

УДК 616.248

DOI: 10.14427/jipai.2017.3.35

Рецепторы к горькому вкусу и общий IgE в сыворотке крови при аллергической бронхиальной астме у женщин

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

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Blood serum bitter taste receptors and total IgE in allergic bronchial asthma in women

V.N. Mineev, V.I. Trofimov, L.N. Sorokina, M.A. Nyoma, A.A. Kuzikova

Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Saint-Petersburg Russian Federation

Аннотация

К настоящему времени выявлена экспрессия вкусовых рецепторов к горькому вкусу (TAS2R) в респираторной системе, однако во многом функция этих рецепторов пока остается не ясной.

Цель – определить уровень вкусовых рецепторов к горькому вкусу TAS2R38 и уровень IgE в сыворотке крови при аллергическом варианте бронхиальной астмы (БА) у женщин.

Материалы и методы. Обследовано 23 практически здоровых и 29 больных аллергической БА женщин. Уровень экспрессии TAS2R38 и общего IgE в сыворотке крови определяли иммуоферментным методом.

Результаты. Уровень TAS2R38 у женщин, страдающих аллергической БА, существенно меньше, чем в группе практически здоровых. При факторном анализе выявлена высокая негативная факторная нагрузка компоненты TAS2R38 и высокая позитивная факторная нагрузка компонент IL-4 и IL-13 по отношению к компоненте IgE.

Заключение. Высказывается предположение, что растворимые рецепторы TAS2R38 при аллергической бронхиальной астме осуществляют, по-видимому, протективную роль в регуляции не только синтеза IgE, но и синтеза клетками-продуцентами целого ряда цитокинов, прежде всего, провоспалительных.

Ключевые слова

Аллергическая бронхиальная астма, вкусовые рецепторы, рецепторы к горькому вкусу, TAS2R38, IgE, сыворотка крови.

Summary

To date, expression of bitter taste receptors (TAS2R) in the respiratory system has been revealed, but in many respects the function of these receptors remains unclear. The *aim* is to determine the level of bitter taste receptors TAS2R38 and IgE in the blood serum in allergic bronchial asthma (BA) in women. *Materials and methods.* We examined 23 practically healthy women and 29 patients with allergic asthma. The expression of blood serum level of TAS2R38 and total IgE was determined by the enzyme immunoassay. *Results.* The level of TAS2R38 in women with allergic asthma is significantly less than in the group of healthy women. Factor analysis revealed a high negative factor load of the TAS2R38 component and a high positive factor load of the IL-4 and IL-13 component relative to the IgE component. *Conclusion.* It has been suggested that soluble TAS2R38 receptors in allergic bronchial asthma seem to play a protective role in regulating not only the synthesis of IgE, but also the synthesis of a number of cytokines, primarily pro-inflammatory ones, by producer cells.

Keywords

Allergic bronchial asthma, taste receptors, bitter taste receptors, TAS2R38, IgE, blood serum.

Введение

Наш интерес пульмонологов, аллергологов, астмологов к проблеме, указанной в названии статьи, обусловлен следующими обстоятельствами.

Во-первых, и это вполне понятно, аллергическая (атопическая) бронхиальная астма (БА) характеризуется увеличением общего и специфического иммуноглобулина E (IgE). Важно, кстати, что к настоящему времени лечение омализумабом (моноклональные антитела к IgE) входит в клиническую практику тяжелой неконтролируемой атопической БА.

Во-вторых, в последние годы появились данные, показавшиеся самим авторам [1] неожиданными, свидетельствующие о том, что в респираторной системе (в частности, на гладкомышечных клетках бронхов человека) обнаружена экспрессия некоторых вкусовых рецепторов к горькому вкусу.

К настоящему времени описана также экспрессия вкусовых рецепторов к горькому вкусу на эпителиальных клетках легких, а также на лимфоцитах, макрофагах, тучных и других клетках, что указывает на участие этих рецепторов, в частности, в мышечной релаксации, ингибировании продукции медиаторов воспаления [2, 3].

