

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ТРИАМЦИНОЛОНУ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

Киреев В.В., Суяров А.А., Хатамов Х.М., Очиллов С.И.*
Институт иммунологии и геномики человека АН РУз,
Ташкентский государственный медицинский университет*

ХУЛОСА

Тадқиқот мақсади. Астмада иммунологик параметрларни ва триамсинолонга сезувчанлик хусусиятини ўрганиши.

Материаллар ва усуллар. Касалликнинг III ва IV босқичлари бўлган астма билан оғриган 40 бемор (улардан 17 нафари эркаклар) текширилди. Беморларнинг иммунҳолати CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD23, CD25, CD95 лимфоцитлар даражасини аниқлаш, шу жумладан, даволаш олдин кўриб чиқилди. Глюкокортикоидларга сезгирликни аниқлаш глюкокортикоидларга (гидрокортизон, преднизолон, метилпреднизолон, дексаметазон, триамсинолон, бетаметазон) сезгирликни аниқлаш учун оригинал патентланган техника ёрдамида амалга оширилди.

Натижалар ва муҳокама. Лейкоцитлар сони, лимфоцитларнинг нисбий ва мутлақ сони, CD3, CD4 ва CD8 нинг нисбий ва мутлақ сони жуда юқори ва жуда паст триамсинолонга сезгир беморлар ўртасида сезиларли фарқлар мавжуд. Жуда паст сезгир беморларнинг нисбий CD3 индексининг ўсиши соғлом одамларга нисбатан қайд этилган.

Хулоса. Триамсинолон астмада ГКСга сезгирлик хусусиятига қараб 9 иммунологик параметрга таъсир қилади.

Калит сўзлар: бронхиал астма, триамсинолон, глюкокортикоид сезгирлиги, иммунологик параметрлар.

При тяжелой бронхиальной астме (БА), несмотря на все достижения фармакологии, глюкокортикоиды (ГК) (как системные, так и ингаляционные) продолжают оставаться одними из основных средств лечения на III и IV ступенях заболевания. Триамцинолон – глюкокортикоид продолжительного действия также применяется как системно в виде таблеток, так и в ингаляционном виде.

За годы применения ГК отмечено достаточно фактов, свидетельствующих о развитии резистентности к этим препаратам, причем частота резистентности к ГК может достигать 30%. Однако нет данных о характере резистентности к конкретному глюкокортикоидному препарату [1,2,7,12,15]. Положение усугублялось тем, что до недавнего времени не существовало клинически приемлемых методик определения чувствительности к глюкокортикоидам, включая триамцинолон. Созданные и запатентованные методики определения чувствительности к глюкокорти-

SUMMARY

Objective. To study the immunological parameters and the nature of sensitivity to triamcinolone in patients with bronchial asthma (BA).

Materials and methods. 40 patients with BA (including 17 men) with stage III and IV of the disease were examined. The patients' immune status was examined before treatment, including determining the level of CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD23, CD25, CD95 lymphocytes. The determination of sensitivity to glucocorticoids was evaluated using an original patented technique for determining sensitivity to glucocorticoids (hydrocortisone, prednisolone, methylprednisolone, dexamethasone, triamcinolone, betamethasone).

Results and discussion. Statistically significant differences were identified in leu-kocyte counts; relative and absolute lymphocyte counts; and relative and absolute CD3, CD4, and CD8 levels between patients with very high and very low sensitivity to triamcinolone. An increase in the relative CD3 level was observed in patients with very low sensitivity compared to healthy controls.

Conclusions. Triamcinolone affects nine immunological parameters depending on the pattern of glucocorticoid sensitivity in patients with BA.

Keywords: bronchial asthma, triamcinolone, glucocorticoid sensitivity, immunological parameters.

коидам были трудоемки, требовали большого числа реактивов и оборудования, привязаны к одному препарату (преднизолону или дексаметазону), одному заболеванию и не имели градации чувствительности.

