

Кооперативные взаимодействия транскрипционных факторов Foxp3, c-Maf, GATA3 и T-bet при различных вариантах бронхиальной астмы

Л.Н.Сорокина, А.В.Еремеева, В.Н.Минеев, В.В.Лим, М.А.Нёма, В.И.Трофимов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8

Информация об авторах

Сорокина Лада Николаевна – д. м. н., профессор кафедры госпитальной терапии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (812) 338-60-87; e-mail: lada_sorokina@mail.ru

Еремеева Анна Викторовна – старший лаборант кафедры госпитальной терапии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (812) 338-60-87; e-mail: a._v._e@list.ru

Минеев Валерий Николаевич – д. м. н., профессор кафедры госпитальной терапии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (812) 338-60-87; e-mail: vnmineev@mail.ru

Лим Валерия Викторовна – к. м. н., старший лаборант кафедры госпитальной терапии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (812) 338-60-87; e-mail: limvaleria@mail.ru

Нёма Михаил Александрович – к. м. н., ассистент кафедры госпитальной терапии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (812) 338-60-87; e-mail: nyoma1@yandex.ru

Трофимов Василий Иванович – д. м. н., профессор, заведующий кафедрой госпитальной терапии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (812) 338-60-87; e-mail: trofvi@mail.ru

Резюме

В современных представлениях о патогенезе бронхиальной астмы (БА) особое место отводится кооперативным взаимодействиям транскрипционных факторов, а также формируемым в результате этих взаимодействий микросетям. **Целью** исследования явилось установление патогенетической роли транскрипционных факторов Foxp3, GATA-3, c-Maf, T-bet при различных вариантах БА. **Материалы и методы.** Обследованы практически здоровые лица ($n = 47$) и больные ($n = 82$) аллергической (АБА) ($n = 42$) и неаллергической (НАБА) ($n = 40$). Экспрессия мРНК транскрипционных факторов Foxp3 (*forkhead box P3*), c-Maf (*transcription factor Maf*), GATA3 (*GATA-binding protein 3*) и T-bet (*T-box protein*, TBX21) оценивалась путем проведения полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией. Концентрация иммуноглобулина (Ig)-Е и цитокинов (интерлейкины (IL)-4, IL-13, IL-17, IL-6, интерферон (IFN)- γ) в сыворотке крови определялась с помощью стандартной методики иммуноферментного анализа. **Результаты.** Полученные результаты свидетельствуют о наличии дисбаланса в системах Th1/Th2/Foxp3+Treg и Th17/Foxp3+Treg у больных БА. Выявлено снижение экспрессии мРНК Foxp3 у больных БА в сравнении с группой практически здоровых лиц, что, вероятно, свидетельствует о снижении регуляторной роли Treg при БА. В то же время тяжесть заболевания характеризуется уровнем экспрессии мРНК Foxp3, а также концентрацией IL-17 и IL-6. Обнаруженная обратная зависимость в величинах данных показателей указывает на развитие у больных БА дисбаланса между Foxp3+Treg и Th17 в пользу повышения активности Th17 и снижения Foxp3+Treg-клеток. Мононуклеары больных АБА характеризуются значительным преобладанием экспрессии мРНК Th2-специфичных транскрипционных факторов c-Maf и GATA3, ассоциированных с ними цитокинов (IL-4, IL-13) и IgE. В то же время у пациентов с АБА обнаружилось снижение уровня экспрессии T-bet по сравнению с группой практически здоровых лиц и больных НАБА. **Заключение.** При нарастании степени тяжести БА в группе НАБА выявлено снижение экспрессии мРНК T-bet и повышение экспрессии GATA3, что свидетельствует о нарастании Th1/Th2-клеточного дисбаланса в сторону доминирования Th2-ответа.

Ключевые слова: бронхиальная астма, транскрипционные факторы, FoxP3, c-Maf, GATA3, T-bet.

Для цитирования: Сорокина Л.Н., Еремеева А.В., Минеев В.Н., Лим В.В., Нёма М.А., Трофимов В.И. Кооперативные взаимодействия транскрипционных факторов Foxp3, c-Maf, GATA3 и T-bet при различных вариантах бронхиальной астмы. *Пульмонология*. 2017; 27 (5): 614–623. DOI: 10.18093/0869-0189-2017-27-5-614-623

Cooperative interactions of Foxp3, c-Maf, GATA3 and T-bet transcription factors in bronchial asthma

Lada N. Sorokina, Anna V. Eremeeva, Valeriy N. Mineev, Valeriya V. Lim, Mikhail A. Nyoma, Vasiliy I. Trofimov

Academician I.P.Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia: ul. L'va Tolstogo 6/8, Saint-Petersburg, 197089, Russia

Author information

Lada N. Sorokina, Doctor of Medicine, Professor, Department of Hospital Internal Medicine with Course in Allergology and Immunology, Academician I.P.Pavlov Federal First Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 338-60-87; e-mail: lada_sorokina@mail.ru

Anna V. Eremeeva, Senior Technician, Department of Hospital Internal Medicine with Course in Allergology and Immunology, Academician I.P.Pavlov Federal First Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 338-60-87; e-mail: a._v._e@list.ru

Valeriy N. Mineev, Doctor of Medicine, Professor, M.V.Chernorutskiy Department of Hospital Internal Medicine with Course in Allergology and Immunology, Academician I.P.Pavlov Federal First Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 450-71-63; e-mail: vnmineev@mail.ru

Valeriya V. Lim, Candidate of Medicine, Senior Technician, Department of Hospital Internal Medicine with Course in Allergology and Immunology, Academician I.P.Pavlov Federal First Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 338-60-87; e-mail: limvaleria@mail.ru

Mikhail A. Nyoma, Candidate of Medicine, Assistant Lecturer, M.V.Chernorutskiy Department of Hospital Internal Medicine with Course in Allergology and Immunology, Academician I.P.Pavlov Federal First Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (904) 333-85-67; e-mail: nyoma1@yandex.ru

Vasily I. Trofimov, Doctor of Medicine, Professor, Head of M.V.Chernorutskiy Department of Hospital Internal Medicine with Course in Allergology and Immunology, Academician I.P.Pavlov Federal First Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (921) 913-13-28; e-mail: trofvi@mail.ru

Abstract

This study was aimed at evaluation of pathogenic role of Foxp3, GATA-3, c-Maf, and T-bet transcription factors in asthma. **Methods.** 47 healthy individuals and 82 patients with bronchial asthma including 42 patients with allergic asthma (ABA) and 40 patients with non-allergic asthma (NABA) participated in the study. An expression of mRNA of Foxp3 (forkhead box P3), c-Maf (transcription factor Maf), GATA3 (GATA-binding protein 3), and T-bet (T-box protein, TBX21) transcription factors was evaluated by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). Serum concentrations of IgE and cytokines (IL-4, IL-13, IL-17, IL-6, IFN- γ) were measured using ELISA method. **Results.** An imbalance in Th1/Th2/Foxp3+Treg and Th17/Foxp3+Treg systems was found in patients with asthma. Foxp3 mRNA expression was decreased in asthma patients compared to healthy individuals. This could probably reflect an impaired regulatory role of Treg in asthma. At the same time, asthma severity was related to concentrations of Foxp3 mRNA and IL-17 and IL-6. This inverse relationship could indicate an imbalance between Foxp3+Treg and Th17 towards the increase in Th17 activity and the reduction in Foxp3+Treg cell number in asthma. Blood mononuclear cells of ABA patients were characterized by significantly increased expression of mRNA of c-Maf and GATA3 Th2-specific transcription factors, associated cytokines (IL-4, IL-13) and IgE. Nevertheless, ABA patients had lower T-bet expression compared to healthy individuals and NABA patients. **Conclusion.** Asthma worsening in NABA patients was associated with reduced T-bet mRNA expression and increased GATA3 mRNA expression. This could be due to Th1/Th2-cell imbalance towards the increased Th2-response.

