтеза провоспалительных цитокинов и хемокинов, увеличению экспрессии молекул адгезии, привлечению нейтрофилов и эозинофилов, что способствует развитию и поддержанию хронического воспаления дыхательных путей и развитию БА [V.Piras, 2014].

Анализ результатов оценки спектра цитокинов выявил закономерное увеличение содержания провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α) в смывах из полости носа больных с БА в зависимости от степени тяжести. В образцах пациентов с тяжелой астмой содержание исследуемых провоспалительных цитокинов было выше по сравнению с показателями у больных среднетяжелой БА и здоровых детей ($p \leq 0,05$). В группе со среднетяжелой астмой также отмечается тенденция к повышению уровня провоспалительных цитокинов, относительно контроля, но не является достоверной (табл.3)

Таблица 3. Содержание провоспалительных цитокинов в назальных смывах пациентов с БА и здоровых детей

Исследуемый цитокин Группы наблюдения	IL-1b	IL-6	IL-8	TNF-α
Дети с БА средней степени тяжести	7 (3,1-9,6)	2,3 (1,2-2,6)	126,5 (56,3-419,5)	7,8 (14,1-13,9)
Дети с тяжелой формой БА	45 (35,4-54,6) *	6,6 (6,3-7) *	874 (866,2-881,8)*	17 (15,6-19,1) *
Здоровые дети	10 (9,7-11,2)	1,4 (1,3-2,5)	82,7 (43,9-169)	3(2,5-6,8)
Данные представлены в виде медианы (25 %; 75 %), * - статистически значимое отличие от группы здоровых доноров ($p < 0,05$)				

Параллельно в смывах из полости носа оценивали уровень противовоспалительных цитокинов. Содержание IL-1ra у больных среднетяжелой сопоставим с группой контроля. При этом у пациентов с тяжелой формой отмечается существенное повышение содержания IL-1ra в 9,5 раз по сравнению с группой здоровых детей. Подобные результаты были выявлены и при анализе показателей противовоспалительного цитокина IL-10 в исследуемых группах (табл.4). Оценивая уровень цитокина IL-4 в группе пациентов с тяжелой формой БА обнаружено достоверное повышение данного цитокина в назальных смывах по сравнению с контролем ($p \leq 0,05$) (табл.4). Полученные результаты свидетельствуют о важной роли противовоспалительного цитокина IL-4. Это обусловлено тем, что активированные аллергенспецифические Th2 продуцируют широкий спектр цитокинов, в том числе и IL-4, который приводит к усилению пролиферации В-лимфоцитов, переключение изотипа В-клеток на синтез IgE.

Таблица 4. Содержание противовоспалительных цитокинов в назальных смывах здоровых детей и детей больных бронхиальной астмой различной степени тяжести

Исследуемый цитокин Группы наблюдения	Содержание цитокинов, пк/мг белка			
	IL-1ra	IL-10	IL-4	TGF-β
Дети с БА легкой степени тяжести	57 (29,2-105,6)	6,7 (2,3-15)	0,5 (0,1-1,65)	398 (47,7-971,4)
Дети с БА средней степени тяжести	66 (41,6-106,8)	7,4 (2,4-16,6)	0,9 (0,5-1,7)	287,3 (97,4-730)
Дети с тяжёлой формой БА	579 (338-813) *	23 (21,8-24,5) *	6,2 (3,3-8,5) *	385,4 (240,5-522)
Здоровые дети	60,4 (55-70,6)	5,2 (3,3-11,6)	1,5 (0,7-2,7)	2532 (1687-3175)

Данные представлены в виде медианы (25 %; 75 %),
* - статистически значимое отличие от группы здоровых доноров ($p < 0,05$)

На следующем этапе оценки противовоспалительных цитокинов, проведено исследование уровня TGF-β в смывах из полости носа и сыворотке крови пациентов с БА. При оценке противовоспалительного цитокина TGF-β с выраженным иммунорегуляторным действием выявлены значительные изменения в его содержании в смывах из полости носа у пациентов с БА различной степени тяжести. Во всех исследуемых группах отмечается выраженное, достоверное снижение уровня данного регуляторного цитокина (рис. 3).

