

**2020**

Официальный журнал  
Российского Научного Общества Иммунологов

**РОССИЙСКИЙ  
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ  
ЖУРНАЛ**



**RUSSIAN JOURNAL  
OF IMMUNOLOGY**

Official Journal  
of Russian Society of Immunology

Volume 23  
Number 4

**2020**



отпуск без рецепта

## ГРИППФЕРОН®

капли и спрей назальные

интерферон альфа-2b  
человеческий рекомбинантный

**Экстренная профилактика и лечение ОРВИ и гриппа у детей с рождения и взрослых, включая беременных женщин**

**Интраназальное применение рекомбинантного интерферона альфа-2b рекомендовано Минздравом РФ для экстренной профилактики и лечения ОРВИ (в т.ч. коронавирусной инфекции COVID-19) и гриппа у взрослых и детей**



Рег. уд. Р N 00089/01  
Рег. уд. ЛП-001503



отпуск без рецепта

## ГРИППФЕРОН® с лоратадином

МАЗЬ НАЗАЛЬНАЯ  
интерферон альфа-2b + лоратадин

- Профилактика и лечение гриппа и респираторных вирусных инфекций у взрослых, в том числе и с аллергическим ринитом

Рег. уд. ЛП-002425



отпуск без рецепта

## ОФТАЛЬМОФЕРОН®

КАПЛИ ГЛАЗНЫЕ  
интерферон альфа-2b + дифенгидрамин

- Лечение герпетических и аденовирусных инфекций глаз (конъюнктивитов, кератитов, увеитов)
- Лечение и профилактика осложнений после хирургических вмешательств на роговице
- Лечение синдрома сухого глаза

Рег. уд. Р N 002902/01



отпуск без рецепта

## ГЕРПФЕРОН®

МАЗЬ ДЛЯ МЕСТНОГО И НАРУЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ  
интерферон альфа-2b + ацикловир + лидокаин

- Лечение первичных и рецидивирующих герпетических поражений кожи и слизистых оболочек
- Лечение генитального и опоясывающего герпеса
- Снижение зуда и болевых ощущений

Рег. уд. Р N 00324/01



отпуск без рецепта

## АЛЛЕРГОФЕРОН®

ГЕЛЬ ДЛЯ МЕСТНОГО И НАРУЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ  
интерферон альфа-2b + лоратадин

- Лечение сезонного и круглогодичного аллергического ринита и конъюнктивита



Рег. уд. ЛП-000656



отпуск по рецепту

## АЛЛЕРГОФЕРОН® бета

КАПЛИ ГЛАЗНЫЕ И НАЗАЛЬНЫЕ  
интерферон альфа-2b + бетаметазон

- Новая оригинальная комбинация
- Лечение сезонного аллергического ринита и конъюнктивита среднетяжелого в стадии обострения

Рег. уд. ЛП-002999



отпуск по рецепту

## МИКОФЕРОН®

ГЕЛЬ ДЛЯ НАРУЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ  
интерферон альфа-2b + тербинафин + метронидазол

- Лечение грибковых инфекций кожи, в том числе микозов стоп и грибковых поражений гладкой кожи тела



Рег. уд. ЛП-004377

РОССИЙСКОЕ НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО ИММУНОЛОГОВ  
(РНОИ)

---

# РОССИЙСКИЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

октябрь-декабрь

**2020, том 23**

**№. 4**

---

Основан в 1996 году

## Главный редактор

**Черешнев Валерий Александрович** – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, научный руководитель Института иммунологии и физиологии, президент Российского Научного Общества Иммунологов, Екатеринбург, Россия

## Заместитель главного редактора

**Козлов Владимир Александрович** – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, научный руководитель НИИ фундаментальной и клинической иммунологии Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия

**Козлов Иван Генрихович** – доктор медицинских наук, профессор, Национальный медицинский исследовательский Центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева, заведующий лабораторией экспериментальной и клинической фармакологии, Москва, Россия

## Редакционная коллегия

**Бен Мари** – доктор медицинских наук, профессор, руководитель гематологической лаборатории Клинического Центра Университета Нанта, Нант, Франция

**Бочаров Геннадий Алексеевич** – доктор физико-математических наук, ведущий научный сотрудник Института вычислительной математики РАН, Москва, Россия

**Ганковская Людмила Викторовна** – доктор медицинских наук, профессор, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, заведующая кафедрой иммунологии, Москва, Россия

**Григорова Ирина** – ассистент профессора отдела микробиологии и иммунологии, Медицинская школа, Мичиганский Университет, Эйн Арбор, США

**Кадагидзе Заира Григорьевна** – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии опухолей НИИ клинической онкологии имени академика Н.Н. Трапезникова НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина, Москва, Россия

**Караулов Александр Викторович** – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, Первый МГМУ имени И.М. Сеченова, заведующий кафедрой клинической иммунологии и аллергологии, Москва, Россия

**Корнева Елена Андреевна** – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, академик РАН, главный научный сотрудник отдела общей патологии и патологической физиологии НИИ экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

**Круглов Андрей Алексеевич** – руководитель лаборатории хронического воспаления, Исследовательский Ревматологический Центр Германии, Берлин, Германия

**Купраш Дмитрий Владимирович** – член-корреспондент РАН, профессор, доктор биологических наук, Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, лаборатория передачи внутриклеточных сигналов в норме и патологии, главный научный сотрудник, МГУ имени Ломоносова, профессор кафедры иммунологии, Москва, Россия

**Лагарькова Мария Андреевна** – член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор МГУ имени М.В. Ломоносова, заведующая лабораторией клеточной биологии Федерального научно-клинического Центра физико-химической медицины, Москва, Россия

**Лядова Ирина Владимировна** – доктор медицинских наук, Центральный НИИ туберкулеза, заведующая лабораторией биотехнологии отдела иммунологии, Москва, Россия

**Невинский Георгий Александрович** – профессор, доктор химических наук, заведующий лабораторией ферментов репарации Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

**Недоспасов Сергей Артурович** – доктор биологических наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой иммунологии МГУ имени М.В. Ломоносова и заведующий отделом молекулярной иммунологии в Институте физико-химической биологии имени Белозерского МГУ, Москва, Россия

**Петров Рэм Викторович** – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом иммунологии Института биорганотической химии имени академиков М.М. Шемиякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

**Полторак Александр** – профессор, Школа биомедицинских наук имени Саклера, Университет Тафта, Бостон, США

**Продеус Андрей Петрович** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой педиатрии РНИМУ имени Н.И. Пирогова, руководитель отделения иммунологии и ревматологии детей и подросткового ФНКЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии, Москва, Россия

**Руденский Александр** – Медицинский Институт Говарда Хьюза, Чери Чейз, США

**Села Михаэль** – профессор, Институт наук Вейцмана, Реховот, Израиль

**Сенников Сергей Витальевич** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярной иммунологии НИИ фундаментальной и клинической иммунологии Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия

**Симбирцев Андрей Семенович** – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник ГосНИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

**Сотникова Наталья Юрьевна** – доктор медицинских наук, профессор Ивановской государственной медицинской академии, заведующая научно-практическим отделением клинической иммунологии Ивановского НИИ материнства и детства, Иваново, Россия

**Стокингер Ганс** – Венский медицинский университет, Центр патофизиологии, инфекционной и иммунологии, Вена, Австрия

**Фрейдлин Ирина Соломоновна** – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник Института экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

**Хайтов Муса Рахимович** – член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия

**Хайтов Рахим Мусаевич** – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, научный руководитель ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России (Москва), главный специалист аллерголог-иммунолог Минздрава России, президент Российской Ассоциации Аллергологов и Клинических Иммунологов, Москва, Россия

## Ответственные секретари:

Ризопулу А.П., д.б.н. (Москва)  
Ракитянская Н.В. (Санкт-Петербург)  
E-mail: rusimmun@gmail.com

## Редактор перевода:

Исаков Д.В., к.м.н. (Санкт-Петербург)

## Редактор электронной версии:

Ерофеева В.С. (Санкт-Петербург)

**Редакция:** тел./факс (812) 233-08-58

**Адрес для корреспонденции:**

Редакция журнала «Российский иммунологический журнал»

197101, Санкт-Петербург, а/я 130

**Электронная версия:** www.rusimmun.ru

© Российский иммунологический журнал

Журнал зарегистрирован Министерстве РФ по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций (свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ №77-11255 от 04.01.2002 г.)

**Хайдуков Сергей Валерьевич** – доктор биологических наук, ФГБУН Институт биорганотической химии имени академиков М.М. Шемиякина и Ю.А. Овчинникова РАН, старший научный сотрудник; ФГБУ Российская Детская Клиническая Больница, Центральная клиническая лаборатория, Москва, Россия

**Шварц Герберт** – Школа медицины Йонг Лу Лин Национального университета Сингапура

## Редакционный совет

**Арион Виталий Яковлевич** – доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии и биохимии Федерального научно-клинического Центра физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

**Балмасова Ирина Петровна** – доктор медицинских наук, профессор, Российский университет дружбы народов, кафедра аллергологии и иммунологии ФПК; Московский государственный университет стоматологического университета имени А.И. Евдокимова, заведующая лабораторией патогенеза и методов лечения инфекционных заболеваний, Москва, Россия

**Гариб Фируз Юсупович** – доктор медицинских наук, профессор, Российская медицинская академия последипломного образования, кафедра иммунологии; Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра иммунологии; Первый МГМУ имени С.М. Сеченова, кафедра клинической иммунологии и аллергологии, Москва, Россия

**Глушков Андрей Николаевич** – доктор медицинских наук, профессор, директор Института экологии человека Федерального исследовательского Центра угля и углехимии СО РАН, Кемерово, Россия

**Гущин Игорь Сергеевич** – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, академик РАЕН, заведующий отделом № 80 клинической иммунологии и аллергологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия

**Детгарева Марина Васильевна** – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой неонатологии Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

**Зурочка Александр Владимирович** – доктор медицинских наук, профессор, Институт иммунологии и физиологии УРО РАН, лаборатория иммунологии воспаления, ведущий научный сотрудник, Челябинск, Россия

**Карамов Эдуард Владимирович** – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией иммунохимии ФИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия

**Колесникова Наталья Владиславовна** – доктор биологических наук, профессор, Кубанский государственный медицинский университет, кафедра клинической иммунологии и аллергологии, Краснодар, Россия

**Нестерова Ирина Вадимовна** – доктор медицинских наук, профессор, Российский университет дружбы народов, кафедра аллергологии и иммунологии ФПК; Институт иммунофизиологии, Москва, Россия

**Раев Михаил Борисович** – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов УРО РАН, Пермь, Россия

**Румянцев Александр Григорьевич** – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, президент Национального медицинского исследовательского центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, Москва, Россия

**Свитич Оксана Анатольевна** – доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, директор НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова, Москва, Россия

**Спишаишвили Реваз Исмаилович** – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, академик Академии наук Грузии, заведующий кафедрой аллергологии и иммунологии Российского университета дружбы народов, директор Института иммунофизиологии, Москва, Россия

**Сизякина Людмила Петровна** – доктор медицинских наук, профессор, директор НИИ клинической иммунологии Ростовского государственного медицинского университета Минздрава России, заведующая кафедрой клинической иммунологии и аллергологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов Ростовского государственного медицинского университета, Ростов-на-Дону, Россия

**Топтыгина Анна Павловна** – доктор медицинских наук, НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Н.Н. Габричевского Роспотребнадзора, заведующая лабораторией цитокинов, ведущий научный сотрудник, Москва, Россия

**Тузанкина Ирина Александровна** – доктор медицинских наук, профессор, Институт иммунологии и физиологии УРО РАН, главный научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления, главный детский иммунолог-аллерголог Минздрава Свердловской области, руководитель регионального Центра клинической иммунологии, Екатеринбург, Россия

**Тутельян Алексей Викторович** – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией госпитальных инфекций и эпидемиологического анализа, Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

**Федоскова Татьяна Германовна** – доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия

**Чекнёв Сергей Борисович** – доктор медицинских наук, заместитель директора по научной работе ФИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава РФ, заведующий лабораторией межклеточных взаимодействий, Москва, Россия

**Черешнева Маргарита Владимировна** – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник Института иммунологии и физиологии УРО РАН, Екатеринбург, Россия

**Ширинский Валерий Степанович** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией клинической иммунофармакологии НИИ фундаментальной и клинической иммунологии Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия

**Шмагель Константин Владимирович** – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией экологической иммунологии Института экологии и генетики микроорганизмов, профессор кафедры иммунологии Пермского государственного медицинского университета имени академика Е.А. Вагнера, Пермь, Россия

Издательство «Человек»

199004, Россия, Санкт-Петербург, Малый пр. В.О., 26, оф. 3.

E-mail: mail@mirmed.ru

Тел./факс: (812) 325-25-64.

Подписано в печать 30.09.2020 г. Формат 60 x 90 1/8. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 20,5. Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.)

Отпечатано в типографии ООО «Лесник»

197183, Санкт-Петербург, ул. Сабировская, 37.

**«Российский иммунологический журнал» входит в «Перечень российских рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК РФ, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук», а также в базу Russian Science Citation Index (RSCI), полностью интегрированную с платформой Web of Science**

RUSSIAN SOCIETY OF IMMUNOLOGY  
(RSI)

---

**RUSSIAN  
JOURNAL OF IMMUNOLOGY**

**ROSSIYSKIY  
IMMUNOLOGICHESKIY  
ZHURNAL**

October-December

**2020, volume 23**

**No. 4**

---

Published since 1996

## Editor-in-chief

**Valery A. Chereshev** – PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Institute of Immunology and Physiology, Scientific Adviser, Yekaterinburg, Russian Federation, President of Russian Immunology Society Deputy editor-in-chief

## Deputy Editor-in-Chief

**Vladimir A. Kozlov** – PhD, MD, Professor, RAS full member, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Scientific Adviser, Novosibirsk, Russian Federation

**Ivan G. Kozlov** – PhD, MD (Medicine), Professor, Chief, Laboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

## Editorial board

**Marie C. Bene** – Professor, Chief of Service d'Hématologie Biologique, Centre Hospitalier Universitaire de Nantes, Nantes, France

**Gennady A. Bocharov** – Doctor of Physical and Mathematical Sciences, Leading Researcher, Marchuk Institute of Numerical Mathematics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

**Irina S. Freidlin** – PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, Institute of Experimental Medicine, Head Researcher, St. Petersburg, Russian Federation

**Ludmila V. Gankovskaya** – MD, PhD, Prof., Head of the Immunology Department, Pirogov Russian National Research Medical University (RNRMU), Moscow, Russian Federation

**Irina Grigороva** – PhD, Assistant Professor, Department of Microbiology and Immunology, University of Michigan Medical School, Ann Arbor, United States

**Zaira G. Kadagidze** – MD, PhD, Prof., Head of the Laboratory of Clinical Immunology of Tumors, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russian Federation

**Alexander V. Karaulov** – MD, PhD, Prof., Full Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Clinical Immunology and Allergology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

**Sergei V. Khaidukov** – Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

**Musa R. Khaïtov** – MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director, State Scientific Center "Institute of Immunology", FMBA of Russia, Moscow, Russian Federation

**Rakhim M. Khaïtov** – State Research Center Institute of Immunology FMBA, Moscow, Russian Federation, PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Institute of Immunology, Scientific Adviser, Moscow, Russian Federation

**Elena A. Korneva** – PhD, MD, Professor, RAS full member, Institute of Experimental Medicine, Department of Pathology and Pathophysiology, Chief researcher, St. Petersburg, Russian Federation

**Andrey A. Kruglov** – PhD, Chief, Laboratory of Chronic inflammation, German Rheumatism Research Centre (DRFZ), Berlin, Germany

**Dmitry V. Kuprash** – PhD, Professor, RAS Corresponding Member, Department of Immunology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

**Mariya A. Lagarkova** – PhD, Professor of Lomonosov Moscow State University, RAS Corresponding Member, Chief, Laboratory of Cellular Biology, Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russian Federation

**Irina V. Lyadova** – PhD, MD, Professor, Central Institute of Tuberculosis, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russian Federation

**Sergei A. Nedospasov** – PhD, Professor, RAS full member, Lomonosov State University, Department of Immunology, chief, Institute of Physico-Chemical Biology, Belozersky, Department of Molecular Immunology, Chief, Moscow, Russian Federation

**Georgiy A. Nevinsky** – Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation

**Rem V. Petrov** – State Research Center Institute of Immunology FMBA, Moscow, Russian Federation

**Alexander Poltorak** – Professor, Graduate Program in Immunology, Tufts University Sackler School of Biomedical Sciences, Boston, USA, Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russian Federation

**Andrey P. Prodeus** – PhD, MD (Medicine), Professor, Head of Department of Immunology and Rheumatology, National Scientific-Practical Center of Pediatric Hematology, Moscow, Russian Federation

**Alexander Rudensky** – Howard Hughes Medical Institute, Chevy Chase, United States

**Michael Sela** – Professor, Weizmann Institute of Science Israel, Rehovot, Israel

**Serguei V. Sennikov** – Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

**Herbert Schwarz** – Yong Loo Lin School of Medicine, Singapore City, Singapore

**Andrey S. Simbirsev** – PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, St. Petersburg Institute of Pure Biochemicals, Head Researcher, St. Petersburg, Russian Federation

**Nataliya Yu. Sotnikova** – MD, PhD, Prof., Ivanovo State Medical Academy, Head of the Department of Scientific and Practical Clinical Immunology, Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood (Ivanovo, Russia), Russian Federation

## Managing Editors:

Anna Rizopulu, PhD (Biology) (Moscow)

Natalia Rakitianskaia, (St. Petersburg)

E-mail: rusimmun@gmail.com

## Translation editor:

Dmitrii V. Isakov, PhD (Medicine) (St. Petersburg)

## Online version editorial manager:

Vera S. Erofeeva (St. Petersburg)

**Editorial Office: phone/fax (812) 233-08-58**

**Address for correspondence:**

Editorial Office of the "Russian Journal of Immunology"

197101, St.Petersburg, post box 130

**Electronic version:** www.rusimmun.ru

© Russian Journal of Immunology

Journal registered with the Ministry of the Russian Federation for Press, Broadcasting and Mass Media (certificate of registration of mass media PI No. 77-11525 of January 4, 2002)

**Hannes Stockinger** – Medizinische Universität Wien, Zentrum für Pathophysiologie, Infektiologie und Immunologie, Vienna, Austria

## Editorial Council

**Vitaliy Ya. Arion** – MD, PhD, Professor, Head Researcher, Laboratory of Molecular Immunology and Biochemistry, Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russian Federation

**Irina P. Balmasova** – MD, PhD, Professor, A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation

**Sergey B. Chekynov** – PhD, MD (Medicine), N.F. Gamaleya Federal Center of Epidemiology and Microbiology, Deputy Director on Science, Head of the Laboratory of Cellular Interactions, Moscow, Russian Federation

**Margarita V. Cheresheva** – Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

**Tatiana G. Fedoskova** – PhD, MD (Medicine), Professor, State Research Center Institute of Immunology FMBA, Moscow, Russian Federation

**Firuz Yu. Garib** – MD, PhD, Professor, Department of Immunology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

**Andrey N. Glushkov** – MD, PhD, Professor, Director of Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of SB RAS, Kemerovo, Russian Federation

**Igor S. Gushchin** – MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Natural Sciences, Head of the Department of Clinical Immunology and Allergology №60, State Scientific Center "Institute of Immunology", FMBA of Russia, Moscow, Russian Federation

**Marina V. Degtyareva** – MD, PhD, Professor, Department of Neonatology, chief, Pirogov Russian National Research Medical University (RNRMU), Moscow, Russian Federation

**Edward V. Karamov** – PhD, Professor, Head of the Laboratory of Immunochemistry, N. F. Gamaleya Institute of Epidemiology and Microbiology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russian Federation

**Natalya V. Kolesnikova** – PhD, Professor, Department of Clinical Immunology and Allergology, Kuban State Medical Academy, Krasnodar, Russian Federation

**Irina V. Nesterova** – MD, PhD, Professor, Department of Allergology and Immunology, RUDN University, Moscow, Russian Federation

**Mikhail B. Rayev** – PhD, Professor, Leading Researcher, Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm, Russian Federation

**Alexander G. Rumyantsev** – PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, President of National Scientific-Practical Center of Pediatric Hematology, Moscow, Russian Federation

**Revaz I. Sepiashvili** – MD, PhD, Prof., Academician of the Georgian National Academy of Sciences, Head of the Department of Allergology and Immunology, Peoples' Friendship University of Russia, Head of the Institute of Immunophysiology (Moscow, Russia) Russian Federation

**Ludmila P. Sizyagina** – MD, PhD, Professor, Head of the Institute of Clinical Immunology, Rostov State Medical University, Head of the Department of Clinical Immunology and Allergology, Faculty of Postgraduate Professional Training of Physicians, Rostov State Medical University (Rostov-on-Don, Russia) Russian Federation

**Valeriy S. Shirinskii** – PhD, MD (Medicine), Professor, Chief, Laboratory of Clinical Pharmacology, Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

**Konstantin V. Shmegal** – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Professor, Department of Immunology, Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner, Perm, Russian Federation

**Oksana A. Svitich** – MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director, I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera RAMS, Moscow, Russian Federation

**Anna P. Toptygina** – MD, PhD, Professor, Chief, Laboratory of Cytokines, Gabrichevsky Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

**Aleksey V. Tutelyan** – PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, Chief, Laboratory for Hospital Infections and Epidemiological Analysis, Central Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation

**Irina A. Tuzankina** – MD, PhD, Prof., General Secretary of the Russian Society of Immunologists and Ural Society of Immunologists, Allergists and Immunorehabilitologists, Chief Researcher, Laboratory of Inflammation Immunology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Head of the Regional Center for Clinical Immunology, Children Regional Hospital, Chief Immunologist of the Sverdlovsk Region and Ural Federal District, Yekaterinburg, Russian Federation

**Alexander V. Zurochka** – MD, PhD, Professor, Leading Researcher, Laboratory of Inflammation, Institute of Immunology and Physiology, Chelyabinsk Russian Federation

Chelovek Publishing House

199004, Russian Federation, St. Petersburg, Malyi ave., Vasilevsky Island, 26, office 3.

E-mail: mail@mirmed.ru

Phone/fax: (812) 325-25-64.

Passed for printing 30.09.2020. Print format 60 x 90 1/8. Offset printing. Printed sheets 20,5. Circulation 2000 copies. (1<sup>st</sup> edition – 1000 copies.)

Print in LLC «Lesnik»

197183, Russian Federation, St. Petersburg, 37 Sabirovskaya str.