Key words: bronchial asthma, transcription factors, FoxP3, FoxP3, c-Maf, GATA3, T-bet.

For citation: Sorokina L.N., Ereemeeva A.V., Mineev V.N., Lim V.V., Nyoma M.A., Trofimov V.I. Cooperative interactions of Foxp3, c-Maf, GATA3 and T-bet transcription factors in bronchial asthma. *Russian Pulmonology*. 2017; 27 (5): 614–623 (in Russian). DOI: 10.18093/0869-0189-2017-27-5-614-623

В современных представлениях о патогенезе бронхиальной астмы (БА) особое место отводится кооперативным взаимодействиям транскрипционных факторов, а также формируемым в результате этих взаимодействий микросетям.

Известно, что основные звенья патогенеза БА реализуются за счет активности цитокинов, продуцируемых Th1 и Th2 [1], однако в последнее время все активнее обсуждается роль и других субпопуляций Т-лимфоцитов, в частности регуляторных Т-клеток (Treg) [2]. На сегодняшний день считается установленной ключевая роль таких транскрипционных факторов, как GATA3 (*GATA-binding protein-3*) и T-bet (*T-box protein, TBX21*) в дифференцировке и функциональной активности Т-хелперов. Так, не подвергается сомнению участие GATA3 в формировании Th2-фенотипа и поддержании продукции Th2-ассоциированных цитокинов [3], в то время как T-bet способствует дифференцировке клеток-предшественников в Th1 [4].

Однако кроме упоминавшихся Th1 и Th2, в последнее время все больше внимания уделяется такой популяции лимфоцитов, как Treg, которые широко изучались у пациентов с онкологическими и аутоиммунными заболеваниями и считаются одними из основных супрессивных регуляторов иммунной системы, функциональная активность которых реализуется посредством транскрипционного фактора Foxp3 (*Forkhead box P3*) [5]. Предполагается, что при БА Treg действуют антагонистично Th17, популяции Т-лимфоцитов, продуцирующих воспалительный цитокин IL-17 [6].

Транскрипционный фактор c-Maf (*Transcription factor Maf*) – наименее изученный из рассматриваемых транскрипционных факторов. Доказана роль c-Maf в активации транскрипции гена IL-4: после тирозинового фосфорилирования c-Maf приобретает способность связываться с промотором соответствующего гена [7]. Кроме того, в контексте обсуж-

дения влияния c-Maf на Т-лимфоциты определенный интерес приобретает способность этого транскрипционного фактора отрицательно влиять на дифференцировку Th1 путем снижения продукции интерферона (IFN)- γ [8]. Таким образом, для c-Maf выявлены следующие функции: способность усиливать Th2-дифференцировку интерлейкин-(IL)-4-зависимым путем и подавлять Th1-несвязанным с Th2-ассоциированными цитокинами путем.

На основании результатов предыдущих исследований [9] сделано предположение, что комплексное изучение кооперативных взаимодействий транскрипционных факторов при БА могло охарактеризовать особенности их влияния друг на друга и, по-видимому, позволило бы прогнозировать клинические особенности БА при преобладании одного из транскрипционных факторов. Целью исследования стало установление патогенетической роли транскрипционных факторов Foxp3, GATA-3, c-Maf, T-bet при различных вариантах БА. При этом следует решить следующие задачи:

- определить экспрессию мРНК Foxp3, GATA3, c-Maf, T-bet при аллергической (АБА) и неаллергической (НАБА) БА в сравнении с контрольной группой;
- выявить изменения экспрессии Foxp3, GATA3, c-Maf, T-bet при разной степени тяжести течения заболевания;
- оценить изменение уровней экспрессии IgE и цитокинов (IL-4, IL-13, IL-17, IL-6, IFN- γ) в связи с изменениями экспрессии транскрипционных факторов Foxp3, GATA3, c-Maf, T-bet при АБА и НАБА у больных с разной тяжестью течения заболевания.

Материалы и методы

Обследованы практически здоровые лица ($n = 47$) и больные БА ($n = 82$) – АБА ($n = 42$) и НАБА ($n = 40$). Всеми участниками исследования подпи-

сан информационный листок для пациента с формой информированного согласия, утвержденный Локальным этическим комитетом Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования (ФГБОУ ВО) «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Минздрава России). Все обследованные больные БА находились на лечении в Клинике госпитальной терапии им. акад. М.В.Черноруцкого ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Минздрава России. Диагноз БА устанавливался в соответствии с классификацией и критериями Глобальной стратегии лечения и профилактики БА (*Global Initiative of Asthma (GINA)*, 2015). Всем больным проводилось комплексное клинико-лабораторное обследование, исследование функции внешнего дыхания.

В качестве модели исследования во всех охарактеризованных методиках выбраны мононуклеары периферической крови. Не позднее чем через 40 мин после получения венозной крови проводилось выделение клеток методом центрифугирования в градиенте плотности *Lymphoseparation Medium* (MP *Biomedicals*, США), плотность 1,077 г / см³. Гепаринизированная кровь разводилась в 2 раза раствором хлорида натрия (9 г / л; рН = 7,2), наслаивалась на 3 мл градиента плотности и центрифугировалась в течение 30 мин при 400 g. Образовавшееся «кольцо» мононуклеаров отбиралось пипеткой, полученная клеточная взвесь трижды отмывалась раствором хлорида натрия, затем концентрация доводилась до 2 × 10⁶ клеток / мл.

