

## Характеристика экспрессии транскрипционного фактора pSTAT3 при бронхиальной астме

В.Н. МИНЕЕВ, Т.М. ЛАЛАЕВА

ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

### Резюме

**Цель исследования.** Изучить транскрипционный фактор pSTAT3 у больных бронхиальной астмой (БА) с избыточной массой тела на модели мононуклеаров периферической крови исходно и в условиях модуляции рекомбинантным лептином.

**Материалы и методы.** Использовали метод проточной флуориметрии по стандартному протоколу Bio-Plex на иммуноанализаторе (проточном флуориметре) Bio-Plex («Bio-Rad», США) с применением технологии xMAP исходно и в условиях модуляции рекомбинантным лептином (Leptin, human, recombinant expressed in a *E. coli* «Sigma», США)

**Результаты.** Выявлено выраженное снижение уровня транскрипционного фактора pSTAT3 у больных неаллергической БА и повышение уровня этого транскрипционного фактора у больных аллергической БА (АБА). При модуляции уровня pSTAT3 рекомбинантным лептином отмечалось парадоксальное снижение pSTAT3 у женщин, больных АБА, с избыточной массой тела моложе 45 лет, как и у больных неаллергической БА.

**Заключение.** Повышение уровня транскрипционного фактора pSTAT3 при АБА, вероятно, является следствием суперэкспрессии pSTAT3 у больных этой группы. Парадоксальное снижение уровня pSTAT3 у женщин при АБА моложе 45 лет с избыточной массой тела, аналогичное группе больных неаллергической БА, может быть объяснено усилением экспрессии факторов негативного контроля SOCS3 и лептинорезистентностью.

**Ключевые слова:** лептин, STAT-3, бронхиальная астма.

## Characteristics of the expression of the transcription factor pSTAT3 in asthma

V.N. MINEEV, T.M. LALAEVA

I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Ministry of Health of Russia, Saint Petersburg, Russia

**Aim.** To investigate the transcription factor pSTAT3 in overweight asthmatics on a model of peripheral blood mononuclear cells at baseline and during recombinant leptin modulation.

**Materials and methods.** A flow fluorometric assay was used according to the standard Bio-Plex protocol on a Bio-Plex immunoanalyzer (a flow fluorimeter) (Bio-Rad, USA) using xMAP technology at baseline and during modulation with recombinant leptin (Leptin, human, recombinant, expressed in a *E. coli*, Sigma, USA).

**Results.** There was an obvious reduction in the level of the transcription factor pSTAT3 in patients with non-allergic asthma and an increase in that in patients with allergic asthma (AA). Recombinant leptin modulation of pSTAT3 levels caused their paradoxical decrease in both overweight women younger than 45 years of age with AA and in those with non-allergic asthma.

**Conclusion.** The elevated level of the transcription factor pSTAT3 in AA is probably due to the overexpression of pSTAT3 in this group of patients. The paradoxical decrease in pSTAT3 levels in overweight women under 45 years of age with AA, which is similar in the non-allergic asthma group, can be explained by the enhanced expression of negative SOCS3 regulators and by leptin resistance.

**Keywords:** leptin, STAT3, asthma.

АБА — аллергическая бронхиальная астма

БА — бронхиальная астма

ГКС — глюкокортикостероиды

ИМТ — индекс массы тела

НАБА — неаллергическая БА

IL — интерлейкин

Известно, что доминирующую роль в развитии и дифференцировке клеток Th2 играют интерлейкин (IL) 4 и транскрипционный фактор STAT6.

На многочисленных экспериментальных моделях животных показано, что трансгенные мыши, экспрессирующие IL-4 или конститутивно активный STAT6, характеризуются развитием аллергического воспаления, тогда

как редукция воспалительного ответа связана с дефицитом (метод программируемого нокаута генов) IL-4 или STAT6 [1].