*According to the decision of the Higher Attestation Commission of the Ministry of Education of Russia, the Russian Journal of Immunology has been regularly included in the "List of periodical scientific and scientific-technical publications published in the Russian Federation, in which publication of the main results of dissertations for the degree of Doctor of Science is recommended" and included in Russian Science Citation Index (RSCI) database fully integrated with the Web of Science platform*

## СОДЕРЖАНИЕ

### Краткие сообщения

Карташова Н.П., Ленева И.А., Фалынскова И.Н., Поддубиков А.В. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ NS1 СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ НА ГРИППОЗНУЮ ИНФЕКЦИЮ И ВТОРИЧНУЮ БАКТЕРИАЛЬНУЮ ПНЕВМОНИЮ У МЫШЕЙ .....	383
Глубокова Е.А., Ленева И.А., Фалынскова И.Н., Поддубиков А.В. ИЗУЧЕНИЕ ЗАЩИТНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВИРУСОПОДОБНЫХ ЧАСТИЦ (ВПЧ), СОДЕРЖАЩИХ НА ВИРУСА ГРИППА, В МЫШИНОЙ МОДЕЛИ ПОСТГРИППОЗНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ, ВЫЗВАННОЙ <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> .....	389
Чудилова Г.А., Нестерова И.В., Павленко В.Н., Русинова Т.В., Ковалева С.В. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПЕРЕПРОГРАММИРОВАНИЕ <i>IN VITRO</i> В МОДЕЛИ ВИРУСНО-БАКТЕРИАЛЬНОЙ КОИНФЕКЦИИ ФЕНОТИПА СУБПОПУЛЯЦИЙ CD64 <sup>+</sup> CD32 <sup>+</sup> CD11b <sup>+</sup> НГ, CD64 <sup>+</sup> CD32 <sup>+</sup> CD11b <sup>+</sup> НГ CD16 <sup>+</sup> CD62L <sup>+</sup> CD63 <sup>+</sup> НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ АРГИНИЛ-АЛЬФА-АСПАРТИЛ-ЛИЗИЛ-ВАЛИЛ-ТИРОЗИЛ-АРГИНИНА.....	395
Зурочка А.В., Добрынина М.А., Зурочка В.А., Гриценко В.А. ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МУЗЕЙНЫХ И КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ К СИНТЕТИЧЕСКОМУ ПЕПТИДУ АКТИВНОГО ЦЕНТРА ГМ-КСФ – ZP2И.....	403
Нестерова И.В., Чудилова Г.А., Павленко В.Н., Ковалева С.В., Тараканов В.А., Барова Н.К. ЭФФЕКТЫ ВЛИЯНИЯ АГОНИСТА NOD1 И NOD2 – ПОЛИМУРАМИЛА И АГОНИСТА NOD2 – ГЛЮКОЗАМИНИЛМУРАМИЛДИПЕПТИДА НА ФЕНОТИП СУБПОПУЛЯЦИЙ CD64 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> CD32 <sup>+</sup> CD11b <sup>+</sup> , CD16 <sup>+</sup> CD62L <sup>+</sup> CD63 <sup>+</sup> НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ .....	411
Борисов С.А., Савченко А.А., Каспаров Э.В., Фокин В.А., Маценко М.В., Кудрявцев И.В., Борисов А.Г. ОСОБЕННОСТИ ФЕНОТИПА В-ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ПРОЛЕЖНЯМИ.....	419
Радаева О.А., Симбирцев А.С., Селезнева Н.М., Искандарова М.С. ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ МАКРОФАГАЛЬНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ ПОСЛЕ SARS-CoV-2 ИНФИЦИРОВАНИЯ.....	429
Кныш С.В., Невежкина Т.А., Костюшко А.В., Ильина П.С. ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОСВЯЗИ TNF $\alpha$ И S100B У ПАЦИЕНТОВ С ОПОЯСЫВАЮЩИМ ГЕРПЕСОМ И ПОСТГЕРПЕТИЧЕСКОЙ НЕВРАЛГИЕЙ ...	437
Дустбабаева Н.Д., Ирсалиева Ф.Х., Нурматова Н.Ф., Байбекова В.Ф., Айдарова Н.П., Ахмедов Х.С. ПОЛИМОРФИЗМ rs2275913 ГЕНА IL17A В УЗБЕКСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ И ЕГО СВЯЗЬ С РАЗВИТИЕМ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО РИНИТА.....	443
Ирсалиева Ф.Х., Дустбабаева Н.Д., Камалов З.С., Зиядуллаев Ш.Х., Нурматова Н.Ф., Ахмедов Ж.Х. ПОЛИМОРФИЗМ IL17A rs2275913 И ОСОБЕННОСТИ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ ПЕРСИСТИРУЮЩИМ АЛЛЕРГИЧЕСКИМ РИНИТОМ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ АЛЛЕРГЕН-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ.....	449
Мазоха К.С., Манжос М.В., Хабибулина Л.Р., Асеева Е.В., Селезнев А.В. ОЦЕНКА РАСПРОСТРАНЕННОСТИ И КЛИНИКО-АЛЛЕРГОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГРИБКОВОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ В САМАРЕ .....	461
Барило А.А., Смирнова С.В. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЕНСИБИЛИЗАЦИИ БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ И АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ .....	467
Жукова Н.Н., Манжос М.В., Селезнев А.В. ИССЛЕДОВАНИЕ sIgE-ПРОФИЛЯ ПАЦИЕНТОВ С АЛЛЕРГИЕЙ НА АМБРОЗИЮ В САМАРЕ.....	473
Кукина Г.Н., Кирюхина С.В., Лабунский Д.А., Колмыков В.А., Юрасова Е.Ю., Бояркин Е.В. ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ КОМПОНЕНТОВ СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА И ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ РАЗЛИЧНЫХ ФРАКЦИЙ У ПОДРОСТКОВ С ОЖИРЕНИЕМ И МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ ПОД ВЛИЯНИЕМ АНТИГИПОКСАНТОВ.....	479
Перепелица С.А., Перминова Л.А., Степанян И.А., Захар Е.В. УЛЬТРАЗВУКОВЫЕ КРИТЕРИИ СПЛЕНОМЕГАЛИИ У ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ ЛИХОРАДКИ И ИНФЕКЦИОННЫМ МОНОНУКЛЕОЗОМ.....	487
Нурматова Н.Ф., Мирсалихова Н.Х., Асильбекова М.А., Ирсалиева Ф.Х., Дустбабаева Н.Д., Ахмедов Ж.Х. СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ ОРГАНИЗМА К РАЗЛИЧНЫМ АНТИГЕНАМ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ В С ЛЯМБЛИОЗОМ КИШЕЧНИКА.....	493
Савин Т.В., Кузнецова Р.Н., Кузнецова А.А., Тотолян Арег А. МАСКИ ПЕРВИЧНОГО ИММУНОДЕФИЦИТА: КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ВАКЦИНОАССОЦИИРОВАННОГО ПАРАЛИТИЧЕСКОГО ПОЛИОМИЕЛИТА .....	499
Дерябина С.С., Черемохин Д.А., Тузанкина И.А., Болков М.А., Шинвари Х. РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ СЛУЧАЕВ ПЕРВИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТОВ У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА.....	505
Маркелова Е.В., Фомина О.И., Арсенина В.Ю. ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ОСТРОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ПОЧЕК ПОСЛЕ АОРТОКОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ.....	515
Козлова М.Н., Земсков В.М., Шишкина Н.С., Барсуков А.А., Демидова В.С., Алексеев А.А. ПЕРСОНИФИЦИРОВАННЫЙ АЛГОРИТМ ИММУНОКОРРЕКЦИИ ВНУТРИВЕННЫМИ ИММУНОГЛОБУЛИНАМИ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ОСЛОЖНЕНИЙ ОЖОГОВОЙ БОЛЕЗНИ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСНОГО АНАЛИЗА ИММУННОГО СТАТУСА.....	523
Норка А.О., Воробьев С.В., Кузнецова Р.Н., Серебрякова М.К., Кудрявцев И.В., Коваленко С.Н. ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОГО СТАТУСА ПРИ СОТРЯСЕНИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ .....	529
Правила для авторов .....	537
Авторский указатель .....	540
Предметный указатель .....	540

## СОДЕРЖАНИЕ

### Short communications

*Kartashova N.P., Leneva I.A., Falynskova I.N., Poddubikov A.V.*

EXAMINING EFFECTS OF NS1 SPECIFIC ANTIBODIES ON SUBLETHAL INFLUENZA INFECTION AND SECONDARY BACTERIAL PNEUMONIA IN MICE ..... 383

*Glubokova E.A., Leneva I.A., Falynskova I.N., Poddubikov A.V.*

EXAMINING PROTECTIVE EFFICACY OF INFLUENZA VIRUS NA-CONTAINING VIRUS-LIKE PARTICLES (VLP) IN MOUSE MODEL OF POST-INFLUENZA BACTERIAL PNEUMONIA CAUSED BY STAPHYLOCOCCUS AUREUS ..... 389

*Chudilova G.A., Nesterova I.V., Pavlenko V.N., Rusinova T.V., Kovaleva S.V.*

EXPERIMENTAL IN VITRO REPROGRAMMING OF CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> AND CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> NEUTROPHILIC GRANULOCYTES BY ARGINYL-ALPHAASPARTYL-LYSYL-VALYL-TYROSYL-ARGININE IN MODELLED VIRUS-BACTERIAL COINFECTION ..... 395

*Zurochka A.V., Dobrynya M.A., Zurochka A.V., Gritsenko V.A.*

SENSITIVITY OF ARCHIVAL AND CLINICAL ENTEROBACTERIA STRAINS TO SYNTHETIC GM-CSF ACTIVE CENTER ZP2 PEPTIDE ..... 403

*Nesterova I.V., Chudilova G.A., Pavlenko V.N., Kovaleva S.V., Tarakanov V.A., Barova N.K.*

EFFECTS OF NOD1 AND NOD2 AGONISTS POLYMURAMYL AS WELL AS NOD2 AGONIST GLUCOSAMINYLMURAMYLDIPEPTIDE ON PHENOTYPE OF NEUTROPHILE GRANULOCYTE CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup> SUBSETS ..... 411

*Borisov S.A., Savchenko A.A., Kasparov E.V., Fokin V.A., Matsenko M.V., Kudryavtsev I.V., Borisov A.G.*

FEATURES OF PERIPHERAL BLOOD B CELL PHENOTYPE IN PATIENTS WITH PRESSURE ULCERS ..... 419

*Radaeva O.A., Simbirtsev A.S., Selezneva N.M., Iskandaryarova M.S.*

SERUM MACROPHAGE COLONY-STIMULATING FACTOR LEVELS IN PATIENTS WITH ESSENTIAL HYPERTENSION AFTER SARS-CoV-2 INFECTION ..... 429

*Knysh S.V., Nevezhkina T.A., Kostyushko A.V., Ilyina P.S.*

RELATION BETWEEN TNF $\alpha$  AND S100B IN PATIENTS WITH HERPES ZOSTER AND POSTHERPETIC NEURALGIA ..... 437

*Dustbabaeva N.D., Irsaliyeva F.Kh., Nurmatova N.F., Baybekova V.F., Aydarova N.P., Akhmedov Kh.S.*

IL17A rs2275913 GENE POLYMORPHISM IN UZBEK ETHNIC GROUP AND ITS LINKAGE WITH DEVELOPMENT OF ALLERGIC RHINITIS ..... 443

*Irsaliev F.Kh., Dustbabaeva N.D., Kamalov Z.S., Ziyadullaev Sh.Kh., Nurmatova N.F., Akhmedov Zh.Kh.*

IL17A rs2275913 POLYMORPHISM AND FEATURES OF IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN PATIENTS WITH PERSISTENT ALLERGIC RHINITIS DURING ALLERGENSPECIFIC IMMUNOTHERAPY ..... 449

*Mazokha K.S., Manzhos M.V., Khabibulina L.R., Aseeva E.V., Seleznev A.V.*

ASSESSING PREVALENCE AND CLINICAL AND ALLERGOLOGICAL CHARACTERISTICS OF FUNGAL SENSITIZATION IN SAMARA CITY ..... 461

*Barilo A.A., Smirnova S.V.*

SENSITIZATION TO INHALATION ALLERGENS IN PATIENTS WITH PSORIASIS AND ATOPIC DERMATITIS ..... 467

*Zhukova N.N., Manzhos M.V., Seleznev A.V.*

EXAMINING SIGE-PROFILE IN PATIENTS WITH AMBROSIA ALLERGY IN SAMARA ..... 473

*Kukina G.N., Kiryukhina S.V., Labunsky D.A., Kolmykov V.A., Yurasova E.Yu., Boyarkin E.V.*

EXAMINING DYNAMIC CHANGES IN THE COMPLEMENT SYSTEM COMPONENTS AND IMMUNE COMPLEXES OF VARIOUS FRACTIONS IN ADOLESCENTS WITH OBESITY AND METABOLIC SYNDROME AFFECTED BY ANTIHYPOXANTS ..... 479

*Perepelitsa S.A., Perminova L.A., Stepanyan I.A., Zakhar E.V.*

ULTRASOUND CRITERIA OF SPLENOMEGALY IN PATIENTS WITH FEVER AND INFECTIOUS MONONUCLEOSIS ..... 487

*Nurmatova N.F., Mirsalikhova N.Kh., Asilbekova M.A., Irsaliev F.Kh., Dustbabaeva N.D., Akhmedov J.Kh.*

BODY SENSITIZATION TO VARIOUS ANTIGENS IN CHILDREN WITH CHRONIC HEPATITIS B AND CONCOMITANT GIARDIASIS ..... 493

*Savin T.V., Kuznetsova R.N., Kuznetsova A.A., Totolian Areg A.*

PRIMARY IMMUNODEFICIENCY MASKS: A CLINICAL CASE OF VACCINE-ASSOCIATED PARALYTIC POLIOMYELITIS ..... 499

*Deryabina S.S., Cheremokhin D.A., Tuzankina I.A., Bolkov M.A., Shinvary Kh.*

RETROSPECTIVE ANALYSIS OF PEDIATRIC PRIMARY IMMUNODEFICIENCIES WITH CONGENITAL HEART DEFECTS ..... 505

*Markelova E.V., Fomina O.I., Arsenina V.Yu.*

DYNAMICS OF INNATE IMMUNITY PARAMETERS IN ACUTE KIDNEY INJURY AFTER CORONARY ARTERY BYPASS GRAFTING ..... 515

*Kozlova M.N., Zemskov V.M., Shishkina N.S., Barsukov A.A., Demidova V.S., Alekseev A.A.*

PERSONALIZED ALGORITHM OF IMMUNOCORRECTION WITH INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULINS FOR PREVENTING AND TREATING COMPLICATIONS OF BURN DISEASE BY COMPREHENSIVELY ANALYZING IMMUNE STATUS ..... 523

*Norka A.O., Vorobyev S.V., Kuznetsova R.N., Serebriakova M.K., Kudryavtsev I.V., Kovalenko S.N.*

FEATURES OF ALTERED IMMUNE STATUS IN ACUTE BRAIN CONCUSSION ..... 529

Instructions to Authors ..... 537

Author index ..... 540

Subject index ..... 540

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ NS1 СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ НА ГРИППОЗНУЮ ИНФЕКЦИЮ И ВТОРИЧНУЮ БАКТЕРИАЛЬНУЮ ПНЕВМОНИЮ У МЫШЕЙ

Карташова Н.П., Ленева И.А., Фалынскова И.Н., Поддубиков А.В.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

**Резюме.** Грипп – высококонтагиозное респираторное заболевание, распространенное по всему миру и вызывающее заболевания у человека, птиц и многих видов млекопитающих. Ежегодно гриппом заболевает около 20% жителей земного шара, при этом более 500 тыс. человек умирает от различных осложнений после гриппа. Наибольшую опасность при гриппе представляют вторичные бактериальные пневмонии, при этом наиболее частым их этиологическим бактериальным агентом является *S. pneumoniae*. Многочисленные исследования у людей подтверждают негативное влияние инфицирования вирусом гриппа на дальнейший исход бактериальной пневмонии и дают понимание повышенной заболеваемости и смертности как результат осложнений после гриппозной инфекции. Так, во время последней пандемии, вызванной H1N1 в 2009 г., 25-56% тяжелых форм заболеваний были ассоциированы со вторичной пневмонией, из них 14-46% привели к смертельным исходам.

В связи с вышесказанным, актуальным является изучение роли белков вируса гриппа в возникновении синергизма патогенов при вирусно-бактериальных пневмониях, в частности неструктурного белка NS1.

Целью данной работы являлось исследование влияния NS1-специфических антител на гриппозную и вторичную бактериальную пневмонию мышей после гриппозной инфекции. Для этих целей нами была использована экспериментальная модель сублетальной гриппозной инфекции и вторичной бактериальной пневмонии, индуцированной *Streptococcus pneumoniae*, после сублетальной гриппозной инфекции. Для моделирования гриппозной инфекции использовался штамм вируса гриппа А/Пуэрто Рико/8/34 (H1N1) и бактериальный агент *S. pneumoniae* № 3405. Для вакцинирования использовали сыворотку крови кролика, содержащую антитела к рекомбинантному белку NS1 вируса А/Пуэрто Рико/8/34, и нативную сыворотку кролика (не содержащую антител). Работа проводилась на самках мышей BALB/c весом 20-22 г. Оценку защитной (протективной) активности сывороток у животных оценивали по трем критериям клинического течения болезни: смертность от инфекции, продолжительность жизни и изменение массы тела.

Полученные результаты показали, что пассивный перенос антител к NS1-белку не приводил к снижению репликации вируса в сублетальной модели гриппозной инфекции. На модели вторичной бактериальной пневмонии, индуцированной *S. pneumoniae*, после гриппозной инфекции выявлено отсутствие протективного эффекта антител к NS1-белку: выживаемость животных, титры вируса и бактерий в их легких не отличались от таковых в группе контрольных животных.

**Ключевые слова:** вирус гриппа, *Streptococcus pneumoniae*, вторичная бактериальная пневмония, специфические антитела, сублетальная гриппозная пневмония, белок NS1

### Адрес для переписки:

Карташова Надежда Павловна  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин  
и сывороток имени И.И. Мечникова»  
105064, Россия, Москва, Малый Казенный пер., 5а, стр. 9.  
Тел.: 8 (917) 584-59-61.  
E-mail: nadezdakartasova10571@gmail.com

### Address for correspondence:

Kartashova Nadezhda P.  
I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera  
105064, Russian Federation, Moscow, Malyy Kazenny lane,  
5a, bldg 9.  
Phone: 7 (917) 584-59-61.  
E-mail: nadezdakartasova10571@gmail.com

### Образец цитирования:

Н.П. Карташова, И.А. Ленева, И.Н. Фалынскова,  
А.В. Поддубиков «Исследование влияния NS1  
специфических антител на гриппозную инфекцию  
и вторичную бактериальную пневмонию у мышей»  
// Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23,  
№ 4. С. 383-388.  
doi: 10.46235/1028-7221-438-EEO  
© Карташова Н.П. и соавт., 2020

### For citation:

N.P. Kartashova, I.A. Leneva, I.N. Falynskova,  
A.V. Poddubikov "Examining effects of NS1 specific antibodies  
on sublethal influenza infection and secondary bacterial  
pneumonia in mice", Russian Journal of Immunology/  
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 4,  
pp. 383-388.  
doi: 10.46235/1028-7221-438-EEO  
DOI: 10.46235/1028-7221-438-EEO

# EXAMINING EFFECTS OF NS1 SPECIFIC ANTIBODIES ON SUBLETHAL INFLUENZA INFECTION AND SECONDARY BACTERIAL PNEUMONIA IN MICE

Kartashova N.P., Leneva I.A., Falynskova I.N., Poddubikov A.V.

I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** Influenza is a highly contagious respiratory disease widespread throughout the world that causes disease in humans, birds and many mammalian species. Annually, around 20% of the global human gets sick with influenza so that more than 500,000 people die its various complications. Secondary bacterial pneumonia poses the peak threat during influenza infection, being most frequently caused by *S. pneumoniae*. Multiple studies in humans confirm the negative impact of influenza virus infection on subsequent outcome of bacterial pneumonia and provides insight into increased morbidity and mortality due to complicated influenza infection. In particular, the last 2009 influenza pandemic caused by H1N1 virus revealed that 25-56% cases of severe disease forms were associated with secondary pneumonia, among which 14-46% of them were fatal. Based on the aforementioned, it is of high priority to investigate a role of influenza virus proteins in developing of pathogen synergism in viral-bacterial pneumonia, particularly influenza virus non-structural protein NS1. The study objective was to examine effects of NS1-specific antibodies on course of influenza infection and secondary bacterial pneumonia in mice. For this, we used an experimental model of sublethal influenza infection followed by secondary *Streptococcus pneumoniae* bacterial pneumonia. Influenza A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) virus and *S. pneumoniae* No. 3405 strain were used to simulate influenza infection. Rabbit serum containing antibodies against recombinant NS1 protein from A/Puerto Rico/8/34 virus and native rabbit serum (contain no specific antibodies) were used for vaccination. The study was carried out with female BALB/c mice, weighing 20-22 g. Protective activity of animal serum was assessed by using the three criteria: infection-related mortality, life expectancy and body weight change. The data obtained showed that passive transfer of antibodies specific to influenza virus NS1 protein did not lowered viral replication in sublethal murine model of influenza infection. Subsequent secondary bacterial pneumonia induced by *S. pneumoniae* revealed no protective effect of anti-NS1 protein antibodies assessed by measuring survival rate, lung viral and bacterial titers in treated vs. control mice.

**Keywords:** influenza virus, *Streptococcus pneumoniae*, secondary bacterial infection, specific antibodies, sublethal influenza pneumonia, NS1 protein

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 18-45-05002 «Вирусоподобные частицы для борьбы с постгриппозными бактериальными инфекциями», 2018-2020 гг.

## Введение

Грипп — высококонтагиозное респираторное заболевание, распространенное по всему миру и вызывающее заболевания у человека, птиц и многих видов млекопитающих. Ежегодно гриппом заболевает около 20% жителей земного шара, при этом более 500 тыс. человек умирает от различных осложнений после гриппа. Наибольшую опасность при гриппе представляют вторичные бактериальные пневмонии, при этом наиболее частым их этиологическим бактериальным агентом является *S. pneumoniae*. Многочисленные исследования у людей подтверждают негативное влияние инфицирования вирусом гриппа на дальнейший исход бактериальной пневмонии и дают понимание повышенной заболеваемости

и смертности как результат осложнений после гриппозной инфекции. Так, во время последней пандемии, вызванной H1N1 в 2009 г., 25-56% тяжелых форм заболеваний были ассоциированы со вторичной пневмонией, из них 14-46% привели к смертельным исходам.

В связи с вышесказанным, актуальным является изучение роли белков вируса гриппа в возникновении синергизма патогенов при вирусно-бактериальных пневмониях, в частности неструктурного белка NS1. NS1-белок является уникальным посттранскрипционным регулятором, поддерживающий высокий уровень трансляции вирусной иРНК. Также показано, что среди всех вирусов с негативным геномом только белок вируса гриппа NS1 может способствовать клеточному антивирусному интерфероновому ответу, подавляя экспрессию генов, отвечающих за образование цитокинов. При связывании с РНК, белок NS1 подавляет действие двухцепочечной РНК-зависимой протеинкиназы, которая опосредованно стимулирует клеточный интерфероновый ответ первого типа и играет немало-

важную роль в антивирусном иммунном ответе организма. Антитела к белку NS1 обнаруживаются только у людей, переболевших гриппом, но не после вакцинации, так как данный белок находится в ничтожно малом количестве в частицах вируса. Это затрудняет возможность оценить потенциал иммунного ответа к этому антигену, в частности в формировании резистентности к бактериальной инфекции.

**Целью нашей работы** являлось изучение роли иммунного ответа к NS1-белку в формировании резистентности ко вторичным бактериальным пневмониям с использованием подхода пассивного переноса антител к нему. В связи с поставленной целью в задачи исследования входило изучение эффекта пассивного переноса антител к NS1-белку:

- 1) на вирусную репликацию при сублетальной гриппозной инфекции;
- 2) на защиту от гриппозной инфекции;
- 3) на защиту от вторичной бактериальной инфекции после гриппозной инфекции.

## Материалы и методы

### Материалы

Для моделирования гриппозной инфекции использовался штамм вируса гриппа А/Пуэрто Рико/8/34 (H1N1), полученный из музея ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России и *S. pneumoniae* № 3405 из коллекции лаборатории условно патогенных микроорганизмов ФГНБУ НИИВС им. И.И. Мечникова. Работа проводилась на самках мышей BALB/c весом 20–22 г, полученных из питомника «Андреевка» (Московская обл.) и содержащихся на стандартном рационе в регламентированных условиях вивария. Содержание и кормление животных соответствовало правилам по устройству и оборудованию экспериментально-биологических клиник (вивариев). Содержание животных и манипуляции с ними соответствовали Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных (Приказ Минздрава России от 23.08.2010 № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики в Российской Федерации»). Для вакцинирования использовали сыворотку крови кролика, содержащую антитела к рекомбинантному белку NS1 вируса А/Пуэрто Рико/8/34 и нативную сыворотку кролика (не содержащую антител). В качестве отрицательного контроля использовался ФСБ. Сыворотка была предоставлена Сергеевой М.В., ведущим научным сотрудником лаборатории векторных вакцин ФГБНУ НИИ гриппа имени А.А. Смородинцева.

