

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

©Коллектив авторов

ПОПУЛЯЦИОННАЯ ПЕРЕСТРОЙКА В-ЛИМФОЦИТОВ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ХЕМОКИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ, У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЁГКИХ

А.Г. Кадушкин^{1}, А.Д. Таганович¹, Л.В. Мовчан², М.М. Зафранская³, О.В. Дядичкина¹, Т.В. Шман²*

¹Белорусский государственный медицинский университет,

220116, Республика Беларусь, Минск, пр. Дзержинского, 83; *эл. почта: kadushkyn@gmail.com

²Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии,

223053, Республика Беларусь, Минская обл., Минский р-н, д. Боровляны, ул. Фрунзенская, 43

³Международный государственный экологический институт имени А.Д. Сахарова

Белорусского государственного университета, 220070, Республика Беларусь, Минск, ул. Долгобродская, 23/1

К настоящему времени не существует лекарственных средств, способных предотвратить прогрессирующую деструкцию лёгочной ткани и фиброз нижних дыхательных путей у пациентов с хронической обструктивной болезнью лёгких (ХОБЛ). Поэтому продолжаются исследования механизмов развития этого заболевания. Целью настоящей работы было определение закономерностей количественного изменения субпопуляций В-лимфоцитов, содержащих хемокиновые рецепторы, в крови и дыхательных путях пациентов с ХОБЛ. Периферическую кровь забирали у 51 курящего пациента с ХОБЛ, 21 здорового курильщика и 20 здоровых некурящих лиц. Бронхоскопию с получением бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ) проводили 7 курящим пациентам с ХОБЛ и 7 курящим здоровым лицам. Экспрессию хемокиновых рецепторов CCR5, CCR6, CCR7, CXCR3, CXCR4 и CXCR5 на поверхности В-лимфоцитов крови и БАЛЖ определяли методом проточной цитометрии. Установлено, что процентное содержание В-лимфоцитов крови, экспрессирующих хемокиновые рецепторы CCR5 и CXCR3, выше у курящих пациентов с ХОБЛ по сравнению со здоровыми курящими и некурящими людьми. В периферической крови пациентов с ХОБЛ и здоровых людей относительное количество CD27⁺ В-клеток, содержащих рецепторы CCR5 и CXCR3, превышает долю CD27⁺ В-лимфоцитов, экспрессирующих эти рецепторы. У курящих пациентов с ХОБЛ процентное содержание В-клеток, имеющих рецепторы CCR5 и CXCR3, также повышено в БАЛЖ по сравнению со здоровыми курильщиками. Не выявлены различия в процентном содержании В-лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы CXCR4, CXCR5, CCR6 и CCR7, как в периферической крови, так и в БАЛЖ, между курящими пациентами с ХОБЛ и курящими здоровыми людьми. Процентное содержание CD27⁺ В-лимфоцитов, несущих на своей поверхности рецепторы CXCR4, CXCR5, CCR6 и CCR7, в периферической крови пациентов с ХОБЛ и здоровых людей было выше, чем CD27⁺ В-клеток. Результаты настоящего исследования свидетельствуют об изменении профиля хемокиновых рецепторов В-лимфоцитов при ХОБЛ.

Ключевые слова: В-лимфоциты; хемокиновые рецепторы; CXCR3; CXCR4; CXCR5; CCR5; CD27

DOI: 10.18097/PBMC20226802134

ВВЕДЕНИЕ

Хроническая обструктивная болезнь лёгких (ХОБЛ) является социально значимым заболеванием, что обусловлено её высокой распространённостью, значительной инвалидностью и смертностью пациентов. Так, глобальная распространённость ХОБЛ среди лиц старше 40 лет составляет 13,1%, варьируя от 11,6% в Океании до 13,9% в Африке. На Европейском континенте этот показатель достигает уровня 12,4% [1]. В Российской Федерации (в расчёте на 100 тыс. населения) распространённость ХОБЛ составляет 560,6 случаев, а смертность – 20,2 лиц. При этом в структуре смертности от болезней органов дыхания на долю ХОБЛ приходится 48,6% случаев [2].

В настоящее время не существует лекарственных средств, способных предотвратить прогрессирующую деструкцию лёгочной ткани и фиброз нижних дыхательных путей, развивающихся вследствие этого заболевания [3]. Поэтому механизмы его развития продолжают изучаться.

В последние годы внимание исследователей, занимающихся проблемой ХОБЛ, привлекли

В-лимфоциты. Эти клетки инфильтрируют верхние и нижние дыхательные пути, а также скапливаются в лимфатических узлах и лимфоидных фолликулах лёгких пациентов с ХОБЛ [4]. При этом наблюдается взаимосвязь между степенью тяжести этого заболевания с интенсивностью инфильтрации В-лимфоцитами нижних дыхательных путей [5]. Поздние стадии (III-IV) ХОБЛ характеризуются повышением количества и размера лимфоидных фолликулов, богатых В-лимфоцитами [4, 5].

Эктопические лимфоидные фолликулы, формирующиеся в лёгких пациентов с ХОБЛ, получили название третичных лимфоидных фолликулов (ТЛФ). В отличие от вторичных лимфоидных органов (лимфатических узлов и селезёнки), ТЛФ формируются постнатально в ответ на хроническую стимуляцию антигенами, воспаление и персистирующую инфекцию [6]. К сожалению, единое мнение о роли ТЛФ в патогенезе ХОБЛ отсутствует. Полагают, что ТЛФ могут как проявлять защитную функцию, так и усиливать воспалительный процесс [6].

Перемещение В-лимфоцитов в лимфатические узлы и ТЛФ представляет собой многоступенчатый

процесс, опосредованный взаимодействием между циркулирующими лимфоцитами и специализированным эндотелием сосудов посредством молекул адгезии (селектинов, интегринов) и хемокинов [7]. Основными рецепторами, участвующими в перемещении В-клеток в эти структуры, являются хемокиновые рецепторы CCR7, CXCR4 и CXCR5 [4]. Клетки высокого эндотелия посткапиллярных венул (ВЭВ) ТЛФ экспрессируют хемокин CCL21, а стромальные клетки — ещё и хемокин CCL19. Оба они являются лигандами рецептора CCR7 и инициируют адгезию к ВЭВ циркулирующих В-лимфоцитов [8]. CCL19 также известен способностью подавлять движение В-клеток в Т-зоны лимфатических узлов [9].

Стромальные клетки лимфоидных фолликулов продуцируют хемокин CXCL13, который определяет дальнейшее направление миграции и скопление В-лимфоцитов (за счёт имеющегося на их поверхности рецептора CXCR5) в этих фолликулах [4]. Примечательно, что у пациентов с ХОБЛ, в отличие от здоровых лиц, дополнительным источником CXCL13 являются сами В-лимфоциты [10]. Нейтрализация CXCL13 у мышей, подвергнутых воздействию сигаретного дыма, приводила к снижению количества лимфоидных фолликулов и ослаблению воспалительного процесса в дыхательных путях, а также частично предотвращала альвеолярную деструкцию [11]. Обнаружено повышение концентрации CXCL13 в мокроте и экспрессии мРНК CXCL13 в образцах лёгочной ткани пациентов с ХОБЛ по сравнению со здоровыми некурящими людьми [11]. Более того, имеются сведения о дефектном формировании В-клеточных фолликулов у мышей с дефицитом рецепторов CXCR5 [12, 13].

