

Секреция цитокинов при эозинофилии у детей

Е.А. Ружицкая, Т.В. Виноградова, А.В. Семенов, А.Н. Пампура, М.С. Тренева, В.С. Сухоруков

Научно-исследовательский клинический институт педиатрии ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова», Москва

Cytokine secretion in children with eosinophilia

E.A. Ruzhitskaya, T.V. Vinogradova, A.V. Semyonov, A.N. Pampura, M.S. Treneva, V.S. Sukhorukov

Research Clinical Institute of Pediatrics, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow

Доказана значительная роль эозинофилов в патогенезе многих заболеваний (аллергических, гранулематозных, аутоиммунных, интерстициальных, идиопатических, паразитарных, неопластических и миелопролиферативных). Однако несмотря на длительность истории исследования эозинофилов, их биологические свойства по-прежнему малоизучены. В обзоре обобщены результаты исследований, посвященных спектру цитокинов, которые секретируются эозинофилами и обеспечивают их плейотропный эффект, в том числе иммуномодуляцию, влияние на гомеостаз и репарацию тканей. Также рассматриваются типы секреции цитокинов эозинофилами и влияние цитокинов на функции самих эозинофилов. Особое внимание уделено научным фактам, касающимся особенностей секреции цитокинов при аллергических заболеваниях у детей с эозинофилией и их патогенетической роли.

Ключевые слова: дети, эозинофилы, цитокины, аллергические заболевания.

There is evidence that eosinophils play a considerable role in the pathogenesis of many diseases (allergic, granulomatous, autoimmune, interstitial, idiopathic, parasitic, neoplastic, and myeloproliferative ones). However, despite the long history of studies of eosinophils, their biological properties were still little studied. The review summarizes the results of studies dealing with the spectrum of cytokines that are secreted by eosinophils and ensure their pleiotropic effects, including immunomodulation, an effect on tissue homeostasis and repair. It also describes the types of eosinophil secretion of cytokines and their effect on the function of eosinophils themselves. Special attention is paid to the scientific facts of cytokine secretion in allergic diseases in children with eosinophilia and to the pathogenic role of cytokines.

Key words: children, eosinophils, cytokines, allergic diseases.

Патогенетическая роль эозинофилов

Важность участия эозинофилов в развитии аллергического воспаления при болезнях органов дыхания, кожи и желудочно-кишечного тракта, а также при паразитарных и протозойных инвазиях несомненна. Доказана значительная роль эозинофилов в патогенезе наиболее распространенных аллергических заболеваний (бронхиальной астмы, аллергического ринита, атопического дерматита, лекарственной аллергии, эозинофильного эзофагита у детей). При паразитарных инвазиях и заболеваниях, вызванных рядом возбудителей и простейших (лямблиозе, остром кокцидиомикозе, болезни кошачьих царапин, туберкулезе, хламидийной пневмонии) у детей, эозинофилия считается одним из характерных лабораторных признаков. Показано

участие эозинофилов в развитии многих гранулематозных заболеваний, в частности, гранулематозных васкулитов (темпоральный васкулит, синдром Churg—Strauss, полиартериит, гранулематоз Вегенера), эозинофильного гранулематозного простатита, синдрома NERDS¹. Отмечается участие эозинофилов в аутоиммунных процессах, в частности, при рассеянном склерозе, в реакциях, обусловленных трансплантацией органов. Эозинофильная инфильтрация легких сопровождается течением многих заболеваний органов дыхания (транзиторные эозинофильные инфильтраты легких, гистиоцитоз, хроническая эозинофильная пневмония, гиперчувствительный пневмонит, аллергический бронхолегочный аспергиллез, саркоидоз, идиопатический фиброз легких). В последнее время все чаще указывают на участие эозинофилов в патогенезе неопластических и миелопролиферативных заболеваний (бронхогенной карциномы, гиперэозинофильного синдрома, Т-клеточной лимфомы, болезни Ходжкина и др.) [1–6].

Несмотря на длительность истории исследования эозинофилов, их биологические свойства по-прежнему изучены недостаточно [1].

Краткая характеристика эозинофилов

Эозинофилы — лейкоциты, которые в большом количестве накапливаются в области аллергического

¹ Узелки, эозинофилия, ревматизм, дерматит, опухоль.

© Коллектив авторов, 2015

Ros Vestn Perinatol Pediat 2015; 2:29–36

Адрес для корреспонденции: Ружицкая Елена Апполосовна — к.м.н., в.н.с. научно-исследовательской лаборатории общей патологии НИКИ педиатрии РНИМУ им. Н.И.Пирогова

Виноградова Татьяна Владимировна — к.м.н., в.н.с. той же лаборатории
Семенов Алексей Владимирович — к.м.н., ст.н.с. той же лаборатории
Сухоруков Владимир Сергеевич — д.м.н., проф., рук. той же лаборатории
Пампура Александр Николаевич — д.м.н., зав. отделением аллергологии и клинической иммунологии указанного учреждения

Тренева Марина Сергеевна — к.м.н., в.н.с. того же отделения
125412 Москва, ул. Талдомская, д. 2

воспаления или паразитарной инвазии. В ранних исследованиях эозинофилы относили к категории эффекторов, оказывающих в основном противопаразитарное цитотоксическое действие или участвующих в развитии бронхиальной астмы посредством дегрануляции с высвобождением биологически активных веществ. Современные исследования доказывают плейотропность действия эозинофилов, выражающегося в иммуномодуляции, влиянии на гомеостаз и репарацию тканей посредством секреции широкого спектра цитокинов.

Современный методологический уровень позволяет осуществлять параллельную оценку широкого цитокинового спектра у детей с эозинофилией [8–10]. Эозинофилы обладают уникальным свойством отвечать на изменения окружающей среды стремительной секрецией цитокинов, которые предварительно синтезируются, а затем хранятся в интрацеллюлярных гранулах [11].

Роль цитокинов, секретируемых эозинофилами

Цитокины – низкомолекулярные секретируемые белки, которые контролируют иммунный ответ, реакцию организма хозяина на экзогенную инфекцию, клиренс антигенов, репарацию тканей, восстановление гомеостаза [7].