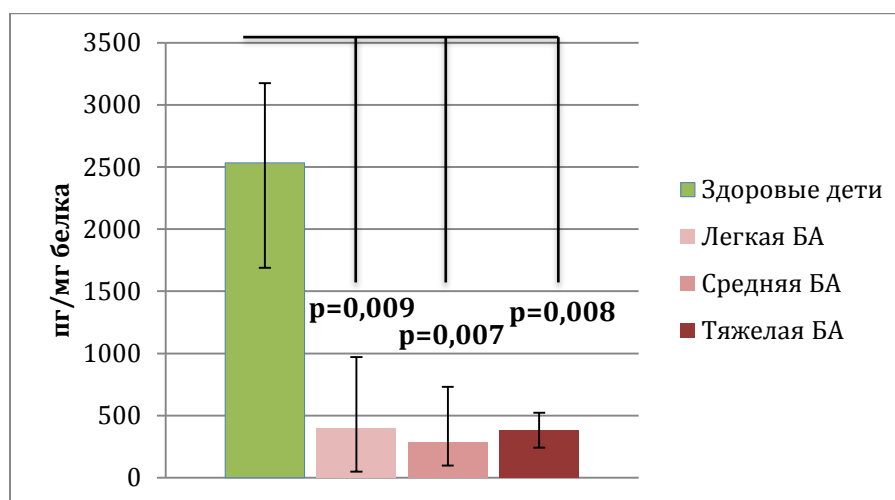


Рисунок 3. Содержание TGF-β1 в смывах со слизистой оболочки полости носа у здоровых детей и детей больных бронхиальной астмой различной степени тяжести

Более того, на системном уровне можно отметить корреляционную зависимость от степени тяжести, заключающуюся в более низких концентрациях регуляторного цитокина TGF- β в группах с тяжелой и среднетяжелой астмой. При этом в группе больных с легкой БА выявлена тенденция к повышению содержания исследуемого цитокина в сравнении с показателями пациентов среднетяжелой и тяжелой БА, а также с контролем, что может говорить о компенсаторном механизме.

Таким образом, дисбаланс факторов врожденного иммунитета подтвержден высоким уровнем как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов в назальных смывах, за исключением TGF- β . Выявлена прямая зависимость от стадии БА, характеризующаяся возрастающим содержанием цитокинов в зависимости от тяжести заболевания.

Можно предположить, что при БА тяжелой степени наблюдается переключение сигнальных каскадов, направленных на выработку провоспалительных цитокинов, участвующих в развитии хронического воспаления в дыхательных путях у детей с atopической астмой, осложненной частыми ОРВИ.

Роль IL-28B (IFN- λ 3) и его связь с другими показателями врожденного иммунитета при астме еще не до конца ясна. На первом этапе проведено определение содержания IL-28B в смывах из полости носа у детей с БА. У больных легкой степени тяжести выявлено достоверное увеличение содержания IL-28B в назальных смывах в 4,5 раза превышающее показатели группы контроля. А в группе больных БА тяжелой степени выявлена тенденция к снижению концентрации IL-28B в сравнении с показателями пациентов с легкой и среднетяжелой БА, а также с контролем (рис.4).