Лиганд рецептора CXCR4 — CXCL12 — экспрессируется во многих тканях организма, в том числе строме костного мозга, ВЭВ, мозговых шнурках лимфатических узлов, маргинальной зоне селезёнки [14]. Экспрессия этого хемокина повышена в лёгочной ткани пациентов с ХОБЛ, имеющих III-IV стадии заболевания, по сравнению со здоровыми некурящими людьми, и возрастает у мышей в ответ на воздействие сигаретного дыма [15].

Помимо основных рецепторов, вовлечённых в перемещение В-лимфоцитов, существенную роль в неоплимогенезе могут играть хемокиновые рецепторы CXCR3 и CCR5. Есть данные об экспрессии хемокинового рецептора CXCR3 на поверхности В-лимфоцитов, локализованных в лимфоидных фолликулах лёгких пациентов с ХОБЛ, которая возрастает с увеличением тяжести ХОБЛ [16]. У мышей, подвергнутых воздействию сигаретного дыма и имеющих низкий уровень рецепторов CCR5, наблюдалось снижение количества и размера перибронхиальных лимфоидных фолликулов, а также ослабление воспалительного процесса в лёгких, замедление формирования эмфиземы, снижение миграции в дыхательные пути лимфоцитов, макрофагов, нейтрофилов и дендритных клеток [17].

Несмотря на имеющиеся данные о роли хемокиновых рецепторов В-лимфоцитов

в формировании ТЛФ, сведения об их экспрессии на поверхности В-лимфоцитов крови и лёгких пациентов с ХОБЛ единичны, противоречивы и не в полной мере характеризуют рецепторный профиль этих клеток [4, 18].

Целью настоящего исследования было определение закономерностей количественного изменения субпопуляций В-лимфоцитов, содержащих хемокиновые рецепторы, в крови и дыхательных путях пациентов с ХОБЛ.

МЕТОДИКА

Характеристика пациентов

В исследование экспрессии хемокиновых рецепторов на поверхности В-лимфоцитов периферической крови были включены 51 курящий пациент с ХОБЛ, 21 курящий здоровый человек и 20 здоровых некурящих лиц (характеристика участников исследования представлена в таблице 1). Для изучения особенностей количественного изменения В-лимфоцитов, содержащих хемокиновые рецепторы, в бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ) были обследованы 7 курящих пациентов с ХОБЛ и 7 здоровых курильщиков. Больные ХОБЛ и здоровые люди, принявшие участие в исследовании, являлись жителями г. Минска и Минской области (Республика Беларусь). К некурящим мы относили людей, которые выкурили менее 100 сигарет в течение жизни. Все курящие пациенты с ХОБЛ и здоровые курильщики имели индекс курящего человека >10 пачка/лет.

Критериями включения больных в исследование были верифицированный в соответствии с критериями Глобальной инициативы по хронической обструктивной болезни лёгких (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease, GOLD) диагноз ХОБЛ, возраст старше 40 лет; критериями исключения — наличие у пациентов с ХОБЛ других заболеваний бронхолёгочной системы (бронхиальная астма, интерстициальные заболевания лёгких, бронхоэктатическая болезнь), аллергических и онкологических заболеваний, декомпенсации сахарного диабета, нарушений свёртывающей системы крови, а также приём системных глюкокортикоидов, перенесённое инфекционное заболевание или обострение ХОБЛ в течение 6 недель до начала исследования.

В контрольные группы вошли условно здоровые добровольцы с нормальным уровнем объёма форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁) и нормальной величиной отношения ОФВ₁ к форсированной жизненной ёмкости лёгких (ОФВ₁/ФЖЁЛ), не имевшие в анамнезе патологии бронхолёгочной системы и других хронических заболеваний.

Анализ экспрессии хемокиновых рецепторов на В-лимфоцитах периферической крови

Венозную кровь у пациентов с ХОБЛ и здоровых людей забирали рано утром натощак в объёме 2 мл

В-ЛИМФОЦИТЫ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИЕ ХЕМОКИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

Таблица 1. Характеристика участников исследования

Показатель	Периферическая кровь			БАЛЖ	
	Курящие пациенты с ХОБЛ	Курящие здоровые люди	Некурящие здоровые люди	Курящие пациенты с ХОБЛ	Курящие здоровые люди
Общее количество	51	21	20	7	7
Пол, м/ж	41/10	17/4	16/4	5/2	5/2
Возраст (годы)	64,0 (60,0–69,0)	62,0 (55,0–65,5)	61,0 (54,0–66,0)	61,0 (58,0–73,0)	62,0 (59,0–67,0)
Статус курения (активные курильщики / экс-курильщики), количество человек	25/26	12/9	0/0	4/3	3/4
Индекс курящего человека, пачка/лет	35,0 (22,0–42,0)	32,0 (21,0–36,0)	0	37,0 (32,0–43,0)	30,0 (20,0–50,0)
ОФВ ₁ , % от должного	44,0 (33,0–51,0)	102,0 (98,5–109,0)	101,5 (95,0–112,3)	51,0 (43,0–64,0)	102,0 (93,0–109,0)
ОФВ ₁ /ФЖЁЛ, %	57,0 (50,0–62,0)	82,0 (78,5–87,0)	84,0 (78,0–88,8)	53,0 (49,0–64,0)	82,0 (80,0–86,0)
Степень тяжести ХОБЛ в соответствии с GOLD (1/2/3/4), количество больных	0/17/29/5	—	—	0/4/3/0	—

Примечание. Данные представлены в абсолютных значениях или в виде медианы и интерквартильного размаха (25-й – 75-й процентиля). ОФВ₁: объём форсированного выдоха за первую секунду; ФЖЁЛ: форсированная жизненная ёмкость лёгких; GOLD: глобальная инициатива по хронической обструктивной болезни лёгких. Приведённые в таблице значения ОФВ₁ и ОФВ₁/ФЖЁЛ для курящих пациентов с ХОБЛ получены после проведения бронходилатационной пробы.

в пробирку, содержащую этилендиаминтетраацетат калия в качестве антикоагулянта. Далее 100 мкл крови переносили в пробирки для проточной цитометрии и добавляли один из трёх коктейлей моноклональных антител к поверхностным молекулам: (1) CCR5 PE/CD19 PE-DyLight 594/CD27 PE-Cy7/CCR6 APC/ CD45 APC-Cy7; (2) CXCR4 FITC/CXCR5 PE/ CD19 PE-DyLight 594/CD27 PE-Cy7/CD45 APC-Cy7; (3) CXCR3 FITC/CCR7 PE/CD19 PE-DyLight 594/ CD27 PE-Cy7/CD45 APC-Cy7 (“Exbio”, Чехия; “R&D Systems”, США). Соответствующие изотипические антитела, конъюгированные с флуорохромами PE (фикоэритрин), FITC (флуоресцеин изотиоцианат) или APC (аллофикоцианин), использовали в качестве контроля. Образцы тщательно перемешивали и инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 20 мин. Эритроциты лизировали безотмывочным способом путем добавления 1 мл лизирующего раствора Versalyse (“Beckman Coulter”, Франция). Анализ клеток проводили на проточном цитометре Navios (“Beckman Coulter”, США) с использованием программного обеспечения Kaluza (“Beckman Coulter”, США). Образцы оценивали путём анализа лимфоцитов с использованием антител к CD45 и сигнала от бокового светорассеивания. В-лимфоциты определяли как CD45⁺CD19⁺ события. Далее оценивали экспрессию хемокиновых рецепторов на этой популяции лимфоцитов и двух её субпопуляций в зависимости от экспрессии маркера CD27 — CD45⁺CD19⁺CD27⁺ и CD45⁺CD19⁺CD27[−] клетках. Стоит отметить, что анализ В-лимфоцитов, несущих на своей поверхности CXCR3, мы проводили среди клеток с высокой экспрессией данного рецептора — CXCR3^{high} клеток.