Исследование экспрессии мРНК транскрипционных факторов методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией

Экспрессия мРНК исследуемых транскрипционных факторов оценивалась посредством проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) с обратной транскрипцией с нуклеиновыми кислотами, выделенными из мононуклеаров периферической крови. ПЦР проводилась в амплификаторе *iCycler (Biorad, США)* в следующем режиме: инициация при 95 °С в течение 4 мин, 30 циклов денатурации при 95 °С в течение 30 с, отжиг при 60 °С в течение 30 с и полимеризация при 70 °С в течение 30 с. Завершающая полимеризация проводилась при 72 °С в течение 7 мин. Продукт амплификации подвергался электрофорезу в 1,5%-ном агарозном геле и окраске этидия бромидом. Праймеры были разработаны на основе известных последовательностей (*GenBank*):

- Foxp3
5': 5'- TGGAGAGCCCAGCCATGAT-3'
3': 5'- GCCACGTTGATCCCAGGTG -3'
- T-bet
5': 5'- GATGTTTGTGGACGTGGTCTTG-3'
3': 5'- CTTTCCACACTGCACCCACTT-3'

- GATA3
5': 5'- CGCCTGCGGGCTCTATC-3'
3': 5'- CCTTCGCTTGGGCTTAATGA-3'
- c-Maf
5': 5'- AAGGAGAAATACGAGAAGCTGGTGA-3'
3': 5'- TGGGATCGCGTGTACACTCACATG-3'
- β-актин
5': 5'- TTGTCTTTCAGCAAGGACTGG-3'
3': 5'- CCACTTAACATCTTGGGCTGTG-3'

Результат электрофореза фотографировался в ультрафиолетовом свете и анализировался в программе Gel-Pro3.1. Экспрессия мРНК транскрипционных факторов GATA3, T-bet, Foxp3, c-Maf оценивалась относительно уровня β-актина.

Определение концентраций цитокинов и IgE сыворотки проводилось методом иммуоферментного анализа (ИФА) с применением стандартной методики при использовании коммерческих наборов ООО «Цитокин» (Россия) и *eBioscience* (США) на ИФА-анализаторе *StatFlax 303+* (длина волны 450 нм) с построением калибровочной кривой «от точки к точке».

Статистическая обработка результатов исследований проводилась с помощью стандартного пакета прикладного статистического анализа SPSS для Windows (русифицированная версия 21.0). Различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Проведена сравнительная оценка уровней экспрессии Foxp3, GATA3, T-bet, c-Maf у практически здоровых лиц и пациентов с АБА / НАБА (графическое изображение результатов представлено на рис. 1). У пациентов обеих групп (АБА и НАБА) продемонстрировано снижение значений мРНК Foxp3 в сравнении с группой практически здоровых лиц. Больные АБА характеризовались выраженным преобладанием экспрессии GATA3 и c-Maf, т. е. транскрипционных факторов, регулирующих экспрессию

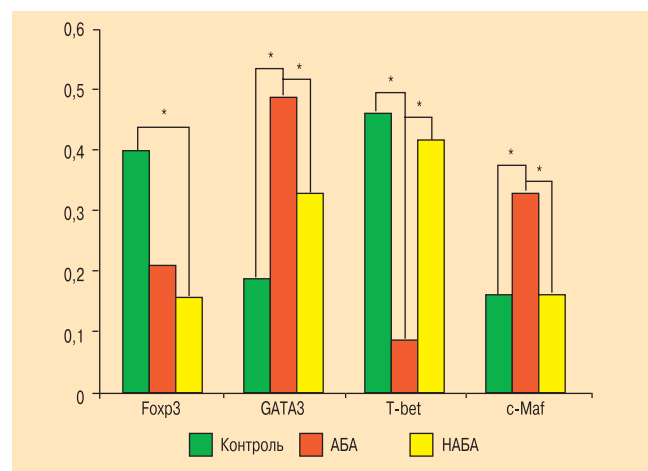


Рис. 1. Динамика уровней экспрессии мРНК Foxp3, GATA3, T-bet, c-Maf в группах обследованных. Примечание: АБА – аллергическая, НАБА – неаллергическая бронхиальная астма; * – различия статистически значимы ($p < 0,05$).
Figure 1. Change in Foxp3, GATA-3, c-Maf, and T-bet mRNA expression in patient groups
Note. *, statistically significant difference, $p < 0.05$.

Таблица 1
Динамика концентраций IFN- γ , IL-4, IgE, IL-13, IL-6, IL-17 в группах обследованных
Table 1
Change in IFN- γ , IL-4, IgE, IL-13, IL-6, and IL-17 concentrations in patient groups

Концентрация	Контроль	АБА	НАБА
IFN- γ	N	↓	↑↑**
IL-4	N	↑↑*	↑**
IgE	N	↑↑*	↑**
IL-13	N	↑↑*	↑**
IL-6	N	↑↑	↑
IL-17	N	↑↑	↑*

Примечание: IFN – интерферон; IL – интерлейкин; Ig – иммуноглобулин; АБА – аллергическая, НАБА – неаллергическая бронхиальная астма; N – нормальные значения экспрессии, соответствующие контрольной группе; ↓ и ↓↓ – снижение экспрессии по сравнению с контрольной группой; ↑ и ↑↑ – повышение экспрессии по сравнению с контрольной группой; * – значимое изменение экспрессии в сравнении с группой контроля; ** – значимое изменение экспрессии в сравнении с группой аллергической бронхиальной астмы.

Notes. N, normal expression level corresponding to that of the control group. ↓ and ↓↓, decreased expression compared to the control group. ↑ and ↑↑, increased expression compared to the control group. *, significant change in the expression compared to the control group; **, significant change in the expression compared to ABA group.

Th2-ассоциированных цитокинов. Однако у пациентов с НАБА, напротив, зафиксировано резкое снижение экспрессии GATA3, в то время как уровни T-bet практически не отличались от таковых в группе контроля.

При проведении анализа изменения экспрессии мРНК указанных транскрипционных факторов у больных БА исследованы уровни цитокинов, специфически ассоциированных с функциональной активностью соответствующих транскрипционных факторов в группах обследованных: IFN- γ (T-bet), IL-4

(GATA3, c-Maf), IL-13, IgE (GATA3). В качестве «маркерных» цитокинов для Foxp3 выбраны IL-17 и IL-6.

Несмотря на то, что данные цитокины не продуцируются Treg, их можно рассматривать как отражение активности процессов, обусловленных супрессией Foxp3: показана способность Foxp3 подавлять экспрессию IL-17 (посредством блокирования ROR γ и ROR α – ключевых транскрипционных факторов Th17) и IL-6, взаимно стимулирующих продукцию друг друга [6].

Обобщенные результаты исследования концентраций цитокинов представлены в табл. 1.

Данные табл. 1 свидетельствуют о том, что цитокиновый спектр в каждой из групп обследуемых соответствовал доминирующему транскрипционному фактору. Так, наибольшие концентрации IFN- γ выявлялись в группе НАБА, а IL-4, IL-13 и IgE – в группе АБА.

Показано, что у пациентов с тяжелым течением БА (в группах как АБА, так и НАБА) уровни IL-6 и IL-17 многократно превышали таковые в группах легкой БА и БА средней степени тяжести (табл. 2, 3). В то же время для Foxp3 обнаружена обратная закономерность – наименьшей экспрессией мРНК транскрипционного фактора характеризовались больные именно тяжелой БА (табл. 4).

При исследовании изменения экспрессии других транскрипционных факторов при разной тяжести заболевания показано, что уровни транскрипционного фактора GATA3 нарастали в зависимости от тяжести БА у пациентов всех групп, достигая максимальных значений при тяжелом течении заболевания (табл. 5).

В то же время транскрипционный фактор T-bet в группе НАБА, напротив, характеризовался снижением экспрессии у пациентов с тяжелым течением БА (табл. 6).