БА является иммунозависимым заболеванием, в связи с чем отмечается целый каскад иммунных реакций, усиливающийся по мере нарастания степени заболевания, главным участником которых являются различные субпопуляции лимфоцитов [3]. Давно известен феномен кортизол-резистентных лимфоцитов, которые не отвечают на воздействие кортизолом и гидрокортизоном [14]. На этом принципе основана оригинальная методика определения чувствительности к глюкокортикоидам, позволяющая определить чувствительность к шести системным глюкокортикоидам: гидрокортизону, преднизолону, метилпреднизолону, дексаметазону, триамцинолону, бетаметазону. Настоящее исследование направлено на оценку влияния ряда иммунологических параметров на кли-

нический ответ к терапии триамцинолоном у пациентов с БА.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение иммунологических показателей и характера чувствительности к триамцинолону при БА.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 40 больных БА (из них 17 мужчин) с III и IV степенями заболевания. Средний возраст составил $32,43 \pm 3,36$ лет, средняя продолжительность заболевания – $8,16 \pm 3,26$ лет. Диагноз БА устанавливается согласно классификации GINA (2025). Пациентам до лечения исследовался иммунный статус, включая определение уровня лимфоцитов CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD23, CD25, CD95. Контрольная группа составила 20 практически здоровых лиц сопоставимых по полу и возрасту.

Определение чувствительности к глюкокортикоидам осуществлялось с помощью оригинальной запатентованной методики определения чувствительности к глюкокортикоидам (гидрокортизону, преднизолону, метилпреднизолону, дексаметазону, триамцинолону, бетаметазону). У пациента забирают 1 мл венозной крови независимо от приема пищи в стерильную гепарининизированную центрифужную пробирку. После центрифугирования в течение 10 мин при 1500 об/мин лимфоциты выделяли по методу Воум на 76% фиколле и подсчитывали в камере Горяева под микроскопом при увеличении $\times 250$ (окуляр $\times 5$, объектив $\times 50$). Затем в пробирку добавляют при помощи мерной пипетки 500 мкл взвеси лимфоцитов и добавляют, с использованием отдельной мерной пипетки, по 100 мкл раствора глюкокортикоидов. С учетом биоэквивалентности глюкокортикоидов, стандартные ампулированные растворы глюкокортикоидов разводят: дексаметазон (1 мл) разводят физиологическим раствором в количестве 26,6 мл стерильного физиологического раствора (0,9% раствор хлорида натрия), триамцинолон (кеналог), урбазон (солю-медрол, метилпреднизолон) в 4 мл стерильного физиологического раствора, преднизолон, а бетаметазон в 22 мл раствора соответственно. Эти растворы стабильны в течение месяца при хранении в стерильных условиях, в темноте, в холодильнике при температуре 8 °С. Полученную смесь инкубируют в термостате при температуре 37 °С в течении 1 часа, затем окрашивают трипановым синим и фиксируют глутаральдегидом, после чего проводят подсчет оставшихся лимфоцитов в камере Горяева под микроскопом. Если количество лимфоцитов уменьшалось на 1- 20% -то результат чувствительности оценивают, как очень низко чувствительный, 21 - 40% низко чувствительный, 41 - 60% - чувствительный, 61 - 80% высоко чувствительный, свыше 80% очень высоко чувствительный.

Статистическая обработка полученных данных были обработаны с использованием t-критерия Стьюдента, U-критерия Манна-Уитни и однофакторного дисперсионного анализа с уровнем значимости

$p < 0,05$ с использованием пакета программ «Statistica 12.0».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные приведены в таблице. Из результатов таблицы видно наличие достоверных различий в количестве лейкоцитов, относительного и абсолютного показателя лимфоцитов, относительного и абсолютного показателей CD3, CD4 и CD8 между очень высоко и очень низко чувствительными к триамцинолону пациентами. Следует отметить интересную особенность относительного показателя CD3 у очень низко чувствительных пациентов: его повышение в сравнении со здоровыми лицами.

Клеточный иммунитет играет центральную роль в патогенезе бронхиальной астмы, и его особенности во многом определяют эффективность терапии триамцинолоном.

Эозинофилы и Th2-лимфоциты, как правило, ассоциируются с хорошим ответом на ГКС, в то время как нейтрофильное и Th17-опосредованное воспаление могут указывать на резистентность [4].