### Методы

**Изучение сывороток на модели сублетальной гриппозной инфекции и вторичной бактериальной**

**пневмонии, индуцированной *S. pneumoniae* после гриппозной инфекции**

Изучение сывороток с антителами к NS1-белку животных проводили на модели сублетальной гриппозной инфекции, индуцированной вирусом гриппа А/Пуэрто Рико/8/34 и на модели вторичной бактериальной пневмонии, индуцированной *S. pneumoniae* после гриппозной инфекции А/Пуэрто Рико/8/34. Мышей (BALB/C, самки, массой 20–22 г) распределяли по группам рандомизированно, в экспериментах были сформированы следующие группы:

- 1) инъекция NS1 иммунной сывороткой + инфекция А/Пуэрто Рико/8/34 + *S. pneumoniae* № 3405;
- 2) инъекция нативной сывороткой + инфекция А/Пуэрто Рико/8/34 + *S. pneumoniae* № 3405;
- 3) инъекция ФСБ + инфекция А/Пуэрто Рико/8/34 + *S. pneumoniae* № 3405;
- 4) инъекция NS1 иммунной сывороткой + инфекция А/Пуэрто Рико/8/34;
- 5) инъекция нативной сывороткой + инфекция А/Пуэрто Рико/8/34;
- 6) инъекция ФСБ + инфекция А/Пуэрто Рико/8/34.

Препараты сывороток и используемый в качестве плацебо ФСБ вводили в объеме 0,1 мл внутривенно за сутки до заражения вирусом. На следующий день все мыши заражались вирусом интраназально под легким наркозом 0,05 мл вирусосодержащей аллантоисной жидкостью А/Пуэрто Рико/8/34 в дозе 0,5 МЛД<sub>50</sub>. На 2-й и 5-й день после инфекции в каждой их групп по 3 мыши гуманно умерщвлялись с целью определения титра вируса в легких. При изучении эффекта пассивного переноса антител NS1-белку на 5-й день после вирусного заражения мышей инфицировали в объеме 0,05 мл интраназально под легким наркозом *S. pneumoniae* № 3405 в дозе  $25 \times 10^6$  КОЕ/мл. На 7-е сутки после вирусной инфекции инъекции и легкие в каждой группе забирали для определения инфекционного титра вируса путем титрования гомогенатов тканей на развивающихся куриных эмбрионах (определение эмбриональной инфекционной дозы ЭИД<sub>50/0,1</sub> мл), и бактериальной обсемененности (колониеобразующие единицы КОЕ/мл) на чашках Петри с ГРМ-агар с добавлением 5% лошадиной крови для *S. pneumoniae*. Наблюдение за животными проводили в течение 21 дня после инъекции NS1 иммунной сывороткой. Оценку защитной (протективной) активности сывороток у животных оценивали по трем критериям клинического течения болезни: смертность от инфекции, продолжительность жизни и изменение веса. Уменьшение или увеличение веса рассчи-

тывали отдельно для каждой мыши и выражали в процентах. При этом за 100% принимали вес животного перед инфицированием. Для мышей одной группы определяли среднее значение процента потери или увеличения веса.

## Результаты

### Эффект сыворотки, содержащей антитела к NS1-белку, в модели сублетальной гриппозной инфекции и вторичной бактериальной инфекции после гриппозной инфекции

В группах, которым вводили ФСБ или контрольную кроличью сыворотку с дальнейшим заражением сублетальной дозой вируса А/Пуэрто Рико/8/34, погибло только 2 из 10 животных, потеря веса была незначительной. Титр вируса в легких животных на 2-й и 5-й дни после инфекции был примерно одинаковым ( $7,3 \pm 0,5$ – $8,0 \pm 0$  lg ЭИД<sub>50</sub>), однако на 7-й день после вирусной ин-

фекции уменьшался до примерно 2,0 lg ЭИД<sub>50</sub> (табл. 1). Инъекция сыворотки, содержащей антитела к NS1-белку, не оказывала влияния на изучаемые параметры. Выживаемость животных, потеря их веса, а также титр вируса в легких не отличались от таковых в контрольных группах, которым вместо антител вводили ФСБ или сыворотку без антител.

В контрольной группе животных, инфицированных сублетальной дозой А/Пуэрто Рико/8/34 с последующим заражением *S. pneumoniae*, наблюдалась высокая гибель (10 из 12) животных при большой потере веса (рис. 1). Титры вируса в легких животных на 2-й и 5-й день после инфекции не отличались практически от таковых в группах животных, зараженных только вирусом, однако на 7-й день после инфекции титр вируса при комбинированном заражении был значительно выше ( $7 \pm 0$ – $7,3 \pm 0,5$  lg ЭИД<sub>50</sub>) (табл. 1, рис. 2). Инъекция нативной сыворотки и сыво-

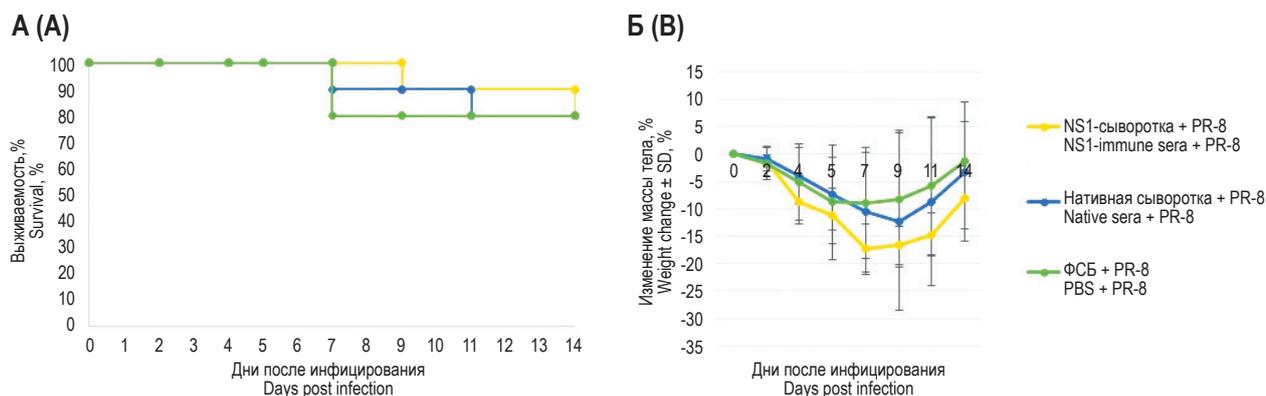


Рисунок 1. Выживаемость (А) и изменение массы тела (Б) мышей, зараженных А/Пуэрто Рико/8/34

Figure 1. Survival rate (A) and weight change (B) of mice infected with A/Puerto Rico/8/34

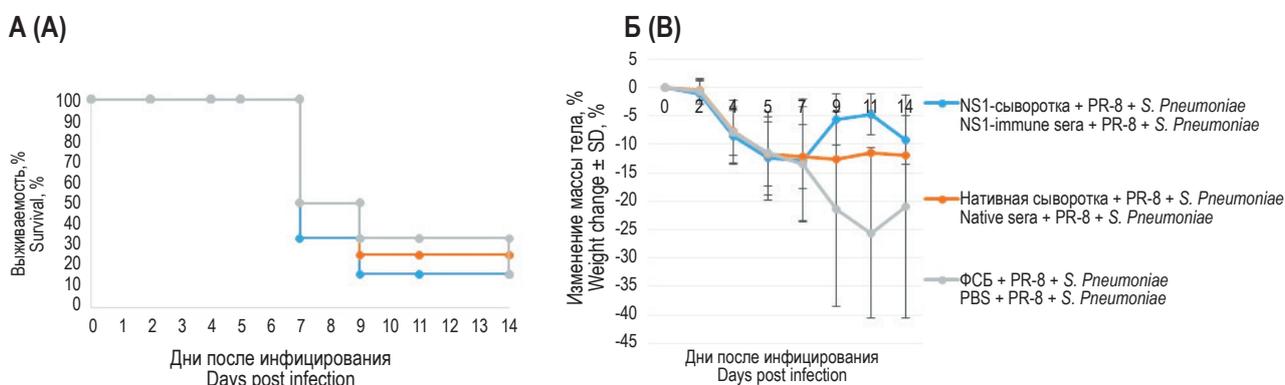


Рисунок 2. Выживаемость (А) и изменение массы тела (Б) мышей, зараженных А/Пуэрто Рико/8/34 с последующим заражением *S. pneumoniae*

Figure 2. Survival rate (A) and weight change (B) of mice infected with A/Puerto Rico/8/34 with subsequent infection with *S. pneumoniae*

**ТАБЛИЦА 1. ВЛИЯНИЕ СЫВОРОТКИ, СОДЕРЖАЩЕЙ АНТИТЕЛА К NS1-БЕЛКУ, НА РАЗМНОЖЕНИЕ ПАТОГЕНОВ В МОДЕЛИ СУБЛЕТАЛЬНОЙ ГРИППОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ И ВТОРИЧНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ ПОСЛЕ ГРИППОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ**

TABLE 1. EFFECT OF SERUM CONTAINING ANTIBODIES TO NS1 PROTEIN ON THE REPRODUCTION OF PATHOGENS IN A MODEL OF SUBLETHAL INFLUENZA INFECTION AND SECONDARY BACTERIAL INFECTION AFTER INFLUENZA INFECTION

Препараты Preparation	Титр вируса в легких животных (IgЭИД50/0,1 мл) Virus titre in lungs in log (EID50/0.1 ml)			Бактериальная обсемененность легких (lgКОЕ/мл) Bacterial density in the lung in log CFU/ml
	2 дня после инфекции 2 days post infection	4 дня после инфекции 4 days post infection	7 дней после инфекции 7 days post infection	7 дней после инфекции 7 days post infection
Сыворотка, содержащая антитела к NS1-белку + А/Пуэрто Рико/8/34 (сублетальная доза) + <i>S. pneumoniae</i> NS1-immune sera + A/Puerto Rico/8/34 (sublethal dose) + <i>S. pneumoniae</i>	5,5±0,5	6,7±0,6	7±0	8,3±7,7
Нативная сыворотка + А/Пуэрто Рико/8/34 (сублетальная доза) + <i>S. pneumoniae</i> Naïve sera + A/Puerto Rico/8/34 (sublethal dose) + <i>S. pneumoniae</i>	–	7±0	7,0±0,5	7,7±7,5
ФСБ + А/Пуэрто Рико/8/34 (сублетальная доза) + <i>S. pneumoniae</i> PBS + A/Puerto Rico/8/34 (sublethal dose) + <i>S. pneumoniae</i>	6,3±0,6	7,3±0,5	7,3±0,5	7,9±7,4
Сыворотка, содержащая антитела к NS1-белку + А/Пуэрто Рико/8/34 (сублетальная доза) NS1-immune sera + A/Puerto Rico/8/34 (sublethal dose)	6,5±0,5	7,6±0,6	2,0±0,5	–
Нативная сыворотка + А/Пуэрто Рико/8/34 (сублетальная доза) Naïve sera + A/Puerto Rico/8/34 (sublethal dose)	–	–	3±0	–
ФСБ + А/Пуэрто Рико/8/34 (сублетальная доза) PBS + A/Puerto Rico/8/34 (sublethal dose)	6,3±0,6	7,3±0,5	2,0±3,5	–

ротки, содержащей антитела к NS1-белку, практически не оказывали влияния на выживаемость животных, титр вируса на 2-й, 5-й и 7-й дни после вирусной инфекции и плотность бактерий в легких. Однако инъекции обеих сывороток, особенно сыворотки, содержащей NS1-антитела, снижали потерю веса животных по сравнению с контрольной группой, которой вводили буфер.

## Заключение

Таким образом, проведенные исследования показали, что пассивный перенос антител к NS1-белку не приводил к снижению репликации виру-

са в сублетальной модели гриппозной инфекции. Титры вируса в легких были высокими, из чего следует предположить, что данные антитела не являются нейтрализующими. На модели вторичной бактериальной пневмонии, индуцированной *S. pneumoniae* после гриппозной инфекции, выявлено отсутствие протективного эффекта антител к NS1-белку, о чем свидетельствуют данные по выживаемости титры вируса и бактерий в легких. Вместе с тем введение NS1 специфических антител улучшило восстановление веса у выживших животных после бактериального заражения. Обнаруженный эффект требует дополнительного изучения.

## Список литературы / References

1. Карташова Н.П., Вартанова Н.О., Поддубиков А.В., Ленева И.А. Разработка экспериментальной вторичной бактериальной пневмонии, индуцированной *S. pneumoniae* после заражения пандемическим и лабораторным штаммами вируса гриппа H1N1 // Вестник «Биомедицина и социология», 2018. Т. 3, № 3. С. 15-17. [Kartashova N.P., Vartanova N.O., Poddubikov A.V., Leneva I.A. Development of experimental secondary bacterial pneumonia induced by *S. pneumoniae* after infection with pandemic and laboratory strains of the H1N1 influenza virus. *Vestnik "Biomeditsina i sotsiologiya" = Bulletin "Biomedicine and Sociology"*, 2018. Vol. 3, no. 3, pp. 15-17. (In Russ.)]
2. Ленева И.А., Егоров А.Ю., Фалынская И.Н., Махмудова Н.Р., Карташова Н.П., Глубокова Е.А., Вартанова Н.О., Поддубиков А. Индукция вторичной бактериальной пневмонии у мышей при заражении пандемическим и лабораторным штаммами вируса гриппа H1N1 // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2019. № 1. С. 68-74. [Leneva I.A., Egorov A.Yu., Falynskaya I.N., Makhmudova N.R., Kartashova N., Glubokova E.A., Vartanova N.O., Poddubikov A.V. Induction of secondary bacterial pneumonia in mice upon infection with pandemic and laboratory strains of the H1N1 influenza virus. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2019, no. 1, pp. 68-74. (In Russ.)]
3. Egorov A. The problem of bacterial complications post respiratory viral infections. *MIR J.*, 2018, Vol. 5, no. 1, pp. 12-21.

---

### Авторы:

**Карташова Н.П.** — младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной вирусологии отдела вирусологии имени О.Г. Анджаридзе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова» Москва, Россия

**Ленева И.А.** — д.б.н., заведующая лабораторией экспериментальной вирусологии отдела вирусологии имени О.Г. Анджаридзе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова» Москва, Россия

**Фалынская И.Н.** — научный сотрудник лаборатории экспериментальной вирусологии отдела вирусологии имени О.Г. Анджаридзе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова» Москва, Россия

**Поддубиков А.В.** — к.б.н., заведующий лабораторией микробиологии условно патогенных бактерий отдела микробиологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова» Москва, Россия

### Authors:

**Kartashova N.P.**, Junior Research Associate, Laboratory of Experimental Virology, O.G. Anjaparidze Department of Virology, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

**Leneva I.A.**, PhD, MD (Biology), Head, Laboratory of Experimental Virology, O.G. Anjaparidze Department of Virology, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

**Falynskaya I.N.**, Research Associate, Laboratory of Experimental Virology, O.G. Anjaparidze Department of Virology, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

**Poddubikov A.V.**, PhD (Biology), Head, Laboratory of Microbiology of Opportunistic Bacteria, Department of Microbiology, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

---

Поступила 03.08.2020  
Отправлена на доработку 02.09.2020  
Принята к печати 03.09.2020

---

Received 03.08.2020  
Revision received 02.09.2020  
Accepted 03.09.2020

## ИЗУЧЕНИЕ ЗАЩИТНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВИРУСОПОДОБНЫХ ЧАСТИЦ (ВПЧ), СОДЕРЖАЩИХ НА ВИРУСА ГРИППА, В МЫШИНОЙ МОДЕЛИ ПОСТГРИППОЗНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ, ВЫЗВАННОЙ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Глубокова Е.А., Ленева И.А., Фалынскова И.Н., Поддубиков А.В.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

**Резюме.** В настоящее время актуальной остается проблема пневмоний, возникающих в результате послегриппозной инфекции. Так, например, на данный момент практически отсутствуют исследования роли иммунного ответа к нейраминидазе в регуляции восприимчивости организма к бактериальной суперинфекции после гриппозной инфекции. Одно из новых и перспективных направлений в современной вирусологии для разработки противогриппозных вакцин и изучения белков вируса гриппа – это создание вирусоподобных частиц. При этом возможно получение вирусоподобных частиц, несущих отдельные белки вируса гриппа, такие как нейраминидаза и гемагглютинин. Это позволяет более подробно рассмотреть возможную роль отдельных белков вируса гриппа в иммунном ответе организма как на вирус гриппа, так и на возможное развитие вторичной бактериальной пневмонии. Цель данного исследования – изучение иммунного ответа к белку вируса гриппа нейраминидазе в формировании резистентности к вторичной бактериальной пневмонии с использованием вирусоподобных частиц, несущих нейраминидазу. Для этих целей нами была использована экспериментальная модель вторичной бактериальной пневмонии, индуцированной *Staphylococcus aureus*, после гриппозной инфекции. Животных предварительно вакцинировали вирусоподобными частицами, несущими нейраминидазу, гемагглютинин или все вместе (коктейль вирусоподобных частиц). Для создания выбранной модели животных заражали спустя 21 день вирусами гриппа А/Пуэрто Рико/8/34 (H1N1) и реассортантом N1BRG-121хр (А/Калифорния/04/2009 (пндм H1N1 2009)Х А/Пуэрто Рико/8/34 (H1N1), содержащий поверхностные белки гемагглютинина и нейраминидазы от вируса А/Калифорния/04/2009, а внутренние белки от А/Пуэрто Рико/8/34. Спустя 5 дней после вирусного заражения мышей инфицировали *Staphylococcus aureus*. Кроме того, одновременно с вакцинацией одну группу животных заражали А/Пуэрто Рико/8/34 (H1N1), после чего на 21-й день заражали реассортантным вирусом N1BRG-121хр. Протективную активность вакцин оценивали по уменьшению снижения массы тела, выживаемости и продолжительности жизни мышей. Полученные результаты показали, что вирусоподобные частицы, содержащие нейраминидазу, не проявляют протективных свойств. Однако коктейль вирусоподобных частиц, содержащий гемагглютинин и нейраминидазу, значительно повы-

### Адрес для переписки:

Глубокова Екатерина Андреевна  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт  
вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»  
105064, Россия, Москва, Малый Казенный пер., 5а.  
Тел.: 8 (916) 588-55-89.  
E-mail: eaglubokova@yandex.ru

### Address for correspondence:

Glubokova Ekaterina A.  
I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera  
105064, Russian Federation, Moscow,  
Malyy Kazenny lane, 5a.  
Phone: 7 (916) 588-55-89.  
E-mail: eaglubokova@yandex.ru

### Образец цитирования:

Е.А. Глубокова, И.А. Ленева, И.Н. Фалынскова,  
А.В. Поддубиков «Изучение защитной эффективности  
вирусоподобных частиц (ВПЧ), содержащих НА  
вируса гриппа, в мышинной модели постгриппозной  
бактериальной пневмонии, вызванной *Staphylococcus  
aureus*» // Российский иммунологический журнал, 2020.  
Т. 23, № 4. С. 389-394.  
doi: 10.46235/1028-7221-441-EPF  
© Глубокова Е.А. и соавт., 2020

### For citation:

E.A. Glubokova, I.A. Leneva, I.N. Falinskova,  
A.V. Poddubikov “Examining protective efficacy of influenza  
virus NA-containing virus-like particles (VLP) in mouse  
model of post-influenza bacterial pneumonia caused by  
*Staphylococcus aureus*”, Russian Journal of Immunology/  
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 4,  
pp. 389-394.  
doi: 10.46235/1028-7221-441-EPF  
DOI: 10.46235/1028-7221-441-EPF

шает защиту животных от смертности и снижает потерю массы тела. Было показано, что увеличение вирусоподобных частиц с содержанием нейраминидазы в коктейле вирусоподобных частиц (вирусоподобные частицы с содержанием нейраминидазы+гемагглютинин) приводит к повышению протективного эффекта вакцинации, который был сравним с эффективностью или превосходил таковую у мышей с постинфекционным иммунитетом.

*Ключевые слова:* вирус гриппа, *Staphylococcus aureus*, вирусоподобные частицы, вторичная бактериальная пневмония, нейраминидаза вируса гриппа, резистентность к вторичной бактериальной пневмонии

## EXAMINING PROTECTIVE EFFICACY OF INFLUENZA VIRUS NA-CONTAINING VIRUS-LIKE PARTICLES (VLP) IN MOUSE MODEL OF POST-INFLUENZA BACTERIAL PNEUMONIA CAUSED BY *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Glubokova E.A., Leneva I.A., Falinskova I.N., Poddubikov A.V.

*I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation*

**Abstract.** Currently, pneumonia resulting from post-influenza infection still remains a pressing issue. In particular, virtually no studies regarding a role of immune response against influenza virus neuraminidase in regulating host susceptibility to subsequent bacterial superinfection are now available. Virus-like particles represent one of the new and promising approaches in contemporary virology for developing influenza vaccines and studying influenza virus proteins. Upon that, it is possible to obtain virus-like particles carrying individual influenza virus-derived proteins such as neuraminidase and hemagglutinin. This allows to get closer insight into potential role of individual influenza virus proteins for host immune response as well as assess a risk of developing secondary bacterial pneumonia. In this study we examined an immune response against influenza virus NA protein and its impact in generating resistance to secondary bacterial pneumonia by using neuraminidase-bearing virus-like particles. We used an experimental model of secondary bacterial pneumonia induced by *Staphylococcus aureus* after influenza infection. Animals were preliminarily vaccinated with virus-like particles carrying neuraminidase, hemagglutinin, or both (a cocktail of virus-like particles). In this model vaccinated animals were infected 21 days later with influenza viruses A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) and reassortant strain NIBRG-121xp (A/California/04/2009 (pndm H1N1 2009) X A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) bearing surface proteins hemagglutinin and neuraminidase derived from the A/California/04/2009 virus as well as the internal proteins derived from A/Puerto Rico/8/34. Next, 5 days after influenza infection mice were infected with *Staphylococcus aureus*. Moreover, animals in one group were simultaneously vaccinated and infected with A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) followed by inoculation on day 21 with reassortant virus NIBRG-121xp. The protective vaccine activity was assessed by measuring survival rate, life expectancy and decreased body weight loss. The data obtained showed that virus-like particles containing neuraminidase revealed no protective activity. However, a cocktail of virus-like particles, containing hemagglutinin and neuraminidase, protected animals from lethal outcome as well as body weight loss. Moreover, the increase virus-like particles containing neuraminidase in the cocktail of virus-like particles (virus-like particles containing neuraminidase + hemagglutinin) led to elevated protective effect after vaccination that was comparable or even superior to that one in mice with post-infectious immunity.

*Keywords:* influenza virus, *Staphylococcus aureus*, VLP vaccine, Secondary bacterial infection, influenza virus neuraminidase, resistance to secondary bacterial pneumonia

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 18-45-05002 «Вирусоподобные частицы для борьбы с постгриппозными бактериальными инфекциями», 2018-2020 гг.)

## Введение

Большая часть смертельных исходов от гриппа обусловлена вторичными бактериальными осложнениями, среди которых ведущую роль

занимают пневмонии. Противогриппозный иммунитет может определять не только чувствительность организма к вирусу гриппа, но и вероятность развития бактериальной суперинфекции, при этом некоторые белки вируса гриппа оказались вовлеченными в летальный синергизм вирус-бактериальных осложнений. Показано, что нейраминидаза вируса гриппа (NA) способствует бактериальной адсорбции на клетки эпителия, путем модификации клеточных поверхностей и увеличения экспрессии рецепторов адгезии. Однако исследования роли иммунного ответа к NA в регуляции восприимчивости организма к бактериальной суперинфекции после гриппозной инфекции практически отсутствуют. Одним из перспективных подходов, используемых в современной вирусологии, являются вирусоподобные частицы (ВПЧ), использующиеся, в частности, как платформа для разработки противогриппозных вакцин, при этом возможно получение ВПЧ, несущих отдельные белки вируса гриппа. Ранее нами была разработана мышинная модель вирусно-бактериальной пневмонии, индуцированной последовательным заражением вирусом гриппа и *Staphylococcus aureus*, в которой был выявлен летальный синергизм между патогенами, отмечаемый в эпидемиологических наблюдениях.

**Целью нашей работы** являлось изучение иммунного ответа к белку вируса гриппа NA в формировании резистентности к вторичной бактериальной пневмонии с использованием ВПЧ, несущих NA. Для этих целей нами была использована экспериментальная модель вторичной бактериальной пневмонии, индуцированной *Staphylococcus aureus*, после гриппозной инфекции. Кроме того, вирусное заражение проводилось вирусом гриппа, отличным по антигенным свойствам от вируса, входящего в состав ВПЧ, что имитировало ситуацию несовпадения циркулирующих штаммов с вакцинными, имеющее место в природе.