Цитокины, секретируемые эозинофилами, обеспечивают широкий спектр биологических эффектов [5]. Секреция эозинофилами цитокинов, в частности, трансформирующего фактора роста- α , опосредует репарацию поврежденных тканей [12], а при хроническом воспалении посредством синтеза трансформирующего фактора роста- β , интерлейкина-13 и фактора роста эндотелия сосудов оказывает влияние на ремоделирование тканей и ангиогенез [13, 14]. Ассоциированные с эозинофилами цитокины вовлечены в фиброзирующие процессы при бронхиальной астме [15], эозинофильном эзофагите [16], идиопатическом фиброзе легких [17], фиброзе печени [18] и других заболеваниях.

При паразитарной инвазии эозинофилы ранее прочих клеток высвобождают интерлейкин-4 [5, 6]. Большинство клеток, секретирующих интерлейкин-4 в слизистой оболочке носа в первые 6 ч после действия аллергена, вызвавшего аллергический ринит, представлено эозинофилами [19]. Секретированные эозинофилами цитокины участвуют в регуляции иммунных реакций, опосредованных Т-хелперами 1-го и 2-го типов (Th1 и Th2) [20]. При аллергическом воспалении эозинофилы секретируют хемокины, индуцирующие выбор презентующих (дендритных) клеток и специфических субпопуляций Th2-эффекторов памяти [21, 22].

Иммуноциты, нервные и мышечные клетки, а также сами эозинофилы реагируют на секретированные эозинофилами цитокины: фактор роста нерва, комплекс регуляции клеточного цикла, интер-

лейкин-5, эотаксины. Активированные эозинофилы, таким образом, опосредуют собственную мобилизацию в очаг воспаления. Секреция цитокинов тканевыми резидентными эозинофилами необходима для поддержания метаболизма и функции «местных» иммуноцитов, включая В-лимфоциты, несущие на мембране IgM-рецепторы [23, 24], и плазматические клетки [25]. Секреция эозинофилами цитокинов может модулироваться иммуноглобулинами G и A [26], липидными медиаторами, компонентами комплемента, взаимодействием с патогенами, продуктами, секретируемыми разными клетками [27].

Считается, что среди цитокинов наибольшее влияние на функции эозинофилов оказывает интерлейкин-5. Он способствует пролиферации, дифференцировке, созреванию эозинофилов, высвобождению их из костного мозга, локальному накоплению в тканях, увеличению жизнеспособности и подавлению апоптоза. Интерлейкин-5 влияет на хемотаксические, фагоцитарные и цитотоксические свойства эозинофилов, индукцию высвобождения эозинофильного катионного белка, эозинофилсвязанного нейротоксина, эозинофильной пероксидазы, главного основного белка и секрецию некоторых цитокинов. Этот цитокин увеличивает экспрессию и аффинитет ряда рецепторов и поверхностных антигенов эозинофилов, усиливает синергизм взаимодействия с факторами некроза опухоли- α и - β . Под воздействием интерлейкина-5 увеличивается экспрессия матричной РНК ряда факторов и биологически активных белков [28–34].

Доказано влияние и других цитокинов на активность эозинофилов. Интерлейкины-3 и -5, гранулоцитарный/макрофагальный колониестимулирующий фактор индуцируют секрецию цитокинов эозинофилами даже при низких уровнях стимулирующего сигнала и влияют на их функцию [34, 35]. Предшественники эозинофилов находятся под влиянием интерлейкинов-3 и -4, регулятора клеточного цикла, гранулоцитарного/макрофагального колониестимулирующего фактора и эотаксина [28]. Время полужизни эозинофилов может зависеть от изменения концентрации определенных цитокинов [36]. Степень эозинофилии при ответе на конкретный антиген или аллерген связана с активностью В-лимфоцитов. Увеличение количества эозинофилов вызывают Th2-продукция интерлейкинов-4 и -5 и активный синтез иммуноглобулина E [2]. Эотаксин-1 является хемоаттрактантом и активатором эозинофилов человека. Интерлейкин-5 и, возможно, эотаксин обеспечивают наибольшую двигательную активность зрелых эозинофилов [9, 29].

Секреция цитокинов эозинофилами

Существование резерва цитокинов в интрацеллюлярных гранулах эозинофилов выделяет их среди других лейкоцитов, в которых цитокины до момента секреции синтезируются *de novo* [11]. Диапазон био-

химических предшественников (преформ) цитокинов, которые могут быть выделены из эозинофилов человека, широк, и после стимуляции провоспалительные и иммунорегулирующие цитокины высвобождаются во внешнюю среду быстро и дифференцированно [13]. Секреция цитокинов, хранящихся в гранулах эозинофилов, может осуществляться различными путями: 1) классическим экзоцитозом, когда высвобождается целиком содержимое единственной гранулы; 2) сложным экзоцитозом, когда две и более интрацеллюлярные гранулы поступают одна за другой к клеточной мембране, высвобождая разнообразное содержимое; 3) поочередной (постепенной) дегрануляцией, когда специфические цитокины селективно поступают из гранул и осуществляется их челночное движение внутри секреторных везикул к плазматической мембране для экстрацеллюлярного высвобождения (при этом сохраняются интрацеллюлярные гранулы, пригодные для следующего цикла дегрануляции); 4) цитолизом, когда интактные гранулы высвобождаются в экстрацеллюлярное пространство через участок плазматической мембраны, где нарушена ее целостность. Чаше прочих *in vivo* при аллергических заболеваниях наблюдаются механизмы постепенной дегрануляции или цитолиза [11, 37]. Секреция цитокинов из эозинофилов строго селективна. В частности, были идентифицированы механизмы, посредством которых производится дифференцированный отбор интерлейкина-4 из интрацеллюлярных гранул [38].