У больных аллергической бронхиальной астмой (АБА), не получающих глюкокортикостероиды в фазе обострения, показано увеличение экспрессии активированного pSTAT6 (фосфорилированная форма) в лимфо-

### Сведения об авторах:

Минеев Валерий Николаевич — д.м.н., проф. каф. госпитальной терапии им. акад. М.В. Чернуцкого

### Контактная информация:

Лалаева Татьяна Михайловна — к.м.н., ассистент кафедры госпитальной терапии им. акад. М.В. Чернуцкого; e-mail: t.lalaeva@yandex.ru



цитах периферической крови, что ассоциировалось с выраженным клеточным воспалительным процессом за счет активации STAT6 [2]. Вместе с тем предполагают, что для развития и дифференцировки Th2 необходимо участие наряду со STAT6 транскрипционного фактора STAT3. Хотя известно, что STAT3 участвует в дифференцировке лимфоцитов Th17 и Th1, IL-6 и лептин, активируя STAT3, способствуют тому, что этот транскрипционный фактор участвует в экспрессии Maf (подтип транскрипционного фактора AP-1 — фактора, необходимого для последующей экспрессии IL-4 в клетках Th2). STAT3 непосредственно связывает локусы Maf и Batf. Однако окончательная роль STAT3 в развитии Th2-ответа неясна [3].

В этой связи представляют большой интерес изучение особенностей лептиновой сигнализации на пострецепторном уровне, в частности участие транскрипционных факторов, а именно STAT3, экспрессия которого при бронхиальной астме (БА) практически не изучена. STAT3 экспрессируется в эпителиальных клетках, Т-лимфоцитах CD4+ и участвует в развитии аллергического воспаления у мышей. Модуляция хронического аллергического воспаления при ингаляции аллергена у животных индуцировала активность STAT3 в эпителии бронхов, гладкой мускулатуре и клеток окружения. STAT3, экспрессируясь в эпителии бронхов, индуцирует хемокины TARC (CCL17), при этом снижение экспрессии STAT3 демонстрировало уменьшение эозинофилии и количества лимфоцитов Th2 в бронхах, снижение активности воспаления и гиперреактивности бронхов.

Недавно показано, что транскрипционный фактор STAT3 кооперируется с STAT6 в процессе дифференцировки лимфоцитов Th2 и развитии аллергического воспаления. У мышей, сенсибилизированных овальбумином, специфическая делеция в Т-лимфоцитах STAT3 приводила к уменьшению воспаления в бронхах и эозинофилии наряду с понижением уровня цитокинов Th2 профиля и IL-17 в дыхательных путях.

Вклад STAT3 в индуцированное аллергическое воспаление оценивали на мышиных моделях при делеции STAT3 в Т-лимфоцитах, сохранив конституционально активным фактор STAT6Vt [3]. Оказалось, что при «сохранном» STAT3 активация STAT6Vt характеризовалась зависимым от IL-4 спонтанным воспалением в легких и коже, блефаритом. При STAT3 дефиците (STAT6Vt-stat3CD4<sup>-/-</sup>) активация STAT6 не вызывала воспаления в легких и коже, блефарита, демонстрируя, что экспрессия STAT3 в Т-лимфоцитах важна в развитии аллергического ответа Th2. Авторы [3] делают вывод, что экспрессия STAT3 в клетках некоторых типов играет ключевую роль в развитии аллергического воспаления.

Показано [4], что развитие Th2 лимфоцитов у мышей связано с коэкспрессией активных форм STAT6 и STAT3, при этом экспрессия STAT3 необходима для кооперации Т- и В-лимфоцитов. Кроме того, экспрессия STAT3 в лимфоцитах Th2 и Tfh нужна для последующего взаимодействия между Tfh-лимфоцитами и В-лимфоцитами. Tfh-лимфоциты (от англ. follicular helper — фолликулярный хелпер) — относительно недавно открытая, важнейшая субпопуляция Т-клеток CD4, расположена в лимфоидных фолликулах и осуществляющая хелперную функцию для В-лимфоцитов посредством продукции IL-21, вызывая их созревание и терми-

нальную дифференцировку в плазматические клетки. Кроме IL-21 лимфоциты Tfh могут также продуцировать IL-6 и IL-10, необходимые для дифференцировки В-лимфоцитов. Нарушение функции этой популяции приводит к развитию аутоиммунных заболеваний. Авторами установлено, что экспрессия STAT3 в лимфоцитах Th2 усиливает сдвиг от IgG к IgE *in vivo*.