Известно, что Т-лимфоциты играют центральную роль в формировании и поддержании иммунного ответа при астме. Особое значение имеют Т-хелперы 2-го типа (Th2-клетки). Они продуцируют цитокины, такие как интерлейкин-4 (IL-4), IL-5 и IL-13, которые стимулируют В-клетки к выработке IgE-антител (ключевых в аллергических реакциях), способствуют дифференцировке эозинофилов и усиливают воспаление. В настоящее время изучается их влияние на чувствительность к триамцинолону [5,8,9].

Различные подтипы Т-лимфоцитов, помимо Th2, также могут влиять на ответ на триамцинолон. Например, активация других популяций Т-клеток, участвующих в хроническом воспалении и ремоделировании дыхательных путей, может снижать чувствительность к стероидам. Понимание того, какие именно Т-клетки доминируют в воспалительном процессе у конкретного пациента, может помочь предсказать эффективность лечения.

Увеличение CD8+ Т клеток у «парадоксальных» пациентов требует дальнейшего изучения. Предположительно, данный феномен может быть связан с индукцией апоптоза эпителиальных клеток дыхательных путей под воздействием ГКС, что активирует CD8+ Т клетки и способствует усилению цитотоксической активности. Подобные механизмы были описаны в работах экспертных групп по изучению нежелательных эффектов ГКС [7].

Считается, что высокий уровень Th2-клеток и их цитокинов (IL-4, IL-5, IL-13) часто ассоциируется с лучшим ответом на триамцинолон. Это связано с тем, что ГКС подавляют экспрессию генов, кодирующих эти цитокины, и ингибируют активацию Th2-клеток. Триамцинолон может также индуцировать апоптоз (программируемую гибель) активированных Th2-клеток. Важно отметить, что при астме могут быть задействованы и другие субпопуляции Т-клеток,

такие как Т-хелперы 17-го типа (Th17-клетки), продуцирующие IL-17, и Т-регуляторные клетки (Treg-клетки), подавляющие иммунный ответ.

Взаимосвязь иммунологических показателей в зависимости от характера чувствительности к триамцинолону при БА

№	показатель	очень высоко (n=32)	высоко (n=3)	низко (n=1)	очень низко (n=5)	контрольная группа (n=20)
1	Лейкоциты	5303,12±313,75	5333,33±1034,94	8400	8266,67±1214,27*	6787,75±162
2	Лимфоциты, %	31,5±1,0	29,33±5,49	27	23,0±4,51*	30,1±1,1
3	лимфоциты. абс	1696,78±121,98	1464,67±104,78	2268	1806±243,43	2043±147
4	CD3,%	42,06±1,38	38,67±0,67	78	69,0±8,50*	57,5±1,6
5	CD3.абс	700,84±55,76	567,33±49,15	1769	1255,67±264,55*	1189±89
6	CD4,%	22,12±1,35	22,0±3,05	51	45,33±12,17*	36,2±1,03
7	CD4, абс	360,15±29,63	317,0±26,84	902	659,33±153,20*	752±61
8	CD8,%	17,40±1,11	17,33±4,05	45	31,33±7,12*	22,4±1,2
9	CD8, абс	277,87±20,64	259,33±67,91	796	488,67±154,29*	475±42
10	CD4/CD8	1,37±0,08	1,56±0,62	1,1	1,5±0,4	1,56±0,01
11	CD16,%	15,28±1,02	11,66±0,88	8	13,0±6,56	11,9±0,8
12	CD16,абс	250,78±23,61	171,66±24,56	142	219,33±114,13	286±27
13	CD20,%	20,09±0,84	16,67±3,33	10	17,33±6,36	22,3±0,6
14	CD20,абс	331,91±28,01	250,67±62,02	181	288,67±111,69	449±37
15	CD 23, %	15,53±0,65	10,0±0	10	11,67±2,18	16,83±0,43
16	CD 25,%	15,28±0,98	20,0±4,62	4	10,33±7,35	20,1±0,7
18	CD95,%	14,37±0,68	14,0±1,15	14	15,33±2,96	28,0±1,1

Примечание: ввиду отсутствия средние чувствительных к триамцинолону пациентов соответствующая графа в таблице не показана.