В ряде работ исследована гомогенность/гетерогенность цитокинового спектра эозинофилов [13, 39, 40]. Выявлена предварительная экспрессия семи разных цитокинов в лизатах эозинофилов крови каждого из обследованных здоровых индивидуумов и больных с легкой степенью аллергии [13]. Все циркулирующие эозинофилы сходны по цитокиновому спектру, хотя число гранул, в которых хранятся цитокины, варьирует. Напротив, при исследовании эозинофилов тканей желудочно-кишечного тракта, глаза и кожи [40, 41] показана значительная вариабельность экспрессии цитокинов в зависимости от клинического статуса больного. Высказано предположение, что у циркулирующих эозинофилов более широкий потенциал предшественников цитокинов по сравнению с тканевыми, в которых спектр преформ моделируется в зависимости от окружающей микросреды. Кластеры свободных эозинофильных гранул часто находят в тканях при atopическом дерматите [42], крапивнице [43], эозинофильном эзофагите [20], паразитарных инвазиях [44], в слизистой оболочке респираторного тракта при аллергическом рините [45], бронхиальной астме [46] и других заболеваниях.

Роль эозинофилов при заболеваниях у детей

До настоящего времени не существует единого мнения относительно особенностей морфологии и эф-

фекторной функции эозинофилов при аллергических заболеваниях у детей. Внимание, уделяемое эозинофилии, неадекватно мало по сравнению с ее патогенетической значимостью при аллергии [47]. Специалисты отмечают недостаток информации о механизмах активации эозинофилов и их цитокин/хемокиновом ответе у детей с аллергическими заболеваниями [8, 48–50].

Единичные работы посвящены эозинофилии у детей в возрасте до года [3, 9]. К. Weisse и соавт. (2012) исследовали факторы, которые влияли на число предшественников эозинофилов и базофилов в крови, и их активацию в присутствии интерлейкинов-3, -5 и гранулоцитарно/макрофагального колониестимулирующего фактора у детей в возрасте до года с повышенным риском развития аллергии [3]. Была выявлена прямая корреляция уровня интерлейкина-5 и уровня эотаксина с показателями активации эозинофилов [9].

Исследования эозинофилии у детей в основном касались бронхиальной астмы [8–10], atopического дерматита [3, 51–53], аллергического кератоконъюнктивита [54], аллергического ринита [9], эозинофильного эзофагита [4, 34, 55, 56], пищевой аллергии [53, 57–59], гиперэозинофильного синдрома [60], назального полипоза [61], вирусиндуцированного стридора [10].

Существует мнение, что присутствие эозинофилов и их продуктов в коже указывает на наличие atopического дерматита. Важную патогенетическую роль при этом заболевании играют эотаксин-1 и интерлейкину-4. Именно увеличением экспрессии эотаксина-1 на фибробластах объясняют эозинофильную инфильтрацию участков кожи, вовлеченных в atopический дерматит. Высокотехнологичными методами выявлено снижение интерлейкин-4-индуцированной экспрессии эотаксин-1-матричной РНК в культуре фибробластов из биоптатов пораженной кожи детей с atopическим дерматитом при остром atopическом воспалении и локальной тканевой эозинофилии. По мнению авторов, это указывает на увеличение активности интерлейкина-4 в очагах поражения и доказывает важную роль индуцируемой интерлейкином-4 экспрессии эотаксина-1 при остром дерматите [51]. У детей в возрасте до года с atopическим или себорейным дерматитом в циркуляции увеличено количество интерлейкинов-3, -5- и предшественников эозинофилов и базофилов, стимулируемых гранулоцитарно/макрофагальным колониестимулирующим фактором, что может играть значительную роль в развитии воспаления кожи в течение первого года жизни [3]. При анализе уровня интерлейкинов-4, -5, -13, -17, -17F, -22, а также трансформирующего фактора роста- β показано, что одним из маркеров тяжести atopического дерматита у детей является интерлейкин-22, определение которого может быть полезно для мониторинга активности кожного воспаления [62, 63].

При аллергическом рините число эозинофилов в крови выше, чем в норме, однако уровень интерлейкина-5 в сыворотке крови при этом может существенно не отличаться от нормального. Достоверной корреляции между концентрацией интерлейкина-5 и процентом эозинофилов не наблюдается. Напротив, уровень эотаксина, эозинофилсвязанного нейротоксина и эозинофильного катионного белка прямо коррелируют с относительным числом эозинофилов [9].

Наибольшее число работ посвящено цитокиновому спектру при бронхиальной астме [8–10, 64–66], при которой у многих детей в слизистой оболочке органов дыхания и крови выявляется эозинофилия, многократно превышающая показатели здоровых детей этого возраста [64, 65]. Проведен ряд исследований цитокинового профиля сыворотки крови детей с бронхиальной астмой [8–10]. Исследовано содержание эозинофильного катионного белка, а также широкого спектра цитокинов и хемокинов в остром периоде астмы и в периоде ремиссии [8, 10]. В результате исследования, в частности, показано, что ключевыми регуляторами эозинофилии при обострении бронхиальной астмы могут быть Th2-ассоциированные интерлейкин-5 и эотаксин. У детей со стабильной бронхиальной астмой роль этих цитокинов в патологическом процессе полностью не определена [9], однако у них выявлена корреляция уровня интерлейкина-5 и уровня эотаксина со степенью активации эозинофилов. Доказано, что уровень эотаксина у больных с частыми обострениями бронхиальной астмы выше, чем у здоровых детей соответствующего возраста. У таких больных не найдено корреляции между уровнем интерлейкина-5 и процентом эозинофилов, уровнем эозинофилсвязанного нейротоксина и уровнем эозинофильного катионного белка. В то же время уровень эотаксина с высокой степенью значимости коррелировал с процентом эозинофилов, а также с концентрацией эозинофилсвязанного нейротоксина и уровнем эозинофильного катионного белка [9].

Н. Li и соавт. (2012) исследовали в мокроте детей с бронхиальной астмой уровень фактора роста нерва и интерлейкина-4. Для этого определяли количественные показатели матричной РНК фактора роста нерва и интерлейкина-4, степень экспрессии которых в клетках мокроты при бронхиальной астме была выше, чем в контрольной группе. Значения показателей положительно коррелировали с относительным количеством эозинофилов и значительно уменьшались у детей с бронхиальной астмой после лечения. По заключению авторов, эозинофильная инфильтрация и соответствующее увеличение экспрессии фактора роста нерва и интерлейкина-4 играют ключевую роль в развитии астмы у детей, что полезно учитывать при диагностике этого заболевания и анализе эффективности лечения [64].