Оценка экспрессии хемокиновых рецепторов на В-лимфоцитах БАЛЖ

Бронхоскопию выполняли гибким бронхоскопом (“Olympus Optical Co Ltd”, Япония) по методике, описанной нами ранее [19]. После местной анестезии путём распыления раствора лидокаина бронхоскоп вводили трансназально и подводили к устьям субсегментарных бронхов, куда инстиллировали предварительно подогретый до 37°C стерильный физиологический раствор. Общий объём вводимого 0,9% раствора NaCl, разделённый на 4 порции по 60 мл, достигал 240 мл. Каждую порцию введённой жидкости после инстиляции немедленно аспирировали. БАЛЖ собирали в стерильные пластиковые контейнеры, помещали на лёд и в течение 1 ч доставляли в лабораторию для дальнейшего анализа. Слизь удаляли посредством фильтрования (диаметр пор фильтра — 100 мкм). БАЛЖ дважды отмывали путём центрифугирования (400 g, 10 мин, 4°C), а осадок клеток ресуспендировали в среде RPMI 1640 (“Gibco”, США), обогащённой 10% фетальной телячьей сывороткой (ФТС, “Capricorn Scientific”, Германия). Подсчитывали клетки и оценивали их жизнеспособность. Количество жизнеспособных клеток довели до 1×10⁶/мл в обогащённой среде RPMI 1640.

Клеточную суспензию (400 мкл) вносили в пробирки для проточной цитометрии и добавляли моноклональные антитела к поверхностным антигенам в различных сочетаниях (CD45 APC-Cy7, CD19 PE-DyLight 594, CD27 PE-Cy7, “Exbio”, Чехия; CXCR3 FITC, CXCR4 FITC, CXCR5 PE, CCR5 PE, CCR6 APC, CCR7 PE, “R&D Systems”, США), а также изотипические антитела. Далее пробирки инкубировали в темноте на льду в течение 45 мин.

Эритроциты лизировали путём добавления лизирующего раствора Versalysе. По истечении 15 мин клетки отмывали с использованием фосфатного солевого буфера (ФСБ), содержащего 1% ФТС, и фиксировали при помощи 500 мкл 1% раствора параформальдегида в ФСБ. Анализ клеток проводили на проточном цитометре Navios.

Статистическая обработка данных

Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение GraphPad Prism версия 7.00 ("GraphPad Software", США). Сравнение трёх независимых выборок проводили с помощью непараметрического теста Краскела-Уоллиса с последующим попарным сравнением показателей путём определения критерия Данна. Для сравнения показателей между двумя независимыми группами применяли непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе мы продемонстрировали закономерности количественного изменения хемокиновых рецепторов CXCR3, CXCR4, CXCR5, CCR5, CCR6 и CCR7 на поверхности В-клеток крови и лёгких курящих пациентов с ХОБЛ путём их сравнения со здоровыми курильщиками и здоровыми некурящими людьми, что позволяет учесть влияние как фактора курения, так и самой болезни. Оценку субпопуляционного состава клеток проводили, используя метод многоцветного цитометрического анализа.

В дополнение к моноклональным антителам, специфичным к маркеру В-лимфоцитов (CD19) и хемокиновым рецепторам, в своём исследовании мы также использовали моноклональные антитела к CD27. Эта молекула принадлежит к семейству рецепторов фактора некроза опухоли и является важным маркером активации В-лимфоцитов. Взаимодействие CD27 со своим

лигандом CD70, расположенным на поверхности активированных Т-лимфоцитов, способствует дифференцировке В-лимфоцитов в плазматические клетки, продуцирующие антитела [20].

CD27, наряду с CD19, CD20, CD21, CD24, CD38 и IgD, относят к числу главных поверхностных маркеров, используемых для анализа субпопуляций В-лимфоцитов [21]. Клетки, экспрессирующие на своей поверхности CD19 и CD27 (CD19⁺CD27⁺ клетки), описаны как В-клетки-памяти. В-лимфоциты, лишённые данного маркера, могут быть отнесены как к наивным В-лимфоцитам (в случае, если экспрессируют иммуноглобулин D (IgD)), так и В-клеткам-памяти (если не экспрессируют IgD) [21]. Известно, что В-клетки-памяти, дважды негативные по CD27 и IgD (CD27⁻IgD⁻), составляют примерно 5% популяции В-клеток периферической крови здоровых людей [22]. В свою очередь высокая экспрессия CD27 (CD27^{high}) в сочетании с другими CD-маркерами позволяет идентифицировать плазмобласты/плазматические клетки.

В настоящем исследовании обнаружено повышение относительного количества CD27⁺ В-клеток в крови курящих пациентов с ХОБЛ и здоровых курильщиков по сравнению со здоровыми некурящими людьми (рис. 1). Однако различия процентного содержания этих клеток у курящих пациентов с ХОБЛ и здоровых курильщиков отсутствовали. Кроме того, не было выявлено разницы в относительном количестве CD27⁺ В-клеток в БАЛЖ между курящими пациентами с ХОБЛ и здоровыми курильщиками. В работе Brandsma и соавт. [23] продемонстрировано повышение процентного содержания CD27⁺ В-клеток в крови группы активных курильщиков, включавшей пациентов с ХОБЛ и здоровых людей, по сравнению с группой экс-курильщиков и некурящих людей, в состав которой также были включены пациенты с ХОБЛ и здоровые лица [23]. Приведённые данные позволяют сделать предположение о том, что курение, а не ХОБЛ, является причиной количественных изменений субпопуляции CD27⁺ В-клеток.

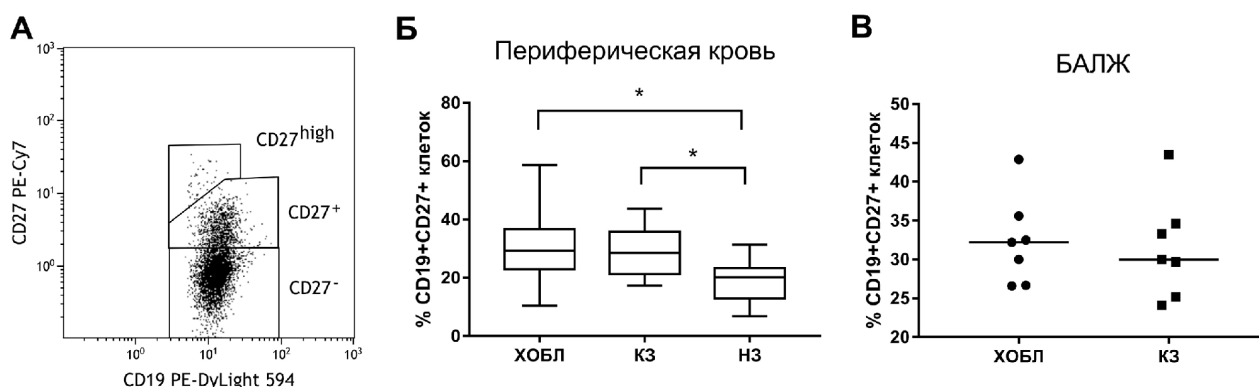


Рисунок 1. Экспрессия CD27 на поверхности В-лимфоцитов периферической крови и бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ). **А** — Разделение В-клеток при анализе методом проточной цитометрии на 3 субпопуляции: CD27⁻, CD27⁺ и CD27^{high}. Приведён график, полученный при анализе В-лимфоцитов периферической крови здорового некурящего донора. **Б, В** — Процентное содержание CD27⁺ В-клеток (относительно всех В-лимфоцитов) в периферической крови и БАЛЖ обследованных лиц. Коробчатые диаграммы демонстрируют диапазон значений, медиану, 25-й и 75-й процентиля; ХОБЛ — пациенты с хронической обструктивной болезнью лёгких, КЗ — курящие здоровые люди, НЗ — некурящие здоровые люди; * — $p < 0,05$ по сравнению с некурящими здоровыми людьми.