* - достоверность между очень высоко и очень низкочувствительными показателями

Повышенная активность Th17-клеток и высокий уровень IL-17 могут быть связаны с более тяжелым течением астмы и сниженной чувствительностью к ГКС. IL-17 способствует нейтрофильному воспалению и ремоделированию дыхательных путей, на которые триамцинолон оказывает меньшее влияние по сравнению с эозинофильным воспалением [10].

Адекватное функционирование Treg-клеток необходимо для контроля воспаления. Снижение количества или функции Treg-клеток может способствовать развитию и поддержанию астмы и, возможно, влиять на ответ на триамцинолон, хотя этот аспект требует дальнейших исследований. В целом, баланс между Th2 и другими субпопуляциями Т-клеток играет важную роль в определении эффективности ГКС [13].

Триамцинолон может индуцировать апоптоз активированных иммунных клеток, особенно эозинофилов и Т-лимфоцитов, тем самым уменьшая их количество в очаге воспаления. По-видимому, у пациентов с атопической БА с очень низкой чувствительностью происходит стимуляция Т-клеточного пула, механизм которого пока полностью неясен [14].

Дальнейшие исследования, направленные на детальное изучение клеточных и молекулярных механизмов, лежащих в основе индивидуальной вариабельности ответа на триамцинолон, позволят перейти к более персонализированным и эффективным стратегиям лечения БА.

Таким образом, триамцинолон оказывает влияние на 9 иммунологических показателей в зависимости от характера чувствительности к ГКС при БА.

Понимание этой сложной взаимосвязи открывает двери для персонализированной медицины в лечении БА. Вместо назначения стандартного лечения всем пациентам, врачи смогут анализировать индивидуальные иммунологические показатели с целью:

1. Предсказание эффективности триамцинолона, и, при необходимости, корректировать дозировку или использовать другие ГК или выбирать альтернативные методы лечения.

2. Выбирать оптимальную терапию: Если триамцинолон оказывается недостаточно эффективным, анализ иммунологического профиля может помочь подобрать другие классы препаратов, например, биологическую терапию, направленную на конкретные цитокины или иммунные клетки.

3. Проводить мониторинг течения заболевания: Регулярное отслеживание иммунологических показателей может помочь оценить эффективность проводимого лечения и своевременно выявить признаки обострения [9,10,13,15].

Таким образом, иммунологические показатели – это не просто лабораторные цифры, а ключ к пониманию индивидуальных особенностей течения бронхиальной астмы и, как следствие, к более эффективному и целенаправленному лечению. Исследования в этой области продолжаются, и в будущем мы можем