Во многом функция этих рецепторов к горькому вкусу (TAS2R) пока остается не ясной, хотя, по мнению Stephen B. Liggett [4] выявленные свойства TAS2R (опосредуют бронходилатацию), сопряженных с G-белками, позволяют создать новый класс бронходилататоров, более мощных, чем β_2 -агонисты для лечения бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких.

Возможные пути участия вкусовых рецепторов к горькому вкусу (TAS2R) в патогенезе бронхиальной астмы рассмотрены нами ранее [5].

К настоящему времени описаны 25 субтипов (по некоторым данным 29 субтипов [6]) рецепторов TAS2R [7]. На гладких мышцах бронхов человека наиболее выражена экспрессия 3 субтипов рецептора TAS2R (TAS2R10, TAS2R14 и TAS2R31 - числовые обозначения по новой номенклатуре соответствующих генов (<http://www.genenames.org>)).

И, наконец, третье обстоятельство, которое определило наш интерес к указанной выше проблеме. Это тот факт, что, как было показано, агонисты рецепторов к горькому вкусу ингибируют IgE-зависимую активацию тучных клеток [2]. Именно этот факт представлял особый интерес при планировании данного исследования.

Хорошо известно, что бронхиальная астма и аллергический ринит тесно связаны друг

с другом, в основе их патогенеза лежит IgE-опосредованное воспаление слизистой оболочки: при аллергическом рините - верхних, при БА - нижних дыхательных путей. В таком случае упоминают концепцию: "Одни дыхательные пути - одна болезнь".

Понимание подобной коморбидности имеет большое значение в практической деятельности не только пульмонологов, аллергологов, но и педиатров и оториноларингологов.

Подчеркнем, именно оториноларингологи обратили внимание на участие TAS2R, главным образом TAS2R38, экспрессированного в эпителии верхних дыхательных путей, в мукоцилиарном клиренсе, выработке оксида азота (NO), прямом антибактериальном эффекте, индивидуальной предрасположенности к респираторной инфекции [8].

Как было показано, что рецептор к горькому вкусу (фенилтиокарбамиду) TAS2R38 на подвижных назальных ресничках рассматривается в качестве независимого фактора риска для формирования риносинусита, для лечения которого требуется оперативное вмешательство [9].

Кстати, также было показано, что именно этот рецептор TAS2R38 обнаружен на мембранах нейтрофилов, моноцитов и лимфоцитов периферической крови [10].

Лигандами для рецептора TAS2R38 являются такие синтетические соединения, как упомянутый выше фенилтиокарбамид, а также 6-n-пропилтиоурацил.

При исследовании вкусовой чувствительности к фенилтиокарбамиду выявлено [11] достоверное снижение порогов вкусовой чувствительности к ФТК у женщин по сравнению с мужчинами. Авторы [11] связывают это с генетически детерминированными особенностями организма, включая половые различия эндокринных, неврологических, поведенческих и других процессов.

С другой стороны, добавим хорошо известный факт, что женщины достоверно чаще болеют аллергической бронхиальной астмой.

Учет всех этих фактов определил наш выбор для анализа вкусовых рецепторов TAS2R38 женской популяции. Более того, первые наши исследования показали, что уровень рецепторов TAS2R38 в сыворотке крови у практически здоровых мужчин ($3,3 \pm 1,2$ (нг/мл), $n=9$) был существенно ниже, чем практически здоровых женщин ($13,3 \pm 2,2$ (нг/мл), $n=23$, $p < 0,0004$).

Цель данного исследования - определить уровень вкусовых рецепторов к горькому вкусу TAS2R38 и уровень IgE в сыворотке крови при аллергическом варианте бронхиальной астмы.

Материалы и методы

Обследовано 23 практически здоровых лиц, 29 больных бронхиальной астмой. Диагноз устанавливали в соответствии с критериями и стандартами международного консенсуса по вопросам диагностики и лечения БА (GINA, 2016).

Все обследованные больные БА находились в клинике госпитальной терапии им.акад.М.В.Черноруцкого Первого СПбГМУ им.акад.И.П.Павлова.