В-ЛИМФОЦИТЫ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИЕ ХЕМОКИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

В нашей работе доля В-лимфоцитов крови, несущих на своей поверхности хемокиновые рецепторы CXCR3^{high}, была выше у курящих пациентов с ХОБЛ по сравнению со здоровыми курящими и некурящими людьми (рис. 2). Последующий анализ экспрессии этого рецептора отдельно на CD27⁻ и CD27⁺ В-лимфоцитах также показал более высокое процентное содержание CXCR3^{high}-экспрессирующих субпопуляций В-клеток в крови пациентов с ХОБЛ по сравнению со здоровыми курящими и некурящими людьми (табл. 2). Примечательно, что у всех трёх групп

обследованных лиц экспрессия рецепторов CXCR3 была выше на поверхности CD27⁺ В-клеток, чем CD27⁻ В-лимфоцитов ($p < 0,001$ для трёх пар сравнений). Это не согласуется с данными Costa и соавт. [18], которые не выявили различий в процентном содержании В-клеток крови, несущих на своей поверхности CXCR3, у пациентов с ХОБЛ по сравнению со здоровыми курильщиками и здоровыми некурящими людьми [18]. Разногласия в полученных результатах могут быть обусловлены тем, что авторы упомянутой работы [18] проводили анализ CXCR3-позитивных клеток среди всех В-лимфоцитов,

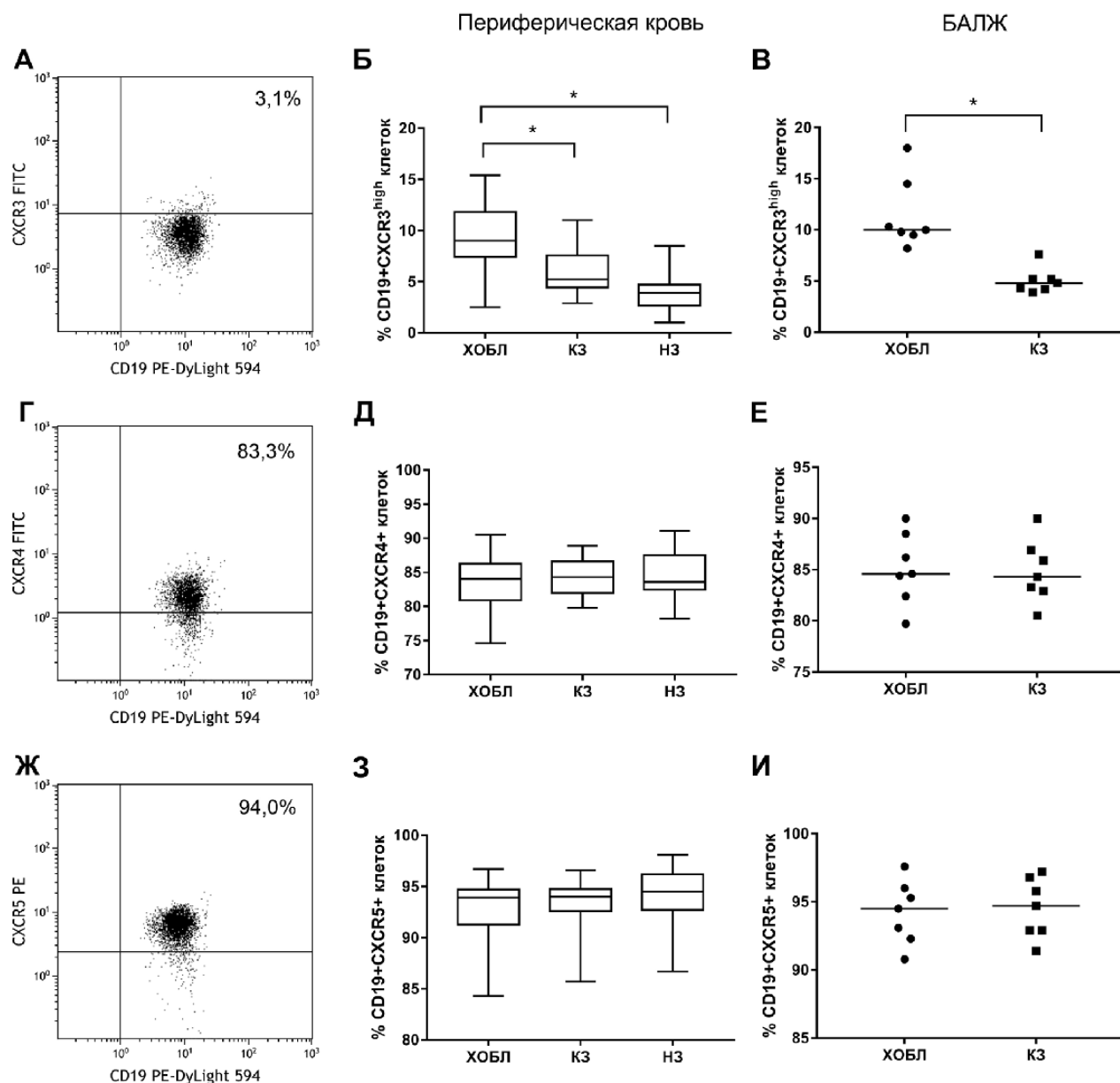


Рисунок 2. Экспрессия хемокиновых рецепторов CXCR3, CXCR4 и CXCR5 на поверхности В-лимфоцитов периферической крови и бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ). Определение региона CXCR3^{high} (А), CXCR4⁺ (Г) и CXCR5⁺ (Ж) В-лимфоцитов методом проточной цитометрии. Приведены графики, полученные при анализе В-лимфоцитов периферической крови здорового некурящего донора. Процентное содержание В-клеток, экспрессирующих хемокиновые рецепторы (относительно всех В-лимфоцитов), в периферической крови (Б, Д, З) и БАЛЖ (В, Е, И) обследованных лиц. Коробчатые диаграммы демонстрируют диапазон значений, медиану, 25-й и 75-й проценти; ХОБЛ — пациенты с хронической обструктивной болезнью лёгких, КЗ — курящие здоровые люди, НЗ — некурящие здоровые люди; * — $p < 0,05$ по сравнению с соответствующей контрольной группой.