Фундаментальные исследования по оценке цитокинового/хемокинового ответа при эозинофилии осуществлялись у детей именно с бронхиальной астмой [8]. Так, М. Kato и соавт. (2010) провели фундаментальное исследование по определению значительного количества патогенетически значимых параметров, ассоциированных с эозинофилами в периферической крови. Оценивали уровень эозинофильного катионного белка, интерлейкинов -1 β , -1 α , -2, -4, -5, -6, -7, -8, -9, -10, -12, -13, -15, -17, интерферона- γ , эотаксина, фактора некроза опухолей- α , гранулоцитарно/макрофагального колониестимулирующего фактора, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, моноцитарного хемоаттрактантного белка-1, хемоаттрактантов иммуноцитов и эозинофилов (MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES), тромбоцитарного фактора роста, основного фактора роста фибробластов, фактора роста эндотелия сосудов, интерферон-индуцирующего белка-10 с использованием мультиплексного гранул-связывающего анализа (bead-based assay) у детей с бронхиальной астмой в остром периоде и периоде ремиссии. Показано, что в остром периоде бронхиальной астмы по сравнению с периодом ремиссии значительно повышены показатели сывороточной концентрации эозинофильного катионного белка, интерлейкинов-1 α , -5, -6, -8 и -10, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 и интерферон-индуцирующего белка-10. Уровни эозинофильного катионного белка, интерлейкина-5 и интерферон-индуцирующего белка-10 были значительно выше при обострении астмы, чем в контроле. Полученные данные позволили авторам высказать мнение, что активация эозинофилов и ассоциированная с этим секреция широкого спектра цитокинов могут индуцировать обострение астмы у детей. Показано, что в периоде обострения астмы при применении системных кортикостероидов значительно повышается уровень эозинофильного катионного белка, интерлейкинов-5, -6, -1 α и интерферон-индуцирующего белка-10, но не интерлейкинов 8, 10, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора и моноцитарного хемоаттрактантного белка-1, концентрация которых значительно снижается после лечения [8].

Проведено сопоставление процессов ремоделирования тканей респираторного тракта у детей с «эозинофильной» и «неэозинофильной» астмой. Проанализированы гистологические особенности биоптатов тканей бронхов, взятых во время бронхоскопии. Степень ремоделирования респираторного тракта оценивали по ряду признаков: утолщению базальных мембран, атрофии эпителия и снижению ангиогенеза. Параллельно с количественными гистологическими и иммуногистохимическими методами исследовали показатели активации иммунитета – степень инфильтрации тканей иммуноцитами, концентрацию интерлейкина-4, -5, -6, трансформирующего фактора

роста- β , числа рецепторов II типа трансформирующего фактора роста- β . Основные гистологические признаки ремоделирования тканей респираторного тракта выявлены у детей как с «эозинофильной», так и «неэозинофильной» астмой. В обеих группах отмечалось утолщение базальных мембран, атрофия эпителия и изменение числа кровеносных сосудов по сравнению с контролем. В обеих группах увеличивалась экспрессия интерлейкинов-4 и -5, в то время как число рецепторов II типа трансформирующего фактора роста- β уменьшалось [66].

Специалисты отмечают недостаток информации, касающейся активации эозинофилов и их цитокинового ответа при вирусиндуцированном стридоре [10]. G. Turato и соавт. (2008) исследовали биоптаты бронхов детей с мультитриггерным стридором с атопией или без таковой, а также у детей без атопии или стридора. Оценивали степень атрофии эпителия, утолщения базальной мембраны, ангиогенез, наличие клеток воспаления, интерлейкин-4+ и интерлейкин-5+ клеток в субэпителиальном слое. У детей со стридором в биоптатах было значительно увеличено количество эозинофилов, наблюдалась выраженная атрофия эпителия, утолщение базальной мембраны, увеличенное число сосудов. У этих же детей отмечали увеличение экспрессии интерлейкина-4 и -5 [67]. Позднее M. Kato и соавт. (2011) провели определение эозинофильного катионного протеина и 27 цитокинов/хемокинов в сыворотке и назальном секрете у детей со стридором, вызванным респираторными вирусами. Антигены вирусов в назальном секрете выявляли либо «напрямую», либо с помощью «обратной» полимеразной цепной реакции, следующей за ДНК-секвенированием. При обострении стридора чаще прочих выявляли риновирус (в 59 пробах из 174), респираторный синцитиальный вирус 1 (в 44 пробах), энтеровирус (в 17), прочие вирусы (в 19). В 35 пробах вирусы не были найдены. Концентрация эозинофильного катионного белка, интерлейкинов-5, -6, -1 α , интерферон-индуцирующего белка-10 у детей с риновирусиндуцированным стридором была значительно повышена по сравнению с данными у пациентов без стридора, а уровень эозинофильного катионного белка, интерлейкина -5 и интерферониндуцирующего белка-10 — по сравнению с показателями у здоровых детей. По мнению авторов, различие цитокинового профиля и связанной с этим эозинофильной активации может влиять на обострение стридора, индуцированного вирусами, у детей [10].

Ряд работ посвящен эозинофильному эзофагиту [4, 34, 55–56], который представляет собой хроническое аллергическое (атопическое) заболевание. Патогенез его недостаточно изучен, хотя заболевание часто встречается и у детей, и у взрослых. Эозинофильный эзофагит характеризуется наличием более

15 эозинофилов в поле зрения в биоптатах слизистой оболочки пищевода [56]. Оценивали уровень интерлейкина-5, эозинофилзависимого нейротоксина в сыворотке крови и кале в зависимости от клинических особенностей болезни и ее активности у детей с эозинофильным эзофагитом на протяжении 0, 4, 12, 18 и 24 нед на фоне кортикостероидной терапии в течение первых 12 нед. На 4-й неделе выявлено значительное снижение уровня эозинофилзависимого нейротоксина в сыворотке крови детей с эозинофильным эзофагитом по сравнению с исходным уровнем, затем возврат показателя к исходному в сроки от 4 до 12 нед, затем его стабилизация в периоде от 12 до 24 нед. Значения сывороточного интерлейкина-5 и эозинофилзависимого нейротоксина в стуле статистически не отличались от контрольных и не показывали существенной динамики [55].