## Материалы и методы

### Вирусы, бактериальные штаммы, культуры клеток

В опытах использовали клетки MDCK (Madin Darby canine kidney) – перевиваемая культура клеток почки собаки), полученные из коллекции ГУ НИИ вирусологии им. Ивановского.

Для моделирования гриппозной инфекции был использован штаммы вируса гриппа А/Пуэрто Рико/8/34 и реассортантом А/Пуэрто Рико/8/34 и А/Калифорния/04/2009 NIBRG-121хр (содержит 2 гена А/Калифорния/04/2009 и

6 генов А/Пуэрто Рико /8/34), полученные из музея ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России.

Культура штамма *S. aureus* № 884 из коллекции лаборатории условно патогенных микроорганизмов ФГНБУ НИИВС им. И.И. Мечникова хранилась в лиофилизированном состоянии. Для получения живой культуры ампулу в стерильных условиях вскрывали и добавляли 0,5 мл питательного бульона (ГРМ-БУЛЬОН) (ФБУН ГНЦ ПМБ) и сердечно-мозговой бульон (Mast Group Ltd, Великобритания). Суспензию переносили в пробирку объемом 2 мл и инкубировали 4 ч при температуре 37 °С. Затем осуществляли посев на скошенный питательный агар (ГРМ-агар) (ФБУН ГНЦ ПМБ) с добавлением 5% лошадиной крови (ЗАО «ЭКОлаб»). Пробирки с культурой инкубировали в течение 18 ч при температуре 37 °С, по стандарту мутности определяли содержание бактерий в 1 мл объема и в этот же день использовали для заражения животных.

Вирусоподобные частицы (ВПЧ) были предоставлены руководителем австрийской стороны Miriam Klausberger (Department of Biotechnology, University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna).

### Животные

Мышей BALB/с, самок весом 20-22 г получали из питомника «Андреевка» (Московская обл.) и содержали на стандартном рационе в регламентированных условиях вивария. Содержание и кормление животных соответствовало правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев). Содержание животных и манипуляции с ними соответствовали Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных (Приказ Минздрава России от 23.08.2010 № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики в Российской Федерации»).

### Изучение ВПЧ на модели сочетанной вирусно-бактериальной пневмонии

Мышей (BALB/С, самки массой 20-22 г) на 21-й день после вакцинации инфицировали интраназально под легким наркозом вирусами гриппа А/Пуэрто Рико/8/34 (H1N1) и реассортантом NIBRG-121хр в дозах 0,3 МЛД50 (мышинная летальная доза).

Далее, на 5-й день после вирусного заражения мышей инфицировали в дозе  $2 \times 10$  КОЕ/мл (интраназально в объеме 0,05 мл). Протективную активность оценивали по уменьшению снижения веса, выживаемости и продолжительности жизни.

В качестве контрольных групп были использованы животные, инфицированные последовательно вирусом гриппа и *S. aureus*, вакцинируемые ФСБ.

Кроме того, одна группа животных одновременно с вакцинацией была инфицирована содержащей вирус гриппа А/Пуэрто Рико/8/34 аллантоисной жидкостью интраназально под легким наркозом в сублетальной дозе (0,03 мл, 0,5 МЛД<sub>50</sub>/мл). На 21-й день после первичного заражения животных заражали повторно гетерологичным реассортантом NIBRG-121xp(А/Калифорния/04/2009 (пндм H1N1 2009)Х А/Пуэрто Рико/8/34 (H1N1) (2:6), содержащий поверхностные белки НА и NA от вируса А/Калифорния/04/2009, а внутренние белки от А/Пуэрто Рико/8/34.

## Результаты

В группах невакцинированных животных, инфицированных соответствующими вирусами А/Пуэрто Рико/8/34 и NIBRG-121xp, а также *S. aureus*, наблюдалась полная гибель животных при большой потере веса. При вакцинации контрольными Gag ВПЧ, не содержащими вирусных белков, смертность незначительно отличалась от таковой в соответствующих группах невакцинированных животных и составляла 90 и 80%.

При вакцинации ВЧП, содержащими только NA А/Пуэрто Рико/8/34 (NA – Gag ВПЧ), при последующем заражении гетерологичным вирусом NIBRG-121xp и бактериальным патогеном

наблюдалась полная гибель животных с большой потерей веса. У животных с постинфекционным иммунитетом в результате перенесенной инфекции вирулентным штаммом А/Пуэрто Рико/8/34 при повторном заражении гетерологическим вирусом наблюдалось снижение потери массы тела и выживаемость составила 60%. Несмотря на заражение гетерологическим вирусом, вакцинация ВЧП, содержащими только НА А/Пуэрто Рико/8/34 (НА – Gag ВПЧ), защищала 40% животных от гибели, снижало потерю их веса при последующем заражении *S. aureus*. Коктейль ВПЧ с низким содержанием НА (НА + NA – Gag ВПЧ 0,8 нг) защищал 30% животных и снижал потерю массы тела. Увеличение содержания частиц с NA в коктейле приводило к увеличению выживаемости. Так, при среднем содержании частиц с NA (НА + NA – Gag ВПЧ 4нг) защита от смертности составила 40%, а при высоком содержании частиц с NA (НА + NA – Gag ВПЧ 20нг) защита от смертности составила 60%, при этом наблюдалось снижение потери веса животных и размножения патогенов в их легких (рис. 1). Данные показатели в группе с высоким содержанием частиц NA превышали таковые у всех групп животных, инфицированных гетерологичным вирусом, с последующей бактериальной инфекцией *S. aureus*. В группе, зараженной только вирусом гриппа и вакцинированной коктейлем с высоким содержанием частиц NA (НА + NA – Gag ВПЧ 20 нг), также наблюдалось значительное сниже-

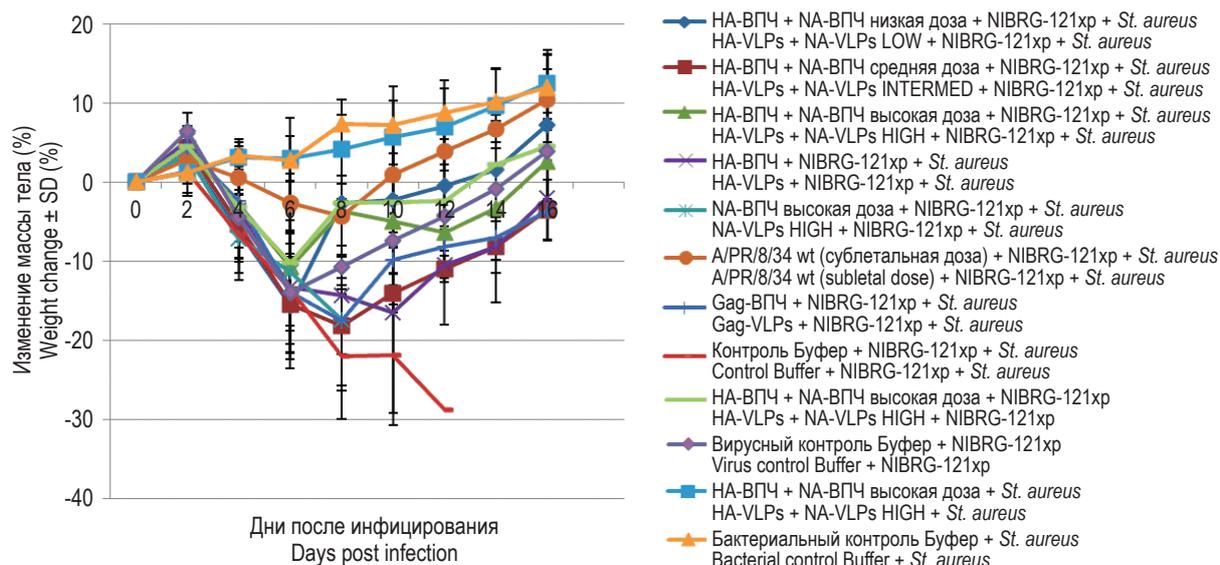


Рисунок 1. Изменение массы тела при заражении NIBRG-121xp + *S. aureus*

Figure 1. Change in body weight after infection with NIBRG-121xp + *S. aureus*

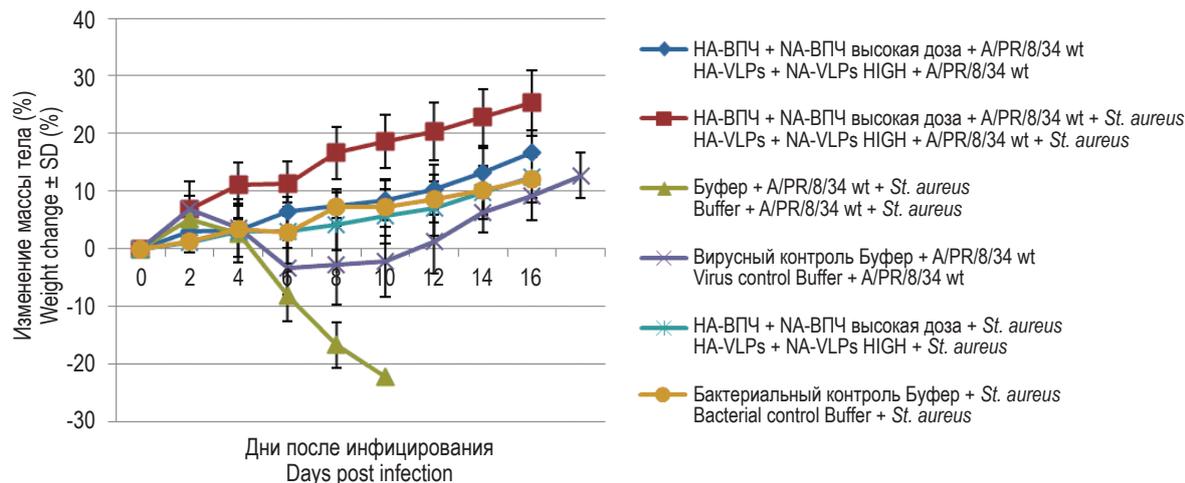


Рисунок 2. Изменение массы тела при заражении А/Пуэрто Рико/8/34 (A/PR/8/34) + *S. aureus*

Figure 2. Change in body weight after infection with A/Puerto Rico/8/34 (A/PR/8/34) + *S. aureus*

нии потери массы тела, а выживаемость составила 85%.

Вакцинирование этим же коктейлем ВЧП с высоким содержанием частиц NA полностью предотвращало гибель мышей, потерю их массы тела и снижало размножение вируса в легких при контрольном заражении гомологичным вирусом А/Пуэрто Рико/8/34 (H1N1) и последующей суперинфекцией бактериальным патогеном *S. aureus* (рис. 2).

## Заключение

Совокупность полученных результатов позволяет заключить, что иммунный ответ только к NA не обладал превалирующим значением при защите от вторичной бактериальной суперинфекции, спровоцированной инфекцией гетерологичным, по отношению к вакцинному препарату, штаммом вируса гриппа и не обеспечивал снижение летальности у животных. Можно предполо-

жить, что данный белок в отдельности не играет значительной роли для иммунного ответа и обеспечения протективного эффекта. Однако добавление NA в состав экспериментальной вакцины в максимальной дозе способствовало снижению летальности при гетерологичном вирусном заражении. Протективный эффект, достигаемый при иммунизации мышей коктейлем ВЧП, был сравним или превосходил таковой у мышей с постинфекционным иммунитетом в результате перенесенной инфекции вирулентным штаммом А/Пуэрто Рико/8/34 (H1N1).

Это позволяет предположить, что NA в отдельности не проявляют сильных протективных свойств. Однако в составе коктейля ВЧП, содержащим также NA, частицы с NA более действенны и обеспечивают защиту в мышинной модели постгриппозной бактериальной пневмонии, вызванной *Staphylococcus aureus*. При этом повышение содержания частиц с NA способствовало повышению протективного эффекта вакцинации.

## Список литературы / References

1. Глубокова Е.А., Вартанова Н.О., Поддубиков А.В., Ленева И.А. Индукция вторичной бактериальной пневмонии у мышей, вызываемой различными штаммами *Staphylococcus aureus* при заражении пандемическим и лабораторным штаммами вируса гриппа H1N1 // Вестник «Биомедицина и социология», 2018. Т. 3, № 3. С. 12-14. [Glubokova E.A., Vartanova N.O., Poddubikov A.V., Leneva I.A. Induction of secondary bacterial pneumonia in mice caused by different strains of *S. aureus* infected with pandemic and laboratory strains of the H1N1 influenza virus. *Vestnik "Biomeditsina i sotsiologiya" = Bulletin "Biomedicine and Sociology"*, 2018, Vol. 3, no. 3, pp. 12-14. (In Russ.)]
2. Ленева И.А., Егоров А.Ю., Фалынскова И.Н., Махмудова Н.Р., Карташова Н.П., Глубокова Е.А., Вартанова Н.О., Поддубиков А. Индукция вторичной бактериальной пневмонии у мышей при заражении пандемическим и лабораторным штаммами вируса гриппа H1N1 // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2019. № 1. С. 68-74. [Leneva I.A., Egorov A.Yu., Falynskova I.N., Makhmudova N.R., Kartashova N.P., Glubokova E.A., Vartanova N.O., Poddubikov A. Induction of secondary bacterial pneumonia in mice at infection with pandemic and laboratory strains of influenza H1N1 virus // *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2019. No. 1. P. 68-74.]

Kartashova N., Glubokova E.A., Vartanova N.O., Poddubikov A.V. Induction of secondary bacterial pneumonia in mice upon infection with pandemic and laboratory strains of the H1N1 influenza virus. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2019, no. 1, pp. 68-74. (In Russ.)]

3. Egorov A. The problem of bacterial complications post respiratory viral infections. *MIR J.*, 2018, Vol. 5, no. 1, pp. 12-21.

---

**Авторы:**

**Глубокова Е.А.** — младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной вирусологии отдела вирусологии имени О.Г. Анджаридзе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова» Москва, Россия

**Ленева И.А.** — д.б.н., заведующая лабораторией экспериментальной вирусологии отдела вирусологии имени О.Г. Анджаридзе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова» Москва, Россия

**Фалынская И.Н.** — научный сотрудник лаборатории экспериментальной вирусологии отдела вирусологии имени О.Г. Анджаридзе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова» Москва, Россия

**Поддубиков А.В.** — к.б.н., заведующий лабораторией микробиологии условно патогенных бактерий отдела микробиологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова» Москва, Россия

**Authors:**

**Glubokova E.A.**, Junior Research Associate, Laboratory of Experimental Virology, O.G. Anjaparidze Department of Virology, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

**Leneva I.A.**, PhD, MD (Biology), Head, Laboratory of Experimental Virology, O.G. Anjaparidze Department of Virology, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

**Falynskova I.N.**, Research Associate, Laboratory of Experimental Virology, O.G. Anjaparidze Department of Virology, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

**Poddubikov A.V.**, PhD (Biology), Head, Laboratory of Microbiology of Opportunistic Bacteria, Department of Microbiology, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

---

Поступила 04.08.2020  
Принята к печати 02.09.2020

Received 04.08.2020  
Accepted 02.09.2020

# ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПЕРЕПРОГРАММИРОВАНИЕ *IN VITRO* В МОДЕЛИ ВИРУСНО-БАКТЕРИАЛЬНОЙ КОИНФЕКЦИИ ФЕНОТИПА СУБПОПУЛЯЦИЙ CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ, CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ АРГИНИЛ-АЛЬФА-АСПАРТИЛ-ЛИЗИЛ-ВАЛИЛ-ТИРОЗИЛ- АРГИНИНА

Чудилова Г.А.<sup>1</sup>, Нестерова И.В.<sup>1,2</sup>, Павленко В.Н.<sup>1</sup>, Русинова Т.В.<sup>1</sup>,  
Ковалева С.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,  
г. Краснодар, Россия

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия

**Резюме.** Одной из ключевых причин негативного полимикробного синергизма при коинфекциях является нарушение функционирования нейтрофильных гранулоцитов (НГ). В этой связи актуальность приобретает разработка в системе *in vitro* экспериментальных моделей вирусно-бактериальных коинфекций, в которых возможно на молекулярном уровне выявить дефекты включения НГ в эффекторные процессы и оценить реорганизацию взаимосвязанных функционально-значимых рецепторов НГ под влиянием различных иммунотропных веществ. Понимание молекулярных механизмов работы той или иной молекулы, включая «молекулу» лекарственного препарата, обеспечивает безопасное его применение и делает его препаратом выбора. Функциональная активность НГ связана с поверхностными мембранными рецепторами CD64, CD32, CD16, CD11b, формирующими субпопуляции с различными фенотипами, активация которых приводит к сложным процессам элиминации патогена.

Цель исследования – в созданной *in vitro* экспериментальной модели вирусно-бактериальной коинфекции уточнить варианты трансформации фенотипа субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ, CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ и оценить возможность перепрограммирования их фенотипа под влиянием гексапептида аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинина (ГП).

Проведено исследование 39 образцов периферической крови (ПК) условно здоровых взрослых добровольцев (7 женщин, 6 мужчин) в возрасте от 21 до 32 лет. Сформировано 3 группы: группа сравнения 1 (интактные НГ); группа сравнения 2 – модель вирусно-бактериальной инфекции; группа

## Адрес для переписки:

Чудилова Галина Анатольевна  
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский  
университет» Министерства здравоохранения РФ  
350061, Россия, г. Краснодар, ул. Благоева, 14, кв. 11.  
Тел.: 8 (918) 410-22-14.  
E-mail: chudilova2015@yandex.ru

## Address for correspondence:

Chudilova Galina A.  
Kuban State Medical University  
350061, Russian Federation, Krasnodar, Blagoev str., 14,  
apt 11.  
Phone: 7 (918) 410-22-14.  
E-mail: chudilova2015@yandex.ru

## Образец цитирования:

Г.А. Чудилова, И.В. Нестерова, В.Н. Павленко,  
Т.В. Русинова, С.В. Ковалева «Экспериментальное  
перепрограммирование *in vitro* в модели  
вирусно-бактериальной коинфекции фенотипа  
субпопуляций CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ,  
CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ нейтрофильных  
гранулоцитов под влиянием аргинил-альфа-аспартил-  
лизил-валил-тирозил-аргинина» // Российский  
иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 4. С. 395-402.  
doi: 10.46235/1028-7221-456-EIV

© Чудилова Г.А. и соавт., 2020

## For citation:

G.A. Chudilova, I.V. Nesterova, V.N. Pavlenko,  
T.V. Rusinova, S.V. Kovaleva "Experimental *in vitro*  
reprogramming of CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> and  
CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> neutrophilic granulocytes by  
arginyl-alpha-aspartyl-lysyl-valyl-tyrosyl-arginine in modelled  
virus-bacterial coinfection", Russian Journal of Immunology/  
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 4,  
pp. 395-402.  
doi: 10.46235/1028-7221-456-EIV

DOI: 10.46235/1028-7221-456-EIV

исследования — оценка влияния гексапептида аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинина (ГП). Для воспроизведения модели вирусно-бактериальной коинфекции образцы ПК инкубировали последовательно с ДцРНК ( $10^{-7}$ М) в течение 60 мин, далее с fMLP ( $10^{-7}$ М) в течение 60 мин  $37^{\circ}\text{C}$ . Для оценки влияния ГП образцы ПК после преинкубации с ДцРНК и fMLP инкубировали с ГП ( $10^{-6}$  г/л) в течение 60 мин  $37^{\circ}\text{C}$ . Проточной цитометрией (FC 500, Beckman Coulter, США) тестировалось количество НГ субпопуляций  $\text{CD64}^+\text{CD32}^+\text{CD16}^+\text{CD11b}^+\text{НГ}$ ,  $\text{CD64}^+\text{CD32}^+\text{CD16}^+\text{CD11b}^+\text{НГ}$  и плотность экспрессии рецепторов (MFI) с использованием МКАТ (Beckman Coulter International S.A., Франция).

Экспериментально выявлена трансформация фенотипа функционально значимых субпопуляций НГ  $\text{CD64}^+\text{CD32}^+\text{CD16}^+\text{CD11b}^+\text{НГ}$ ,  $\text{CD64}^+\text{CD32}^+\text{CD16}^+\text{CD11b}^+\text{НГ}$  в модели вирусно-бактериального процесса в виде усиления экспрессии всех изучаемых рецепторов. Получены неоднозначные результаты влияния ГП на трансформированный в системе *in vitro* в модели вирусно-бактериальной коинфекции фенотип субпопуляций  $\text{CD64}^+\text{CD32}^+\text{CD16}^+\text{CD11b}^+\text{НГ}$ ,  $\text{CD64}^+\text{CD32}^+\text{CD16}^+\text{CD11b}^+\text{НГ}$ , способствующие восстановлению адекватного ответа НГ.

*Ключевые слова:* нейтрофильные гранулоциты, эксперимент *in vitro*, субпопуляции, аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинин, коинфекция, условно здоровые взрослые

## EXPERIMENTAL *IN VITRO* REPROGRAMMING OF $\text{CD64}^+\text{CD32}^+\text{CD16}^+\text{CD11b}^+$ AND $\text{CD64}^+\text{CD32}^+\text{CD16}^+\text{CD11b}^+$ NEUTROPHILIC GRANULOCYTES BY ARGINYL-ALPHA-ASPARTYL-LYSYL-VALYL-TYROSYL-ARGININE IN MODELLED VIRUS-BACTERIAL COINFECTION

Chudilova G.A.<sup>a</sup>, Nesterova I.V.<sup>a, b</sup>, Pavlenko V.N.<sup>a</sup>, Rusinova T.V.<sup>a</sup>, Kovaleva S.V.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

<sup>b</sup> Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** Disruption of neutrophilic granulocyte (NG) functioning underlies one of the key causes for negative polymicrobial synergism during virus-microbial co-infections. In connection with this, it is important to develop experimental models for viral-bacterial co-infections *in vitro*, which might allow to uncover NG involvement in effector events and assess reorganization of inter-connected functionally relevant NG receptors in response to various immunotropic agents. Understanding molecular mechanisms related to any molecule including drug molecules provides its safe use allowing them to become drug of choice. NG functional activity is associated with surface receptors CD64, CD32, CD16, CD11b, which are assigned to several NG subsets exhibiting distinct phenotypes, and their activation leads to complex processes of pathogen elimination. Study objective: to elucidate types of phenotype transition for NG subsets  $\text{CD64}^+\text{CD32}^+\text{CD16}^+\text{CD11b}^+$  and  $\text{CD64}^+\text{CD32}^+\text{CD16}^+\text{CD11b}^+$  and assess an opportunity for phenotype reprogramming exposed to hexapeptide arginyl-alpha-aspartyl-lysyl-valyl-tyrosyl-arginine (HP) in experimental *in vitro* model of viral-bacterial co-infection. Materials and methods. We examined 39 samples of peripheral blood (PB) collected from healthy adult volunteers (7 women, 6 men) aged 21 to 32 years, subdivided into 3 groups: comparison group 1 (intact NG); comparison group 2 — model of viral-bacterial infection; Study group — to assess HP effects. Model of viral-bacterial co-infection was created by incubating PB samples sequentially with dsRNA ( $10^{-7}$ М) for 60 min followed by fMLP ( $10^{-7}$ М) for 60 min,  $37^{\circ}\text{C}$ . To assess HP effect, PC samples preincubated with dsRNA and fMLP were next exposed to HP ( $10^{-6}$  g/L) for 60 min at  $37^{\circ}\text{C}$ . We analyzed percentage of  $\text{CD64}^+\text{CD32}^+\text{CD16}^+\text{CD11b}^+$  and  $\text{CD64}^+\text{CD32}^+\text{CD16}^+\text{CD11b}^+\text{NG}$  subsets as well as receptor expression density (MFI) by flow cytometry (FC 500, Beckman Coulter, USA) using MAbs (Beckman Coulter International SA, France). Results. Transformation of  $\text{CD64}^+\text{CD32}^+\text{CD16}^+\text{CD11b}^+$  and  $\text{CD64}^+\text{CD32}^+\text{CD16}^+\text{CD11b}^+\text{NG}$  subset phenotype was experimentally revealed in virus-bacterial model manifested as upregulated expression

of all receptors examined. Our data on HP effects ambiguously demonstrated phenotype transformation in CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>NG, CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>NG in *in vitro* viral – bacterial coinfection model contributing to recovery of proper NG response.