Цель нашего исследования состояла в оценке экспрессии pSTAT3 в мононуклеарах периферической крови и особенностей ее модуляции лептином при различных вариантах БА. Мы определяли экспрессию pSTAT3 исходно и в присутствии рекомбинантного лептина у больных БА и здоровых лиц.

## Материалы и методы

Обследовали 67 больных БА и 25 практически здоровых лиц в возрасте от 19 до 65 лет. Из них 25 больных АБА, 33 с неаллергической БА (НАБА), 15 больных АБА с избыточной массой тела (индекс массы тела — ИМТ)  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup>, 24 больных НАБА с избыточной массой тела (ИМТ  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup>); больных с ожирением в исследование не включали. В зависимости от пола и возраста больных БА разделили на 2 группы — старше и моложе 45 лет. Все обследованные больные БА находились в клинике госпитальной терапии им. акад. М.В. Чернуцкого ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. Проводили комплексное клинико-лабораторное и инструментальное обследование, включавшее общеклинические методы, цитологический и бактериологический анализы мокроты, а также аллергологическое исследование и проводили исследование функции внешнего дыхания. Диагноз устанавливали и проводили лечение в соответствии с критериями и стандартами международного консенсуса по вопросам диагностики и лечения БА (GINA, 2014).

В качестве модели для исследования выбраны мононуклеары периферической крови. Не позднее чем через 40 мин после получения венозной крови выделяли клетки путем центрифугирования в градиенте плотности «Lymphoseparation Medium» («MP Biomedicals», США), плотность 1,077 г/см<sup>3</sup> [5]. Гепаринизированную кровь разводили 2 раза раствором хлорида натрия (9 гл, рН 7,2), наслаивали на 3 мл градиента плотности и центрифугировали 30 мин при 400g. Образовавшиеся в интерфазе «кольцо» мононуклеаров отбирали пипеткой, полученную клеточную взвесь трижды отмывали раствором хлорида натрия и доводили концентрацию до  $2 \cdot 10^6$  клеток/мл. Жизнеспособность клеток определяли по связыванию трипанового синего; она составляла 95—100%.

Определение концентрации активной (фосфорилированной) формы транскрипционного фактора STAT3 (pSTAT3) методом проточной флюориметрии проводили по стандартному протоколу Bio-Plex на иммуноанализаторе (проточном флюориметре) Bio-Plex («Bio-Rad», США) с применением технологии xMAP (селективное связывание определяемых цитокинов) и сорбированных на поверхности микрочастиц антител с использованием 3 наборов: набор для определения белка phosphor STAT-3 (Тут 641) (тип Bio-Plex Phosphoprotein Assays), 96 well; Bio-Plex Phospho Reagent Kit, 96 well; Bio-Plex Cell Lysis Kit, 96 well.

**Порядок проведения анализа.** Выделяли мононуклеары методом градиентного центрифугирования. Проводили инкубацию мононуклеаров периферической крови лептином. Лимфовзвесь разделяли на 2 части: образец №1 контроль — 100 мкл, образец №2 — 90 мкл. К образцу №2 добавляли 10 мкл (10 нг) рекомбинантного лептина (Leptin, human, recombinant expressed in a *E. coli* «Sigma» США) [6].