Таблица 2
Концентрации IL-6 у пациентов с бронхиальной астмой в зависимости от тяжести заболевания; пг / мл
Table 2
IL-6 concentration (pg/mL) in asthma patients according to asthma severity

Степень тяжести БА	n	Значение*	Значимость различий	
АБА				
Легкого течения (1)	7	15,42 (7,31; 15,42)	1–3	$p_1 = 0,001^{**}$
Средней степени (2)	28	5,97 (3,21; 16,33)	1–3	$p_2 = 0,029^{**}$
Тяжелого течения (3)	7	56,03 (34,03; 67,79)	1–2	$p = 0,128^{***}$
НАБА				
Легкого течения (1)	14	9,32 (3,42; 15,32)	2–3	$p = 0,0000^{***}$
Средней степени (2)	19	7,62 (1,95; 13,37)	1–3	$p = 0,167^{***}$
Тяжелого течения (3)	7	25,17 (15,14; 490,76)	1–3	$p_1 = 0,057^{**}$
			1–3	$p_2 = 0,156^{**}$
			1–2	$p = 0,695^{***}$
			2–3	$p = 0,027^{***}$
			1–3	$p = 0,038^{***}$

Примечание: БА – бронхиальная астма; АБА – аллергическая, НАБА – неаллергическая бронхиальная астма; * – для выборок, характеризующихся распределением отличным от нормального, представлены медианы и интерквартильные размахи (непараметрическая статистика); ** – для распределения отличного от нормального использован критерий независимых выборок Краскела–Уоллиса (p_1) и критерий Джонкхира–Терпстры для попарного сравнения между собой > 2 групп (p_2); *** – уровень значимости для сравнения 2 независимых выборок (использован U-критерий Уилкоксона–Манна–Уитни).

Notes. *, non-normally distributed parameters are presented as median and interquartile range (non-parametric statistics); **, Kruskal–Wallis test for independent samples (p_1) and Jonckheere–Terpstra test for paired samples (p_2) were used for non-normally distributed parameters; ***, statistically significant difference between two independent samples (Wilcoxon–Mann–Whitney U-test).

Таблица 3
Концентрации IL-17 у пациентов с бронхиальной астмой в зависимости от тяжести заболевания; пг / мл
Table 3
IL-17 concentration (pg/mL) in patients with asthma according to asthma severity

Степень тяжести БА	n	Значение*	Значимость различий	
АБА				
Легкого течения (1)	7	93,20 (12,37; 507,30)	1–3	$p_1 = 0,005^{**}$
			1–3	$p_2 = 0,004^{**}$
			1–2	$p = 0,762^{***}$
Средней степени (2)	28	42,75 (14,89; 591,05)	2–3	$p = 0,001^{***}$
Тяжелого течения (3)	7	4 994,79 (1 505,32; 10 360,48)	1–3	$p = 0,009^{***}$
НАБА				
Легкого течения (1)	14	132,30 (47,19; 539,31)	1–3	$p_1 = 0,002^{**}$
Средней степени (2)	19	81,67 (54,41; 319,86)	1–3	$p_2 = 0,015^{**}$
			1–2	$p = 0,541^{***}$
Тяжелого течения (3)	7	5 215,82 (4 072,13; 11 531,83)	2–3	$p = 0,001^{***}$
			1–3	$p = 0,0004^{***}$

Примечание: АБА – аллергическая, НАБА – неаллергическая бронхиальная астма; * – для выборок, характеризующихся распределением отличным от нормального, представлены медианы и интерквартильные размахи (непараметрическая статистика); ** – для распределения отличным от нормального использован критерий независимых выборок Краскела–Уоллиса (p_1) и критерий Джонкхира–Терпстры для попарного сравнения между собой более двух групп (p_2); *** – уровень значимости для сравнения 2 независимых выборок (использован U-критерий Уилкоксона–Манна–Уитни).

Notes. *, non-normally distributed parameters are presented as median and interquartile range (non-parametric statistics); **, Kruskal-Wallis test for independent samples (p_1) and Jonckheere–Terpstra test for paired samples (p_2) were used for non-normally distributed parameters; ***, statistically significant difference between two independent samples (Wilcoxon–Mann–Whitney U-test).

Для транскрипционного фактора c-Maf статистически значимых различий в уровнях экспрессии при разных степенях тяжести БА не показано.

При исследовании экспрессии мРНК транскрипционных факторов и концентраций цитокинов в зависимости от фазы заболевания значимых различий между фазами обострения и ремиссии в целом не выявлено, однако обнаружен крайне высокий уровень IL-17 у пациентов с ремиссией НАБА, что могло указывать на наличие выраженного дисбаланса Treg/Th17 у отдельных пациентов. Для про-

верки этой гипотезы дополнительно выделена группа лиц, концентрация IL-17 у которых составила > 1 000 пг / мл (рис. 2).

В представленных результатах необходимо обратить внимание на крайне низкие уровни экспрессии транскрипционного фактора Foxp3 у лиц, концентрация IL-17 у которых составила > 1 000 пг / мл. В то же время для этой же группы была характерна высокая экспрессия GATA3, приближающаяся к таковой в группе АБА, что могло являться подтверждением наличия нарушения у пациентов с БА регуляторных

Таблица 4
Уровни экспрессии транскрипционного фактора Foxp3 у пациентов с бронхиальной астмой в зависимости от тяжести заболевания (интегрированная плотность по отношению к β -актину)
Table 4
Expression of Foxp3 transcription factor in patients with asthma according to asthma severity (integrated density relative to β -actin)

Степень тяжести БА	n	Значение*	Значимость различий	
АБА				
Легкого течения (1)	7	0,33 (0,17; 0,79)	1–3	$p_1 = 0,007^{**}$
			1–3	$p_2 = 0,003^{**}$
			1–2	$p = 0,493^{***}$
Средней степени (2)	28	0,41 (0,92; 0,66)	2–3	$p = 0,002^{***}$
Тяжелого течения (3)	7	0,05 (0,02; 0,08)	1–3	$p = 0,017^{***}$
НАБА				
Легкого течения (1)	14	0,21 (0,09; 0,48)	1–3	$p_1 = 0,002^{**}$
			1–3	$p_2 = 0,020^{**}$
			1–2	$p = 0,423^{***}$
Средней степени (2)	19	0,42 (0,12; 0,50)	2–3	$p = 0,001^{***}$
Тяжелого течения (3)	7	0,05 (0,01; 0,06)	1–3	$p = 0,0004^{***}$

Примечание: АБА – аллергическая, НАБА – неаллергическая бронхиальная астма; * – для выборок, характеризующихся распределением отличным от нормального, представлены медианы и интерквартильные размахи (непараметрическая статистика); ** – для распределения отличным от нормального использован критерий независимых выборок Краскела–Уоллиса (p_1) и критерий Джонкхира–Терпстры для попарного сравнения между собой более двух групп (p_2); *** – уровень значимости для сравнения двух независимых выборок (использован U-критерий Уилкоксона–Манна–Уитни).