*Keywords: neutrophilic granulocytes, in vitro experiment, subpopulations, arginyl-alpha-aspartyl-lysyl-valyl-tyrosyl-arginine, coinfection, healthy adults*

Исследование при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-415-230001p\_a.

## Введение

Проблема коинфицирования в современном мире признается одной из наиболее актуальных, поскольку к настоящему времени этой сочетанной патологией поражена шестая часть населения планеты [11]. Повышенная восприимчивость к бактериальной инфекции в первые дни острой вирусной инфекции приводит к более тяжелому течению заболеваний, которые не поддаются методам стандартной терапии, что является серьезной клинической проблемой [1, 8, 9]. Причины полимикробного синергизма до сих пор полностью не изучены, что затрудняет разработку эффективных профилактических и терапевтических вмешательств. Известно, что инфицированные вирусом клетки могут снижать врожденный иммунный ответ за счет изменения экспрессии антимикробных пептидов (дефенсинов), которые секретируются слизистой оболочкой дыхательных путей [5, 10]. Во время вирусных инфекций возникают каскады провоспалительных реакций, ведущих к усилению регуляции адгезионных белков, обнаруживаемых на эпителиальных клетках, что приводит к клеточной инвазии патогенных бактерий [6]. Продуцируемые вирусные компоненты, такие как нейраминидаза (NA), гликопротеин, разрушают инфицированные клетки, обнажая врожденные рецепторы распознающие бактериальные клетки, что способствует появлению бактериальных осложнений и, следовательно, возникновению вирусно-бактериальных коинфекций [4]. Вирусы могут влиять на иммунную систему, вызывая фагоцитарную дисфункцию нейтрофильных гранулоцитов (НГ), уменьшая окислительный взрыв и усиливая апоптоз НГ, что также способствует повышению восприимчивости к бактериальным инфекциям [8, 13]. С другой стороны, под влиянием вирусно-бактериальных коинфекций, на фоне гиперактивации НГ проявляются негативные свойства этих клеток, что может сопровождаться повреждением тканей и органов [12]. Уточнение механизмов иммунологического дисбаланса, ответственного за возникающий негативный синергизм вирусов и бактерий и, в первую очередь, особенностей дефектного функционирования НГ, в конечном

итоге может позволить создать новые иммунотерапевтические подходы не только для предотвращения формирования нетипично протекающих инфекционно-воспалительных заболеваний, но для более эффективного лечения вирусно-бактериальных коинфекций.

Антимикробная активность НГ связана с поверхностными мембранными рецепторами CD64, CD32, CD16, CD11b, формирующими определенные субпопуляции с различными фенотипами. Активация субпопуляций приводит к сложным процессам элиминации различных патогенов посредством фагоцитоза, экзоцитоза внутриклеточных гранул, продуцирования активных форм кислорода, высвобождения нейтрофильных внеклеточных ловушек (NET), хемотаксической миграции. Кроме того, различные субпопуляции НГ синтезируют и секретируют разнообразные хемокины, цитокины и другие молекулы, осуществляя регулирование как врожденной, так и адаптивной иммунной системы [2, 3, 7].

В этой связи особую актуальность приобретает разработка в системе *in vitro* экспериментальных моделей вирусно-бактериальных коинфекций, в которых стало бы возможным на молекулярном уровне выявить дефекты включения НГ в эффекторные процессы и оценить реорганизацию взаимосвязанных функционально-значимых рецепторов НГ под влиянием различных иммунотропных веществ.

**Цель исследования** – в созданной *in vitro* экспериментальной модели вирусно-бактериальной коинфекции уточнить варианты трансформации фенотипа субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ, CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ и оценить возможность перепрограммирования их фенотипа под влиянием иммунотропного гексапептида аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинина.

## Материалы и методы

Проведено исследование 39 образцов периферической крови (ПК) условно здоровых взрослых добровольцев (7 женщин, 6 мужчин) в возрасте от 21 до 32 лет. Сформировано 3 группы образцов ПК, по 13 образцов в каждой группе: группа сравнения 1 (интактные НГ); группа сравнения 2 – модель вирусно-бактериальной инфекции (ин-

кубация НГ с дцРНК, а далее с fMLP: вирусная и бактериальная нагрузка); группа исследования – оценка влияния гексапептида аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинина (ГП) (преинкубация НГ с дцРНК и fMLP с последующей инкубацией с ГП)

Для моделирования вирусной инфекции в системе *in vitro* использована субстанция двухцепочечной РНК (дцРНК) – ключевой активатор врожденного иммунитета при вирусных инфекциях, является мощным индуктором интерферонов.

В целях воспроизведения условий бактериальной инфекции в системе *in vitro* нами был выбран N-формил-метионил-лейцил-фенилаланин (fMLP), имеющий экзогенное (белок многих бактерий) и эндогенное происхождение (локализуется в митохондриях клеток человека). fMLP является одним из мощных хемотаксических факторов НГ, который связывается с гетеродимерными G-белками – рецепторами клеточной поверхности, активирует широкий спектр сигнальных путей, опосредуемых фосфатидинозитол-специфической фосфолипазой C (PLC), фосфолипазой D (PLD), фосфотидилинозитол-3-киназой (PI3K) и митоген-активированными протеинкиназами (МАРК) и индуцирует активность различных функций НГ, таких как фагоцитоз, хемотаксис, генерация активных форм кислорода и высвобождение микробицидных молекул из гранул НГ.

Для исследования был использован гексапептид аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинин (ГП), который является активным центром гормона тимуса тимопоэтина и обладает определенными иммунорегуляторными свойствами, а также способностью вызывать инактивацию свободно-радикальных и перекисных соединений, восстанавливая баланс окислительно-антиокислительных реакций при инфекционно-воспалительных заболеваниях.

Для воспроизведения ранее созданной нами экспериментальной модели вирусно-бактериальной инфекции образцы цельной крови условно здоровых лиц (группа сравнения 1) инкубировали последовательно с дцРНК (в конечной концентрации  $10^{-7}$ М) в течение 60 мин, далее с fMLP (в конечной концентрации  $10^{-7}$ М), в течение 60 мин, при температуре 37 °С.

Для оценки влияния ГП образцы ПК после преинкубации с дцРНК и fMLP инкубировали с ГП (в конечной концентрации  $10^{-6}$  г/л в течение 60 мин, при температуре 37 °С).

Методом множественной проточной цитометрии (FC 500, Beckman Coulter, США) тестировалось количество (в %) НГ функционально-значимых субпопуляций CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ,

CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ и плотность экспрессии рецепторов по показателю интенсивности флуоресценции (MFI), с использованием конъюгатов МКАТ CD16-ECD, CD64-FITC, CD32-PE, CD11b-PC5 (Beckman Coulter International S.A., Франция).

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью компьютерных программ Microsoft Excel 2016 и StatPlus 2010 с применением непараметрических тестов Вилкоксона и Манна–Уитни. Результаты представляли в виде медианы (верхний и нижний квартиль) – Me ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ ). Статистически значимые различия определяли при  $p < 0,05$ .

## Результаты

Анализ полученных данных продемонстрировал, что в образцах ПК НГ условно здоровых взрослых лиц (группа сравнения 1) в 96,1 (93,7-97,2) % представлены субпопуляцией CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ и в 0,2 (0,1-1,9) % субпопуляцией CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ с разной плотностью экспрессии мембранных молекул. Так, в субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ, дополнительно имеющей CD64 рецептор, выявлен более высокий уровень экспрессии CD16 – 30,4 (24,6-36), CD32 – 5,32 (4,9-6,3) и CD11b 67,2 (54,8-71,1) ( $p_{1,2,3} < 0,05$ ).

Преинкубация с дцРНК с последующим добавлением fMLP в группе сравнения 2 (модель вирусно-бактериальной коинфекции) позволила выявить эффекты их совместного стимулирующего влияния на уровни экспрессии поверхностных рецепторов обеих субпопуляции НГ. При этом показано и статистически значимое увеличение в 19,3 раза количества НГ активированной субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> ( $p < 0,05$ ), что сопровождалось статистически значимым увеличением плотности всех экспрессируемых поверхностных мембранных рецепторов: CD64 (в 1,1 раза), CD16 (в 1,4 раза), CD32 (в 1,56 раза), CD11b (в 1,78 раза) ( $p_1 < 0,05$ ;  $p_2 < 0,05$ ;  $p_3 < 0,05$ ;  $p_4 < 0,05$ ). Под влиянием дцРНК и fMLP количество НГ «сторожевой» субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b не менялось, но при этом выявлено статистически значимое повышение плотности экспрессии поверхностных мембранных молекул по MFI: CD16 (в 1,15 раза), CD32 (в 1,5 раза) и более значимое – CD11b (в 1,53 раза) ( $p_1 < 0,05$ ;  $p_2 < 0,05$ ;  $p_3 < 0,05$ ) (табл. 1).

Оценка влияния ГП на трансформированный в модели вирусно-бактериальной коинфекции фенотип и количество НГ функционально-значимых субпопуляций CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ и CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ выявила определенные изменения. Количество НГ «сторожевой»

**ТАБЛИЦА 1. ВЛИЯНИЕ АРГИНИЛ-АЛЬФА-АСПАРТИЛ-ЛИЗИЛ-ВАЛИЛ-ТИРОЗИЛ-АРГИНИНА НА ФЕНОТИП СУБПОПУЛЯЦИЙ CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> И CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ У УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ВЗРОСЛЫХ ЛИЦ *IN VITRO*, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

TABLE 1. INFLUENCE OF ARGINYL-ALPHA-ASPARTYL-LYSYL-VALYL-TYROSYL-ARGININ ON THE PHENOTYPE OF CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> AND CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> SUBSETS OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES IN HEALTHY ADULTS *IN VITRO*, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Группы Groups	CD64 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> CD32 <sup>+</sup> CD11b <sup>+</sup>				
	НГ/NG, %	MFI CD16	MFI CD32	MFI CD11b	
Группа сравнения 1 Comparison group 1	96,1 (93,7-97,2)	22,3 (18,3-24,9)	3,5 (3,09-4,28)	28,9 (19,5-37,9)	
Группа сравнения 2 ДцРНК + fMLP Comparison group 2 DsRNA + fMLP	94,7 (94,7-96,2)	25,5* (25,5-34,8)	5,2* (5,12-6,00)	73,2* (73,20-81,25)	
Группа исследования ДцРНК + fMLP + ГП Study group DsRNA + MLP + HP	93 (90,95-96,08)	28,05 (21,68-30,63)	6,7*# (6,1-6,3)	90,7*# (83,4-97,2)	
	CD64 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> CD32 <sup>+</sup> CD11b <sup>+</sup>				
	НГ/NG, %	MFI CD64	MFI CD16	MFI CD32	MFI CD11b
Группа сравнения 1 Comparison group 1	0,2 (0,1-1,9)	1,9 (1,45-2,09)	30,4 (24,6-36,0)	5,32 (4,9-6,3)	67,2 (54,8-71,1)
Группа сравнения 2 ДцРНК + fMLP Comparison group 2 DsRNA + fMLP	3,85* (3,80-5,66)	2,1* (2,13-2,43)	40,7* (40,65-74,20)	8,3*# (8,25-10,30)	119,9* (119,0-166,0)
Группа исследования ДцРНК + fMLP + ГП Study group DsRNA + MLP + HP	2,98* (2,7-3,2)	2,92*# (2,83-3,67)	31,2* (21,9-66,7)	6,56# (6,25-8,14)	81,7# (61,4-111,0)

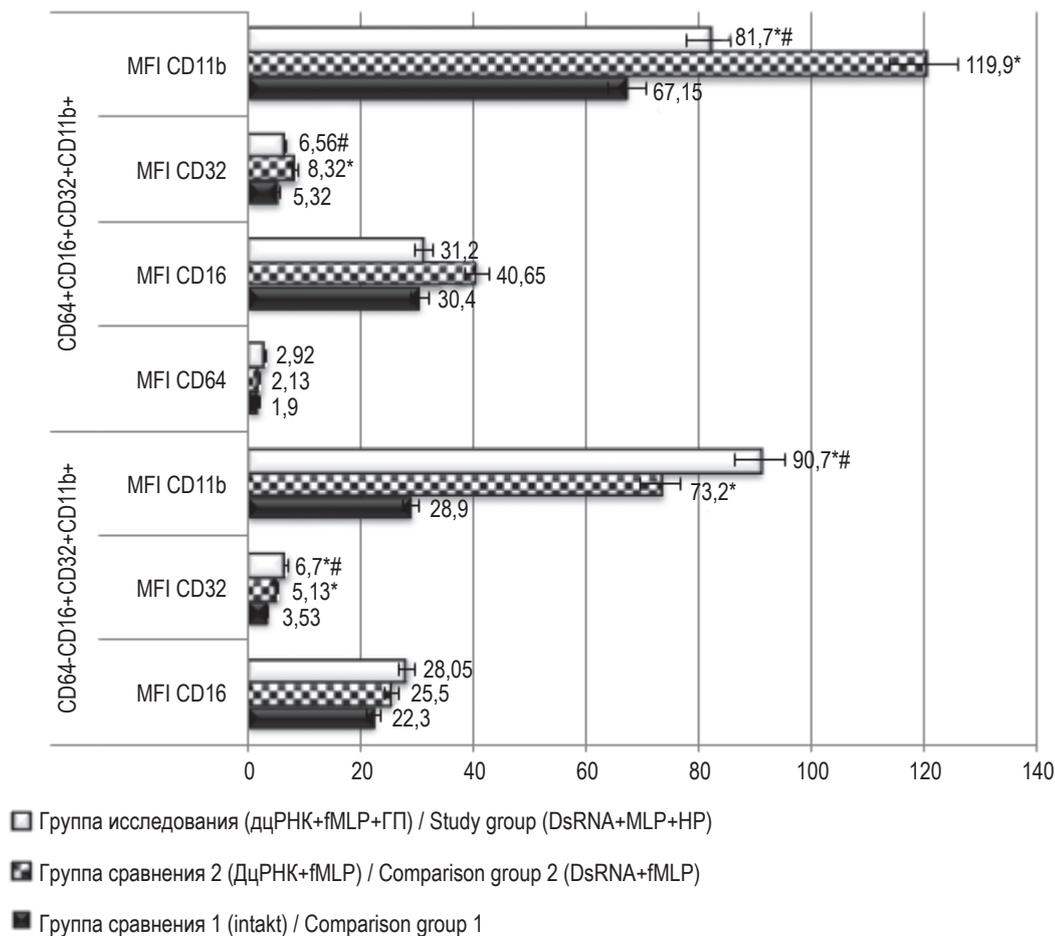
Примечание.\* – различия показателей по сравнению с интактными значениями НГ у условно здоровых взрослых (группа сравнения 1),  $p < 0,05$ ; # – различия показателей группы исследования от показателей группы сравнения 2,  $p < 0,05$ .

Note. \*, differences in indicators compared with intact values of NG in healthy adults (comparison group 1),  $p < 0.05$ ; #, differences in the indicators of the study group from the indicators of the comparison group 2,  $p < 0.05$

субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ под влиянием ГП по сравнению с их уровнем, выявленным в модели вирусно-бактериальной коинфекции, не изменилось ( $p > 0,05$ ). При этом отмечено изменение фенотипических характеристик субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ: статистически достоверно увеличилась плотность экспрессии мембранной молекулы CD32 в 1,3 раза и возросла плотность экспрессии по MFI активационного маркера – молекулы CD11b в 1,2 раза ( $p_1 < 0,05$ ;

$p_2 < 0,05$ ), выявлена тенденция к повышению экспрессии CD16 ( $p > 0,05$ ) (табл. 1, рис. 1).

Несколько иные изменения наблюдаются со стороны активированной субпопуляции НГ CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ по сравнению с характеристиками, выявленным в модели вирусно-бактериальной коинфекции. Количество НГ активированной субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ под влиянием ГП по сравнению с их уровнем, выявленным в модели вирусно-бактериальной коинфекции, статистически достоверно уменьшилось в 1,3 раза



**Рисунок 1. Эффекты аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинина на фенотип субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ и CD64<sup>-</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ в модели вирусно-бактериальной коинфекции в системе *in vitro***

Примечание. \* – различия показателей по сравнению с интактными значениями НГ у условно здоровых взрослых (группа сравнения 1),  $p < 0,05$ ; # – различия показателей группы исследования от показателей группы сравнения 2,  $p < 0,05$ .

Figure 1. Effects of arginyl-alpha-aspartyl-lysyl-valyl-tyrosyl-arginine on the phenotype of a subset CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>NG and CD64<sup>-</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>NG in a viral-bacterial model co-infection *in vitro*

Note. \*, differences in indicators compared with intact values of NG in healthy adults (comparison group 1),  $p < 0.05$ ; #, differences in the indicators of the study group from the indicators of the comparison group 2,  $p < 0.05$ .

( $p < 0,05$ ). Однако при этом достоверно возросла плотность экспрессии поверхностной активационной молекулы CD64 в 1,3 раза по MFI ( $p < 0,05$ ) и статистически значимо снизились плотность экспрессии CD32 ( $p < 0,05$ ) и CD11b, соответственно, в 1,3 и в 1,5 раза ( $p_1 < 0,05$ ;  $p_2 < 0,05$ ), выявлена тенденция к снижению экспрессии CD16 ( $p > 0,05$ ) (табл. 1, рис. 1).

## Заключение

В модели вирусно-бактериальной коинфекции, полученной при последовательном воздействии сначала дцРНК, а затем fMLP выявлены профили фенотипических изменений как мажорной CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ, так и минорной

CD64<sup>-</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ субпопуляции. Выявленные особенности приобретенного фенотипа субпопуляции CD64<sup>-</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ, повышение уровня экспрессии CD16, CD32, CD11b позволяют заключить, что эта «сторожевая» субпопуляция приобрела более активный фенотип в модели вирусно-бактериальной коинфекции. В то же время следует отметить появление в модели вирусно-бактериальной инфекции значительно большего количества НГ активированной субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ с более активным фенотипом всех экспрессируемых рецепторов по MFI, чем у условно здоровых субъектов группы сравнения – интактные НГ субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ. Появление молекулы CD64 на мембране НГ име-

ет прямую связь с активацией клеток бактериальным АГ, с последующей транслокацией данной молекулы из гранулярного аппарата клетки на поверхностную мембрану НГ.

Полученные в системе *in vitro* экспериментальные данные по влиянию ГП – аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинина в модели вирусно-бактериальной коинфекции продемонстрировали неоднозначные влияния на субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ и CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ и их фенотипические характеристики.

Так, ГП дополнительно активирует фенотип «сторожевой» субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ, которая была до этого преактивирована в модели вирусно-бактериальной коинфекции. Мы полагаем, что эта субпопуляция обладает определенным протективным эффектом и действие НГ этой «сторо-

жевой» субпопуляции с активированным фенотипом направлено на предотвращение развития вирусно-бактериальной инфекции.

Влияние ГП на субпопуляцию CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ и ее фенотипические характеристики имеет совершенно иной характер. ГП значительно уменьшает количество НГ суперактивированной в модели вирусно-бактериальной коинфекции субпопуляции и статистически достоверно меняет ее активированный фенотип: снижает экспрессию активационного маркера CD11b, поверхностной мембранной молекулы CD32 при умеренной тенденции к снижению экспрессии CD16. С нашей точки зрения, таким образом проявляется модулирующий, сдерживающий активность эффект влияния ГП на количество и фенотип суперактивированной субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ.

## Список литературы / References

1. Балмасова И.П., Малова Е.С., Сепиашвили Р.И. Вирусно-бактериальные коинфекции как глобальная проблема современной медицины // Вестник РУДН. Серия: Медицина. 2018. Т. 22, № 1. С. 29-42. [Balmasova I.P., Malova E.S., Sepiashvili R.I. Viral and bacterial coinfection as a global problem of modern medicine. *Vestnik RUDN. Seriya: Meditsina = Bulletin of Peoples' Friendship University of Russia. Series: Medicine*, 2018, Vol. 22, no. 1, pp. 29-42. (In Russ.)]
2. Нестерова И.В., Чудилова Г.А., Ковалева С.В., Тараканов В.А., Ломтатидзе Л.В., Колесникова Н.В., Русина Т.В., Евлевский А.А., Малиновская В.В. Нейтрофильные гранулоциты: отражение в зеркале современных представлений. UK, USA, Moscow: Capricorn Publishing, 2018. 338 с. [Nesterova I.V., Chudilova G.A., Kovaleva S.V., Tarakanov V.A., Lomtadze L.V., Kolesnikova N.V., Rusinova T.V., Evlevsky A.A., Malinovskaya V.V. Neutrophilic granulocytes: a reflection in the mirror of modern ideas]. UK, USA, Moscow: Capricorn Publishing, 2018. 338 p
3. Чудилова Г.А., Нестерова И.В. Фенотипический профиль CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>, CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов у здоровых новорожденных, условно-здоровых детей различных возрастных групп и условно-здоровых взрослых субъектов // Российский иммунологический журнал, 2019. Т. 13, № 1. С. 53-61. [Chudilova G.A., Nesterova I.V. Phenotypic profile subset CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>, CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> neutrophil granulocytes in healthy newborns, conditionally healthy children of different age groups and conditionally healthy adult individuals. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2019, Vol. 13, no. 1, pp. 53-61. (In Russ.)]
4. Alymova I.V., Portner A., Takimoto T., Boyd K.L., Babu Y.S., McCullers J.A. The novel parainfluenza virus hemagglutinin-neuraminidase inhibitor BCX 2798 prevents lethal synergism between a paramyxovirus and *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005, Vol. 49, no. 1, pp. 398-405.
5. Bellinghausen C., Rohde G.G.U., Savelkoul P.H.M., Wouters E.F.M. Stassen Viral-bacterial interactions in the respiratory tract. *J. Gen. Virol.*, 2016, Vol. 97, no. 12, pp. 3089-3102.
6. Bosch A.A.T.M., Biesbroek G., Trzcinski K., Sanders E.A.M., Bogaert D. Viral and bacterial interactions in the upper respiratory tract. *PLoS Pathog.*, 2013, Vol. 9, no. 1, e1003057. doi: 10.1371/journal.ppat.1003057.
7. Bournazos S., Wang T.T., Ravetch J.V. The role and function of Fcγ receptors on myeloid cells. *Microbiol. Spectr.*, 2016, Vol. 4, no. 6. doi: 10.1128/microbiolspec.MCHD-0045-2016.
8. Brealey J.C., Sly P.D., Young P.R., Chappell K.J. Viral bacterial co-infection of the respiratory tract during early childhood. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2015, Vol. 362, no. 10, fmv062. doi: 10.1093/femsle/fmv062.
9. Cortjens B., Ingelse S.A., Calis J.C., Valar A.P., Koendetman L., Bem R.A., van Woensel J.B. Neutrophil subset responses in infants with severe viral respiratory infection. *Clin. Immunol.*, 2017, Vol. 176, pp. 100-106.
10. Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat. Rev. Immunol.*, 2003, Vol. 3, no. 9, pp. 710-720.
11. Griffiths E.C., Pedersen A.B., Fenton A., Petchey O.L. The nature and consequences of coinfection in humans. *J. Infect.*, 2011, Vol. 63, no. 3, pp. 200-206.

12. Grunwell J.R., Giacalone V.D., Stephenson S., Margaroli C., Dobosh B.S., Brown M.R., Fitzpatrick A.M., Tirouvanziam R. Neutrophil dysfunction in the airways of children with acute respiratory failure due to lower respiratory tract viral and bacterial coinfections. *Sci. Rep.*, 2019, Vol. 9, no. 1, 2874. doi: 10.1038/s41598-019-39726-w12.

13. Meskill S.D., O'Bryant S.C. Respiratory virus co-infection in acute respiratory infections in children. *Curr. Infect. Dis. Rep.*, 2020, Vol. 22, no. 1, 3. doi: 10.1007/s11908-020-0711-8.