**Приготовление лизирующего раствора.** Приготавливался 500 мМ раствор PMSF: 0,436 г PMSF растворяли в 5 мл DMSO. 40 мкл фактора-1 и 20 мкл фактора-2 добавляли к 9,9 клеточно-лизирующего буфера (cell lysis buffer), после перемешивания на вортексе образовавшийся раствор помещали на лед. К этому раствору добавляли 40 мкл 500 мМ раствора PMSF. Затем из суспензии вы-



деленных мононуклеаров в среде (RPMI-1640) готовили лизат: к взвеси мононуклеаров (проба №1 и проба №2) добавляли промывочный буфер (стандартный Wash-buffer) температуры 0 °С в соотношении: 2 объема буфера к 1 объему взвеси мононуклеаров. Затем клетки центрифугировали в течение 5 мин при 1000–1500 об/мин (0,2 г) при температуре 4 °С, после чего удалялся надосадок. Затем к осадку добавляли лизирующий раствор (стандартный Lysis buffer) по 75 мкл на пробу. После этого образцы подвергали ресуспензированию 5 раз и помещали на шейкер при 300 об/мин на 20 мин при температуре 4 °С. Затем образцы центрифугировали при 4500 г в течение 20 мин при температуре 4 °С. После этого забирали надосадок (без повреждения осадка) и к нему добавляли равный объем аналитического буфера (стандартный Assay-buffer). Образцы хранили при температуре –20 °С.

**Проведение анализа.** Поверхность нитроцеллюлозных фильтров 96-луночной платы смачивали промывочным буфером (стандартный Wash-buffer). В каждую из лунок вносили 100 мкл промывочного буфера, после чего удаляли жидкость с помощью вакуумного отсоса. Рабочий раствор микрочастиц перемешивали на вортексе и вносили в объеме 50 мкл в каждую из лунок. Удаляли буфер с помощью вакуумной фильтрации. Вносили 100 мкл промывочного буфера, после чего его удаляли с помощью вакуумной фильтрации. Этот этап повторяли еще раз. Вносили по 50 мкл предварительно разведенных стандартных проб и определенных образцов. Проводили инкубацию на шейкере в течение 30 мин. Буфер удаляли с помощью вакуумной фильтрации. Плату отмывали 3 раза промывочным буфером. Рабочий раствор антител перемешивали на вортексе и вносили по 25 мкл в каждую лунку. Проводили инкубацию на шейкере в течение 30 мин. Буфер удаляли с помощью вакуумной фильтрации. Плату отмывали 3 раза промывочным буфером. Вносили 50 мкл конъюгата стрептавидин/фикоэритрин. Инкубацию проводили на шейкере в течение 10 мин. Удалялся буфер с помощью вакуумной фильтрации. Плату отмывали 3 раза промывочным буфером. Микрочастицы ресуспензировали в 125 мкл рабочего буфера в течение 30 с. Плату инкубировали на шейкере, после чего помещали в рабочую станцию иммуноанализатора Bio-plex («Bio-Rad», США) и считывали результаты.

**Статистическая обработка.** Для анализа результатов исследования разработана специальная база данных на основе программы SPSS для Windows (русифицированная версия 20.0). Статистическую обработку полученных данных выполняли с помощью методов параметрической и непараметрической статистики с использованием описательной статистики. Оценивали 95% доверительные интервалы распространенности признака; при распределениях, отличающихся от нормального, и при малых выборках вычисляли медианы с 25-м и 75-м процентилем.

Для оценки различий между группами применяли критерий *t* Стьюдента при сравнении двух групп в параметрической статистике и ранговый критерий Манна–Уитни в непараметрической статистике. Для проведения множественных сравнений (более двух групп сравнения) в параметрической статистике использовали метод однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), а для непараметрической статистики — критерий Крускала–Уоллиса. При этом при поиске парных различий применяли поправку Бонферрони. Для сравнения парных (связанных) выборок

(динамическое наблюдение за больными, определение показателя до и после воздействия) использовали парный критерий *t* Стьюдента (параметрическая статистика) и критерий Вилкоксона (непараметрическая статистика). Критический уровень значимости (достоверности) нулевой статистической гипотезы (об отсутствии различий и влияний) принимали равным 0,05.