Уровень экспрессии TAS2R38 в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом согласно инструкции тест-системы фирмы «Cloud-Clone Corp» (США) в парных образцах при спектрофотометрии с длиной волны 450 нм и построением калибровочной кривой «от точки к точке».

Определение концентрации общего IgE сыворотки проводилось методом ИФА с применением стандартной методики при использовании коммерческого набора (DRG, Германия) на ИФА-анализаторе BioTek ELx800 с длиной волны 450 нм с построением калибровочной кривой «от точки к точке».

Выражаем благодарность к.м.н. А.В.Еремеевой и А.А.Кузьминой за предоставленные данные по исследованию уровней цитокинов. Исследование цитокинов проводилось по стандартному протоколу методом ИФА на ИФА-анализаторе StatFlax 303+ с длиной волны 450 нм с построением калибровочной кривой «от точки к точке» с использованием коммерческих наборов производства eBioscience, США (IL-13, IL-4) и ООО Цитокин, Россия (IL-6, IL-17).

Статистический анализ результатов исследований выполнен с помощью программы SPSS для Windows (Statistical Package for the Social Science) - (русифицированная версия 21.0).

Результаты и обсуждение

В таблице 1 представлены данные о содержании рецепторов к горькому вкусу и IgE в сыво-

ротке крови у практически здоровых и больных аллергической бронхиальной астмой женщин.

Как видно из таблицы 1, уровень вкусовых рецепторов TAS2R38 у женщин, страдающих аллергической БА, существенно меньше, чем в группе практически здоровых.

Что касается содержания общего IgE в сыворотке крови, то достоверных различий его уровня между изучаемыми группами не выявлено, хотя уровень общего IgE у женщин при аллергической БА приблизительно в 1,5 раза ниже, что, по-видимому, отражает влияние лекарственной противовоспалительной терапии, проводимой в клинике.

Нами проведен факторный анализ, который, как известно, способствует отысканию скрытых, но объективно существующих закономерностей исследуемого процесса. В факторный анализ включены (таблица 2) как показатели уровня вкусовых рецепторов TAS2R38 и IgE, так и показатели, характеризующие клеточный иммунный ответ (содержание в периферической крови лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов) и его регуляцию цитокинами (IL-4, IL-6, IL-13, IL-17).

Необходимо подчеркнуть, что в ходе проведения факторного анализа выполнялась проверка целесообразности использования факторной модели: критерий сферичности Бартлетта ($p < 0,001$); значение критерия адекватности выборки Кайзера-Мейера-Олкина составило 0,364, что свидетельствует о приемлемой адекватности примененного нами факторного анализа.

Как видно из таблицы 2, факторный анализ позволил выделить 4 фактора (объясняемая ими дисперсия 91,3%): Фактор 1 (45,3% дисперсии), отражающий, несомненно, активность цитокиновой регуляции при аллергической БА. При этом наибольшей факторной нагрузкой обладают компоненты IL-6 и IL-17. Ранее было показано [12] увеличение содержания данных цитокинов при бронхиальной астме, особенно при сочетании с аллергическим ринитом.

Таблица 1. Уровень вкусовых рецепторов TAS2R38 (нг/мл) и IgE (МЕ/мл) в сыворотке крови у женщин при аллергической бронхиальной астме

Обследованные лица	TAS2R38	IgE
Практически здоровые (1)	13,30±2,22 n=23 $p_{1-11}=0,04$	279,1±114,2 n=12
Аллергическая БА (2)	7,47±1,66 n=21 $p_{1,2}=0,04$	189,2±53,3 n=12 $p_{1,2}>0,05$