**Авторы:**

**Чудилова Г.А.** — к.б.н., доцент, заведующая отделом клинической и экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

**Нестерова И.В.** — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела клинической и экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар; профессор кафедры аллергологии и иммунологии ФПК МР Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия

**Павленко В.Н.** — аспирант кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

**Русинова Т.В.** — к.б.н., научный сотрудник отдела клинической и экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

**Ковалева С.В.** — к.м.н., доцент, старший научный сотрудник отдела клинической и экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

**Authors:**

**Chudilova G.A.**, PhD (Biology), Associate Professor, Head, Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology, Central Research Laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

**Nesterova I.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Research Associate, Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology, Central Research Laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar; Professor, Department of Allergology and Immunology, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

**Pavlenko V.N.**, Postgraduate Student, Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

**Rusinova T.V.**, PhD (Biology), Research Associate, Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology, Central Research Laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

**Kovaleva S.V.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Senior Research Associate, Department of Clinical Experimental Immunology and Molecular Biology, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

## ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МУЗЕЙНЫХ И КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ К СИНТЕТИЧЕСКОМУ ПЕПТИДУ АКТИВНОГО ЦЕНТРА ГМ-КСФ – ZP2

Зурочка А.В.<sup>1,2</sup>, Добрынина М.А.<sup>1</sup>, Зурочка В.А.<sup>1,2</sup>, Гриценко В.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет), г. Челябинск, Россия

<sup>3</sup> ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук (Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН), г. Оренбург, Россия

**Резюме.** Цель – изучить чувствительность энтеробактерий разной видовой принадлежности к бактерицидному действию синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 после его длительного хранения.

Опыты *in vitro* проведены на музейных тест-штаммах *Escherichia coli* K12 (ГИСК 240367) и *E. coli* (АТСС 25922), а также 104 клинических изолятах *E. coli* (n = 22) и *Klebsiella pneumoniae* (n = 82), выделенных от больных с хирургической патологией. Бактерицидное действие пептида ZP2 (конечная концентрация 10 мкг/мл) на микроорганизмы оценивали по разнице оптической плотности (OD) опытной и контрольной бульонных культур после 20-минутного контакта взвесей бактерий ( $5 \times 10^8$  КОЕ/мл) с пептидом ZP2 (в контроле – с дистиллированной водой), добавления мясопептонного бульона и инкубации при 37 °С в течение 4 часов. Действие пептида ZP2 выражали Индексом бактерицидной активности (ИБА, %).

Экспериментально установлено, что музейные тест-штаммы *E. coli* и большинство изученных клинических штаммов *E. coli* и *K. pneumoniae* (95,5 и 97,6% соответственно) проявляли чувствительность к бактерицидному действию синтетического пептида ZP2 (в конечной концентрации 10 мкг/мл) со средними значениями ИБА  $77,6 \pm 3,5$  и  $82,8 \pm 1,6\%$  и относительно широкими диапазонами варьирования этого признака 45,8 ... 98,9 и 42,1 ... 99,8% соответственно.

Синтетический пептид ZP2 после 5-летнего хранения при 8 °С оказывал бактерицидное действие на антибиотикорезистентные штаммы энтеробактерий. Полученные данные могут быть использованы для разработки на основе пептида ZP2 лекарственных препаратов, направленных на борьбу с гнойно-воспалительными процессами, вызванными антибиотикорезистентными штаммами *E. coli* и *K. pneumoniae*.

**Ключевые слова:** синтетический пептид ГМ-КСФ – ZP2, бактерицидная активность, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*

### Адрес для переписки:

Зурочка Александр Владимирович  
ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии»  
Уральского отделения Российской академии наук  
620049, Россия, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106.  
Тел.: 8 (919) 307-75-98.  
E-mail: av\_zurochka@mail.ru

### Address for correspondence:

Zurochka Aleksandr V.  
Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian  
Academy of Sciences,  
620049, Russian Federation, Yekaterinburg,  
Pervomayskaya str., 106.  
Phone: 7 (919) 307-75-98.  
E-mail: av\_zurochka@mail.ru

### Образец цитирования:

А.В. Зурочка, М.А. Добрынина, В.А. Зурочка, В.А. Гриценко «Чувствительность музейных и клинических штаммов энтеробактерий к синтетическому пептиду активного центра ГМ-КСФ – ZP2» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 4. С. 403-410.  
doi: 10.46235/1028-7221-503-SOA

© Зурочка А.В. и соавт., 2020

### For citation:

A.V. Zurochka, M.A. Dobrynina, A.V. Zurochka, V.A. Gritsenko “Sensitivity of archival and clinical enterobacteria strains to synthetic GM-CSF active center ZP2 peptide”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 4, pp. 403-410.  
doi: 10.46235/1028-7221-503-SOA

DOI: 10.46235/1028-7221-503-SOA

## SENSITIVITY OF ARCHIVAL AND CLINICAL ENTEROBACTERIA STRAINS TO SYNTHETIC GM-CSF ACTIVE CENTER ZP2 PEPTIDE

Zurochka A.V.<sup>a,b</sup>, Dobrynina M.A.<sup>a</sup>, Zurochka A.V.<sup>a,b</sup>, Gritsenko V.A.<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

<sup>b</sup> South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russian Federation

<sup>c</sup> Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences (Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UrB RAS), Orenburg, Russian Federation

**Abstract.** Objective: to study sensitivity of various enterobacterial species to the bactericidal action of the ZP2 synthetic GM-CSF active center peptide after long-term storage.

*In vitro* experiments were carried out with archival test strains *Escherichia coli* K12 (GISK 240367) and *E. coli* (ATCC 25922), as well as 104 clinical isolates of *E. coli* (n = 22) and *Klebsiella pneumoniae* (n = 82) obtained from patients with surgical pathology. The bactericidal effect of the ZP2 peptide (final concentration 10 µg/ml) on microorganisms was assessed by measuring optical density (OD) difference between experimental and control broth cultures after 20 min exposure of bacterial suspensions ( $5 \times 10^8$  CFU/ml) with the ZP2 peptide (in control – with distilled water), added with meat-peptone broth and incubated at 37 °C for 4 hours. The ZP2 peptide effect was presented as Bactericidal Activity Index (BAI, %).

It was experimentally found that the archival *E. coli* test strains as well as most of examined clinical strains of *E. coli* and *K. pneumoniae* (95.5 and 97.6%, respectively) showed sensitivity to the bactericidal effect of the synthetic ZP2 peptide (at a final concentration of 10 µg/ml) with BAI averaging  $77.6 \pm 3.5$  and  $82.8 \pm 1.6\%$  and its relatively wide variation range 45.8 ... 98.9 and 42.1 ... 99.8%, respectively.

The 5-year storage of synthetic ZP2 peptide at 8 °C exerted bactericidal effect on antibiotic-resistant enterobacterial strains. The data obtained can be used to develop ZP2 peptide-based drugs aimed at combating pyo-inflammatory processes caused by antibiotic-resistant *E. coli* and *K. pneumoniae* strains.

**Keywords:** synthetic GM-CSF – ZP2 peptide, bactericidal activity, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*

Работа выполнена по теме из Плана НИР ИИФ УрО РАН, № гос. регистрации АААА-А18-118020690020-1, и теме из Плана НИР ОФИЦ УрО РАН, № гос. регистрации 116021510075.

### Введение

Известно, что энтеробактерии, в частности эшерихии и клебсиеллы, являются причиной многих инфекционно-воспалительных заболеваний и нозокомиальных инфекционных осложнений у больных с хирургической патологией, плохо поддающихся лечению [3, 12, 22]. В то же время полирезистентность этих микроорганизмов к применяемым на практике антибиотикам затрудняет подбор адекватной этиотропной терапии. Это связано как с естественной, так и приобретенной резистентностью к антибиотикам, которая не только затрудняет выбор этиотропных препаратов для эмпирической (стартовой) антибактериальной терапии указанных

гнойно-воспалительных процессов, но и делает ее мало эффективной [2, 15, 18, 21]. *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae* включены в опубликованный 27.02.2017 г. Всемирной Организацией Здравоохранения (ВОЗ) «Лист «приоритетных возбудителей инфекций, представляющих наибольшую угрозу для здоровья человека» относит эти микроорганизмы в качестве «критических» патогенов, которые чаще всего проявляют полирезистентность к антибиотикам (даже к резервным карбапенемам) и против которых требуется срочная разработка новых действенных антимикробных препаратов» [25].

К одним из новых, но привлекающих все более пристальное внимание препаратов относятся синтетические пептиды, полученные из активных молекул пептидной природы человека, обладающие выраженной антибактериальной активностью, в том числе против антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов [19, 20, 23, 24]. К таким препаратам относится и синтетический

пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) – ZP2, так как он, помимо иммуностимулирующих и репарационных эффектов, обладает антимикробным действием, в том числе на различные музейные и клинические штаммы различных видов стафилококков и энтеробактерий. Было показано, что данный пептид снижает рост, размножение и биопленкообразование этих бактерий. На его основе было создано новое косметическое средство «Ацеграм», выпускаемое в виде спрея и геля [4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11]. Очень важным было выявить как влияет этот пептид на энтеробактерии, особенно полирезистентные к практически всем видам антибиотиков. Именно к таким видам исследований относится изучение бактерицидной активности синтетического пептида ZP2 в отношении клинических штаммов *E. coli* и *K. pneumoniae*, которая ранее не проводилась.

Кроме того, для создания лекарственных препаратов очень важным является выяснение вопроса о сохранении свойств действующих веществ при разных условиях и сроках хранения.

**Цель исследования** – изучить чувствительность энтеробактерий разной видовой принадлежности к бактерицидному действию синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 после его длительного хранения.

## Материалы и методы

Опыты *in vitro* проведены на музейных тест-штаммах *Escherichia coli* K12 (ГИСК 240367) и *E. coli* (ATCC 25922), а также 104 клинических изолятах *E. coli* (n = 22) и *Klebsiella pneumoniae* (n = 82), выделенных из гнойных ран у больных с различной хирургической патологией и проявляющих выраженную резистентность ко многим антибиотикам, используемым в клинической практике. Выделение чистых культур бактерий осуществляли общепринятыми методами, а их видовую идентификацию проводили с использованием официальных биохимических наборов компании ErsaLachemas.r.o. (Чехия) и на микробиологическом анализаторе VITEK 2 Compact (Biomerieux, Франция) [14, 16]. Чувствительность энтеробактерий к бактерицидному действию синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ (пептид ZP2) определяли по модифицированной методике [1] в следующем порядке: на изотоническом растворе NaCl готовятся взвеси суточных агаровых культур исследуемых бактерий ( $5 \times 10^8$  КОЕ/мл); по 25 мкл взвесей вносятся в ячейки пластикового 96-луночного стерильного планшета; в опыте – к взвесям добавляется по 25 мкл раствора пептида ZP2 (концентрация 20 мкг/мл; то есть конечная/действующая кон-

центрация составляла 10 мкг/мл), в контроле – вместо раствора пептида ZP2 вносится 25 мкл дистиллированной воды; смеси инкубируются в течение 20 мин при 37 °С, а затем во все ячейки добавляется 200 мкл мясopептонного бульона; планшета инкубируется в течение 4 часов при 37 °С, после чего с помощью микропланшетного фотометра Multiscan Accent (Thermo Electron, Финляндия) на длине волны  $\lambda = 492$  нм измеряется оптическая плотность (OD) бактериальных культур в ячейках. Каждый вариант опыта и контроля делался в трех повторностях с вычислением средних значений OD. В экспериментах использовался пептид ГМ-КСФ – ZP2, предварительно разведенный в дистиллированной воде (концентрация 20 мкг/мл), расфасованный в ампулы и хранившийся в течение 5 лет в холодильнике при 8 °С.

Для определения действия на исследуемые бактерии пептида ZP2 высчитывали Индекс бактерицидной активности (ИБА, %) по формуле:

$$\text{ИБА} = (\text{OD}_k - \text{OD}_o) / \text{OD}_k \times 100\%,$$

где  $\text{OD}_k$  и  $\text{OD}_o$  – оптические плотности контрольной и опытной культур соответственно. Чувствительными считались штаммы при ИБА > 10%.

Если оптическая плотность опытной культуры превышала оптическую плотность контрольной культуры ( $\text{OD}_o > \text{OD}_k$ ), то рассчитывался Индекс стимуляции роста (ИСР, %) по формуле:

$$\text{ИСР} = \text{OD}_o / \text{OD}_k \times 100\%,$$

где  $\text{OD}_k$  и  $\text{OD}_o$  – оптические плотности контрольной и опытной культур соответственно. Стимуляция роста учитывалась при ИСР > 10%.

Если значения ИБА и ИСР не превышали 10%, то штаммы бактерий относили к группе устойчивых культур, но индифферентно реагирующих на пептид ZP2.

Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики. Вычисляли среднюю арифметическую и ее ошибку ( $M \pm m$ ) с применением компьютерной программы Statistica v. 12.5 (StatSoft, США); межгрупповые отличия считали достоверными при  $p < 0,05$  [13, 17].

## Результаты и обсуждение

Полученные экспериментальные данные свидетельствовали, что как музейные тест-штаммы *E. coli*, так и подавляющее большинство (95,5–97,6%) изученных клинических изолятов энтеробактерий разной видовой принадлежности (эшерихии и клебсиеллы) проявляли чувствительность к бактерицидному действию синтетического пептида ГМ-КСФ – ZP2 (в конечной концентрации 10 мкг/мл), несмотря на то, что его раствор хранился в течение 5 лет при 8 °С (табл. 1).

**ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МУЗЕЙНЫХ И КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ РАЗНОЙ ВИДОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ К БАКТЕРИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА ZP2 (КОНЦЕНТРАЦИЯ – 10 мкг/мл)**

TABLE 1. SENSITIVITY INDICES OF MUSEUM AND CLINICAL STRAINS OF ENTEROBACTERIA OF DIFFERENT SPECIES TO THE BACTERICIDAL ACTIVITY OF SYNTHETIC PEPTIDE ZP2 (CONCENTRATION – 10 µg/ml)

Изученные штаммы бактерий Studied strains bacteria	Штаммы, чувствительные к пептиду ZP2 Strains sensitive to the ZP2 peptide			Штаммы, резистентные к пептиду ZP2 Strains resistant to the ZP2 peptide		
	Доля штаммов, чувствительных к пептиду ZP2 (%) Proportion of strains sensitive to the ZP2 peptide (%)	Диапазон ИБА (min ... max, %) IBA range (min ... max, %)	Среднее значение ИБА (%) Average IBA (%)	Доля штаммов, индифферентных к пептиду ZP2 (%) Share strains indifferent to the ZP2 peptide (%)	Доля штаммов со стимуляцией роста (%) Proportion of strains with stimulation growth (%)	Среднее значение ИСР (%) Average WRI (%)
Тест-штамм <i>E. coli</i> K12 Test strain <i>E. coli</i> K12		64,9 ... 85,4	77,3±4,6			
Тест-штамм <i>E. coli</i> Test strain <i>E. coli</i> (ATCC 25922)		63,4 ... 69,7	65,7±2,0			
Клинические штаммы <i>E. coli</i> Clinical strains <i>E. coli</i> (n = 22)	95,5±4,5	45,8 ... 98,9	77,6±3,5	–	4,5±4,5	55,1±2,9
Клинические штаммы <i>K. pneumoniae</i> Clinical strains <i>K. pneumoniae</i> (n = 82)	97,6±1,7	42,1 ... 99,8	82,8±1,6	1,2±1,2	1,2±1,2	47,8±2,3

При этом значения Индекса бактерицидной активности (ИБА, %) пептида ZP2 в отношении клинических штаммов *E. coli* (n = 22) и *K. pneumoniae* (n = 82) варьировали в достаточно широких диапазонах (45,8 ... 98,9 и 42,1 ... 99,8% соответственно), а средние значения этого показателя составили 77,6±3,5 и 82,8±1,6% соответственно, то есть по чувствительности к данному пептиду клинические изоляты эшерихий достоверно не отличались от клебсиелл (p > 0,05).

Следует отметить, что чувствительность к бактерицидной активности пептида ZP2 музейных тест-штаммов *E. coli* K12 (ГИСК 240367) и *E. coli* (ATCC 25922) была сопоставима с таковой клинических изолятов эшерихий; значения ИБА

для них равнялись 77,3±4,6 и 65,7±2,0% соответственно.

Кроме того, необходимо подчеркнуть, что среди изученных клинических изолятов энтеробактерий крайне редко (2,4-4,5%) встречались штаммы, проявляющие устойчивость к бактерицидному действию пептида ZP2. При этом в анализируемой выборке штаммов *K. pneumoniae* (n = 82) выявлены всего 2 культуры, резистентные к данному пептиду, причем один изолят «индифферентно» реагировал на него, а у другого штамма после контакта с пептидом ZP2 наблюдалась стимуляция роста на уровне 47,8±2,3% от контроля; в группе клинических изолятов эшерихий (n = 22) был обнаружен лишь один устойчивый к

пептиду ZP2 штамм, рост которого на  $55,1 \pm 2,9\%$  усиливался после контакта с ним.

## Заключение

Антибиотикорезистентность возбудителей инфекционно-воспалительных заболеваний, особенно этиологических агентов нозокомиальных инфекций, и поиск путей ее преодоления остаются актуальными проблемами современной медицины, в том числе гнойной хирургии. Бесконтрольное и не обоснованное применение антибиотиков при лечении/самолечении инфекционных и гнойно-воспалительных заболеваний ведет к формированию штаммов и клональных линий бактерий, устойчивых к большинству антибиотиков, применяемых в клинике. При этом наблюдается изменение структуры патогенов, вызывающих септические осложнения, среди которых резко (особенно в последние десятилетия) увеличивается доля возбудителей с природной и/или приобретенной полирезистентностью практически ко всем антибиотикам, используемым в клинической практике. Тревожная ситуация складывается при терапии гнойно-воспалительных бактериальных осложнений вирусных инфекций, где основными этиологическими факторами выступают неферментирующие грамотрицательные бактерии и энтеробактерии видов *E. coli* и *K. pneumoniae*, которые характеризуются высокой резистентностью ко многим антимикробным препаратам с разными механизмами действия. Именно по этой причине интересны результаты, полученные в настоящей экспериментальной работе по оценке бактери-

цидного действия синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 в отношении клинических штаммов энтеробактерий.

Как следует из представленных данных, в условиях *in vitro* синтетический пептид ZP2 (в относительной низкой концентрации 10 мкг/мл) проявлял выраженное бактерицидное действие на музейные и клинические штаммы *E. coli* и *K. pneumoniae*. Это указывало на то, что данный пептид может не только ингибировать рост грамотрицательных бактерий [4-6], но и оказывать на них бактерицидное действие.

Важно отметить, что этим эффектом обладал пептид ZP2 после 5-летнего хранения при температуре 8 °С в растворенном состоянии, а его антибактериальная активность в отношении этих микроорганизмов была сопоставима с таковой при тестировании синтезированных субстанций со сроком хранения не более 1-2 месяцев [4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11]. Учитывая, что синтетический пептид ZP2 (как основное действующее вещество) входит в состав косметических средств «Ацеграм» (спрей/гель), можно допустить, что срок их хранения (без потери препаратами антимикробных свойств) может достигать не менее 5 лет.

Накопленные к настоящему времени экспериментальные данные по антибактериальному действию синтетического пептида ZP2 [4, 5, 6, 7, 8] уже сейчас позволяют рекомендовать косметическое средство «Ацеграм» для местного лечения гнойных осложнений при раневых дефектах, вызванных наиболее распространенными патогенами (стафилококки, энтеробактерии), а также для профилактики послеоперационных раневых инфекций в хирургии и гинекологии.

## Список литературы / References

1. Бухарин О.В., Брудастов Ю.А., Гриценко В.А., Дерябин Д.Г. Роль способности бактерий к инактивации факторов естественной противоинойфекционной резистентности в их устойчивости к бактерицидному действию крови (сыворотки крови) // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1996. № 2. С. 160-162. [Bukharin O.V., Brudastov Yu.A., Gritsenko V.A., Deryabin D.G. How the ability of bacteria to inactivate natural antiinfectious resistance factors affects their resistance to the bactericidal action of the blood (serum). *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 1996, no. 2, pp. 160-162. (In Russ.)]
2. Горбич Ю.Л., Карпов И.А. Значение адекватной эмпирической терапии при нозокомиальных инфекциях, вызванных *Acinetobacter baumannii* // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2012. Т. 14, № 1. С. 67-73. [Gorbich Yu.L., Karpov I.A. The value of adequate empiric therapy for nosocomial infections caused by *Acinetobacter baumannii*. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2012. Vol. 14, no. 1, pp. 67-73. (In Russ.)]
3. Гриценко В.А., Иванов Ю.Б. Роль персистентных свойств в патогенезе эндогенных инфекций // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2009. № 4. С. 66-71. [Gritsenko V.A., Ivanov Yu.B. The role of persistent properties in the pathogenesis of endogenous infections. *Zhurnal mikrobiologii epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2009, no. 4, pp. 66-71. (In Russ.)]
4. Добрынина М.А., Зурочка В.А., Зурочка А.В., Гриценко В.А. Сравнительный анализ влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора – ZP2 на рост музейных культур бактерий родов *Staphylococcus* и *Escherichia in vitro* // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2015. № 2. С. 1-10 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-2/Articles/DMV-2015-2.pdf>. [Dobrynina M.A., Zurochka V.A.,

Zurochka A.V., Gritsenko V.A. Comparative analysis of the effect of a synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor – ZP2 on the growth of museum cultures of bacteria of the genera *Staphylococcus* and *Escherichia* *in vitro*. *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2015, no. 2, pp. 1-10. [Electronic resource]. Access mode: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-2/Articles/DMV-2015-2.pdf>.

5. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П., Гриценко В.А. Оценка влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора – ZP2 на рост и биопленкообразование клинических изолятов энтеробактерий *in vitro* // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2018. № 4. С. 1-17. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Tyapaeva Ya.V., Belozertseva Yu.P., Gritsenko V.A. Assessment of the effect of a synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor – ZP2 on the growth and biofilm formation of clinical isolates of enterobacteria *in vitro*. *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2018, no. 4, pp. 1-17. (In Russ.)]

6. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П., Мругова Т.М., Гриценко В.А. Антибактериальная активность косметического средства «Ацеграм» в отношении грамотрицательных бактерий // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2017. № 4. С. 1-13. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Tyapaeva Ya.V., Belozertseva Yu.P., Mrugova T.M., Gritsenko V.A. Antibacterial activity of the cosmetic product “Acegram” against gram-negative bacteria. *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2017, no. 4, pp. 1-13. (In Russ.)]

7. Зурочка А.В., Гриценко В.А., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зуева Е.Б. Влияние синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 на кинетику развития популяций грамположительных кокков и энтеробактерий в культуре // Российский иммунологический журнал, 2015. Т. 9 (18), № 2. С. 30-35. [Zurochka A.V., Gritsenko V.A., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B. Effect of the synthetic peptide of the active center of GM-CSF – ZP2 on the kinetics of the development of populations of gram-positive cocci and enterobacteria in culture. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2015, Vol. 9 (18), no. 2, pp. 30-35. (In Russ.)]

8. Зурочка В.А., Зурочка А.В., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Гриценко В.А., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П. Анализ чувствительности клинических изолятов стафилококков к синтетическому пептиду активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) // Российский иммунологический журнал, 2015. Т. 9 (18), № 3 (1). С. 82-85. [Zurochka V.A., Zurochka A.V., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Gritsenko V.A., Tyapaeva Ya.V., Belozertseva Yu.P. Sensitivity analysis of clinical staphylococcal isolates to a synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2015, Vol. 9 (18), no. 3 (1), pp. 82-85. (In Russ.)]

9. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Зуева Е.Б., Добрынина М.А., Дукардт В.В., Гриценко В.А. Синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) как основа для создания косметических средств нового поколения с комбинированными эффектами – АЦЕГРАМ-ГЕЛЬ и АЦЕГРАМ-СПРЕЙ // Российский иммунологический журнал, 2016. Т. 10 (19), № 3. С. 269-272. [Zurochka A.V., Zurochka V.A., Zueva E.B., Dobrynina M.A., Dukardt V.V., Gritsenko V.A. Synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) as a basis for the creation of new generation cosmetics with combined effects – ACEGRAM-GEL and ACEGRAM-SPRAY. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2016, Vol. 10 (19), no. 3, pp. 269-272. (In Russ.)]

10. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Дукардт В.В., Гриценко В.А., Тяпаева Я.В., Черешнев В.А. Феномен наличия уникальной комбинации иммунобиологических свойств у синтетического аналога активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2016. № 2. 30 с. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/ZAV-2016-2.pdf> [Zurochka A.V., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Dukardt V.V., Gritsenko V.A., Tyapaeva Ya.V., Chereshnev V.A. The phenomenon of a unique combination of immunobiological properties in a synthetic analogue of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2016, no. 2. 30 p. [Electronic resource]. Access mode: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/ZAV-2016-2.pdf>.