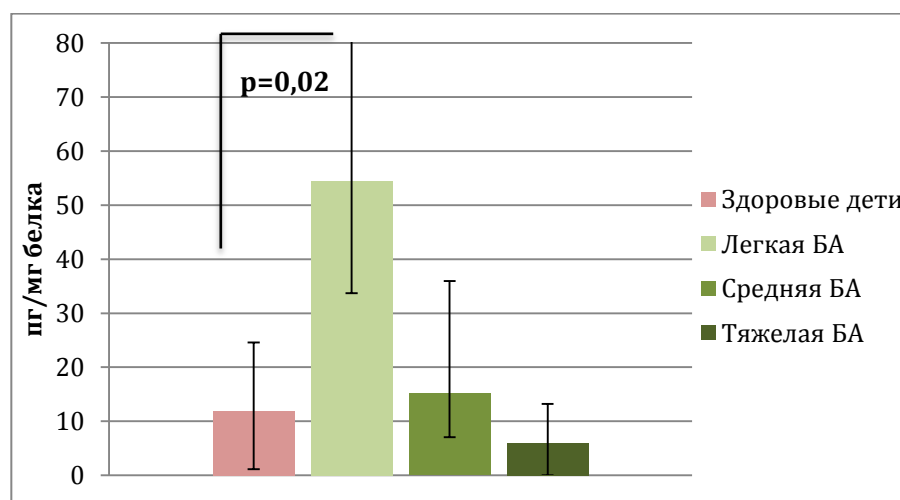


Рисунок 4. Содержание IL-28B в смывах со слизистой полости носа у здоровых детей и детей больных бронхиальной астмой различной степени тяжести

Параллельно с исследованием IL-28B проводили оценку экспрессии гена IL-28B в соскобах со слизистой оболочки полости носа. У детей с легкой степенью БА показатели экспрессии гена IL-

IL-28B повышены в 2,9 раза относительно контроля ($p \leq 0,01$). Достоверное увеличение экспрессии гена IL-28B в 15,7 ($p \leq 0,01$) выявлено у пациентов со среднетяжелой БА. Подобные результаты были выявлены и при оценке экспрессии гена IL-28B у детей группы с тяжелой астмой ($p \leq 0,01$).

Был проведен корреляционный анализ, с помощью которого выявлена обратная корреляционная зависимость между экспрессией гена IL-28B и продукцией IL-28B ($R = -0,928571$, $p < 0,05$) у пациентов с тяжелой степенью БА. У пациентов этой группы увеличивается экспрессия гена IL-28B, но при этом продукция этого интерферона снижается.

Представляют интерес полученные нами данные по сравнению уровня продукции и экспрессии гена IL-28B. У детей с легкой степенью БА увеличение экспрессии гена соответствовало увеличению выработки IL-28B. В то же время у пациентов со средней и тяжелой БА наблюдалась обратная зависимость, когда значительное увеличение экспрессии гена не приводит к выраженному изменению синтеза IL-28B. Полученный результат, по-видимому, может быть объяснен нарушением процессов на уровне трансляции IL-28B и действием вирусов на процессы синтеза белков, в частности, на синтез IL-28B в клетке [Ганковская Л.В., 2017].

Таким образом, на основании полученных данных разработан подход к оценке врожденного иммунитета у детей с БА на уровне слизистой респираторного тракта, включающий оценку паттернраспознающих рецепторов (TLR2, TLR4, TLR9) и эффекторных молекул (дефенсинов, цитокинов).

Выявлен дисбаланс, проявляющийся в снижении уровня экспрессии гена противомикробного пептида дефенсина 1, и увеличении экспрессии генов TLR 2, TLR 4 и TLR9. Следствием повышенной экспрессии TLRs является увеличение выработки TSLP и IL-33 эпителиальными клетками слизистой оболочки полости носа у больных БА. Данные цитокины обладают иммунорегуляторным действием - активируют ДК, формируют Th2 тип иммунного ответа. Более того, через активацию ILC2 они способствуют выработке цитокинов (IL-4, IL-9, IL-13) и развитию аллергического типа воспаления [Cayrol C., 2014].

Также выявлен дисбаланс в локальном уровне цитокинов в слизистой полости носа, сопровождающийся увеличением выработки провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α) и снижением противовирусного цитокина IL-28B при тяжелой форме БА, что может являться важнейшим этиопатогенетическим звеном как формирования самой БА, так и ее вирус-индуцированных осложнений. Можно предположить, что при БА тяжелой степени наблюдается переключение сигнальных каскадов, направленных на выработку цитокинов, участвующих в развитии хронического воспаления в дыхательных путях. При этом выявляется дефект в выработке ключевого фактора местного противовирусного ответа - IL-28B.