## Результаты и обсуждение

Наибольшая экспрессия pSTAT3 выявлена при БА; при этом максимальные значения этого показателя установлены у больных АБА, значительное снижение отмечено при НАБА. Указанные уровни экспрессии pSTAT3 оказались статистически значимыми. Обращает особое внимание группа больных, получающих системные пероральные глюкокортикостероиды (ГКС), в которой экспрессия pSTAT3 оказалась минимальной (табл. 1). Различия по экспрессии pSTAT3 выявлены также в зависимости от ИМТ. Так, при ИМТ  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup> экспрессии pSTAT3 у больных АБА оказалась статистически значимо выше, чем при НАБА (табл. 2).

Механизмы, объясняющие полученные результаты, могут быть предположительно связаны, во-первых, с суперэкспрессией pSTAT3 при АБА, во-вторых, не исключается активация pSTAT3 в кооперации с STAT6 и коэкспрессия этих двух транскрипционных факторов. Уместно напомнить мнение авторов [7, 8] о том, что именно IL-4 обеспечивает основной сигнал, уменьшающий дифференцировку Th17, иммунный ответ и снижение выраженности симптомов моделируемого аутоиммунного воспаления.

Повышенная экспрессия pSTAT3 наиболее выражена в группе больных АБА старше 45 лет с ИМТ  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup>. Это может быть предположительно связано с тем, что в этой группе больных имеется суперэкспрессия обоих транскрипционных факторов STAT3 и STAT6 в мононуклеарах периферической крови. Максимальное снижение экспрессии транскрипционного фактора выявлено в группе больных БА, получающих системные пероральные ГКС. Снижение экспрессии pSTAT3 при этом варианте БА связано с возможным влиянием терапии ГКС и известным ингибирующим действием ГКС на эффекты лептина, опосредуемые транскрипционным фактором pSTAT3 [9].

При НАБА нами получено статистически значимое снижение уровня pSTAT3 как у относительно больных АБА, так и в контрольной группе. При этом установлено, что экспрессия mPNC в мононуклеарах периферической крови такого негативного регулятора лептиновой сигнала

Таблица 1. Исходная экспрессия pSTAT3 в мононуклеарах периферической крови больных БА

Группа	Число больных	pSTAT3, пг/мл	<i>p</i>
АБА (1-я)	25	37 (27,8; 71,5)	$p_{1-2}=0,001$
НАБА (2-я)	33	17,0 (12,5; 37,0)	$p_{2-3}=0,05$
Здоровые лица (3-я)	25	23,0 (14,0; 37,0)	$p_{1-3}=0,0079$
Получающие системные пероральные ГКС (4-я)	9	7,5 (5,5; 33,5)	$p_{1-4}=0,04$ $p_{2-4}=0,08$ $p_{3-4}=0,25$

*Примечание.* Здесь и в табл. 2, 3: при распределениях, отличающихся от нормального, указаны медиана (25-й процентиль; 75-й процентиль). Для проверки значимости различий использован критерий *U* Манна–Уитни. С учетом поправки Бонферрони статистически значимым отличие признавалось при  $p < 0,0083$ .



**Таблица 2.** Экспрессия pSTAT3 у больных БА с ИМТ  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup>

Группа	Число больных	pSTAT3, пг/мл	p (критерий Манна-Уитни)
АБА (1-я)	15	37 (27,0; 56,0)	$p_{1-2}=0,0067$
НАБА (2-я)	24	17,5 (7,0; 37,5)	$p_{2-3}=0,42$
Практически здоровые (3-я)	20	21,5 (13,3; 41,5)	$p_{1-3}=0,03^*$

Примечание. С учетом поправки Бонферрони статистически значимым отличие признавалось при  $p < 0,017$ .