Notes. *, non-normally distributed parameters are presented as median and interquartile range (non-parametric statistics); **, Kruskal-Wallis test for independent samples (p_1) and Jonckheere–Terpstra test for paired samples (p_2) were used for non-normally distributed parameters; ***, statistically significant difference between two independent samples (Wilcoxon–Mann–Whitney U-test).

Таблица 5
Уровни экспрессии транскрипционного фактора GATA3 у пациентов с бронхиальной астмой в зависимости от тяжести заболевания (интегрированная плотность по отношению к β -актину)

Table 5
Expression of GATA3 transcription factor in patients with asthma according to asthma severity (integrated density relative to β -actin)

Степень тяжести БА	n	Значение*	Значимость различий	
АБА				
Легкого течения (1)	7	0,29 (0,11; 0,59)	1–3	$p_1 = 0,305^{**}$
			1–3	$p_2 = 0,189^{**}$
			1–2	$p = 0,143^{***}$
			2–3	$p = 0,906^{***}$
			1–3	$p = 0,295^{***}$
Средней степени (2)	28	0,50 (0,38; 0,70)	1–3	$p = 0,295^{***}$
Тяжелого течения (3)	7	0,56 (0,19; 0,37)	1–3	$p = 0,295^{***}$
НАБА				
Легкого течения (1)	14	0,06 (0,03; 0,15)	1–3	$p_1 = 0,0001^{**}$
			1–3	$p_2 = 0,0001^{**}$
			1–2	$p = 0,541^{***}$
Средней степени (2)	19	0,36 (0,23; 0,40)	2–3	$p = 0,021^{***}$
Тяжелого течения (3)	7	0,41 (0,40; 0,67)	1–3	$p = 0,001^{***}$

Примечание: АБА – аллергическая, НАБА – неаллергическая бронхиальная астма; * – для выборок, характеризующихся распределением отличным от нормального, представлены медианы и интерквартильные размахи (непараметрическая статистика); ** – для распределения отличного от нормального использован критерий независимых выборок Краскела–Уоллиса (p_1) и критерий Джонкхира–Терпстры для попарного сравнения между собой более двух групп (p_2); *** – уровень значимости для сравнения двух независимых выборок (использован U-критерий Уилкоксона–Манна–Уитни).

Notes. *, non-normally distributed parameters are presented as median and interquartile range (non-parametric statistics); **, Kruskal–Wallis test for independent samples (p_1) and Jonckheere–Terpstra test for paired samples (p_2) were used for non-normally distributed parameters; ***, statistically significant difference between two independent samples (Wilcoxon–Mann–Whitney U-test).

механизмов, приводящих к сдвигу баланса Treg/Th2 в сторону преобладания Th2-ответа.

С учетом многофакторности влияний, определяющих экспрессию Foxp3, для наиболее точной характеристики баланса Treg/Th2 проанализирован коэффициент Foxp3/GATA3 (рис. 3), наименьшие

значения которого выявлены у пациентов с концентрациями IL-17 > 1 000 пг / мл.

В завершение представления полученных результатов следует рассмотреть связи между экспрессией различных транскрипционных факторов и ассоциированных с ними цитокинов.

Таблица 6
Уровни экспрессии транскрипционного фактора T-bet у пациентов с бронхиальной астмой в зависимости от тяжести заболевания (интегрированная плотность по отношению к β -актину)

Table 6
Expression of T-bet transcription factor in patients with asthma according to asthma severity (integrated density relative to β -actin)

Степень тяжести БА	n	Значение*	Значимость различий	
АБА				
Легкого течения (1)	7	0,20 (0,11; 0,37)	1–3	$p_1 = 0,255^{**}$
			1–3	$p_2 = 0,201^{**}$
			1–2	$p = 0,069^{***}$
			2–3	$p = 0,892^{***}$
Средней степени (2)	28	0,09 (0,05; 0,14)	1–3	$p = 0,610^{***}$
Тяжелого течения (3)	7	0,12 (0,01; 0,40)	1–3	$p = 0,610^{***}$
НАБА				
Легкого течения (1)	14	0,65 (0,52; 0,82)	1–3	$p_1 = 0,0003^{**}$
			1–3	$p_2 = 0,0001^{**}$
			1–2	$p = 0,003^{***}$
Средней степени (2)	19	0,41 (0,38; 0,44)	2–3	$p = 0,0003^{***}$
Тяжелого течения (3)	7	0,19 (0,03; 0,24)	1–3	$p = 0,002^{***}$

Примечание: АБА – аллергическая, НАБА – неаллергическая бронхиальная астма; * – для выборок, характеризующихся распределением отличным от нормального, представлены медианы и интерквартильные размахи (непараметрическая статистика); ** – для распределения отличного от нормального использован критерий независимых выборок Краскела–Уоллиса (p_1) и критерий Джонкхира–Терпстры для попарного сравнения между собой более двух групп (p_2); *** – уровень значимости для сравнения двух независимых выборок (использован U-критерий Уилкоксона–Манна–Уитни).

Notes. *, non-normally distributed parameters are presented as median and interquartile range (non-parametric statistics); **, Kruskal–Wallis test for independent samples (p_1) and Jonckheere–Terpstra test for paired samples (p_2) were used for non-normally distributed parameters; ***, statistically significant difference between two independent samples (Wilcoxon–Mann–Whitney U-test).

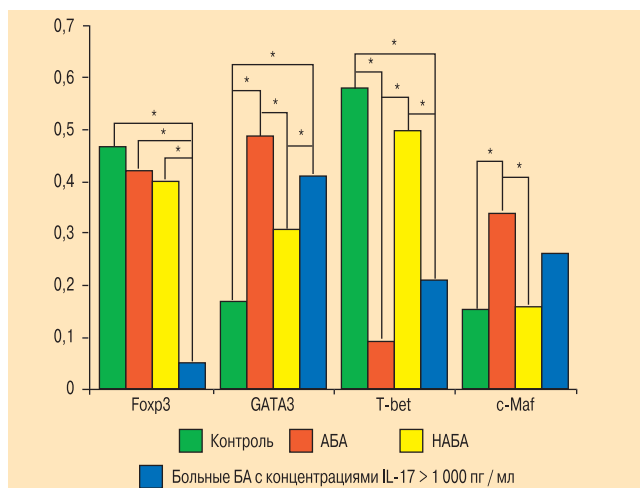


Рис. 2. Динамика уровней экспрессии мРНК Foxp3, GATA3, T-bet, c-Maf в группах обследованных с учетом выделения группы лиц с концентрациями IL-17 > 1 000 пг / мл
Примечание: АБА – аллергическая, НАБА – неаллергическая бронхиальная астма; * – различия статистически значимы ($p < 0,05$).
Figure 2. Change in Foxp3, GATA-3, c-Maf, and T-bet mRNA expression in patient groups regarding patients with IL-17 concentration > 1,000 pg/mL
Note. *, statistically significant difference, $p < 0.05$.