При проведении ретроспективного исследования у всех детей с пищевой аллергией в возрасте от 3 до 36 мес выявлено увеличение количества периферических эозинофилов, повышение уровня интерлейкинов-4, -5, эозинофильного катионного белка. Применение элиминационных диет у таких больных приводило к снижению числа эозинофилов [57].

K. Ohtomo и соавт. (2010) показали важную роль трансформирующего фактора роста- β_1 в развитии тканевой эозинофилии при аллергическом кератоконъюнктивите у детей. Исследовали иммуногистохимическую экспрессию цитокина и ассоциированных с ним белков в гигантских сосочках, а также изменение секреции этого фактора в ответ на продукцию эотаксина в культуре конъюнктивальных и роговичных фибробластов. Показано, что при аллергическом кератоконъюнктивите увеличивается экспрессия трансформирующего фактора роста- β_1 и ассоциированных с ним белков (фосфорилированного цитоплазматического медиатора 2 — Smad2, интегрин $\alpha\beta$, α -гладкомышечного актина, проколлагена I-го типа, тенасцина-C) в гигантских сосочках. При этом синергическое воздействие трансформирующего фактора роста- β_1 , интерлейкинов-4 и -13 приводит к увеличению продукции эотаксина в культуре конъюнктивальных и роговичных фибробластов. Авторами установлено, что эффект, оказываемый трансформирующим фактором роста- β_1 , интерлейкином-4 и -13, ингибируется глюкокортикоидами, но не циклоспоринами и такролимусом [54].

В последние годы повышается интерес специалистов к изучению гиперэозинофильного синдрома, который представляет собой гетерогенную группу редких патологических состояний, сопровождающихся эозинофилией крови ($1,5 \cdot 10^9$ /л и более), отсутствием ее объективных причин и очевидным эозинофилассоциированным патогенезом. В настоящее время может осуществляться дифференциальная диагностика различных типов этого синдрома

разной этиологии [60], однако число публикаций по этой проблеме по-прежнему невелико.

Работ, целенаправленно посвященных исследованию патогенеза гиперэозинофильного синдрома в детском возрасте, не найдено, хотя встречаются фундаментальные исследования, в которых анализируется состояние больных в возрасте от 6 лет. Так, на основании результатов мультицентрового исследования Р. Ogbogu и соавт. (2009) были суммированы основные демографические, клинические и лабораторные характеристики достаточно крупных разрозненных когорт больных с гиперэозинофильным синдромом и обобщены результаты терапии. В ретроспективный анализ были включены клинические и лабораторные данные 188 пациентов, наблюдавшихся в 11 институтах США и Европы [60]. Одной из особенностей цитокинового профиля при этом синдроме является значительное, нередко многократное повышение уровня интерлейкина-5 [60, 68].

Мало изучен цитокиновый профиль при эозинофильном назальном полипозе. F. Nunes и соавт. (2009) исследовали экспрессию матричной РНК интерлейкинов-4, -5, -6, -8, гранулоцитарно/макрофагального колониестимулирующего фактора и интерферона- γ при эозинофильных и неэозинофильных полипозах у больных разного возраста, в том числе у детей в возрасте 3 лет и старше. Как и при других болезнях, ассоциированных с эозинофилией, при эозинофильных полипозах выявлено повышение уровня интерлейкинов-4 и -6, что позволило авторам считать эти цитокины важными медиаторами эозинофилии при данном заболевании [61].

Малоизученным остается также патогенез гиперчувствительного пневмонита, сопровождающегося эозинофилией [69, 70]. Считается, что для развития заболевания основное значение имеют клеточно-опосредованные реакции с участием Т-лимфоцитов и естественных киллеров. Патогенетическая роль эозинофилов при данном заболевании исследована недостаточно, в особенности у детей. При гиперчувствительном пневмоните в биологических жидкостях отмечено повышение уровня ряда цитокинов, включая интерлейкины-8 и -12, фактор некроза опухолей- α и интерферон- γ [70].

Паразитарные инвазии у детей часто ассоциируются с эозинофилией. Так, D. Nagy и соавт. (2012) исследовали число эозинофилов, уровень сывороточных цитокинов (интерлейкинов-1, -2, -4, -5, -6, -10 и -13, интерферона- γ , фактора некроза опухолей- α), общего иммуноглобулина Е, результаты прик-теста и неспецифических бронхиальных провокационных тестов у детей с токсокарозом. При токсокарозе, наряду с эозинофилией, был значительно повышен уровень протективных провоспалительных цитокинов — интерферона- γ , интерлейкинов-6 и -13, а также противовоспалительного интерлейкина-10 [71].

Ряд работ посвящен цитокиновому статусу при лечении детей с эозинофилией [34, 56, 65]. Уже ранние исследования позволили предположить, что, ввиду важнейшей роли интерлейкина-5 в регуляции эозинофильного воспаления, лечение моноклональными антителами к этому цитокину (mepolizumab) может привести к снижению риска обострения. Для проверки этой гипотезы в 2009—2011 гг. проведено мультицентровое дублированное плацебо-контролируемое исследование в 81 центре 13 стран. Обследованы пациенты 12—74 лет с периодическими обострениями астмы и признаками эозинофильного воспаления респираторного тракта. Больные получили 13 инфузий различных доз препарата с 4-недельными интервалами. Рандомизированы пациенты ($n=621$), получавшие плацебо и различные дозы препарата. При введении 75 мг препарата частота обострений снизилась на 48% ($p<0,0001$), 250 мг препарата — на 39% ($p=0,0005$), 750 мг — на 52% ($p<0,0001$), что значительно выше, чем в группе плацебо. Т.е. было показано, что блокирующие моноклональные антиинтерлейкин-5-антитела представляют собой эффективный и толерантный препарат, который снижает риск обострений при астме, связанной с эозинофилией, в том числе у детей [65]. Позднее J. Spergel и соавт. (2012) применили нейтрализующие моноклональные антиинтерлейкин-5-антитела для лечения детского эозинофильного эзофагита. Эффект нейтрализующих антител оценивали в динамике от 0 до 15 нед, сопоставляя число эзофагеальных интраэпителиальных эозинофилов, которое значительно снизилось через 12—15 нед. Различие показателей в основной группе и группе плацебо было статистически значимым [51].