Таблица 2. Процентное содержание CD27⁺ и CD27⁻ В-лимфоцитов, экспрессирующих хемокиновые рецепторы (относительно CD19⁺CD27⁻ и CD19⁺CD27⁺ клеток), в периферической крови пациентов с хронической обструктивной болезнью лёгких (ХОБЛ) и здоровых лиц

Хемокиновый рецептор	Субпопуляция В-лимфоцитов	Курящие пациенты с ХОБЛ	Курящие здоровые люди	Некурящие здоровые люди
CCR5 ⁺	CD19 ⁺ CD27 ⁻	4,7 (2,9–6,8)*#	1,3 (0,6–2,2)	1,6 (0,7–2,6)
	CD19 ⁺ CD27 ⁺	7,8 (6,7–9,9)*#	5,5 (4,4–7,3)	5,3 (3,7–6,5)
CCR6 ⁺	CD19 ⁺ CD27 ⁻	96,0 (95,4–97,1)	96,9 (95,9–97,7)	96,4 (95,1–97,6)
	CD19 ⁺ CD27 ⁺	91,8 (89,0–94,1)	92,3 (89,1–93,8)	92,1 (88,1–95,8)
CCR7 ⁺	CD19 ⁺ CD27 ⁻	96,6 (95,5–97,4)	96,0 (94,3–97,3)	96,1 (94,6–97,5)
	CD19 ⁺ CD27 ⁺	91,3 (87,2–94,0)	93,3 (91,1–95,0)	93,4 (89,3–97,1)
CXCR3 ^{high}	CD19 ⁺ CD27 ⁻	4,2 (3,0–5,9)*#	2,0 (1,7–3,2)	1,9 (1,4–2,3)
	CD19 ⁺ CD27 ⁺	20,0 (15,3–24,1)*#	14,2 (11,4–15,6)	12,8 (9,1–16,6)
CXCR4 ⁺	CD19 ⁺ CD27 ⁻	88,4 (84,1–91,2)	88,7 (85,5–92,0)	88,0 (84,5–90,7)
	CD19 ⁺ CD27 ⁺	71,4 (66,7–77,4)	71,7 (67,8–75,5)	70,3 (64,6–76,1)
CXCR5 ⁺	CD19 ⁺ CD27 ⁻	95,4 (93,9–97,3)	95,4 (94,2–96,2)	96,4 (94,1–97,7)
	CD19 ⁺ CD27 ⁺	88,0 (83,3–91,3)	89,8 (87,0–92,9)	87,5 (82,5–92,4)

Примечание: данные представлены как медиана и интерквартильный размах (25-й – 75-й процентиля); * — $p < 0,05$ по сравнению со здоровыми курящими людьми; # — $p < 0,05$ по сравнению со здоровыми некурящими людьми.

экспрессирующих рецептор CXCR3, в то время как в настоящем исследовании нами учитывался процент В-клеток, имеющих высокую экспрессию данного рецептора, и соответственно имеющих больший потенциал к миграции.

Привлечение В-лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы CXCR3, в лёгкие пациентов с ХОБЛ происходит благодаря лигандам этого рецептора — CXCL9, CXCL10 и CXCL11. Сообщается, что CXCL9 и CXCL10 продуцируются клетками нескольких типов, которые входят в состав лимфоидных фолликулов лёгких и окружающих их тканей, в том числе дендритными клетками, макрофагами, эпителиальными клетками воздухоносных путей, эндотелиальными клетками, Т- и В-лимфоцитами [16]. В экспериментальных условиях продемонстрировано, что мононуклеарные клетки периферической крови пациентов с ХОБЛ мигрируют в направлении CXCL10 и CXCL11 в большем количестве, чем клетки здоровых курильщиков и здоровых некурящих людей [18]. Нами также установлено, что у пациентов с ХОБЛ имеет место больший процент CXCR3^{high} В-клеток в БАЛЖ по сравнению со здоровыми курящими людьми. В исследовании Kelsen и соавт. [16] обнаружено повышение количества В-лимфоцитов, несущих на своей поверхности рецепторы CXCR3, в центральной части лимфоидных фолликулов лёгких пациентов с ХОБЛ по сравнению со здоровыми курящими и некурящими людьми [16]. В целом это указывает на существенную роль рецепторов CXCR3 и их лигандов в миграции В-лимфоцитов в лёгкие пациентов с ХОБЛ.

Как показали результаты нашего исследования, относительное количество В-клеток, экспрессирующих рецепторы CCR5, повышено в крови у курящих

пациентов с ХОБЛ по сравнению со здоровыми курящими и некурящими людьми (рис. 3). При этом различия в процентном содержании этих клеток между здоровыми курильщиками и здоровыми некурящими людьми отсутствовали. Аналогичные результаты были получены при сравнении относительного количества CD27⁻CCR5⁺ и CD27⁺CCR5⁺ В-лимфоцитов между тремя группами людей, включённых в исследование. Как и в случае с CXCR3^{high} В-лимфоцитами, в периферической крови обследованных лиц обнаружено более высокое процентное содержание CCR5-положительных CD27⁺ В-клеток по сравнению с CD27⁻ В-лимфоцитами ($p < 0,001$ для трёх пар сравнений).

Спектр лигандов для хемокинового рецептора CCR5 достаточно разнообразен и включает CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL8, CCL11, CCL13, CCL14, CCL16, CCL3L1 и CCL3L3 [24]. К настоящему времени накоплены данные о повышении концентрации CCL2, CCL3 и CCL5 в мокроте пациентов с ХОБЛ по сравнению со здоровыми людьми [25]. Установлено, что у пациентов с ХОБЛ большее количество мононуклеарных клеток периферической крови, снабжённых рецептором CCR5, движется в направлении лиганда CCL5, чем у здоровых курильщиков и здоровых некурящих людей [18]. В настоящем исследовании оценка в БАЛЖ процентного содержания В-лимфоцитов, несущих на своей поверхности рецепторы CCR5, позволила выявить повышение этой субпопуляции лимфоцитов у курящих пациентов с ХОБЛ по сравнению со здоровыми курильщиками, что, в совокупности с данными, приведёнными выше, свидетельствует о вовлечении рецепторов CCR5 в перемещение В-лимфоцитов при ХОБЛ.