лизации, как белок SOCS3 (Suppressor of Cytokine Signaling 3) повышена при БА [10]. Повышение экспрессии этого белка может приводить к нарушению фосфорилирования рецептора к лептину OB-Rb и таким образом блокировать трансдукцию лептинового сигнала [10]. Возможно, активация SOCS3 по механизму негативной обратной связи ассоциирована с развитием резистентности к лептину при гиперлептинемии, установленной при НАБА. Индуцированный лептином STAT3 сигнальный путь активирует негативную ответную регуляцию SOCS3, которая ингибирует индуцированную лептином сигнальную трансдукцию [11].

Рассмотрим экспрессию pSTAT3 в условиях модуляции лептином при БА. Следует отметить, что в целом экспрессия pSTAT3 при БА, как при АБА, так и при НАБА, до и после воздействия лептином статистически значимо не различалась, что может быть связано с разнонаправленностью реагирования на пострецепторном уровне по типу прироста или снижения экспрессии pSTAT3 и нивелированием суммарных результатов (табл. 3). В противоположность этому в контрольной группе здоровых лиц нами получено статистически значимое повышение экспрессии pSTAT3 в условиях модуляции лептиновой сигнализации рекомбинантным лептином (см. табл. 3).

При анализе группы больных АБА в зависимости от возраста и ИМТ различия как показателя, так и знака (направленности — повышение или понижение) экспрессии транскрипционного фактора pSTAT3 оказались выраженными.

Анализ экспрессии pSTAT3 при модуляции лептином у больных АБА в отличие от НАБА и здоровых выявил статистически значимые разнонаправленные типы ответа экспрессии pSTAT3 (повышение или снижение транскрипционного фактора в различных группах больных АБА в зависимости от возраста, ИМТ и пола представлено в табл. 4, 5).

Так, в подгруппе больных АБА старше 45 лет и у мужчин с ИМТ  $< 25$  кг/м<sup>2</sup> отмечалось статистически значимое повышение экспрессии pSTAT3 по сравнению с исходной. При это в подгруппе больных АБА моложе 45 лет и женщин с ИМТ  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup> выявлено статистически значимое парадоксальное снижение уровня транскрипционного фактора по сравнению с исходным.

Анализируя подгруппы больных НАБА, мы не нашли отличий экспрессии транскрипционного фактора pSTAT3 как исходно, так и в присутствии лептина, хотя при этом отмечалась однонаправленность ответа с незначительным приростом транскрипционного фактора. Таким образом, мы предполагаем, что выявленная нами подгруппа больных АБА, женщин моложе 45 лет с ИМТ  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup> и парадоксальным снижением экспрессии pSTAT3 в условиях модуляции лептином — это особый подтип фенотипа БА в сочетании с избыточной массой тела.

Большое значение для понимания направленности типа реагирования: повышение — снижение уровня pSTAT3 при модуляции лептином — имеет анализ динамики транскрипционного фактора у здоровых лиц. Изменения экспрессии pSTAT3 в условиях модуляции лептином в контрольной группе практически здоровых лиц представлены в табл. 6. Следует отметить, что повышение экспрессии pSTAT3 отмечалось у всех практически здоровых лиц и оказалось аналогичным в подгруппе больных АБА (женщины старше 45 лет с избыточной массой тела).

Таким образом, можно предположить, что подгруппа больных АБА — лица моложе 45 лет, с избыточной массой тела, парадоксальным снижением экспрессии pSTAT3, может быть рассмотрена как отдельная, отличающаяся по направленности реагирования транскрипционного фактора в сравнении не только с контрольной группой, но и с группой больных НАБА, в которой также отмечался прирост уровня pSTAT3, хотя и статистически незначимый.