Таким образом, доказано участие эозинофилов в патогенезе многих заболеваний, однако в настоящее время по-прежнему актуально решение ряда вопросов, в том числе: каким образом эозинофилы синтезируют, сохраняют и секретируют обширный арсенал цитокинов в норме и при патологии. Современные высокотехнологичные методы, включая электронную томографию, обратно-транскрипционную полимеразную цепную реакцию, количественные гистологические и иммуногистохимические технологии *in situ* и др., дают возможность понимания процесса секреции цитокинов, которые сохраняются в гранулах эозинофилов.

По-прежнему неадекватно малочисленны прикладные исследования патогенеза заболеваний, ассоциированных с циркуляторной и тканевой эозинофилией. Эти исследования необходимы не только для диагностики и поиска новых терапевтических мишеней для лечения широкого спектра заболеваний, но и для познания сложнейших кооперативных межклеточных взаимодействий при заболеваниях, сопровождающихся развитием эозинофилии у детей.

ЛИТЕРАТУРА

- Lynch O.T., Giembycz M.A., Barnes P.J. et al. Outside-in signalling mechanisms underlying CD11b/CD18-mediated NADPH oxidase activation in human adherent blood eosinophils. *Br J Pharmacol* 1999; 128: 6: 1149–1158.
- Vieira Silva C.C., Nogueira Ferraz C.R., Fornari J.V. et al. Epidemiological analysis of eosinophilia and elevation of immunoglobulin E as a predictable and relative risk of enteroparasitosis. *Rev Cubana Med Trop* 2012; 64: 1: 22–26.
- Weisse K., Lehmann I., Heroux D. et al. The LINA cohort: indoor chemical exposure, circulating eosinophil/basophil (Eo/B) progenitors and early life skin manifestations. *Clin Exp Allergy* 2012; 42: 9: 1337–1346.
- Walsh G.M. Reslizumab for pediatric eosinophilic esophagitis. *Immunotherapy* 2010; 2: 4: 461–465.
- Voehringer D., Shinkai K., Locksley R.M. Type 2 immunity reflects orchestrated recruitment of cells committed to IL-4 production. *Immunity* 2004; 20: 3: 267–277.
- Sabin E.A., Kopf M.A., Pearce E.J. Schistosoma mansoni egg-induced early IL-4 production is dependent upon IL-5 and eosinophils. *J Exp Med* 1996; 184: 5: 1871–1878.
- Atamas S., Chapoval S.P., Keegan A.D. Cytokines in chronic respiratory diseases. *Biol Rep* 2013; 5: 3.
- Kato M., Yamada Y., Maruyama K. et al. Serum eosinophil cationic protein and 27 cytokines/chemokines in acute exacerbation of childhood asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 2010; 152: Suppl 1: 62–66.
- Kim C.K., Kita H., Callaway Z. et al. The roles of a Th2 cytokine and CC chemokine in children with stable asthma: potential implication in eosinophil degranulation. *Pediatr Allergy Immunol* 2010; 21: 4 Pt 2: e697–704.
- Kato M., Tsukagoshi H., Yoshizumi M. et al. Different cytokine profile and eosinophil activation are involved in rhinovirus- and RS virus-induced acute exacerbation of childhood wheezing. *Pediatr Allergy Immunol* 2011; 22: 1 Pt 2: e87–94.
- Melo R.C.N., Liu L., Xenakis J.J. et al. Eosinophil-derived cytokines in health and disease: unraveling novel mechanisms of selective secretion. *Allergy* 2013; 68: 3: 274–284.
- Todd R., Donoff B.R., Chiang T. et al. The eosinophil as a cellular source of transforming growth factor alpha in healing cutaneous wounds. *Am J Pathol* 1991; 138: 6: 1307–1313.
- Detoraki A., Granata F., Staibano S. et al. Angiogenesis and lymphangiogenesis in bronchial asthma. *Allergy* 2010; 65: 8: 946–958.
- Hoshino M., Nakamura Y., Hamid Q.A. Gene expression of vascular endothelial growth factor and its receptors and angiogenesis in bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 6: 1034–1038.
- Kay A.B. The role of eosinophils in the pathogenesis of asthma. *Trends Mol Med* 2005; 11: 4: 148–152.
- Aceves S.S., Newbury R.O., Dohil R. et al. Esophageal remodeling in pediatric eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 1: 206–212.
- Gharaee-Kermani M., Phan S.H. Molecular mechanisms of and possible treatment strategies for idiopathic pulmonary fibrosis. *Curr Pharm Des* 2005; 11: 30: 3943–3971.
- Bataller R., Brenner D.A. Liver fibrosis. *J Clin Invest* 2005; 115: 2: 209–218.