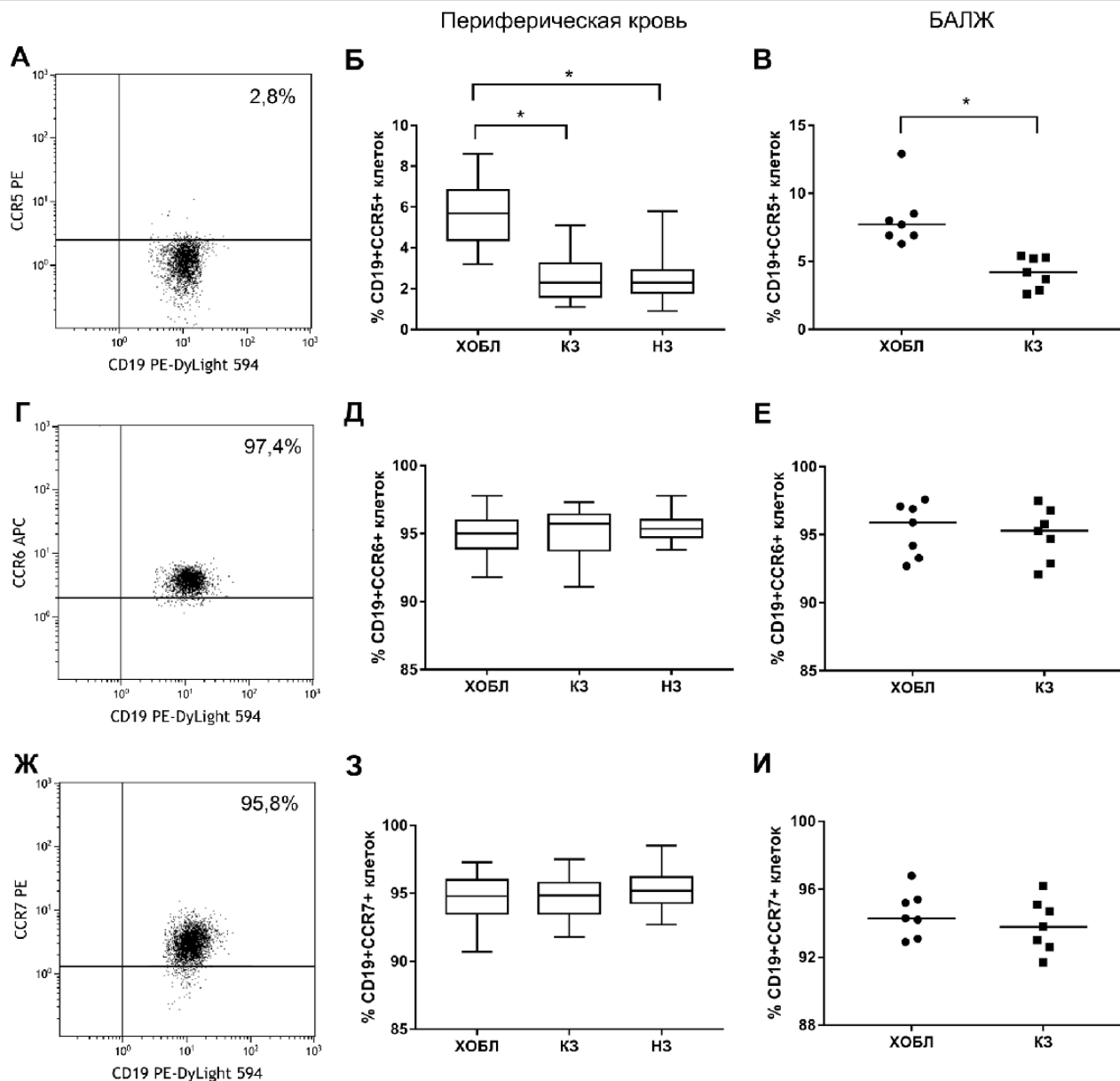


Рисунок 3. Экспрессия хемокиновых рецепторов CCR5, CCR6 и CCR7 на поверхности В-лимфоцитов периферической крови и бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ). Определение региона CCR5⁺ (А), CCR6⁺ (Г) и CCR7⁺ (Ж) В-лимфоцитов проводили методом проточной цитометрии. Приведены графики, полученные при анализе В-лимфоцитов периферической крови здорового некурящего донора. Процентное содержание В-клеток, экспрессирующих хемокиновые рецепторы (относительно всех В-лимфоцитов), анализировали в периферической крови (Б, Д, З) и БАЛЖ (В, Е, И) обследованных лиц. Коробчатые диаграммы демонстрируют диапазон значений, медиану, 25-й и 75-й процентиля; ХОБЛ — пациенты с хронической обструктивной болезнью лёгких, КЗ — курящие здоровые люди, НЗ — некурящие здоровые люди; * — $p < 0,05$ по сравнению с соответствующей контрольной группой.

Полученные ранее сведения о значении CCR5 в миграции других иммунокомпетентных клеток (Т-лимфоцитов и моноцитов) при ХОБЛ [18, 26] дали основания для поиска лекарственных средств, направленных на угнетение этих рецепторов. В работе [27] показано, что маравирик — антиретровирусный препарат класса антагонистов рецепторов CCR5 — ингибировал воспалительный процесс в лёгких мышей, подвергнутых воздействию сигаретного дыма и заражению вирусом гриппа А H1N1. Эти результаты позволяют предположить, что данный препарат может оказаться эффективным и при лечении пациентов с ХОБЛ.

Цитометрический анализ, проведённый в настоящей работе, показал, что большинство В-лимфоцитов крови здоровых людей несут на своей поверхности хемокиновые рецепторы CXCR4, CXCR5, CCR6 и CCR7. Так, 83,6% (медианное значение) популяции В-лимфоцитов здоровых некурящих лиц экспрессируют CXCR4, 94,8% — CXCR5, 95,4% — CCR6, 95,2% — CCR7. При этом отсутствуют различия процентного содержания В-лимфоцитов, содержащих эти хемокиновые рецепторы, между пациентами с ХОБЛ, здоровыми курильщиками и здоровыми некурящими людьми. Схожие результаты были получены, в том числе, при отдельной оценке

экспрессии данных рецепторов на поверхности CD27⁺ и CD27⁺ В-лимфоцитов трёх групп обследованных людей.

Миграция иммунокомпетентных клеток зависит не только от присутствия на их поверхности того или иного хемокинового рецептора, но и от функционального состояния рецепторов, способности образовывать прочные лиганд-рецепторные комплексы, концентрации хемокина, действия других факторов [25]. В частности, рецепторы CCR7 могут влиять на функционирование рецепторов CXCR4 путём связывания с ними с образованием гетеромерных комплексов CCR7–CXCR4. Способность к передаче дальнейшего сигнала от CXCR4, входящих в состав таких комплексов, существенно хуже, чем от CXCR4, формирующих гомомеры [28]. То есть, В-клетка продолжает экспрессировать рецепторы CXCR4, но под влиянием CCR7 её способность связываться с лигандом CXCL12 посредством CXCR4 может снижаться.

Известно, что сигаретный дым способствует формированию лимфоидных фолликулов в лёгких пациентов с ХОБЛ путём индукции синтеза лигандов CXCR4 и CXCR5 — CXCL12 и CXCL13 [10, 15]. Продукция CXCL12 повышена в лёгочной ткани пациентов с ХОБЛ с поздними (III–IV) стадиями заболевания по сравнению со здоровыми некурящими людьми [15]. Главным продуцентом CXCL13 в лёгких здоровых людей являются фолликулярные дендритные клетки. В лёгочной ткани пациентов с ХОБЛ этот хемокин также синтезируется В-лимфоцитами, то есть создаётся положительная обратная связь, когда мигрировавшие в лёгкие В-лимфоциты сами продуцируют хемокины для привлечения других В-клеток [10]. Установлена положительная корреляционная связь между концентрацией CXCL13 в гомогенатах лёгких пациентов с ХОБЛ и количеством лимфоидных фолликулов [10]. С учетом этих данных, мы полагаем, что CXCR4 и CXCR5 с их лигандами имеют важное значение в миграции В-клеток у пациентов с ХОБЛ не столько из-за сдвигов в экспрессии рецепторов (об отсутствии изменений по сравнению со здоровыми людьми сказано выше), сколько из-за увеличенной продукции хемокинов. Присутствие CXCR4 и CXCR5 на поверхности преобладающего большинства В-лимфоцитов лишь определяет высокую степень готовности этих клеток к миграции.