Таблица 2. Результаты факторного анализа при аллергической БА у женщин

Фактор 1, дисперсия 45,3%		Фактор 2, дисперсия 17,2%		Фактор 3, дисперсия 16,4%		Фактор 4, дисперсия 12,4%	
IL-6 (пг/мл)	0,977	Общий IgE (МЕ/мл)	0,970	Лимфоциты (10 ⁹ /л)	0,882	Эозинофилы (10 ⁹ /л)	-0,921
IL-17 (пг/мл)	0,956	TAS2R38 (нг/мл)	-0,614	Моноциты (10 ⁹ /л)	0,760	Моноциты (10 ⁹ /л)	0,456
IL4 (пг/мл)	0,774	IL4 (пг/мл)	0,572	TAS2R38 (нг/мл)	-0,361	TAS2R38 (нг/мл)	0,423
IL-13 (пг/мл)	0,730	IL-13 (пг/мл)	0,559	IL4 (пг/мл)	-0,139	IL-13 (пг/мл)	0,245
TAS2R38 (нг/мл)	-0,363	Эозинофилы (10 ⁹ /л)	-0,086	IL-13 (пг/мл)	0,099	Лимфоциты (10 ⁹ /л)	-0,176
Лимфоциты (10 ⁹ /л)	-0,304	Моноциты (10 ⁹ /л)	-0,075	Общий IgE (МЕ/мл)	-0,092	IL4 (пг/мл)	0,165
Моноциты (10 ⁹ /л)	0,297	IL-6 (пг/мл)	0,068	IL-6 (пг/мл)	-0,057	IL-6 (пг/мл)	0,143
Эозинофилы (10 ⁹ /л)	-0,127	Лимфоциты (10 ⁹ /л)	0,025	Эозинофилы (10 ⁹ /л)	-0,031	Общий IgE (МЕ/мл)	0,090
Общий IgE (МЕ/мл)	0,018	IL-17 (пг/мл)	-0,004	IL-17 (пг/мл)	0,000	IL-17 (пг/мл)	-0,052

По данным А.В.Еремеевой (2016) [13] уровни IL-17 и IL-6 характеризуют тяжесть БА. Выявлено, что IL-17 ассоциирован с развитием фиброза тканей дыхательных путей, в том числе посредством стимуляции экспрессии IL-6 [14].

Меньшей факторной нагрузкой в Факторе 1 обладают компоненты IL-4 и IL-13, отражающие, синтезируемые Th2-лимфоцитами цитокины. Вышеуказанные компоненты в Факторе 1 с высокой негативной факторной нагрузкой связаны с уровнем TAS2R38, а компонента, отражающая уровень IgE, практически не участвует в формировании этого фактора.

Можно предположить, что рецепторы TAS2R38 в сыворотке крови при аллергической БА выполняют определенную протективную функцию по отношению к клеткам-продуцентам цитокиновой сети, дополняя механизмы саморегуляции этой биологической регуляторной системы. В этой связи следует отметить, что вкусовые экстралингвальные рецепторы, включая рецепторы TAS2R38, рассматриваются в настоящее время с позиций иммунных регуляторов [15].

С другой стороны любопытна концепция, по которой иммунная система выполняет сенсорную роль и рассматривается как “шестое чувство” (sixth sense) наряду с вкусовой, обонятельной, зрительной и другими сенсорными системами [16].

Фактор 2 представляет несомненный интерес с точки зрения обсуждаемой темы, а именно, отражает возможный вклад рецепторов TAS2R38 в негативную регуляцию синтеза IgE. На это может указывать и участие в Факторе 2 компонент IL-4 и IL-13 с высокой позитивной факторной нагрузкой по отношению к компоненте IgE.

Фактор 3 связан с моноклеарными клетками, по отношению к которым рецепторы TAS2R38 выступают с негативной факторной нагрузкой.

Фактор 4 представляет особый интерес, так как отражает, вероятно, эозинофильный компонент патогенеза БА. При этом компонента рецепторов TAS2R38 обратно связана с компонентой эозинофилов.

Подытоживая результаты факторного анализа, необходимо высказать предположение о возможном протективном участии рецепторов TAS2R38 в регуляции иммунного ответа при аллергическом варианте БА у женщин.

Вполне понятно, что конкретные механизмы этой регуляции предстоит изучить, хотя протективный эффект агонистов рецепторов к горькому вкусу, ингибирующих IgE-зависимую активацию тучных клеток был уже показан [2].