На основании полученных нами результатов и литературных данных представлена обобщенная схема участия механизмов врожденного иммунитета в патогенезе БА (рис 5).

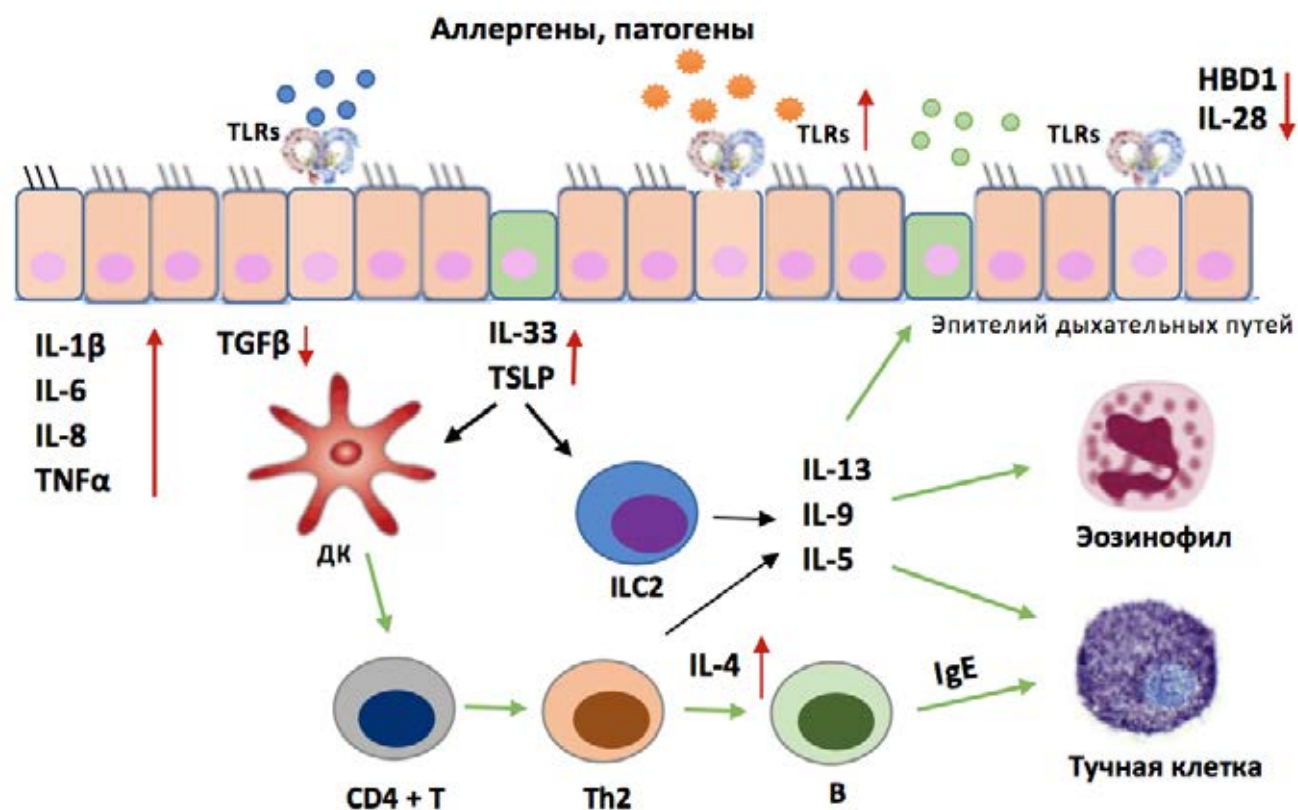


Рисунок 5. Обобщенная схема участия механизмов врожденного иммунитета в патогенезе бронхиальной астмы.

Условные обозначения: ↑ - повышение показателя, ↓ - снижение показателей, выявленное в наших исследованиях.

Таким образом, на основании данного подхода определены маркеры, ассоциированные с тяжелой степенью БА у детей.