11. Зурочка А.В., Суховой Ю.Г., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Петров С.А., Унгер И.Г., Костоломова Е.Г. Способ повышения бактерицидной активности // Патент РФ на изобретение № 2448725. Опубликовано 27.04.2012. Бюл. № 12. [Zurochka A.V., Sukhovey Yu.G., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Petrov S.A., Unger I.G., Kostolomova E.G. Method for increasing bactericidal activity. RF patent for invention No. 2448725. Published on April 27, 2012. Bul. No. 12].

12. Иванов Д.В., Крапивина И.В., Галева Е.В. Нозокомиальные инфекции: эпидемиология, патогенез, этиология, антибактериальная терапия и профилактика // Антибиотики и химиотерапия, 2005. Т. 50, № 12. С. 19-28. [Ivanov D.V., Krapiyina I.V., Galeva E.V. Nosocomial infections: epidemiology, pathogenesis, etiology, antibiotic therapy and prevention. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*, 2005, Vol. 50, no. 12, p. 19-28. (In Russ.)]

13. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с. [Lakin G.F. Biometrics]. Moscow: Higher school, 1990. 352 p.
14. МР 02.032-08. Идентификация микроорганизмов и определение их чувствительности к антибиотикам с применением автоматического микробиологического анализатора VITEK 2 Compact. Методические рекомендации. М., 2008. [MR 02.032-08. Identification of microorganisms and determination of their sensitivity to antibiotics using the automatic microbiological analyzer VITEK 2 Compact. Guidelines]. Moscow, 2008.
15. Мругова Т.М., Качалова И.В. Особенности таксономической структуры и резистентности к антибиотикам микрофлоры, изолированной от больных в многопрофильном хирургическом стационаре // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2016. № 2. 12 с. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/MTM-2016-2.pdf> [Mrugova T.M., Kachalova I.V. Features of the taxonomic structure and antibiotic resistance of microflora isolated from patients in a multidisciplinary surgical hospital. *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2016, no. 2. 12 p. [Electronic resource]. Access mode: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/MTM-2016-2.pdf>.
16. Приказ МЗ СССР от 22 апреля 1985 г. № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». М., 1989. 126 с. [Order of the Ministry of Health of the USSR of April 22, 1985. No. 535 "On the unification of microbiological (bacteriological) research methods used in clinical diagnostic laboratories of medical institutions".] Moscow, 1989. 126 p.
17. Трухачева Н.В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 220 с. Trukhacheva N.V. Mathematical statistics in biomedical research using the Statistica package]. Moscow: GEOTAR-Media, 2013. 220 p.
18. Шлегель Г. Общая микробиология. М.: Мир, 1987. 567 с. [Schlegel G. General Microbiology]. Moscow: Mir, 1987. 567 p.
19. Brogden K.A. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat. Rev. Microbiol.*, 2005, no. 3, pp. 238-250.
20. Finlay B.B., Hancock R.E.W. Can innate immunity be enhanced to treat microbial infections? *Nat. Rev. Microbiol.*, 2004, no. 2, pp. 497-504.
21. Leopold S. J., van Leth F., Tarekegn H., Schults C. Antimicrobial drug resistance among clinically relevant bacterial isolates in sub-saharan africa: a systematic review. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2014, Vol. 69., no. 9, pp. 2337-2353.
22. Spellberg B., Guidos R., Gilbert D., Bradley J., Boucher H.W., Scheld W.M., Bartlett J.G., Edwards J. Jr, Infectious Diseases Society of America. The epidemic of antibiotic-resistant infections: a call to action for the medical community from the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.*, 2008, Vol. 46, pp. 155-164.
23. Vasilchenko A.S., Vasilchenko A.V., Pashkova T.M., Smirnova M.P., Kolodkin N.I., Manukhov I.V., Zavlitsky G.B., Sizova E.A., Kartashova O.L., Simbirtsev A.S., Rogozhin E.A., Duskaev G.K., Sycheva M.V. Antimicrobial activity of the indolicidin-derived novel synthetic peptide In-58. *J. Pept. Sci.*, 2017, Vol. 23, pp. 855-863.
24. Walsh C. Where will new antibiotics come from? *Nat. Rev. Microbiol.*, 2003, Vol. 1, no. 1, pp. 65-70.
25. WHO: First ever list of antibiotic-resistant "priority pathogens". GENEVA, 2017. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed>.

---

**Авторы:**

**Зурочка А.В.** — д.м.н., профессор кафедры пищевых и биотехнологий ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет» (национальный исследовательский университет), г. Челябинск; ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

**Добрынина М.А.** — младший научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

**Authors:**

**Zurochka A.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Food and Biotechnology, South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk; Chief Research Associate, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

**Dobrynina M.A.**, Junior Research Associate, Laboratory of Immunology of Inflammation, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

**Зурочка В.А.** — д.м.н., профессор кафедры пищевых и биотехнологий, ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет» (национальный исследовательский университет), г. Челябинск; старший научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

**Гриценко В.А.** — д.м.н., профессор, заведующий лабораторией ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук (Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН), г. Оренбург, Россия

**Zurochka V.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Food and Biotechnology, South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk; Senior Research Associate, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

**Gritsenko V.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences (Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UrB RAS), Orenburg, Russian Federation

---

Поступила 29.08.2020  
Принята к печати 07.09.2020

Received 29.08.2020  
Accepted 07.09.2020

# ЭФФЕКТЫ ВЛИЯНИЙ АГОНИСТА NOD1 И NOD2 – ПОЛИМУРАМИЛА И АГОНИСТА NOD2 – ГЛЮКОЗАМИНИЛМУРАМИЛДИПЕПТИДА НА ФЕНОТИП СУБПОПУЛЯЦИЙ CD64<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>-</sup>, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup> НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ

Нестерова И.В.<sup>1,2</sup>, Чудилова Г.А.<sup>1</sup>, Павленко В.Н.<sup>1</sup>, Ковалева С.В.<sup>1</sup>, Тараканов В.А.<sup>1</sup>, Барова Н.К.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия

**Резюме.** Антимикробная активность нейтрофильных гранулоцитов (НГ) основана на эффективном распознавании и устранении микробных патогенов, а также на сложных внутриклеточных сигнальных трансдукторных путях, связывающих эти процессы друг с другом. Дисфункция НГ приводит к возникновению нетипично протекающих инфекционно-воспалительных заболеваний, трудно поддающихся лечению с использованием стандартных приемов, что требует новых векторных подходов, направленных как на восстановление нормального функционирования НГ, так и на преодоление антибиотикорезистентности. Определенный интерес с нашей точки зрения представляет агонист NOD1 и NOD2 – полимурамил и агонист NOD2 – глюкозаминилмурамилдипептид. Целью исследования явилось сравнительное изучение особенностей влияний субстанций агониста NOD1 и NOD2 – полимурамила и агониста NOD2 – глюкозаминилмурамилдипептида на фенотип субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов CD64<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>-</sup>, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup> в системе *in vitro*.

Исследовано 64 образца периферической крови (ПК) 8 условно здоровых детей (4 мальчика и 4 девочек) в возрасте от 3 до 9 лет. Методом проточной цитометрии (FC 500, Beckman Coulter, США) оценивали поверхностные мембранные рецепторы НГ CD64, CD16, CD32, CD11b, CD62L, CD63 с МККАТ (Beckman Coulter International S.A., Франция) по параметрам: количество НГ (%), экспрессируемых рецепторов, плотность экспрессии рецептора по интенсивности флуоресценции (MFI). Оценка проведена: на интактных НГ ПК условно здоровых детей (группа сравнения); после инкубации НГ ПК с пролимуромилом (в концентрации 10<sup>-6</sup> г/л); после инкубации НГ ПК с глюко-

## Адрес для переписки:

Нестерова Ирина Вадимовна  
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ  
117513, Россия, Москва, Ленинский пр., 123, корп. 1, кв. 593.  
Тел.: 8 (916) 187-73-41.  
E-mail: inesterova1@yandex.ru

## Address for correspondence:

Nesterova Irina V.  
Kuban State Medical University  
117513, Russian Federation, Moscow, Leninsky ave, 123, bldg 1, apt 593.  
Phone: 7 (916) 187-73-41.  
E-mail: inesterova1@yandex.ru

## Образец цитирования:

И.В. Нестерова, Г.А. Чудилова, В.Н. Павленко, С.В. Ковалева, В.А. Тараканов, Н.К. Барова «Эффекты влияний агониста NOD1 и NOD2 – полимурамила и агониста NOD2 – глюкозаминилмурамилдипептида на фенотип субпопуляций CD64<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>-</sup>, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup> нейтрофильных гранулоцитов» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 4. С. 411-418. doi: 10.46235/1028-7221-455-EON  
© Нестерова И.В. и соавт., 2020

## For citation:

I.V. Nesterova, G.A. Chudilova, V.N. Pavlenko, S.V. Kovaleva, V.A. Tarakanov, N.K. Barova "Effects of NOD1 and NOD2 agonists polymuramyl as well as NOD2 agonist glucosaminylmuramyl dipeptide on phenotype of neutrophil granulocyte CD64<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>-</sup>, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup> subsets", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 4, pp. 411-418. doi: 10.46235/1028-7221-455-EON  
DOI: 10.46235/1028-7221-455-EON

заминилмурамилдипептидом (ГМДП) (в концентрации  $10^{-6}$  г/л). Инкубирование проводили в течение 60 минут при температуре 37 °С. Сопоставительный анализ различий в рецепторном оснащении субпопуляций CD64<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ и CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>-</sup>НГ, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>НГ свидетельствует о позитивной трансформации активационных характеристик циркулирующих НГ под влиянием субстанций агониста NOD1 и NOD2 – полимурамила и агониста NOD2 – ГМДП. При этом выявлены их сходные эффекты разной степени интенсивности, проявляющиеся в увеличении количества НГ субпопуляции CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>НГ с повышенным уровнем экспрессии CD16 и сниженным CD62L и различия, проявляющиеся значимым повышением экспрессии поверхностных мембранных молекул CD16 и CD11b субпопуляции CD64<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ на НГ условно здоровых детей под влиянием полимурамила и повышением экспрессии CD32 поверхностных мембранных молекул под влиянием ГМДП.

*Ключевые слова:* нейтрофильные гранулоциты, субпопуляции, полимурамил, глюкозаминилмурамилдипептид, агонист NOD1, NOD2

## EFFECTS OF NOD1 AND NOD2 AGONISTS POLYMURAMYL AS WELL AS NOD2 AGONIST GLUCOSAMINYLMURAMYLDIPEPTIDE ON PHENOTYPE OF NEUTROPHILE GRANULOCYTE CD64<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>-</sup>, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup> SUBSETS

Nesterova I.V.<sup>a, b</sup>, Chudilova G.A.<sup>a</sup>, Pavlenko V.N.<sup>a</sup>, Kovaleva S.V.<sup>a</sup>,  
Tarakanov V.A.<sup>a</sup>, Barova N.K.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

<sup>b</sup> Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** Antimicrobial activity of neutrophilic granulocytes (NG) is based on effective recognition and elimination of microbial pathogens, as well as on complex intracellular signal transduction pathways interconnecting these processes. NG dysfunction leads to emergence of atypical infectious and inflammatory diseases recalcitrant to standard interventions, which requires new vector platforms aimed at restoring normal NG functioning and overcoming antibiotic resistance. Moreover, we emphasize about special interest paid to the NOD1 and NOD2 agonist polymuramyl and NOD2 agonist glucosaminylmuramyldipeptide. Objective of the study was to compare effects triggered by NOD1 and NOD2 agonist polymuramyl and NOD2 agonist glucosaminylmuramyldipeptide on phenotype of neutrophilic granulocyte subsets CD64<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>-</sup>, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup> in the *in vitro* system. 64 samples of peripheral blood (PB) collected from 8 apparently healthy children (4 boys and 4 girls) aged 3 to 9 years were examined by flow cytometry (FC 500, Beckman Coulter, USA) assessing NG surface receptors CD64, CD16, CD32, CD11b, CD62L, CD63 with MonAb (Beckman Coulter International S. A., France) by analyzing NG number (%) expressing receptors examined, density of receptor expression measured as mean fluorescence intensity (MFI). For this, there were assessed intact peripheral blood NG from apparently healthy children (comparison group) as well as those exposed to polymuramyl (PM) (at concentration of  $10^{-6}$  g/l) or glucosaminylmuramyl-dipeptide (GMDP) (at concentration of  $10^{-6}$  g/l) for 60 minutes at 37 °C temperature. Comparative analysis of surface receptor expression was performed on CD64<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>-</sup> and CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup> NG subsets that suggested about positive transformation of activation parameters in circulating NG exposed to NOD1 and NOD2 agonist polymuramyl as well as NOD2 agonist glucosaminylmuramyldipeptide. At the same time, similar effects of varying intensity were revealed manifested as increased count of NG subsets CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup> bearing increased level of CD16 and reduced CD62L expression, as well as differences uncovered as significantly increased expression of surface membrane molecules CD16 and CD11b in CD64<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> NG subset from apparently healthy children exposed to polymuramyl as well as increased surface CD32 expression after incubation with GMDP.

*Keywords:* neutrophilic granulocytes, subpopulation, polymuramyl, glucosaminilmuramyldipeptide agonist, NOD1, NOD2

## Введение

Нейтрофильные гранулоциты (НГ) обеспечивают первую линию защиты от многих микробов, что необходимо для поддержания иммунного гомеостаза, а также для защиты от распространенных инфекций. Дисфункция НГ приводит к возникновению нетипично протекающих инфекционно-воспалительных заболеваний, трудно поддающихся лечению с использованием стандартных приемов в рамках клинических рекомендаций МЗ РФ [1]. С другой стороны, возникновение нетипично протекающих инфекционно-воспалительных заболеваний, трудно поддающихся стандартной терапии, связано с всевозрастающей частотой проявлений антибиотикорезистентности. С нашей точки зрения, решение этих сложных проблем требует разработки новых подходов, направленных как на восстановление нормального функционирования субпопуляций НГ, так и на преодоление антибиотикорезистентности.

В последние 15 лет внимание исследователей привлекает изучение врожденных распознающих NOD1 и NOD2 внутриклеточных рецепторов. NOD-белки – нуклеотид-связывающие олигомеризующие доменные (nucleotide-binding oligomerization domain) белки, которые функционируют в цитоплазме клеток и способны распознавать пептидогликан клеточной стенки фагоцитированных и живых бактерий. Следует подчеркнуть, что в большинстве случаев эти исследования выполнены на моделях *in vitro*. Показано, что NOD1 распознает большое количество грамотрицательных бактерий, в то время как NOD2 распознает как грамотрицательные, так и грамположительные бактерии. Полученные данные свидетельствуют, что NOD1 и NOD2 играют значительную роль в формировании противомикробного иммунного ответа [10].

Мурамилпептиды (МДП) – фрагменты пептидогликана бактериальной стенки, которые взаимодействуют с рецепторами NOD1 и NOD2. NOD1 распознает фрагменты пептидогликана грамотрицательных бактерий, содержащие остаток мезо-диаминопимелиновой кислоты, тогда как NOD2 распознает МДП – минимальный иммунологически активный фрагмент пептидогликана всех бактерий [3, 6].

Данные о присутствии NOD1 и NOD2 в цитоплазме НГ противоречивы. Исследуя NOD1 и NOD2 в цитоплазме НГ здоровых доноров в системе *in vitro*, Anna-Karin Ekman and Lars Olaf Cardell (2010) показали отсутствие NOD1 и присутствие NOD2. Так, в изолированных НГ после их стимуляции лигандом NOD1 –  $\gamma$ -D-glutamyl-meso-diaminopimelic acid – экспрессии NOD1 выявлено не было. При стимуляции НГ лигандом

NOD2 – MurNAc-L-Ala-D-isoGln (МДП) методом ПЦР реального времени, была установлена экспрессия NOD2, которая сопровождалась повышением активности IL-8, снижением экспрессии мембранного CD62 и повышением экспрессии маркера активации НГ мембранного CD11b, усилением миграционной активности [5].

Не так давно получены новые данные, свидетельствующие о присутствии в цитоплазме НГ, как NOD2, так и NOD1 внутриклеточных рецепторов, доказана их роль в формировании нейтрофильных экстрацеллюлярных сетей (NET) при инфицировании тканей пародонта *Fusobacterium nucleatum* [2].

В Российской Федерации разработаны 2 оригинальных фармацевтических препарата на основе мурамилдипептидов: Полимурамил и Ликопид. Полимурамил – препарат природного происхождения, в состав которого входит стандартизованная и полностью охарактеризованная композиция трех мурамилпептидных фрагментов пептидогликана клеточной стенки грамотрицательных бактерий (*Salmonella typhi*). Полимурамил способен воздействовать на две синергичные рецепторно-сигнальные системы (NOD1 и NOD2). Компоненты препарата содержат остаток мезо-диаминопимелиновой кислоты, из-за наличия которой Полимурамил является не только агонистом внутриклеточных рецепторов NOD2, но и лигандом цитозольных рецепторов NOD1 [4].

Другим представителем мурамилдипептидов (МДП) является полусинтетический препарат Ликопид – глюкозаминилмурамилдипептид (ГМДП) – N-ацетилглюкозаминил-N-ацетилмурамил-L-аланин-D-изоглютамин, который входит в состав пептидогликана клеточной стенки всех известных бактерий. Ликопид содержит в высокой концентрации ГМДП и свободен от примесей, которые могут вызвать побочные реакции. ГМДП связывается с внутриклеточным рецептором NOD2, что приводит к активации NOD2-сигнального пути и выработке широкого спектра провоспалительных цитокинов [8]. Таким образом, Полимурамил является мощным агонистом внутриклеточных рецепторов NOD1 и NOD2, тогда как ГМДП активирует только NOD2.

В последние годы активно изучаются субпопуляции НГ и трансформационные особенности их фенотипа при различных иммунозависимых заболеваниях. Особый интерес представляют функционально значимые субпопуляции НГ – CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>-</sup>, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>, экспрессирующие рецепторы, отвечающие за эффекторные функции НГ: Fc $\gamma$ R (CD16, CD32, CD64) – рецепторы к

иммуноглобулину G и CR3 (CD11b) – рецептор к компоненту комплемента. Лигирование этих рецепторов зависит от уровня их экспрессии и может запускать фагоцитоз, антителозависимую клеточную цитотоксичность, дегрануляцию и NETOS. В свою очередь CD62L и CD63 рецепторы регулируют активацию подвижности и адгезии НГ, а также процессы дегрануляции [7, 9]. С негативной трансформацией фенотипа субпопуляций НГ, ассоциированной с нарушением их микробицидной активности, связывают возникновение нетипично протекающих инфекционно-воспалительных заболеваний. С нашей точки зрения, определенный интерес представляет сравнительное изучение эффектов влияния агониста NOD1 и NOD2 – полимурамила и агониста NOD2 – глюкозаминилмурамилдипептида на фенотип функционально значимых субпопуляций НГ, поскольку до настоящего времени в доступной нам литературе такие данные не найдены.

**Целью исследования** явилось сравнительное изучение особенностей влияния субстанций агониста NOD1 и NOD2 – полимурамила и агониста NOD2 – глюкозаминилмурамилдипептида на фенотип субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>-</sup>, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup> в системе *in vitro*.

## Материалы и методы

Исследовано 64 образца периферической крови (ПК) 8 условно здоровых детей (4 мальчиков и 4 девочек) в возрасте от 3 до 9 лет.

Методом множественной проточной цитометрии (FC 500, Beckman Coulter, США) оценивали уровень экспрессии поверхностных мембранных рецепторов НГ CD64, CD16, CD32, CD11b, CD62L, CD63 с использованием конъюгатов МКАТ CD-64-FITC, CD16-ECD, CD32-PE, CD11b-PC5, CD62L-FITC, CD16-PE, CD63-ECD (Beckman Coulter International S.A., Франция) по следующим параметрам: количество НГ (%), экспрессирующихся изучаемые мембранные рецепторы, интенсивность флуоресценции рецепторов – MFI, отражающая плотность экспрессии рецептора на клеточной мембране. Оценка изучаемых рецепторов по указанным параметрам проведена: 1) на интактных НГ ПК условно здоровых детей (группа сравнения); 2) после инкубации НГ ПК с пролимурамилом (ПМ) – фрагментами пептидогликана клеточной стенки грамотрицательных бактерий *Salmonella typhi* штамм Ту-2 №4446 – (в конечной концентрации 10<sup>-6</sup> г/л) 3) после инкубации НГ ПК с глюкозаминилмурамилдипептидом, N-ацетилглюкозаминил-N-ацетилмурамоил-аланил-D-изоглутамином (ГМДП)

(в концентрации 10<sup>-6</sup> г/л). Во всех экспериментах инкубирование проводили в течение 60 минут при температуре 37°C.

У всех законных представителей детей было получено информированное согласие на участие в исследовании и забор крови согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013).

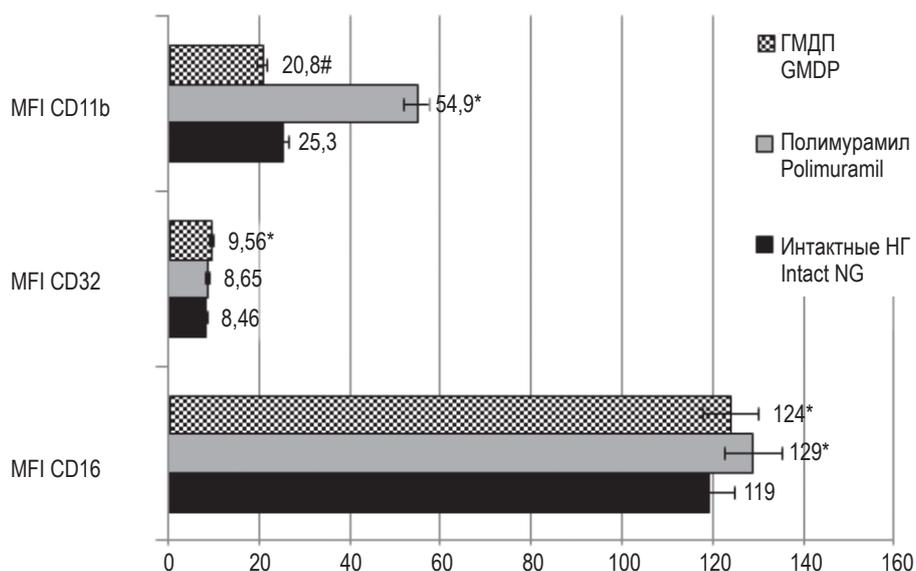
Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием компьютерных программ Microsoft Excel 2016 и StatPlus 2010. Использовали методы непараметрической статистики: результаты представляли в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q<sub>0,25</sub>–Q<sub>0,75</sub>). Для установления значимости различий между количественными показателями независимых групп использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Статистически значимые различия определяли при  $p < 0,05$ .

## Результаты

Анализ полученных данных продемонстрировал, что НГ ПК условно здоровых детей в 90,55 (94,31; 98,40)% случаев представлены функционально значимой субпопуляцией НГ CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> с высоким уровнем интенсивности флуоресценции MFI CD16 – 119,0 (102,0–121,0) и MFI CD32 – 8,46 (7,15–8,76) и средний MFI CD11b – 25,3 (21,66–30,43).

Установлено, что ПМ в системе *in vitro* не влияет на количество НГ субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>, содержание которых составляет 92,92 (89,38–96,79) % ( $p > 0,05$ ). В то же время под влиянием ПМ происходит изменение фенотипических характеристик субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ: возрастает плотность экспрессии поверхностного мембранного рецептора CD16 по MFI со 119 (102–121) в группе сравнения до 129 (120–178) в группе исследования 1 ( $p < 0,05$ ); статистически значимо возрастает MFI CD11b – более чем в 2,4 раза, до 54,9 (51,4–55,0) против 25,3 (21,66–30,43) в группе сравнения ( $p < 0,05$ ). При этом плотность экспрессии поверхностного мембранного рецептора CD32 по MFI под влиянием ПМ не изменяется ( $p \geq 0,05$ ) (рис. 1).