**Таблица 3.** Экспрессия pSTAT-3 в мононуклеаров периферической крови у больных БА в условиях модуляции лептином

Группа	Число больных	pSTAT 3, пг/мл		p (критерий Вилкоксона)
		до воздействия лептином	после воздействия лептином	
АБА	25	37,0 (27,5; 71,5)	40,0 (45,5; 100,7)	0,67
НАБА	33	17,0 (12,5; 37,0)	23,0 (11,0; 43,0)	0,10
Здоровые лица	23	23,0 (14,5; 37,5)	31,0 (10,5; 65,5)	0,04*

**Таблица 4.** Повышение экспрессии pSTAT3 (пг/мл) мононуклеаров периферической крови в условиях модуляции лептином у больных АБА

Группа	Число больных	pSTAT 3, пг/мл		p (критерий Вилкоксона)
		до воздействия лептином	после воздействия лептином	
АБА, возраст $\geq 45$ лет	12	62,5 (29,0; 102,0)	87,5 (26,5; 133,0)	0,045*
АБА, ИМТ $< 25$ кг/м <sup>2</sup> мужчины	8	22,25 (8,5; 43,5)	32,5 (12,2; 86,8)	0,043*

Таблица 5. Понижение экспрессии pSTAT3 в мононуклеарах периферической крови в условиях модуляции лептином у больных АБА

Группа	Число больных	pSTAT3, пг/мл		p (критерий Вилкоксона)
		до воздействия лептином	после воздействия лептином	
АБА Возраст моложе 45 лет ИМТ $\geq 25$ кг/м <sup>2</sup>	8	37,2 (28,2; 51,3)	22,0 (11,5; 41,0)	0,036
АБА Возраст моложе 45 лет женщины	4	33,5 (27,5; 124,7)	24,0 (22,0; 65,3)	0,045

Таблица 6. Динамика экспрессии pSTAT3 в условиях модуляции лептином в контрольной группе практически здоровых лиц

Группа	Число лиц	pSTAT3, пг/мл		p (критерий Вилкоксона)
		до воздействия лептина	после воздействия лептина	
Практически здоровые	25	23,0 (14,7; 30,5)	31,0 (10,5; 65,5)	0,045
Возраст $\geq 45$ лет	14	30,5 (22,6; 47,7)	54,5 (19,1; 91,1)	0,015
Женщины $\geq 45$ лет	9	31,0 (22,0; 53,5)	51,0 (23,5; 108)	0,003
ИМТ $\geq 25$ кг/м <sup>2</sup> возраст $\geq 45$ лет	25	32,5 (21,8; 55,2)	54,5 (20,3; 92,3)	0,027

Суммируя изложенное, еще раз отметим, что экспрессия pSTAT3 при НАБА исходно значительно снижена и не зависит от модуляции лептином.

У здоровых лиц в условиях модуляции лептиновой сигнализации рекомбинантным лептином отмечается увеличение экспрессии pSTAT3. У больных АБА экспрессия pSTAT3 максимально повышена, суперэкспрессия pSTAT3 увеличивается с возрастом, а при стимуляции лептином характер ответа также зависит от возраста больных АБА. У больных АБА старше 45 лет отмечается увеличение экспрессии pSTAT3 и при этом выявляется сходство по характеру реагирования с контрольной группой здоровых лиц. У больных АБА моложе 45 лет и ИМТ  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup> отмечается парадоксальное уменьшение экспрессии pSTAT3, по-видимому, свойственное атопическому состоянию, что позволило выделить эту подгруппу больных АБА как отдельную, относящуюся к субтипу фенотипа БА в сочетании избыточной массой тела.

Обсуждая значение динамики pSTAT3 с позиций участия в воспалении при различных вариантах БА, следует отметить выявленную нами корреляцию между

уровнем адипонектина и pSTAT3. Оказалось, что при НАБА, а также в группе практически здоровых лиц уровень транскрипционного фактора pSTAT3 положительно коррелировал с адипонектином, как исходно, так и в условиях модуляции лептином, ( $\rho=0,34$ ;  $n=32$ ;  $p=0,05$  и  $\rho=0,42$ ;  $n=32$ ;  $p=0,01$ ). Примечательно, что эта связь сохранялась и в фазе ремиссии заболевания ( $\rho=0,8$ ;  $n=14$ ;  $p=0,001$ ), тогда как при АБА такой связи не установлено, а направленность связи имела противоположный характер ( $\rho=-0,11$ ;  $n=25$ ;  $p=0,5$  и  $r=-0,08$ ;  $n=25$ ;  $p=0,5$ ). Можно предположить, что низкий уровень pSTAT3, сопряженный с ростом уровня адипонектина при НАБА, может иметь протективный характер.