На локальном уровне:

- Снижение гена HBD1 более чем в 4 раза,
- Повышение экспрессии генов TLR2, TLR4 и TLR9 более чем в 6,5, 2,5 и 2,6 раз соответственно,
- Снижение содержания IL-28B в назальных смывах в 3 раза,
- Повышение содержания TSLP и IL-33 в назальных смывах более чем в 2,4 и 2,2 раза соответственно,
- Повышение уровня про- и противовоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, IL-8, TNF-α, IL-1ra, IL-10, IL-4),
- Снижение содержания регуляторного цитокина TGF-β более чем в 6,5 раз.

На системном уровне:

- Снижение экспрессии гена TLR2 в лейкоцитах периферической крови более чем в 3 раза,

- Увеличение интенсивности экспрессии TLR2 и TLR4 на циркулирующих CD14⁺ моноцитах,
- Снижение содержания регуляторного цитокина TGF- β в сыворотке крови более чем в 2,9 раз.

Новый взгляд на механизмы врожденного иммунитета, и в первую очередь на систему распознающих рецепторов TLR2, TLR4, TLR9, эпителиальных цитокинов TSLP и IL-33, а также противовирусного цитокина - IL-28B открывает новые подходы к диагностике и лечению бронхиальной астмы у детей.

ВЫВОДЫ

1. У больных со средней и тяжелой степенью бронхиальной астмы выявлен дисбаланс факторов врожденного иммунитета на уровне слизистой оболочки полости носа, проявляющийся в увеличении экспрессии генов распознающих рецепторов TLR2 более чем в 5,6-6,5 раз, TLR4 в 2,5 раза, TLR9 в 2,5-2,6 раз и снижением экспрессии гена противомикробного пептида HBD1 более чем в 3-4 раза.

2. Выявлено увеличение интенсивности экспрессии молекул TLR2 и TLR4 на CD14⁺ моноцитах периферической крови детей с бронхиальной астмой по сравнению с группой здоровых детей.

3. Выявлено достоверное увеличение содержания цитокинов IL-33 и TSLP в назальных смывах больных средней и тяжелой степенью бронхиальной астмы в сравнении со здоровыми донорами, что может способствовать развитию аллергического типа воспаления.

4. Дисбаланс факторов врожденного иммунитета подтвержден высоким уровнем как провоспалительных (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α), так и противовоспалительных цитокинов (IL-1 γ , IL-10, IL-4), исключая TGF- β в назальных смывах. Выявлена прямая зависимость от стадии бронхиальной астмы, характеризующаяся возрастающим содержанием цитокинов в зависимости от тяжести заболевания.

5. У детей с легкой степенью бронхиальной астмы увеличение экспрессии гена противовирусного цитокина IL-28B соответствовало увеличению его выработки. У пациентов с тяжелой степенью бронхиальной астмы значительное увеличение экспрессии гена не приводит к выраженному изменению синтеза IL-28B. Установлено снижение содержания цитокина IL-28B в назальных смывах в группе больных бронхиальной астмой тяжелой степени более чем в 2 раза относительно данного показателя в группе здоровых доноров.

6. Разработана панель экспрессионных и белковых маркеров врожденного иммунитета, ассоциированных с тяжелой формой бронхиальной астмы у детей.

7. Изменение показателей врожденного иммунитета (экспрессия генов TLR2, TLR4, TLR9, HBD1, про- и противовоспалительных цитокинов, IL-33, TSLP) наиболее выражены на уровне слизистой оболочки полости носа у детей с бронхиальной астмой. Слизистая оболочка является информативным объектом для исследования механизмов врожденного иммунитета в патогенезе бронхиальной астмы.