Что касается собственно участия рецепторов TAS2R38 в иммунном ответе, то некоторые его возможные аспекты нами обсуждены ранее [5].

Важно учитывать то, что нами исследованы (впервые) уровни так называемых растворимых рецепторов TAS2R38 в сыворотке крови. Рассмотрение вопроса о механизмах, путях их появления в свободном, не связанном с мембраной, состоянии требует отдельного обсуждения, выходящего за рамки данной статьи.

Один из возможных подходов к обсуждению – это рассмотрение вопроса с точки зрения концепции о так называемых растворимых рецепторах и их роли в патологии человека [17].

Согласно концепции, можно предположить, что образование растворимого рецептора TAS2R38, возможно, связано с шеддингом экстрамембранной части этого рецептора за счет ограниченного протеолиза с участием металлопротеиназы ADAM (A Disintegrin And Metalloproteinase, классифицируются как шеддазы), как это описано, в частности, для образования целого ряда гормонов, цитокинов и хемокинов.

Вслед за шеддингом экстрамембранной части рецепторов наблюдается так называемый регулируемый интрамембранный протеолиз, который приводит к высвобождению внутриклеточных фрагментов рецептора, принимающих участие в модуляции сигнальных путей [18].

Нельзя не упомянуть и такой известный механизм образования растворимых рецепторов, как альтернативный сплайсинг мРНК [17], хотя

необходимо отметить, что к настоящему времени рассмотренные механизмы образования растворимых форм рецепторов вкуса, в том числе и рецепторов TAS2R38, носят гипотетический характер.

Встаёт и еще один вопрос, какова функция растворимой формы рецепторов TAS2R38 при аллергическом варианте БА?

Судя по полученным данным, можно высказать предположение, что растворимые рецепторы TAS2R38 осуществляют протективную роль в регуляции не только синтеза IgE, но и синтеза клетками-продуцентами целого ряда цитокинов, прежде всего, провоспалительных.

Клинической иллюстрацией этого положения является обнаружение достоверной отрицательной корреляционной связи между уровнем TAS2R38 и наличием у обследованных женщин с аллергической БА пыльцевой сенсibilизации ($r=-0,327$; $n=29$, $p=0,037$) и эпидермальной сенсibilизации ($r=-0,322$; $n=29$, $p=0,04$).

Учитывая выявленное нами снижение уровня рецепторов TAS2R38 при аллергической БА у женщин, можно предположить, что разработка лечебных подходов, с использованием растворимых (свободных) рецепторов, может стать дополнением к той терапии, которая уже использует гормоны, цитокины и ростовые факторы в качестве так называемой биологической терапии [17].