ожидать еще более точных методов диагностики и персонализированных подходов к терапии этого распространенного заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виткина Т.И., Новгородцева Т.П., Калинина Е.П., Лобанова Е.Г., Антонюк М.В. Иммуные механизмы формирования бронхиальной астмы контролируемого и частично контролируемого течения. // *Медицинская иммунология*. 2019;21(3):495-502. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2019-3-495-502>
2. Ненашева Н.М., Жуденков К.В., Петраковская В.А., Изюмова Г.В. Распространенность, заболеваемость, фенотипы и другие характеристики тяжелой бронхиальной астмы в Российской Федерации. // *Пульмонология*. 2018;28(3):341-358. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2018-28-3-341-358>
3. Banuelos J, Lu NZ. A gradient of glucocorticoid sensitivity among helper T cell cytokines. // *Cytokine Growth Factor Rev*. 2016 Oct;31:27-35. doi: 10.1016/j.cytogfr.2016.05.002. Epub 2016 May 13. PMID: 27235091; PMCID: PMC5050075.
4. Calhoun WJ, Villasante-Tezanos A. Response to parenteral triamcinolone in severe asthma: a useful induced phenotype for clinicians? // *Am J Respir Crit Care Med*. 2021 Apr 1;203(7):790-791. doi: 10.1164/rccm.202012-4485ED. PMID: 33449842; PMCID: PMC8017573.
5. Chung KF. Predicting response to Triamcinolone in severe asthma by machine learning. Solving the enigma. // *Am J Respir Crit Care Med*. 2019 Jun 1;199(11):1299-1300. doi: 10.1164/rccm.201902-0320ED. PMID: 30789751; PMCID: PMC6543711.
6. Denlinger LC, Phillips BR, Sorkness RL, Bleeker ER, Castro M, DeBoer MD, et al. Responsiveness to parenteral corticosteroids and lung function trajectory in adults with moderate-to-severe asthma. // *Am J Respir Crit Care Med*. 2021 Apr 1;203(7):841-852. doi: 10.1164/rccm.202002-0454OC. PMID: 33290668; PMCID: PMC8017577.
7. Hasan MM, Tory S. Association between glucocorticoid receptor beta and steroid resistance: A systematic review. // *Immun Inflamm Dis*. 2024 Jan;12(1):e1137. doi: 10.1002/iid3.1137. PMID: 38270313; PMCID: PMC10785191.
8. Kirkland SW, Cross E, Campbell S, Villa-Roel C, Rowe BH. Intramuscular versus oral corticosteroids to reduce relapses following discharge from the emergency department for acute asthma. // *Cochrane Database Syst Rev*. 2018 Jun 2;6(6):CD012629. doi: 10.1002/14651858.CD012629.pub2. PMID: 29859017; PMCID: PMC6513614.
9. Mei D, Tan WSD, Wong WSF. Pharmacological strategies to regain steroid sensitivity in severe asthma and COPD. // *Curr Opin Pharmacol*. 2019 Jun;46:73-81. doi: 10.1016/j.coph.2019.04.010. Epub 2019 May 9. PMID: 31078066.
10. Ora J, Calzetta L, Matera MG, Cazzola M, Rogliani P. Advances with glucocorticoids in the treatment of asthma: state of the art. // *Expert Opin Pharmacother*. 2020 Dec;21(18):2305-2316. doi: 10.1080/14656566.2020.1807514. Epub 2020 Aug 18. PMID: 32808828.
11. Palumbo ML, Prochnik A, Wald MR, Genaro AM. Chronic stress and glucocorticoid receptor resistance in asthma. // *Clin Ther*. 2020 Jun;42(6):993-1006. doi: 10.1016/j.clinthera.2020.03.002. Epub 2020 Mar 26. PMID: 32224031.
12. Peters MC, Schiebler ML, Cardet JC, Johansson MW, Sorkness R, DeBoer MD, et al. National heart, lung, and blood institute severe asthma research Program-3. The Impact of insulin resistance on loss of lung function and response to treatment in asthma. // *Am J Respir Crit Care Med*. 2022 Nov 1;206(9):1096-1106. doi: 10.1164/rccm.202112-2745OC. Erratum in: // *Am J Respir Crit Care Med*. 2023 Mar 1;207(5):636. doi: 10.1164/rccm.v207erratum1. PMID: 35687105; PMCID: PMC9704842.
13. Picado C, Vennera Mdel C. Acetónido de triamcinolona en el tratamiento del asma resistente a los glucocorticoides: riesgos y beneficios [Triamcinolone acetone in the treatment of corticosteroid-resistant asthma: risks and benefits]. // *Arch Bronconeumol*. 2008 Jun;44(6):324-7. Spanish. PMID: 18559222.
14. Rodriguez JM, Monsalves-Alvarez M, Henriquez S, Llanos MN, Troncoso R. Glucocorticoid resistance in chronic diseases. // *Steroids*. 2016 Nov;115:182-192. doi: 10.1016/j.steroids.2016.09.010. Epub 2016 Sep 16. PMID: 27643454.
15. Tesse R, Borrelli G, Mongelli G, Mastrorilli V, Cardinale F. Treating pediatric asthma according guidelines. // *Front Pediatr*. 2018 Aug 23;6:234. doi: 10.3389/fped.2018.00234. PMID: 30191146; PMCID: PMC6115494.
16. Thomson NC. Addressing corticosteroid insensitivity in adults with asthma. // *Expert Rev Respir Med*. 2016 Feb;10(2):137-56. doi: 10.1586/17476348.2016.1133304. Epub 2016 Jan 28. PMID: 26678267.