Практические рекомендации

1. Соскобы со слизистой оболочки полости носа целесообразно использовать в качестве информативного объекта для исследования показателей врожденного иммунитета у больных бронхиальной астмой.
2. Достоверное увеличение экспрессии генов рецепторов TLR2, TLR4, TLR9 более чем в 6,5 раз, в 2,5 раза, в 2,6 раз, соответственно и снижение экспрессии гена противомикробного пептида HBD1 более чем в 3 раза в соскобах со слизистой полости носа у детей с бронхиальной астмой свидетельствует о нарушении локальных иммунных механизмов защиты, и может быть рекомендовано для прогнозирования тяжелого инфекционно-зависимого течения бронхиальной астмы.
3. Исследование в назальном смыве содержания эпителиальных цитокинов IL-33 и TSLP возможно использовать как дополнительные маркеры тяжелого течения бронхиальной астмы у детей.

Список публикаций по теме диссертации:

1. Брагвадзе Б.Г. Анализ экспрессии генов TLRs и ассоциации полиморфизмов гена DEFB1 у детей с бронхиальной астмой / Зайцева М.А., Брагвадзе Б.Г., Свитич О.А., Ганковская Л.В. // **Вестник РГМУ.** – 2016. - №3. - С.43-47
2. Брагвадзе Б.Г. Молекулярно-генетические механизмы врожденного иммунитета в патогенезе бронхиальной астмы / Свитич О.А., Ганковская Л.В., Намазова-Баранова Л.С., Зайцева М.А., Брагвадзе Б.Г., Алексеева А.А., Ганковский В. А. // **Аллергология и иммунология.** – 2016. - Том 17.- № 2. - С. 128
3. Брагвадзе Б.Г. Механизмы врожденного иммунитета в патогенезе бронхиальной астмы / Свитич О.А., Намазова-Баранова Л.С., Брагвадзе Б.Г., Зайцева М.А., Ганковская Л.В. // **Аллергология и иммунология.** – 2016. - Том 17. - №3. - С. 194-196.
4. Брагвадзе Б.Г. Изменение мукозального иммунитета у детей с бронхиальной астмой. / Ганковская Л.В., Намазова-Баранова Л.С., Свитич О.А., Брагвадзе Б.Г., Алексеева А.А., Ганковский В.А., Зайцева М.А. // **Российский Аллергологический Журнал.** Материалы межрегионального форума с международным участием «Клиническая иммунология и аллергология – междисциплинарные проблемы» - 2016. - №3. – Том 2. - С.17
5. Брагвадзе Б.Г. Дисбаланс механизмов врожденного иммунитета у детей с бронхиальной астмой / Ганковская Л.В., Намазова-Баранова Л.С., Свитич О.А., Алексеева А.А., Брагвадзе Б.Г., Ганковский В.А., Зайцева М.А. // Сборник материалов XIX конгресса педиатров России "Актуальные проблемы педиатрии" – 2016. - С. 66
6. Брагвадзе Б.Г. Дисбаланс механизмов врожденного иммунитета у детей с бронхиальной астмой / Дорина Л.А., Алексеева А.А., Брагвадзе Б.Г. // Всероссийская научно-практическая студенческая конференция с международным участием «Медицинская весна–2016» сборник материалов. - 2016. - С. 325
7. Брагвадзе Б.Г. Особенности экспрессии TLRs у детей с бронхиальной астмой на локальном и системном уровнях / Дорина Л.А., Брагвадзе Б.Г. // Сборник тезисов XII Международной Пироговской научной конференции студентов и молодых ученых. – 2017. - С. 241
8. Брагвадзе Б.Г. Изменение мукозального иммунитета у больных бронхиальной астмой / Ганковская Л.В., Свитич О.А., Брагвадзе Б.Г. // **Аллергология и иммунология.** – 2017. - Том 18. - №1. - С. 43.
9. Брагвадзе Б.Г. Особенности экспрессии Toll-подобного рецептора 2 и Toll-подобного рецептора 4 у детей с бронхиальной астмой / Ганковская Л.В., Намазова-Баранова Л.С., Хорева М.В., Брагвадзе Б.Г., Смирнова А.Д., Алексеева А.А., Свитич О.А. // **Медицинская иммунология.** – 2017. – Том 19. - №4. - С. 431-440.
10. Брагвадзе Б.Г. Особенности экспрессии IL-28B у детей с бронхиальной астмой / Ганковская Л.В., Намазова-Баранова Л.С., Свитич О.А., Брагвадзе Б.Г., Алексеева А.А., Ганковский В.А. // **Российский иммунологический журнал.** – 2017.- Том 11(20). - №4. – С. 641-646.