Патогенетическое значение В-лимфоцитов в лёгких сводится к секреции ими интерлейкина 10 (ИЛ-10), который стимулирует синтез матриксных металлопротеиназ 9 (ММП-9) и 12 (ММП-12). Эти белки разрушают протеины внеклеточного матрикса лёгких, что приводит к развитию эмфиземы и образованию матрикинов (низкомолекулярных регуляторных пептидов), которые привлекают в лёгкие нейтрофилы [4]. Другое немаловажное значение В-лимфоцитов обусловлено их пролиферацией и созреванием в плазматические клетки. Последние секретируют антитела к бактериям или собственным компонентам лёгких, включая продукты

протеолитической деградации внеклеточного матрикса и клеток лёгких [7]. Связывание аутоантител со своими антигенами запускает активацию комплемента, который привлекает клетки воспаления в дыхательные пути.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ХОБЛ характеризуется увеличением в крови процентного содержания В-лимфоцитов, снабжённых хемокиновыми рецепторами CCR5 и CXCR3, как в субпопуляции CD27⁺ В-лимфоцитов, так и CD27⁺ В-клеток. При этом относительное количество CD27⁺ В-клеток, содержащих такие рецепторы, превышает долю CD27⁺ В-лимфоцитов. У пациентов с ХОБЛ процентное содержание В-клеток, имеющих рецепторы CCR5 и CXCR3, также повышено в БАЛЖ.

Подавляющее большинство В-лимфоцитов в крови и лёгких пациентов с ХОБЛ и здоровых людей экспрессируют хемокиновые рецепторы CXCR4, CXCR5, CCR6 и CCR7. Однако различия процентного содержания В-лимфоцитов, обладающих такими рецепторами, как в периферической крови, так и в БАЛЖ, между курящими пациентами с ХОБЛ и курящими здоровыми людьми отсутствуют. Большой процент CD27⁺ В-лимфоцитов, чем CD27⁺ В-клеток, несёт на своей поверхности эти рецепторы в периферической крови курящих пациентов с ХОБЛ, здоровых курильщиков и здоровых некурящих людей.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность врачам-пульмонологам консультационного отделения Минского клинического консультативно-диагностического центра Э.И. Талабаевой и А.В. Пластининой за оказанную помощь при проведении данного исследования.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при финансовой поддержке государственной программы научных исследований “Фундаментальные и прикладные науки — медицине” в рамках задания № 2.18 (Республика Беларусь).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Пациенты с ХОБЛ и лица контрольной группы были подробно информированы о целях и задачах исследования, на возникшие вопросы даны подробные разъяснения. Все испытуемые дали письменное добровольное согласие на участие в исследовании. Проведение исследования было одобрено решением комитета по биомедицинской этике Белорусского государственного медицинского университета (протокол № 15 от 22.10.2014).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Blanco I., Diego I., Bueno P., Casas-Maldonado F., Miravittles M. (2019) Geographic distribution of COPD prevalence in the world displayed by Geographic Information System maps. *Eur. Respir. J.*, **54**(1), 1900610. DOI: 10.1183/13993003.00610-2019
2. Быстрицкая Е.В., Биличенко Т.Н. (2021) Заболеваемость, инвалидность и смертность от болезней органов дыхания в Российской Федерации (2015-2019) Пульмонология, **31**(5), 551-561. [Bystritskaya E.V., Bilichenko T.N. (2021) The morbidity, disability, and mortality associated with respiratory diseases in the Russian Federation (2015-2019) *Pulmonologiya*, **31**(5), 551-561.] DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-5-551-561
3. Barnes P.J. (2019) Small airway fibrosis in COPD. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **116**, 105598. DOI: 10.1016/j.biocel.2019.105598
4. Polverino F., Seys L.J., Bracke K.R., Owen C.A. (2016) B cells in chronic obstructive pulmonary disease: moving to center stage. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, **311**(4), L687-L695. DOI: 10.1152/ajplung.00304.2016
5. Hogg J.C., Chu F., Utokaparch S., Woods R., Elliott W.M., Buzatu L., Cherniack R.M., Rogers R.M., Sciurba F.C., Coxson H.O., Paré P.D. (2004) The nature of small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *New Engl. J. Med.*, **350**(26), 2645-2453. DOI: 10.1056/NEJMoa032158
6. Yadava K., Bollyky P., Lawson M.A. (2016) The formation and function of tertiary lymphoid follicles in chronic pulmonary inflammation. *Immunology*, **149**(3), 262-269. DOI: 10.1111/imm.12649
7. Kato A., Hulse K.E., Tan B.K., Schleimer R.P. (2013) B-lymphocyte lineage cells and the respiratory system. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **131**(4), 933-957. DOI: 10.1016/j.jaci.2013.02.023
8. Hauser M.A., Legler D.F. (2016) Common and biased signaling pathways of the chemokine receptor CCR7 elicited by its ligands CCL19 and CCL21 in leukocytes. *J. Leukocyte Biol.*, **99**(6), 869-882. DOI: 10.1189/jlb.2MR0815-380R
9. López-Giral S., Quintana N.E., Cabrerizo M., Alfonso-Pérez M., Sala-Valdés M., de Soria V.G., Fernández-Rañada J.M., Fernández-Ruiz E., Muñoz C. (2004) Chemokine receptors that mediate B cell homing to secondary lymphoid tissues are highly expressed in B cell chronic lymphocytic leukemia and non-Hodgkin lymphomas with widespread nodular dissemination. *J. Leukocyte Biol.*, **76**(2), 462-471. DOI: 10.1189/jlb.1203652
10. Litsiou E., Semitekolou M., Galani I.E., Morianos I., Tsoutsas A., Kara P., Rontogianni D., Bellenis I., Konstantinou M., Potaris K., Andreacos E., Sideras P., Zakynthinos S., Tsoumakidou M. (2013) CXCL13 production in B cells via Toll-like receptor/lymphotoxin receptor signaling is involved in lymphoid neogenesis in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **187**, 1194-1202. DOI: 10.1164/rccm.201208-1543OC
11. Bracke K.R., Verhamme F.M., Seys L.J., Bantsimba-Malanda C., Cunoosamy D.M., Herbst R., Hammad H., Lambrecht B.N., Joos G.F., Brusselle G.G. (2013) Role of CXCL13 in cigarette smoke-induced lymphoid follicle formation and chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **188**, 343-355.
12. Förster R., Mattis A.E., Kremmer E., Wolf E., Brem G., Lipp M. (1996) A putative chemokine receptor, BLR1, directs B cell migration to defined lymphoid organs and specific anatomic compartments of the spleen. *Cell*, **87**(6), 1037-1047. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)81798-5
13. Müller G., Höpken U.E., Lipp M. (2003) The impact of CCR7 and CXCR5 on lymphoid organ development and systemic immunity. *Immunological Rev.*, **195**, 117-135. DOI: 10.1034/j.1600-065x.2003.00073.x
14. Nie Y., Waite J., Brewer F., Sunshine M.J., Littman D.R., Zou Y.R. (2004) The role of CXCR4 in maintaining peripheral B cell compartments and humoral immunity. *J. Exp. Med.*, **200**(9), 1145-1156. DOI: 10.1084/jem.20041185
15. Roos A.B., Sandén C., Mori M., Bjerner L., Stampfli M.R., Erjefält J.S. (2015) IL-17A is elevated in end-stage chronic obstructive pulmonary disease and contributes to cigarette smoke-induced lymphoid neogenesis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **191**(11), 1232-1241. DOI: 10.1164/rccm.201410-1861OC
16. Kelsen S.G., Aksoy M.O., Georgy M., Hershman R., Ji R., Li X., Hurford M., Solomides C., Chatila W., Kim V. (2009) Lymphoid follicle cells in chronic obstructive pulmonary disease overexpress the chemokine receptor CXCR3. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **179**(9), 799-805. DOI: 10.1164/rccm.200807-1089OC
17. Bracke K.R., D'hulst A.I., Maes T., Demedts I.K., Moerloose K.B., Kuziel W.A., Joos G.F., Brusselle G.G. (2007) Cigarette smoke-induced pulmonary inflammation, but not airway remodelling, is attenuated in chemokine receptor 5-deficient mice. *Clinical Experimental Allergy*, **37**(10), 1467-1479. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2007.02808.x
18. Costa C., Traves S.L., Tudhope S.J., Fenwick P.S., Belchamber K.B., Russell R.E., Barnes P.J., Donnelly L.E. (2016) Enhanced monocyte migration to CXCR3 and CCR5 chemokines in COPD. *Eur. Respir. J.*, **47**(4), 1093-1102. DOI: 10.1183/13993003.01642-2015
19. Кадушкин А.Г., Таганович А.Д., Арабей А.А., Шишло Л.М., Любецкая А.П., Алешкевич Л.В. (2018) Чувствительность к глюкокортикостероидам и гетерогенность ответа клеток *in vitro* у пациентов с хронической обструктивной болезнью лёгких. Пульмонология, **28**(5), 558-566. [Kadushkin A.G., Taganovich A.D., Arabey A.A., Shishlo L.M., Lyubetskaya A.P., Aleshkevich L.V. (2018) Sensitivity to glucocorticosteroids and heterogeneity of *in vitro* cell response in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Pulmonologiya*, **28**(5), 558-566.] DOI: 10.18093/0869-0189-2018-28-5-558-566
20. Arens R., Nolte M.A., Tesselaar K., Heemskerk B., Reedquist K.A., van Lier R.A., van Oers M.H. (2004) Signaling through CD70 regulates B cell activation and IgG production. *J. Immunol.*, **173**(6), 3901-3908. DOI: 10.4049/jimmunol.173.6.3901
21. Sanz I., Wei C., Jenks S.A., Cashman K.S., Tipton C., Woodruff M.C., Hom J., Lee F.E. (2019) Challenges and opportunities for consistent classification of human B cell and plasma cell populations. *Front. Immunol.*, **10**, 2458. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02458
22. Sanz I., Wei C., Lee F.E., Anolik J. (2008) Phenotypic and functional heterogeneity of human memory B cells. *Semin. Immunol.*, **20**(1), 67-82. DOI: 10.1016/j.smim.2007.12.006
23. Brandsma C.A., Hylkema M.N., Geerlings M., van Geffen W.H., Postma D.S., Timens W., Kerstjens H.A. (2009) Increased levels of (class switched) memory B cells in peripheral blood of current smokers. *Respir. Res.*, **10**, 108. DOI: 10.1186/1465-9921-10-108
24. Tomankova T., Kriegova E., Liu M. (2015) Chemokine receptors and their therapeutic opportunities in diseased lung: far beyond leukocyte trafficking. *Am. J. Physiol. Lung*