Работа выполнена на базе лаборатории Научно-методического центра по молекулярной медицине на базе ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова при непосредственном методическом содействии зав. лабораторией аутоиммунных заболеваний к.м.н. С.В. Лапина и с.н.с., к.м.н. К.А. Сысоева.

**Конфликт интересов отсутствует.**

## ЛИТЕРАТУРА

- Akimoto T, Numata F, Tamura M. Abrogation of bronchial eosinophilic inflammation and airway hyperreactivity in signal transducers and activators of transcription (STAT) 6-deficient mice. *J Exp Med*. 1998;187(9):1537-1542.
- Минеев В.Н., Сорокина Л.Н. Экспрессия STAT6 в лимфоцитах периферической крови больных аллергической бронхиальной астмой. *Медицинская иммунология*. 2007;9(4-5):405-411.
- Stritesky GL, Rajarajeswari Muthukrishnan, Sarita Sehra, Ritobrata Goswami, Duy Pham, Jared Travers, Evelyn T, David E. The transcription factor STAT3 is required for T helper 2 cell development. *Immunity*. 2011;34(1):39-49.  
doi:10.1016
- Mari N, Mélanie Hercor, Sébastien Denanglaire, Oberdan Leo. The capacity of Th2 lymphocytes to deliver B-cell help requires expression of the transcription factor STAT3. *Eur J Immunol*. 2013;43(6):1489-1498.  
doi:10.1002/eji.201242938



5. Boyum A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow. *J Scan Clinical Lab Invest.* 1968;21(Suppl.97):77.
6. Sanches-Margalet V, Martin-Romero, Santos-Alvarez J, Goberna R, Najob S, Gonzalez-Yanes C. Role leptina as an immunomodulator of blood mononuclear cells: mechanisms of action. *Clin Exp Immunol.* 2003;133(1):11-19.  
doi:10.1046/j.1365-2249
7. Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, Henrietta Turner, Theresa L Murphy, Kenneth M Murphy, Casey T Weaver Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol.* 2005;6(11):1123-1132.  
doi:10.1038/ni1254
8. Park H, Li Z, Yang XO. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol.* 2005;6(11):1133-1141.  
doi:10.1038/ni1261
9. Ishida-Takahashi R, Shigeo Uotani, Takahiro Abe, Mikako Degawa Yamauchi, Tetsuya Fukushima, Naruhiro Fujita, Hiroyuki Sakamaki, Hironori Yamasaki, Yoshihiko Yamaguchi, Katsumi Eguchi. Rapid inhibition of leptin signaling by glucocorticoids in vitro and in vivo. *J Biol Chem.* 2004;297(19):19658-19664.  
doi:10.1074/jbc.M310864200
10. Лим В.В., Сорокина Л.Н. Экспрессия негативных регуляторов транскрипции генов SOCS3 и SOCS5 в мононуклеарных клетках периферической крови больных бронхиальной астмой. *Медицинская иммунология.* 2014;2:149-154.
11. Procaccini C, Elaine V Lourenco1, Giuseppe Matarese, Antonio La Cava. Leptin signaling: A key pathway in immune responses. *Curr Signal Transduct Ther.* 2009;4(1):22-30.  
doi:10.2174/157436209787048711
12. Xu D, Yin C, Wang S, Xiao Y. JAK-STAT in lipid metabolism of adipocytes. *JAK-STAT.* 2013;2(4).  
doi:10.4161/jkst.27203

Поступила 28.01.2016