По результатам регрессионного анализа показано наличие значимого отрицательного вклада в уровни транскрипционного фактора Foxp3 таких переменных, как уровни мРНК GATA3, концентрации IL-13, IgE и IL-17 (группы АБА и НАБА), а также IL-13 и IL-6 (группа НАБА). Уровни GATA3 характеризовались отрицательным вкладом экспрессии T-bet и Foxp3, положительным вкладом концентраций IL-13 (группы АБА и НАБА) и IL-4 (группа НАБА). Для транскрипционного фактора T-bet продемонстрирован отрицательный вклад экспрессии мРНК GATA3 (группы АБА и НАБА), отрицательный вклад концентраций IL-13 (группа АБА), IgE (группа АБА) и положительный вклад концентраций IFN- γ (группа НАБА). В экспрессию транскрипционного фактора c-Maf достоверный положительный вклад внесен величиной концентрации IL-4 и IL-13 (группы АБА и НАБА), достоверный отрицательный – концентрацией IFN- γ (группа АБА).

При анализе полученных данных указано на существование микросети транскрипционных факторов и цитокинов, вовлеченных в процесс регуляции баланса Th1/Th2/Foxp3+Treg и Th17/Foxp3+Treg, а выявленные отличия в характере связей позволяют предполагать существование особенностей в механизмах регуляции и клеточной кооперации при АБА и НАБА, что проявляется в клиническом аспекте формированием различных фенотипов БА. Полученные данные позволяют выдвинуть концепцию существования дисбаланса в системах Th1/Th2/Foxp3+Treg и Th17/Foxp3+Treg при различных вариантах БА.

При исследовании экспрессии мРНК транскрипционного фактора Foxp3 в мононуклеарах периферической крови больных АБА и НАБА выявлено снижение уровня экспрессии мРНК этого транскрипционного фактора по сравнению с группой практически здоровых лиц, вне зависимости от фа-

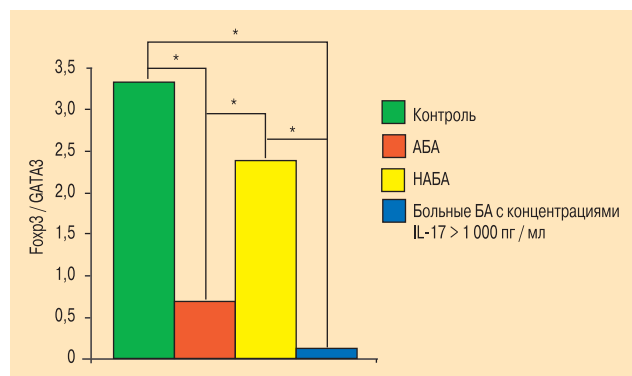


Рис. 3. Значения коэффициента Foxp3/GATA3 в группах обследованных
Примечание: АБА – аллергическая, НАБА – неаллергическая бронхиальная астма; * – различия статистически значимы ($p < 0,05$).
Figure 3. Foxp3/GATA3 coefficient in patient groups
Note. *, statistically significant difference, $p < 0.05$.

зы заболевания, наиболее выраженное у больных НАБА, что может указывать на снижение регуляторной роли Treg при БА. При этом у больных АБА и НАБА тяжесть заболевания характеризуется уровнем экспрессии мРНК Foxp3 и IL-17 и IL-6.

По результатам регрессионного анализа уровней Foxp3 и IL-17 в группах АБА и НАБА показано наличие сильных связей как в группе АБА, так и НАБА, что в совокупности с разнонаправленной динамикой экспрессии мРНК и уровней IL-17 указывает на развитие у больных БА дисбаланса между Foxp3+Treg и Th17 в пользу повышения активности Th17 и снижения Foxp3+Treg-клеток, что приводит к снижению экспрессии мРНК Foxp3 и повышению экспрессии IL-17 в мононуклеарах периферической крови.

В то же время для больных АБА характерно значимое повышение экспрессии мРНК Th2-специфичных транскрипционных факторов c-Maf и GATA3 в совокупности с повышением IL-4, IL-13 и IgE по сравнению с группой практически здоровых лиц и больных НАБА, вне зависимости от тяжести заболевания. Уровень экспрессии мРНК GATA3 при НАБА нарастает при увеличении степени тяжести, достигая максимальных значений при тяжелом течении, что может играть патогенетическую роль в усугублении тяжести заболевания. При этом в группе НАБА определяется выраженное увеличение интегрального коэффициента Foxp3/GATA3 и уровня IFN- γ , что может свидетельствовать о сдвиге регуляторного баланса Foxp3+Treg/Th2/Th1 в сторону Treg/Th1, в особенности у больных с высокими концентрациями IL-17.

При оценке экспрессии мРНК транскрипционного фактора T-bet в мононуклеарах периферической крови в группе больных АБА, вне зависимости от тяжести течения заболевания выявлено снижение уровня экспрессии по сравнению с группой практически здоровых лиц и больных НАБА. При нарастании степени тяжести БА в группе НАБА выявлено снижение экспрессии мРНК T-bet, что в совокупности с нарастанием экспрессии мРНК GATA3 свидетельствует о нарастании Th1/Th2-клеточного дисбаланса в сторону доминирования Th2-ответа.

В целом результаты, полученные при исследовании экспрессии мРНК транскрипционных факторов у практически здоровых лиц и больных БА, были ожидаемыми и подтверждают существование особенностей экспрессии рассматриваемых транскрипционных факторов у пациентов с АБА и НАБА. Так, ранее было установлено, что пациенты с БА (особенно АБА) характеризуется большими значениями GATA3, чем практически здоровые лица [10]. В то же время для Foxp3 показана обратная тенденция – снижение экспрессии транскрипционного фактора на фоне БА [11]. Обращает на себя внимание большая выраженность снижения в группе НАБА, что, вероятнее всего, указывает на наличие нарушений иммунного гомеостаза у всех пациентов с БА, включающих не только дисбаланс Th1/Th2, но и снижение Treg, что может являться стимулом к уменьшению супрессивного влияния Treg на продукцию воспалительных цитокинов.

Также является ожидаемым преобладание экспрессии c-Maf в группе больных АБА: для c-Maf показана способность активировать транскрипцию гена IL-4 [7] и отрицательно влиять на дифференцировку Th1 путем снижения продукции IFN- γ [8], что косвенно усиливает экспрессию GATA3 и снижает выработку T-bet.

По результатам анализа концентраций цитокинов и IgE показано соответствие цитокинового спектра и доминирующего транскрипционного фактора: так, наибольшие концентрации IFN- γ выявлялись в группе НАБА, характеризовавшейся превалированием экспрессии T-bet; максимальные концентрации IL-4, IL-13 и IgE зафиксированы в группе АБА с преобладанием мРНК GATA3.

Отдельное внимание следует уделить IL-6 и IL-17. Как и ожидалось, концентрации цитокинов оказались повышенными на фоне снижения экспрессии мРНК Foxp3. Однако на сегодняшний день известны некоторые особенности динамики концентраций, присущие IL-6 и IL-17. Так, высокие концентрации IL-17 отмечались у пациентов с тяжелым течением заболевания и плохим ответом на терапию [12]. Выявлено, что IL-17 ассоциирован с развитием фиброза тканей дыхательных путей, в т. ч. посредством стимуляции экспрессии IL-6 [13]. Сам IL-6 обладает способностью подавлять дифференцировку Treg [14] и связан с ухудшением функций дыхательных путей у пациентов с тяжелой БА [15].