- Nouri-Aria K.T., O'Brien F., Noble W. et al. Cytokine expression during allergen-induced late nasal responses: IL-4 and IL-5 mRNA is expressed early (at 6 h) predominantly by eosinophils. *Clin Exp Allergy* 2000; 30: 12: 1709–1716.
- Woerly G., Roger N., Loiseau S. et al. Expression of Th1 and Th2 immunoregulatory cytokines by human eosinophils. *Int Arch Allergy Immunol* 1999; 118: 2–4: 95–97.
- Walsh E.R., Sahu N., Kearley J. et al. Strain-specific requirement for eosinophils in the recruitment of T cells to the lung during the development of allergic asthma. *J Exp Med* 2008; 205: 6: 1285–1292.
- Rose C.E., Lannigan J.A., Kim P. et al. Murine lung eosinophil activation and chemokine production in allergic airway inflammation. *Cell Mol Immunol* 2010; 7: 5: 361–374.
- Jordan M.B., Mills D.M., Kappler J. et al. Promotion of B cell immune responses via an alum-induced myeloid cell population. *Science* 2004; 304: 5678: 1808–1810.
- Wang H.B., Weller P.F. Pivotal advance: eosinophils mediate early alum adjuvant-elicited B cell priming and IgM production. *J Leukoc Biol* 2008; 83: 4: 817–821.
- Chu V.T., Frohlich A., Steinhilber G. et al. Eosinophils are required for the maintenance of plasma cells in the bone marrow. *Nat Immunol* 2011; 12: 2: 151–159.
- Abu-Ghazaleh R.I., Fujisawa T., Mestecky J. et al. IgA-induced eosinophil degranulation. *J Immunol* 1989; 142: 7: 2393–2400.
- Wong C.K., Cheung P.F., Ip W.K. et al. Intracellular signaling mechanisms regulating toll-like receptor-mediated activation of eosinophils. *Am J Res Cell Mol Biol* 2007; 37: 1: 85–96.
- Kobayashi H. Effect of c-kit ligand (stem cell factor) in combination with interleukin-5, granulocyte/macrophage colony-stimulating factor, and interleukin-3, on eosinophil lineage. *Int J Hematol* 1993; 58: 21–26.
- Palframan R.T., Collins P.D., Severs N.J. et al. Mechanisms of acute eosinophil mobilization from the bone marrow stimulated by interleukin-5: the role of specific adhesion molecules and phosphatidylinositol-3-kinase. *J Exp Med* 1998; 188: 9: 1621–1632.
- Palframan R.T., Collins P.D., Williams T.J. et al. Eotaxin induces a rapid release of eosinophils and their progenitors from the bone marrow. *Blood* 1998; 91: 2240–2248.
- McEwen B.J. Eosinophils: A review. *Vet Res Commun* 1990; 16: 11–44.
- Sanderson C.J. Eosinophil differentiation factor (interleukin-5). *Immunob* 1990; 49: 231–256.
- Clutterbuck E.J., Hirst E.M., Sanderson C.J. Human interleukin-5 (IL-5) regulates the production of eosinophils in human bone marrow cultures: Comparison and interaction with IL-1, IL-3, IL-6, and GM-CSF. *Blood* 1989; 73: 1504–1512.
- Spergel J.M., Rothenberg M.E., Collins M.H. et al. Reslizumab in children and adolescents with eosinophilic esophagitis: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129: 2: 456–463.
- Bates M.E., Green V.L., Bertics P.J. ERK1 and ERK2 activation by chemotactic factors in human eosinophils is interleukin 5-dependent and contributes to leukotriene C(4) biosynthesis. *J Biol Chem* 2000; 275: 15: 10968–10975.
- Steinbach K.H., Schick P., Trepel F. et al. Estimation of kinetic parameters of neutrophilic, eosinophilic, and basophilic granulocytes in human blood. *Blut* 1979; 39: 1: 27–38.
- Melo R.C., Perez S.A., Spencer L.A. et al. Intragranular vesiculotubular compartments are involved in piecemeal degranulation by activated human eosinophils. *Traffic* 2005; 6: 10: 866–879.
- Spencer L.A., Melo R.C., Perez S.A. et al. Cytokine receptor-mediated trafficking of preformed IL-4 in eosinophils identifies an innate immune mechanism of cytokine secretion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 9: 3333–3338.
- Melo R.C., Spencer L.A., Perez S.A. et al. Vesicle-mediated secretion of human eosinophil granule-derived major basic protein. *Lab Invest* 2009; 89: 7: 769–781.
- Roth N., Stadler S., Lemann M. et al. Distinct eosinophil cytokine expression patterns in skin diseases – the possible existence of functionally different eosinophil subpopulations. *Allergy* 2011; 66: 11: 1477–1486.