- Cell. Mol. Physiol., **308**(7), L603-L618.
DOI: 10.1152/ajplung.00203.2014
25. Henrot P., Prevel R., Berger P., Dupin I. (2019) Chemokines in COPD: from implication to therapeutic use. *Int. J. Mol. Sci.*, **20**(11), 2785. DOI: 10.3390/ijms20112785
 26. Кадушкин А.Г., Шман Т.В., Белевцев М.В., Ибрагимова Ж.А., Таганович А.Д. (2013) Популяционная перестройка Т-лимфоцитов, содержащих хемокиновые рецепторы, у пациентов с хронической обструктивной болезнью лёгких. *Пульмонология*, **2**, 41-45. [Kadushkin A.G., Shman T.V., Belevtsev M.V., Ibragimova Z.A., Taganovich A.D. (2013) Changes in T-lymphocyte population containing chemokine receptors in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Pulmonologiya*, **2**, 41-45.] DOI: 10.18093/0869-0189-2013-0-2-41-45
 27. Ferrero M.R., Garcia C.C., Dutra de Almeida M., Torres Braz da Silva J., Bianchi Reis Insuela D., Teixeira Ferreira T.P., de Sá Coutinho D., Trindade de Azevedo C., Machado Rodrigues e Silva P., Martins M.A. (2021) CCR5 antagonist maraviroc inhibits acute exacerbation of lung inflammation triggered by influenza virus in cigarette smoke-exposed mice. *Pharmaceuticals (Basel)*, **14**(7), 620. DOI: 10.3390/ph14070620
 28. Mcheik S., van Eeckhout N., de Poorter C., Galés C., Parmentier M., Springael J.Y. (2019) Coexpression of CCR7 and CXCR4 during B cell development controls CXCR4 responsiveness and bone marrow homing. *Front. Immunol.*, **10**, 2970. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02970

Поступила в редакцию: 20. 01. 2022.
После доработки: 06. 03. 2022.
Принята к печати: 09. 03. 2022.

POPULATION REARRANGEMENT OF B-LYMPHOCYTES EXPRESSING CHEMOKINE RECEPTORS IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

A.G. Kadushkin^{1*}, A.D. Tahanovich¹, L.V. Movchan², M.M. Zafranskaya³, V.V. Dziadzichkina¹, T.V. Shman²

¹Belarusian State Medical University,

83 Dzerzhinski ave., Minsk, 220116 Belarus; *e-mail: kadushkyn@gmail.com

²Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology,
43 Frunzenskaya str., Borovlyani, Minsk region, 223053 Belarus

³International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University,
23/1 Dolgobrodskaya str., Minsk, 220070 Belarus

To date, there are no drugs that can prevent progressive destruction of lung tissue and small airway fibrosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Therefore, molecular mechanisms of this disease are being studied. The aim of this study was to determine the chemokine receptor expression pattern of B-lymphocytes from peripheral blood and airways of patients with COPD. Peripheral blood was collected from 51 smokers with COPD, 21 healthy smokers, and 20 healthy non-smokers. Seven smokers with COPD and 7 healthy smokers were recruited to undergo bronchoscopy with bronchoalveolar lavage (BAL). The expression of chemokine receptors CCR5, CCR6, CCR7, CXCR3, CXCR4, and CXCR5 on the surface of blood and BAL B-lymphocytes was determined by flow cytometry. It was found that the percentage of blood B-lymphocytes expressing chemokine receptors CCR5 and CXCR3 was higher in smokers with COPD compared with healthy smokers and healthy non-smokers. The percentage of CD27⁺ B-cells expressing CCR5 and CXCR3 receptors exceeded the proportion of CD27⁺ B-lymphocytes expressing these receptors in peripheral blood of patients with COPD and healthy controls. In smoking patients with COPD, the percentage of BAL B-cells expressing receptors CCR5 and CXCR3 was also increased compared with healthy smokers. There were no differences in the percentage of B-lymphocytes expressing receptors CXCR4, CXCR5, CCR6, and CCR7 in both peripheral blood and BAL between smokers with COPD and healthy smokers. A greater percentage of CD27⁺ B-lymphocytes than CD27⁺ B-cells expressed receptors CXCR4, CXCR5, CCR6, and CCR7 in the peripheral blood of smokers with COPD and healthy controls. The results of this study indicate a modification in the chemokine receptor profile of B-lymphocytes in COPD.

Key words: B-lymphocytes; chemokine receptors; CXCR3; CXCR4; CXCR5; CCR5; CD27

Funding. This study was supported by the Belarusian State Scientific Program “Fundamental and Applied Sciences for Medicine” (grant number 2.18).

Received: 20.01.2022; revised 06.03.2022; accepted: 09.03.2022.