Литература

- Deshpande D.A., Wang W.C., McIlmoyle E.L. et al. Bitter taste receptors on airway smooth muscle bronchodilate by localized calcium signaling and reverse obstruction. *Nat. Med.* 2010; 16:1299-1304. DOI: 10.1038/nm.2237.
- Ekoff M., Choi J.H., James A. et al. Bitter taste receptor (TAS2R) agonists inhibit IgE-dependent mast cell activation. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014; 134(2):475-478. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.02.029.
- Grassin-Delye S., Naline E., Devillier P. Taste receptors in asthma. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2015;15(1):63-69. DOI: 10.1097/ACI.0000000000000137.
- Liggett S.B. Bitter taste receptors on airway smooth muscle as targets for novel bronchodilators. *Expert Opin. Ther. Targets.* 2013; 17(6):721-731. DOI: 10.1517/14728222.2013.782395.
- Минеев В.Н., Кузикова А.А., Нёма М.А. Вкусовые рецепторы к горькому вкусу при бронхиальной астме. *Мед. академич. журнал.* 2017;17(2):105-110.
- Devillier P., Naline E., Grassin-Delye S. The pharmacology of bitter taste receptors and their role in human airways. *Pharmacol. Ther.* 2015; 155:11-21. DOI:10.1016/j.pharmthera.2015.08.001.
- Meyerhof W., Batram C., Kuhn C. et al. The molecular receptive ranges of human TAS2R bitter taste receptors. *Chem. Senses.* 2010; 35(2):157-170. DOI: 10.1093/chemse/bjp092
- Douglas J.E., Cohen N.A. Taste Receptors Mediate Sinonasal Immunity and Respiratory Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18(2):437. DOI: 10.3390/ijms18020437.
- Adappa N.D., Zhang Z., Palmer J.N. et al. The bitter taste receptor T2R38 is an independent risk factor for chronic rhinosinusitis requiring sinus surgery. *Int. Forum Allergy Rhinol.* 2014; 4(1):3-7. DOI: 10.1002/alr.21253.
- Maurer S., Wabnitz G.H., Kahle N.A. et al. Tasting *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: human neutrophils express the bitter receptor T2R38 as sensor for the quorum sensing molecule N-(3-Oxododecanoyl)-L-Homoserine Lactone. *Front. Immunol.* 2015; 6:369. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00369.
- Мячина О.В., Скиба О.С., Пашков А.Н. и др. Половые различия во вкусовой чувствительности к фенилтиокарбамиду у представителей разных этнических и расовых групп. *Врач-аспирант.* 2010; (4.1):169-176.
- Tao B., Ruan G., Wang D. et al. Imbalance of peripheral Th17 and regulatory T cells in children with allergic rhinitis and bronchial asthma. *Iran J. Allergy Asthma Immunol.* 2015; 14(3):273-279.
- Еремеева А. В. Патогенетическая роль транскрипционного фактора Foxp3 в кооперативной регуляции транскрипционных факторов c-Maf, GATA3 и T-bet при различных вариантах бронхиальной астмы. - Автореф. дисс. ... канд.

мед. наук. СПб., 2016, 22 с. <http://www.dslib.net/pulmonologia/patogeneticheskaja-rol-transkripcionnogo-faktora-fohr3-v-kooperativnoj-reguljacii.html>

14. 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; 292:1023–1029.

15. Lee R.J., Cohen N.A. Taste receptors in innate immunity. *Cell Mol. Life Sci.* 2015; 72(2):217-236. DOI: 10.1007/s00018-014-1736-7.

16. Blalock J.E., Smith E.M. Conceptual development of the immune system as a sixth sense. *Brain Behav. Immun.* 2007; 21(1):23-33.

17. Heaney M.L., Golde D.W. Soluble receptors in human disease. *J. Leukoc. Biol.* 1998; 64: 135-146.

18. Reiss K., Saftig P. The “A Disintegrin And Metalloprotease” (ADAM) family of sheddases: Physiological and cellular functions. *Semin. Cell Dev. Biol.* 2009; 20(2):126-137. DOI: 10.1016/j.semcdb.2008.11.002.

Сведения об авторах:

Минеев Валерий Николаевич, д.м.н., профессор кафедры госпитальной терапии им. акад. М.В.Черноруцкого ПСПбГМУ им. акад. И.П.Павлова, +7-812-450-71-63, e-mail: vnmineev@mail.ru

Трофимов Василий Иванович, д.м.н., зав.кафедрой госпитальной терапии им.акад.М.В.Черноруцкого ПСПбГМУ им. акад. И.П.Павлова, +7-921-913-13-28, e-mail: trofvi@mail.ru

Сорокина Лада Николаевна д.м.н., профессор кафедры госпитальной терапии им. акад. М.В.Черноруцкого ПСПбГМУ им. акад. И.П.Павлова, +7-921-403-90-35, e-mail: lada_sorokina@mail.ru

Нёма Михаил Александрович, к.м.н., ассистент кафедры госпитальной терапии им. акад. М.В.Черноруцкого ПСПбГМУ им. акад. И.П.Павлова, +7-904-333-85-67, e-mail: nyoma1@yandex.ru

Кузикова Анастасия Андреевна, студентка V курса лечебного факультета ПСПбГМУ им. акад. И.П.Павлова, +7-981-987-05-27, e-mail: livikivi@yandex.ru

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

Поступила 17.08.2017 г.