Таким образом, установлено, что различные варианты течения БА характеризуются следующим цитокиновым спектром, определяемым транскрипционным фактором, влиянием которого преобладает при определенном варианте БА:

- для АБА характерно повышение экспрессии мРНК Th2-специфичных транскрипционных факторов GATA3 и c-Maf в совокупности с повышением IL-4, IL-13 и IgE по сравнению с практически здоровыми лицами и больными НАБА;
- для НАБА характерны уровни мРНК T-bet, практически идентичные экспрессии T-bet у здоровых лиц и концентрации IFN- γ , превышающие таковые в других группах;

- во всех группах БА обнаружено снижение транскрипционного фактора Foxp3, особенно ярко выраженное при тяжелом течении БА, что в совокупности с высокими концентрациями IL-6 и IL-17 свидетельствует о снижении регуляторной функции Treg при БА в целом, усугубляющейся у пациентов с тяжелым течением заболевания.

Необходимо отметить, что полученные результаты не вступают в противоречие с имеющимися на сегодняшний день представлениями о роли транскрипционного фактора GATA3 как одного из ключевых регуляторов Th2-воспаления [10] и T-bet – как основного транскрипционного фактора Th1 [4].

Особенный интерес вызывает факт нарастания уровней транскрипционного фактора GATA3 в зависимости от тяжести заболевания в связи с показанной ранее способностью GATA3 непосредственно подавлять экспрессию Foxp3 [16], что, вероятно, указывает на усугубление дисбаланса Treg/Th2 при нарастании тяжести заболевания. Однако транскрипционным фактором T-bet продемонстрирована противоположная динамика – в группе НАБА обнаружено снижение экспрессии мРНК T-bet у пациентов с тяжелым течением БА. В совокупности с продемонстрированным нарастанием уровней GATA3 это может свидетельствовать о нарастании Th2/Th1 дисбаланса в сторону доминирования Th2-лимфоцитов.

Обсуждая результаты исследования с учетом выделения группы пациентов с высокими концентрациями IL-17, необходимо отметить установленное наличие связи экспрессии Foxp3 и уровней IL-17. Метод линейной регрессии показал наличие отрицательной связи в значениях двух переменных в группах АБА и НАБА. Поскольку основным продуцентом IL-17 являются Th17 [17], популяция клеток, антагонистичная Treg [18], можно утверждать, что полученные результаты являются свидетельством присутствия у больных БА дисбаланса между Foxp3+Treg и Th17 в пользу повышения Th17 и снижения Foxp3+Treg-клеток, особенно выраженного у пациентов с высокими концентрациями IL-17.

Для дополнительной характеристики нарушений баланса экспрессии транскрипционных факторов проанализирован коэффициент Foxp3/GATA3. Как и ожидалось, согласно представленным результатам, наименьшими значениями коэффициента характеризовались пациенты группы АБА и лица с высокими концентрациями IL-17, что свидетельствует о наиболее выраженном дисбалансе Treg/Th2. Поскольку наибольшими концентрациями IL-17 и наименьшими уровнями экспрессии мРНК Foxp3 характеризовались пациенты с БА тяжелого течения, можно заключить, что одним из факторов, усиливающих тяжесть течения заболевания, может являться именно подавление регуляторной функции Treg. В то же время группа НАБА характеризовалась значениями коэффициента Foxp3/GATA3, наиболее близкими к группе контроля. По всей видимости, этот факт в совокупности с высокими концентраци-

ями IFN- γ является отражением того, что у пациентов с НАБА имеет место сдвиг равновесия в сторону преобладания Th1-воспаления.

По результатам регрессионного анализа подтверждена описанная ранее связь цитокинов и транскрипционных факторов в зависимости от типа воспаления; кроме того, подтвержден взаимный вклад экспрессии транскрипционных факторов в величины друг друга — показан антагонистический характер экспрессии GATA3 и T-bet, GATA3 и Foxp3.

Заключение

В целом полученные результаты указывают на наличие сложных кооперативных взаимодействий между транскрипционными факторами лимфоцитов, участвующих в патогенезе БА. Foxp3, GATA3, T-bet и c-Maf и ассоциированные с ними цитокины формируют микросеть, участвующую в процессе регуляции баланса Th1/Th2/Foxp3+Treg и Th17/Foxp3+Treg. Выявленные отличия в характере, значимости и направленности связей позволяют предполагать существование особенностей в механизмах регуляции и клеточной кооперации при АБА и НАБА.

Таким образом, полученные данные позволяют выдвинуть концепцию существования дисбаланса в системах Th1/Th2/Foxp3+Treg и Th17/Foxp3+Treg, определяющих особенности течения различных вариантов БА.

Конфликт интересов

Конфликт интересов авторами не заявлен. Исследование проводилось без участия спонсоров.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest. This study was not sponsored.

Литература

1. Федосеев Г.Б., Трофимов В.И. Бронхиальная астма. СПб: Нордмедиздат; 2006.
2. Wei B., Zhang H., Li L. et al. T helper 17 cells and regulatory T-cell imbalance in paediatric patients with asthma. *J. Int. Med. Res.* 2011; 39 (4): 1293–1305.
3. Zhu J., Min B., Hu-Li J. et al. Conditional deletion of Gata3 shows its essential function in T(H)1-T(H)2 responses. *Nat. Immunol.* 2004; 5 (11): 1157–1165. DOI: 10.1038/ni1128.
4. Fan R., Lan Y., Chen J. et al. T-bet expression in CD8⁺ T-cells associated with chronic hepatitis B virus infection. *Virology*. 2016; 13: 14. DOI: 10.1186/s12985-016-0473-y.
5. Wan Y.Y., Flavell R.A. Regulatory T-cell functions are subverted and converted owing to attenuated Foxp3 expression. *Nature*. 2007; 445 (7129): 766–770. DOI: 10.1038/nature05479.
6. Zhou L., Lopes J.E., Chong M.M. et al. TGF- β -induced Foxp3 inhibits T(H)17 cell differentiation by antagonizing ROR γ function. *Nature*. 2008; 453 (7192): 236–240. DOI: 10.1038/nature06878.
7. Lai C.Y., Lin S.Y., Wu C.K. et al. Tyrosine phosphorylation of c-Maf enhances the expression of IL-4 gene. *J. Immunol.* 2012; 189 (4): 1545–1550. DOI: 10.4049/jimmunol.1200405.