11. Брагвадзе Б.Г. Эпигенетика рецепторов врожденного иммунитета (TLR2 и TLR4) и их роль в патогенезе бронхиальной астмы / Быстрицкая Е.П., Ганковская Л.В., Намазова-Баранова Л.С., Брагвадзе Б.Г., Ганковский В. А., Свитич О.А.// **Аллергология и иммунология.** – 2018. - Том 19. - № 2. - С. 79-82.
12. Bragvadze B. Association between a functional single nucleotide polymorphism in the defb-1 gene and risk of child asthma / Gankovskii V., Svitich O., Gankovskaya L., Alekseeva A., Zaiceva M., Bragvadze B., Namazova-Baranova L. // 28th International Congress of Pediatrics. – 2016. – p. – 44.
13. Bragvadze B. Association of snps in DEFB-1 gene and HBD-1 expression with bronchial asthma / Svitich O., Gankovskaya L., Namazova-Baranova L., Gankovskii V., Zaiceva M., Alekseeva A., Bragvadze B. // EAACI Congress. - 2016. - №1415. - p. – 280.
14. Bragvadze B. Association of molecular and genetic markers in HBD-1 gene with bronchial asthma / Svitich O., Gankovskaya L., Baranova-Namasova L., Gankovskii V., Alekseeva A., Zaitseva M., Bardashevskaya A., Bragvadze B. // Pediatric Allergy and Asthma Meeting (15-17 Oct 2015, Берлин). – 2015. - PD-07.
15. Bragvadze B. Molecular-genetic mechanisms of innate immunity in the pathogenesis of bronchial asthma / Svitich O., Gankovskaya L., Namazova-Baranova L., Zaitceva M., Bragvadze B., Alekseeva A., Gankovskii V. // International Journal on Immunorehabilitation. – 2016. – 18. - №1. - p. 38-39.
16. Bragvadze B. Methylation and expression of TLR2 and TLR4 and their role in asthma / Bystritskaia E., Gankovskaya, L., Namazova-Baranova L., Bragvadze B., Gankovskii V., Svitich O. // ISCOMS. – 2017.
17. Bragvadze B. The disbalance of TLR2, TLR4 gene expression and cytokines production in children with bronchial asthma / Svitich O., Gankovskaya L., Namazova-Baranova L., Bragvadze B., Alekseeva A., Gankovskii V. // EAACI Congress. – 2017. – 0362.
18. Патент № 2618410, Российская Федерация, МПК G01N 33/50. Способ оценки врожденного иммунитета у детей с бронхиальной астмой / Ганковская Л.В., Намазова-Баранова Л.С., Свитич О.А., Брагвадзе Б.Г., Алексеева А.А., Ганковский В.А. заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ. - №2016125181; заяв. 24.06.2016; опубл. 03.05.2017, Бюл. №13.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БА – бронхиальная астма

ДК – дендритная клетка

ПЦР-РВ – полимеразная цепная реакция в режиме реального времени

РНК – рибонуклеиновая кислота

ЭДТА - этилендиаминтетрауксусная кислота

CD – номенклатура дифференцировочных антигенов лейкоцитов человека

HBD1 – β -дефенсин1

Ig E – иммуноглобулин E

TLR – Толл-подобные рецепторы

IFN — интерферон

IL — интерлейкин

ILC (innate lymphoid cells) – врожденные лимфоидные клетки

PAMP (Pathogen-associated molecular pattern) - патогенассоциированные молекулярные паттерны

TGF- β – трансформирующий фактор роста β

Th – Т-хелперы

TNF- α – фактор некроза опухолей α

TSLP (thymic stromal lymphopoietin) - тимический стромальный лимфопоэтин

Treg – Т-регуляторные лимфоциты