41. *Straumann A., Kristl J., Conus S. et al.* Cytokine expression in healthy and inflamed mucosa: probing the role of eosinophils in the digestive tract. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 8: 720—726.
42. *Cheng J.F., Ott N.L., Peterson E.A. et al.* Dermal eosinophils in atopic dermatitis undergo cytolytic degeneration. *J Allergy Clin Immunol.* 1997; 99: 5: 683—692.
43. *Toyoda M., Maruyama T., Morohashi M.* Free eosinophil granules in urticaria: a correlation with the duration of wheals. *Am J Dermatopathol* 1996; 18: 1: 49—57.
44. *Gutierrez-Pena E.J., Knab J., Buttner D.W.* Immunoelectron microscopic evidence for release of eosinophil granule matrix protein onto microfilariae of *Onchocerca volvulus* in the skin after exposure to amocazine. *Parasitol Res* 1998; 84: 8: 607—615.
45. *Watanabe K., Misu T., Inoue S. et al.* Cytolysis of eosinophils in nasal secretions. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2003; 112: 2: 169—173.
46. *Persson C.G., Erjefelt J.S.* «Ultimate activation» of eosinophils in vivo: lysis and release of clusters of free eosinophil granules (Cfegs) *Thorax* 1997; 52: 6: 569—574.
47. *Сухоруков В.С., Пампура А.Н., Ружицкая Е.А. и др.* Оценка эозинофилограммы периферической крови у детей с эозинофилией. *Клин лаб диагностика* 2013; 4: 13—16. (Sukhorukov V.S., Pampura A.N., Ruzhitskaja E.A. et al. Estimation of eosinophilogramme of peripheral blood in children with eosinophils. *Klin lab diagnostika* 2013; 4: 13—16.)
48. *Виноградова Т.В., Чуслева А.А., Ружицкая Е.А. и др.* Особенности цитокинового статуса у детей с атопическим дерматитом. *Клин лаб диагностика* 2013; 9: 55. (Vinogradova T.V., Chusljaeva A.A., Ruzhitskaja E.A. et al. Features of cytokine status in children with atopic dermatitis. *Klin lab diagnostika* 2013; 9: 55.)
49. *Чуслева А.А., Пампура А.Н., Виноградова Т.В.* Уровень эозинофилов, IL-5 и хемокинов у детей с атопическим дерматитом. *Рос аллергол журн* 2013; 2: 2: 313—314. (Chusljaeva A.A., Pampura A.N., Vinogradova T.V. Levels of eosinophils, IL-5 and chemokines in children with atopic dermatitis. *Ros allergol zh.* 2013; 2: 2: 313—314.)
50. *Subbarao G., Rosenman M.B., Ohnuki L.* Exploring potential noninvasive biomarkers in eosinophilic esophagitis in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2011; 53: 6: 651—658.
51. *Gahr N., Fölster-Holst R., Weichenhal M. et al.* Dermal fibroblasts from acute inflamed atopic dermatitis lesions display increased eotaxin/CCL11 responsiveness to interleukin-4 stimulation. *Br J Dermatol* 2011; 164: 3: 586—592.
52. *Hong S.W., Kim M.R., Lee E.Y. et al.* Extracellular vesicles derived from *Staphylococcus aureus* induce atopic dermatitis-like skin inflammation. *Allergy* 2011; 66: 3: 351—359.
53. *Yamakawa Y., Ohtsuka Y., Ohtani K. et al.* Effects of leukotriene receptor antagonists on peripheral eosinophil counts and serum IgE levels in children with food allergy. *Drugs RD* 2010; 10: 3: 147—154.
54. *Ohtomo K., Ebihara N., Matsuda A. et al.* Role of TGF- β in tissue eosinophilia associated with vernal keratoconjunctivitis. *Exp Eye Res* 2010; 91: 5: 748—754.
55. *Tantibhaedhyangkul U., Tatevian N., Gilger M.A. et al.* Increased esophageal regulatory T cells and eosinophil characteristics in children with eosinophilic esophagitis and gastroesophageal reflux disease. *Ann Clin Lab Sci* 2009; 39: 2: 99—107.
56. *Remedios M., Jones D., Kerlin P.* Eosinophilic oesophagitis: epidemiology, pathogenesis and management. *Drugs* 2011; 71: 5: 527—540.
57. *Варламов Е.Е., Виноградова Т.В., Чуслева А.А. и др.* Биомаркеры аллергического воспаления и тяжесть атопического дерматита у детей. *Рос аллергол журн* 2012; 5: 31—35. (Varlamov E.E., Vinogradova T.V., Chusljaeva A.A. et al. Biomarker of an allergic inflammation and weight of atopic dermatitis in children. *Ros allergol zhurn* 2012; 5: 31—35.)
58. *Варламов Е.Е., Виноградова Т.В., Чуслева А.А. и др.* Особенности цитокинового профиля у детей раннего возраста с множественной непереносимостью пищевых белков. *Рос аллергол журн* 2012; 5: 76—80. (Varlamov E.E., Vinogradova T.V., Chusljaeva A.A. et al. Feature of cytokine profile in children of early age with plural intolerance of food fibers. *Ros allergol zhurn* 2012; 5: 76—80.)
59. *Виноградова Т.В., Чуслева А.А., Варламов Е.Е. и др.* Современная оценка цитокинового статуса детей при атопическом дерматите. *Рос вест перинатол и педиат* 2014; 1: 76—81. (Vinogradova T.V., Chusljaeva A.A., Varlamov E.E. et al. Modern estimation of cytokine status in children with atopic dermatitis. *Ros vest perinatol i pediat* 2014; 1: 76—81.)
60. *Ogbogu P.U., Bochner B.S., Butterfield J.H. et al.* Hypereosinophilic syndrome: a multicenter, retrospective analysis of clinical characteristics and response to therapy. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 124: 6: 1319—1325.
61. *Nunes F.B., Becker C.G., Becker H.M. C et al.* Cytokines profile in cystic fibrosis patients with nasal polyps. *Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord)* 2009; 130: 3: 163—167.
62. *Чуслева А.А., Пампура А.Н., Виноградова Т.В.* Роль IL-22 у детей с атопическим дерматитом. *Клин лаб диагностика* 2013; 9: 57. (Chusljaeva A.A., Pampura A.N., Vinogradova T.V. Role of IL-22 in children with atopic dermatitis. *Klin lab diagnostika* 2013; 9: 57.)
63. *Ружицкая Е.А., Виноградова Т.В., Чуслева А.А. и др.* Объективизация оценки эозинофилограммы детей с аллергическими заболеваниями. *Клин лаб диагностика* 2013; 9: 57. (Ruzhitskaja E.A., Vinogradova T.V., Chusljaeva A.A. et al. Objectivization of estimation of eosinophilogramme in children with allergic diseases. *Klin lab diagnostika* 2013; 9: 57.)
64. *Li H.Z., Jin Z.Y., Yuan X.Z., Jin C.J.* Levels of nerve growth factor and interleukin-4 in the induced sputum of children with cough variant asthma. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi.* 2012; 14: 12: 924—927.
65. *Pavord I.D., Korn S., Howarth P. et al.* Mepolizumab for severe eosinophilic asthma (DREAM): a multicentre, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2012; 380: 9842: 651—659.
66. *Baraldo S., Turato G., Bazzan E. et al.* Noneosinophilic asthma in children: relation with airway remodelling. *Eur Res J* 2011; 38: 3: 575—583.
67. *Turato G., Barbato A., Baraldo S. et al.* Nonatopic children with multitrigger wheezing have airway pathology comparable to atopic asthma. *Am J Res Crit Care Med* 2008; 178: 5: 476—482.
68. *Stein M.L., Villanueva J.M., Buckmeier B.K. et al.* Anti-IL-5 (mepolizumab) therapy reduces eosinophil activation ex vivo and increases IL-5 and IL-5 receptor levels. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 1473—1483.
69. *Vece T.J., Fan L.L.* Interstitial Lung Disease in Children Older Than 2 Years. *Pediatric Allergy, Immunol Pulmonol Pediat* 2010; 23: 1: 33—41.
70. *Buchvald F., Petersen B.L., Damgaard K. et al.* Frequency, treatment, and functional outcome in children with hypersensitivity pneumonitis. *Pediat Pulmonol* 2011; 8: 11: 1098—1107.
71. *Nagy D., Bede O., Danka J. et al.* Analysis of serum cytokine levels in children with chronic cough associated with *Toxocara canis* infection. *Parasite Immunol* 2012; 34: 12: 581—588.

Поступила 21.01.15