8. Ho I.C., Lo D., Glimcher L.H. C-maf promotes T helper cell type 2 (Th2) and attenuates Th1 differentiation by both interleukin 4-dependent and independent mechanisms. *J. Exp. Med.* 1998; 188 (10): 1859–1866.
9. Минеев В.Н., Сорокина Л.Н., Трофимов В.И. Фундаментальные и клинические аспекты JAK-STAT-сигнализации. СПб: ВВМ; 2010.
10. Shi Y.H., Shi G.C., Wan H.Y. et al. An increased ratio of Th2/Treg cells in patients with moderate to severe asthma. *Chin. Med. J. (Engl.)*. 2013; 126 (12): 2248–2253.
11. Krogulska A., Polakowska E., Wasowska-Królikowska K. et al. Decreased FOXP3 mRNA expression in children with atopic asthma and IgE-mediated food allergy. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2015; 115 (5): 415–421. DOI: 10.1016/j.anaai.2015.08.015.
12. Al-Ramli W., Préfontaine D., Chouiali F. et al. T(H)17-associated cytokines (IL-17A and IL-17F) in severe asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009; 123 (5): 1185–1187. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.02.024.
13. Dragon S., Rahman M.S., Yang J. et al. IL-17 enhances IL-1 β -mediated CXCL-8 release from human airway smooth muscle cells. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2007; 292 (4): L1023–1029. DOI: 10.1152/ajplung.00306.2006.
14. Pasare C., Medzhitov R. Toll pathway-dependent blockade of CD4⁺CD25⁺ T-cell-mediated suppression by dendritic cells. *Science*. 2003; 299 (5609): 1033–1036. DOI: 10.1126/science.1078231.
15. Neveu W.A., Allard J.L., Raymond D.M. et al. Elevation of IL-6 in the allergic asthmatic airway is independent of inflammation but associates with loss of central airway function. *Respir. Res.* 2010; 11: 28. DOI: 10.1186/1465-9921-11-28.
16. Chapoval S., Dasgupta P., Dorsey N.J., Keegan A.D. Regulation of the T helper cell type 2 (Th2)/T regulatory cell (Treg) balance by IL-4 and STAT6. *J. Leukoc. Biol.* 2010; 87 (6): 1011–1018. DOI: 10.1189/jlb.1209772.
17. Maek A.W., Buranapraditkun S., Klaewsongkram J., Ruxrungtham K. Increased interleukin-17 production both in helper T-cell subset Th17 and CD4-negative T-cells in human immunodeficiency virus infection. *Viral. Immunol.* 2007; 20 (1): 66–75.
18. Nosratabadi R., Rastin M., Sankian M. et al. Hyperforin-loaded gold nanoparticle alleviates experimental autoimmune encephalomyelitis by suppressing Th1 and Th17-cells and upregulating regulatory T-cells. *Nanomedicine*. 2016; 12 (7): 1961–1971. DOI: 10.1016/j.nano.2016.04.001.

Поступила 14.11.16

References

1. Fedoseev G.B., Trofimov V.I. Bronchial asthma. Saint-Petersburg: Nordmedizdat; 2006 (in Russian).
2. Wei B., Zhang H., Li L. et al. T helper 17 cells and regulatory T-cell imbalance in paediatric patients with asthma. *J. Int. Med. Res.* 2011; 39 (4): 1293–1305.
3. Zhu J., Min B., Hu-Li J. et al. Conditional deletion of Gata3 shows its essential function in T(H)1-T(H)2 responses. *Nat. Immunol.* 2004; 5 (11): 1157–1165. DOI: 10.1038/ni1128.
4. Fan R., Lan Y., Chen J. et al. T-bet expression in CD8⁺ T-cells associated with chronic hepatitis B virus infection. *Virology*. 2016; 13: 14. DOI: 10.1186/s12985-016-0473-y.
5. Wan Y.Y., Flavell R.A. Regulatory T-cell functions are subverted and converted owing to attenuated Foxp3 expression.

- Nature*. 2007; 445 (7129): 766–770. DOI: 10.1038/nature05479.
6. Zhou L., Lopes J.E., Chong M.M. et al. TGF-beta-induced Foxp3 inhibits T(H)17-cell differentiation by antagonizing RORgammat function. *Nature*. 2008; 453 (7192): 236–240. DOI: 10.1038/nature06878.
 7. Lai C.Y., Lin S.Y., Wu C.K. et al. Tyrosine phosphorylation of c-Maf enhances the expression of IL-4 gene. *J. Immunol.* 2012; 189 (4): 1545–1550. DOI: 10.4049/jimmunol.1200405.
 8. Ho I.C., Lo D., Glimcher L.H. C-maf promotes T-helper cell type 2 (Th2) and attenuates Th1 differentiation by both interleukin 4-dependent and independent mechanisms. *J. Exp. Med.* 1998; 188 (10): 1859–1866.
 9. Mineev V.N., Sorokina L.N., Trofimov V.I. Basic and clinical aspects of JAK-STAT-signalling. Saint-Petersburg: VVM; 2010 (in Russian).
 10. Shi Y.H., Shi G.C., Wan H.Y. et al. An increased ratio of Th2/Treg cells in patients with moderate to severe asthma. *Chin. Med. J. (Engl.)*. 2013; 126 (12): 2248–2253.
 11. Krogulska A., Polakowska E., Wąsowska-Królikowska K. et al. Decreased FOXP3 mRNA expression in children with atopic asthma and IgE-mediated food allergy. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2015; 115 (5): 415–421. DOI: 10.1016/j.anai.2015.08.015.
 12. Al-Ramli W., Préfontaine D., Chouiali F. et al. T(H)17-associated cytokines (IL-17A and IL-17F) in severe asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009; 123 (5): 1185–1187. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.02.024.
 13. Dragon S., Rahman M.S., Yang J. et al. IL-17 enhances IL-1beta-mediated CXCL-8 release from human airway smooth muscle cells. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2007; 292 (4): L1023–1029. DOI: 10.1152/ajplung.00306.2006.
 14. Pasare C., Medzhitov R. Toll pathway-dependent blockade of CD4⁺CD25⁺ T-cell-mediated suppression by dendritic cells. *Science*. 2003; 299 (5609): 1033–1036. DOI: 10.1126/science.1078231.
 15. Neveu W.A., Allard J.L., Raymond D.M. et al. Elevation of IL-6 in the allergic asthmatic airway is independent of inflammation but associates with loss of central airway function. *Respir. Res.* 2010; 11: 28. DOI: 10.1186/1465-9921-11-28.
 16. Chapoval S., Dasgupta P., Dorsey N.J., Keegan A.D. Regulation of the T helper cell type 2 (Th2)/T regulatory cell (Treg) balance by IL-4 and STAT6. *J. Leukoc. Biol.* 2010; 87 (6): 1011–1018. DOI: 10.1189/jlb.1209772.
 17. Maek A.W., Buranapraditkun S., Klaewsongkram J., Ruxrungtham K. Increased interleukin-17 production both in helper T-cell subset Th17 and CD4-negative T-cells in human immunodeficiency virus infection. *Viral. Immunol.* 2007; 20 (1): 66–75.
 18. Nosratabadi R., Rastin M., Sankian M. et al. Hyperforin-loaded gold nanoparticle alleviates experimental autoimmune encephalomyelitis by suppressing Th1 and Th17 cells and upregulating regulatory T-cells. *Nanomedicine*. 2016; 12 (7): 1961–1971. DOI: 10.1016/j.nano.2016.04.001.

Received November 14, 2016