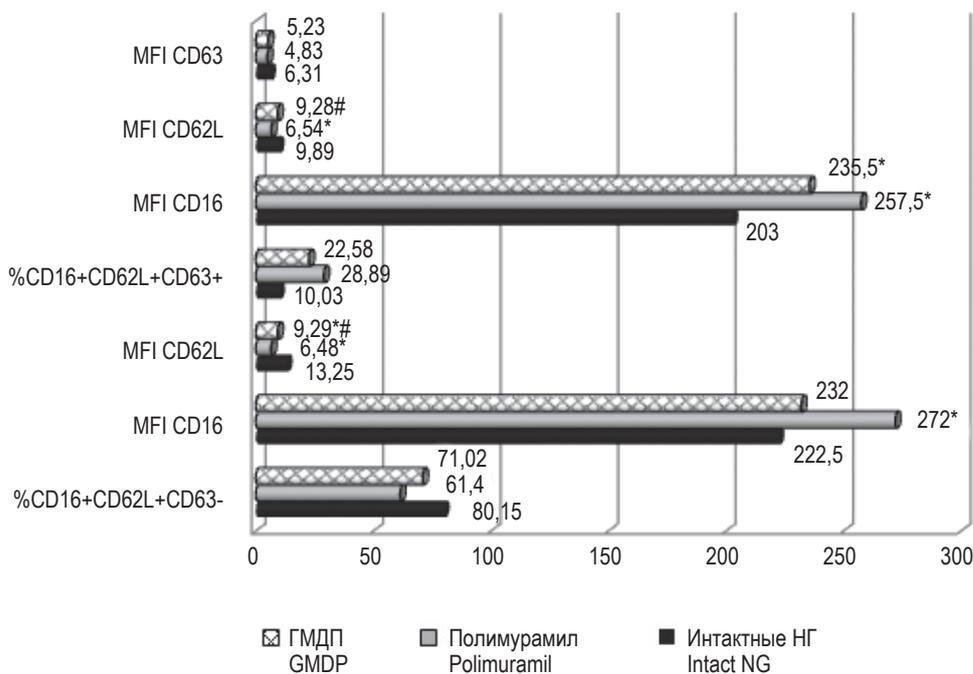
Показано, что ГМДП в системе *in vitro* также не влияет на количество НГ субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>, достигая 92,31 (88,73–94,71)% ( $p > 0,05$ ). При этом под влиянием ГМДП иначе изменяются фенотипические характеристики субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ: статистически значимо возрастает только плотность экспрессии поверхностного мембранного рецептора CD32 по MFI



**Рисунок 1. Эффекты Полимурамила и ГМДП на фенотип субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> нейтрофильных гранулоцитов**

Примечание. \* – значимые различия от показателей группы сравнения (интактные НГ),  $p < 0,05$ ; # – значимые различия между показателями исследуемых групп,  $p < 0,05$ .

Figure 1. Effects of Polimuramil and GMDP on the phenotype of the CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> neutrophilic granulocyte subset  
Note. \*, significant differences from the indicators of the comparison group (intact NG),  $p < 0.05$ ; #, significant differences between the indicators of the studied groups,  $p < 0.05$ .



**Рисунок 2. Эффекты Полимурамила и ГМДП на количество и фенотип субпопуляций CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>-</sup> нейтрофильных гранулоцитов**

Примечание. См. примечание к рисунку 1.

Figure 2. Effects of Polimuramil and GMDP on the number and phenotype of subsets CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>-</sup> neutrophilic granulocytes

Note. As for Figure 1.

с 8,45 (7,15-8,76) в группе сравнения до 9,56 (8,9-10,3) в группе исследования 2 ( $p < 0,05$ ). При этом плотность экспрессии поверхностных мембранных молекул CD16 и CD11b под влиянием ГМДП значимо не отличается от показателей группы сравнения ( $p_1 > 0,05$ ;  $p_2 > 0,05$ ).

Сравнительный анализ эффектов влияний ПМ и ГМДП продемонстрировал, что ПМ, связываясь с внутриклеточными рецепторами NOD1 и NOD2, статистически значимо повышает экспрессию поверхностных мембранных молекул субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ CD16 и CD11b на НГ условно здоровых детей и не влияет на плотность экспрессии молекулы CD32. В отличие от ПМ, ГМДП, связываясь с внутриклеточным рецептором NOD2, статистически значимо повышает экспрессию поверхностной мембранной молекулы CD32 на НГ субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ и не влияет на плотность экспрессии поверхностных мембранных молекул CD16 и CD11b.

При тестировании фенотипа субпопуляций CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>-</sup>, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup> в группе сравнения получены следующие данные: выявлено наличие субпопуляций НГ CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>-</sup> в 80,15 (35,52-86,7) % случаев и CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup> в 10,03 (6,14-59,19) % случаев (рис. 2).

Под влиянием ПМ выявлена тенденция к снижению количества НГ субпопуляции CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>-</sup>НГ. Так, количество НГ CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>-</sup>НГ снизилось до 61,4 (34,56-81,82) % против такового в группе сравнения – 80,15 (35,52-86,7) % ( $p < 0,05$ ). Отмечена трансформация фенотипических особенностей субпопуляции CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>-</sup>НГ: под влиянием ПМ возросла плотность экспрессии поверхностной мембранной молекулы CD16 по MFI – до 272,0 (255-302,75) по сравнению с группой сравнения – 222,5 (192,75-239,5) ( $p < 0,05$ ). В то же время плотность экспрессии CD62L уменьшилась более чем в 2 раза – до 6,48 (6,13-7,53) по отношению к группе сравнения 13,25 (10,8-14,58) ( $p < 0,05$ ).

ГМДП умеренно влиял на количество НГ субпопуляции CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>-</sup>НГ, которое снизилось и достигло 71,02 (22,99-75,66) % против такового – 80,15 (35,52-86,7) % в группе сравнения ( $p > 0,05$ ). Отмечены фенотипические особенности трансформации субпопуляции CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>-</sup>НГ: под влиянием ГМДП статистически достоверно снизилась плотность экспрессии поверхностной мембранной молекулы CD62L по MFI с 13,25 (10,8-14,58) до воздействия ГМДП до 9,28 (8,9-10,03) после воздействия ( $p < 0,05$ ). При этом плотность экспрессии

поверхностной мембранной молекулы CD16 под влиянием ГМДП не изменялась ( $p > 0,05$ ).

Сравнивая эффекты влияний ПМ и ГМДП, следует подчеркнуть, что ПМ, связываясь с внутриклеточными рецепторами NOD1 и NOD2, статистически значимо изменяет экспрессию поверхностных мембранных молекул CD16 и CD62L субпопуляции CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>-</sup>НГ у условно здоровых детей, статистически значимо повышая уровень экспрессии CD16 и снижая уровень экспрессии CD62L ( $p_1 < 0,05$ ;  $p_2 < 0,05$ ). В отличие от ПМ, ГМДП, связываясь с внутриклеточным рецептором NOD2, статистически значимо снижает плотность экспрессируемых молекул CD62L, но в меньшей степени, чем ПМ ( $p_1 < 0,05$ ;  $p_2 < 0,05$ ), и, в отличие от ПМ, не влияет на уровень экспрессии CD16 ( $p > 0,05$ ) (рис. 2).

Под влиянием ПМ выявлена выраженная тенденция к повышению количества НГ субпопуляции CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>НГ. Так, количество НГ субпопуляции CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>НГ с 10,03 (6,14-59,19) % в группе сравнения повысилось до 28,89 (15,73-69,65) % ( $p > 0,05$ ). Отмечена трансформация фенотипа субпопуляции CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>НГ: под влиянием ПМ увеличилась плотность экспрессии поверхностной мембранной молекулы CD16 по MFI – до 257,5 (237-275,75) по сравнению с группой сравнения – 203 (191,25-220) ( $p < 0,05$ ). В то же время плотность экспрессии CD62L статистически значимо уменьшилась до 6,5 (6,26-6,81) по отношению к группе сравнения 9,89 (8,85-11,6) ( $p < 0,05$ ). При этом плотность экспрессии CD63 по MFI под влиянием ПМ не менялась ( $p > 0,05$ ).

ГМДП умеренно повышает количество НГ субпопуляции CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>НГ, которое достигает 22,58 (16,3-62,65) % против такового в группе сравнения – 10,03 (6,14-59,19) ( $p > 0,05$ ). Отмечена трансформация фенотипа субпопуляции CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>НГ: под влиянием ГМДП статистически значимо повысилась плотность экспрессии поверхностной мембранной молекулы CD16 по MFI с 203 (191,25-220) до 235,5 (226-247,25) ( $p < 0,05$ ). При этом плотность экспрессии поверхностных мембранных молекул CD62L и CD63 под влиянием ГМДП не менялась ( $p_1 > 0,05$ ;  $p_2 > 0,05$ ).

Сравнивая эффекты влияний ПМ и ГМДП, следует подчеркнуть, что выявлены сходные эффекты их влияний на НГ субпопуляции CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>НГ, количество которых увеличилось более чем в 2 раза. ПМ, связываясь с внутриклеточными рецепторами NOD1 и NOD2, статистически значимо изменяет экспрессию поверхностных мембранных молекул CD16 и CD62L субпопуляции CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup> на НГ условно здоровых детей, статистически значи-

мо повышая уровень экспрессии CD16 и снижая уровень экспрессии CD62L ( $p_1 < 0,05$ ;  $p_2 < 0,05$ ). ГМДП, связываясь с внутриклеточным рецептором NOD2, статистически значимо повысил плотность экспрессируемых молекул CD16, но в меньшей степени, чем ПМ ( $p_1 < 0,05$ ;  $p_2 < 0,05$ ), и, в отличие от ПМ, не влиял на уровень экспрессии CD62L ( $p > 0,05$ ). При этом плотность экспрессии CD63 по MFI под влиянием ГМДП также не менялась ( $p > 0,05$ ).

## Заключение

Проведенное экспериментальное исследование в системе *in vitro* продемонстрировало неоднозначность дифференцированных эффектов влияний субстанций агониста NOD1 и NOD2 — полимурамила и агониста NOD2 — ГМДП на фенотипические характеристики функционально значимых субпопуляций НГ условно здоровых детей. Сравнительный анализ сходства и различий в фенотипических изменениях субпопуляций CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ и CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>НГ, CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>НГ свидетельствует о неоднозначной позитивной трансформации фенотипических характеристик функционально значимых субпопуляций НГ периферической крови условно здоровых детей под влиянием субстанций агониста NOD1 и NOD2 — полимурамила и агониста NOD2 — ГМДП. Сходные эффекты разной степени выраженности проявляются в тенденции к снижению «сторожевой» субпопуляции CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>НГ, с парал-

ельным увеличением количества НГ активированной субпопуляции CD16<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>НГ, активация которой сопровождается повышением уровня экспрессии CD16, снижением плотности экспрессии CD62L и появлением большего количества НГ, способных к дегрануляции за счет экспрессии CD63. Установленные различия проявляются в значимом повышении экспрессии поверхностных мембранных молекул CD16 и CD11b субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ у условно здоровых детей под влиянием полимурамила, при отсутствии влияния на экспрессию CD32, в то время как под влиянием ГМДП, наоборот, возникло повышение экспрессии поверхностной мембранной молекулы CD32 при полном отсутствии изменений экспрессии поверхностных мембранных молекул CD16 и CD11b субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ.

Полученные данные о неоднозначных эффектах влияний на функционально значимые субпопуляции НГ условно здоровых детей агониста NOD1 и NOD2 — полимурамила и агониста NOD2 — глюкозаминилмурамилдипептида, свидетельствуют об иммунопротективных эффектах обеих субстанций, повышающих микробицидную активность субпопуляций НГ. При этом направленность иммунопротекции должна напрямую зависеть от негативной трансформации фенотипа функционально-значимых субпопуляций НГ, который может быть ассоциирован с недостаточной экспрессией того или иного активационного маркера.

## Список литературы / References

1. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Евлевский А.А., Нгуен Т.З.Л. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм (часть 2) // Инфекция и иммунитет, 2018. Т. 8, № 1. С. 7-18. [Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Chudilova G.A., Lomtadidze L.V., Kovaleva S.V., Evlevsky A.A., Nguyen T.Z.L. A new look at neutrophilic granulocytes: rethinking old dogmas (Part 2). *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2018, Vol. 8, no. 1, pp. 7-18. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2018-1-7-18.
2. Alyami H.M., Finoti L.S., Teixeira H.S., Aljefri A., Kinane D.F., Benakanakere M.R. Role of NOD1/NOD2 receptors in *Fusobacterium nucleatum* mediated NETosis. *Microb. Pathog.*, 2019, Vol. 131, pp. 53-64.
3. Chamaillard M., Hashimoto M., Horie Y., Masumoto J., Qiu S., Saab L., Ogura Y., Kawasaki A., Fukase K., Kusumoto Sh., Valvano M.A., Foster S.J., Mak T.W., Nuñez G., Inohara N. An essential role for NOD1 in host recognition of bacterial peptidoglycan containing diaminopimelic acid. *Nat. Immunol.*, 2003, Vol. 4, no. 7, pp. 702-707.
4. Dagil Y.A., Arbatsky N.P., Pashenkov M.V., Alkhozova B.I., Lvov V.L., Mazurov D.V. The dual NOD1/NOD2 Agonism of muropeptides containing a meso-diaminopimelic acid residue. *PLoS ONE*, 2016, Vol. 11, no. 8, e0160784. doi: 10.1371/journal.pone.0160784.
5. Ekman A.-K., Cardell L.O. The expression and function of Nod-like receptors in neutrophils. *Immunology*, 2010, Vol. 130, no. 1, pp. 55-63.
6. Girardin S.E., Boneca I.G., Viala J., Chamaillard M., Labigne A., Thomas G., Philpott D.J., Sansonetti P.J. Nod2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection. *J. Biol. Chem.*, 2003, Vol. 278, no. 11, pp. 8869-8872.

7. Mastej K., Adamiec R. Neutrophil surface expression of CD11b and CD62L in diabetic microangiopathy. *Acta Diabetol.*, 2008, Vol. 45, no. 3, pp. 183-190.
8. Meshcheryakova E., Makarov E., Philpott D., Andronova T., Ivanov V. Evidence for correlation between the intensities of adjuvant effects and NOD2 activation by monomeric, dimeric and lipophylic derivatives of N-acetylglucosaminy N-acetylmuramyl peptides. *Vaccine*, 2007, Vol. 25, no. 23, pp. 4515-4520.
9. Metelitsa L.S., Gillies S.D., Super M., Shimada H., Reynolds C.P., Seeger R.C. Antidisialoganglioside/ granulocyte macrophage-colony-stimulating factor fusion protein facilitates neutrophil antibody-dependent cellular cytotoxicity and depends on FcγRII (CD32) and Mac-1 (CD11b/CD18) for enhanced effector cell adhesion and azurophil granule exocytosis. *Blood*, 2002, Vol. 99, no. 11, pp. 4166-4173.
10. Moreira L.O., Zamboni D.S. NOD1 and NOD2 signaling in infection and inflammation. *Front. Immunol.*, 2012, Vol. 3, 328. doi: 10.3389/fimmu.2012.00328.

**Авторы:**

**Нестерова И.В.** — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела клинической и экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар; профессор кафедры аллергологии и иммунологии ФПК МР Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия

**Чудилова Г.А.** — к.б.н., доцент, заведующая отделом клинической и экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

**Павленко В.Н.** — аспирант кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

**Ковалева С.В.** — к.м.н., доцент, старший научный сотрудник отдела клинической и экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

**Тараканов В.А.** — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой хирургических болезней детского возраста ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

**Барова Н.К.** — к.м.н., ассистент кафедры хирургических болезней детского возраста ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

**Authors:**

**Nesterova I.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Research Associate, Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology, Central Research Laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar; Professor, Department of Allergology and Immunology, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

**Chudilova G.A.**, PhD (Biology), Associate Professor, Head, Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology, Central Research Laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

**Pavlenko V.N.**, Postgraduate Student, Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

**Kovaleva S.V.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Senior Research Associate, Department of Clinical Experimental Immunology and Molecular Biology, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

**Tarakanov V.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Surgical Diseases of Childhood, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

**Barova N.K.**, PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Surgical Diseases of Childhood, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

## ОСОБЕННОСТИ ФЕНОТИПА В-ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ПРОЛЕЖНЯМИ

Борисов С.А.<sup>1,4</sup>, Савченко А.А.<sup>1</sup>, Каспаров Э.В.<sup>1</sup>, Фокин В.А.<sup>4</sup>,  
Маценко М.В.<sup>1,4</sup>, Кудрявцев И.В.<sup>2,3</sup>, Борисов А.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера – обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», г. Красноярск, Россия

<sup>2</sup> ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup> КГБУЗ «Красноярская межрайонная клиническая больница № 20 имени И.С. Берзона», г. Красноярск, Россия

**Резюме.** Пролежни в структуре внутрибольничных осложнений являются наиболее частой хирургической патологией. Несмотря на ведущую роль эффекта сдавления и обездвиживания в развитии заболевания, до сих пор не установлен единый механизм, который бы приводил к развитию пролежней. В этой связи изучение иммунной системы как основной, поддерживающей целостность анатомических барьеров кожи и слизистых, является весьма перспективным с целью разработки новых методов профилактики и лечения пролежней. Целью исследования явилось изучение фенотипического состава В-лимфоцитов периферической крови у больных пролежнями. Обследовано 67 больных хирургического отделения с осложнением в виде пролежней. Обследование пролежневых ран включало в себя определение локализации, исследование глубины (степени) и размера поражения (измерение площади раны), окраски кожных покровов с определением характера краев пролежня и их отечности, оценка дна, наличие полости, в которой могут быть видны сухожилия и/или костные образования, характеристика экссудата (наличие запаха, цвет), наличие боли. В качестве контроля был обследован 81 практически здоровый человек. Все группы обследуемых людей были сопоставимы по возрасту и полу. Фенотип В-лимфоцитов исследовали методом проточной цитометрии цельной периферической крови с использованием моноклональных антител. Установлено, что количество В-клеток на фоне увеличения общего числа лимфоцитов не изменяется, но выявляется снижение их активности (повышается содержание В-лимфоцитов, экспрессирующих CD23 и CD38). Кроме того, у больных пролежнями в периферической крови снижается содержание В1-клеток и наивных В2-лимфоцитов, что, по-видимому, связано с преморбидным фоном основного заболевания, отсутствием адекватного процесса заживления раны на фоне некроза тканей и повреждения капилляров кожи. Чем тяжелее клиническое течение пролежней (по площади и стадии развития), тем меньше количество В2-лимфоцитов (как наивных, так и В-клеток памяти) выявляется в периферической крови больных. При этом выявленные изменения фенотипического состава В-клеток у больных связаны с площадью повреждения,

### Адрес для переписки:

Кудрявцев Игорь Владимирович  
ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»  
197376, Россия, Санкт-Петербург,  
ул. Академика Павлова, 12.  
Тел.: 8 (812) 234-68-68.  
Факс: 8 (812) 234-94-89.  
E-mail: igorek1981@yandex.ru

### Address for correspondence:

Kudryavtsev Igor V.  
Institute of Experimental Medicine  
197376, Russian Federation, St. Petersburg,  
Acad. Pavlov str., 12.  
Phone: 7 (812) 234-68-68.  
Fax: 7 (812) 234-94-89.  
E-mail: igorek1981@yandex.ru

### Образец цитирования:

С.А. Борисов, А.А. Савченко, Э.В. Каспаров,  
В.А. Фокин, М.В. Маценко, И.В. Кудрявцев,  
А.Г. Борисов «Особенности фенотипа В-лимфоцитов  
крови у больных с пролежнями» // Российский  
иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 4. С. 419-428.  
doi: 10.46235/1028-7221-449-FOP  
© Борисов С.А. и соавт., 2020

### For citation:

S.A. Borisov, A.A. Savchenko, E.V. Kasparov, V.A. Fokin,  
M.V. Matsenko, I.V. Kudryavtsev, A.G. Borisov "Features  
of peripheral blood B cell phenotype in patients with pressure  
ulcers", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy  
Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 4, pp. 419-428.  
doi: 10.46235/1028-7221-449-FOP  
DOI: 10.46235/1028-7221-449-FOP

но не связаны со стадией развития пролежней, что свидетельствует о влиянии В-лимфоцитов на заживление пролежней. Особенности фенотипа В-лимфоцитов не влияют на неблагоприятный исход заболевания, о чем свидетельствует отсутствие различий в показателях как количественного состава, так и по уровню экспрессии активационных маркеров на поверхности В-клеток.

*Ключевые слова:* В-лимфоциты, фенотип, пролежни, степень тяжести, площадь поражения, исход заболевания

## FEATURES OF PERIPHERAL BLOOD B CELL PHENOTYPE IN PATIENTS WITH PRESSURE ULCERS

**Borisov S.A.<sup>a,d</sup>, Savchenko A.A.<sup>a</sup>, Kasparov E.V.<sup>a</sup>, Fokin V.A.<sup>d</sup>,  
Matsenko M.V.<sup>a,d</sup>, Kudryavtsev I.V.<sup>b,c</sup>, Borisov A.G.<sup>a</sup>**

<sup>a</sup> *Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation*

<sup>b</sup> *Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation*

<sup>c</sup> *First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation*

<sup>d</sup> *I. Berzon Krasnoyarsk Interdistrict Clinical Hospital No. 20, Krasnoyarsk, Russian Federation*

**Abstract.** Pressure ulcers represent most common surgical pathology in the pattern of nosocomial complications. However, no unified mechanism leading to development of pressure ulcers has been proposed yet despite the lead role played by compression and immobilization. In this regard, examining immune system as the main component maintaining integrity of anatomical barriers in the skin and mucous membranes seems highly promising for creating new methods to prevent and treat pressure ulcers. Our study was aimed at investigating phenotypic profile of peripheral blood B cells in patients with pressure ulcers. There were enrolled 67 patients complicated with pressure ulcers at the Department of Surgery. Examination of pressure ulcers included determining anatomical localization, investigating depth (degree) and size of the lesion (by measuring wound area), skin color and assessing nature of pressure ulcer edges and edema, wound bottom, presence of cavity with tendons and/or bone formations may be recognized therein, characteristics of exudate (smell, color), pain sensation. In control group there were included 81 apparently healthy subjects. All groups contained age- and sex-matched subjects. Phenotyping of peripheral blood B cells was performed by using flow cytometry with panel of monoclonal antibodies. It was found that count of B cells in patients did not change in parallel with increased total lymphocyte count, but was associated with their functional activity (increased percentage of CD23- and CD38-positive B cells). Moreover, percentage of B1 and naive B2 cells declined in patients with pressure ulcers that seemed to be associated with the premorbid background of the main disease, lack of adequate wound healing process coupled to tissue necrosis and damage to skin capillaries. The more severe the clinical course of pressure ulcers (regarding area and stage of development), the smaller percentage of B2 cells (both naive and memory B cell subsets) was detected in the patient peripheral blood. At the same time, changes in the B cell phenotypic profile from patients are associated with the area of lesion, but not with the stage of developing pressure ulcers evidencing that B cells affect healing of pressure ulcers. The features of B cell phenotype promote unfavorable disease outcome evidenced by the lack of quantitative differences in B cell lineage composition or level of surface expression for activation markers.

*Keywords:* B lymphocytes, phenotype, pressure ulcers, severity, lesion area, disease outcome

### Введение

Пролежни в структуре внутрибольничных осложнений являются наиболее частой хирургической патологией [2, 15]. Несмотря на ведущую роль эффекта сдавления и обездвиживания в развитии заболевания, нет единого механизма, который бы приводил к развитию пролежней [10]. В этой связи изучение иммунной системы как

основной, поддерживающей целостность анатомических барьеров кожи и слизистых, является весьма перспективным с целью разработки новых методов профилактики и лечения пролежней [1, 4, 5].

Важная роль в патогенезе пролежней принадлежит гуморальному звену иммунитета. В-лимфоциты и вырабатываемые ими антитела

являются основным механизмом адаптивного иммунитета, способного предотвратить внеклеточные инфекционные патогены и обеспечить поддержание нормальной микрофлоры. Нарушение синтеза антител, связанных с нарушением субпопуляционного состава, дифференцировки и созревание В-лимфоцитов не позволяет блокировать развитие бактериальных инфекций и, как следствие, способствуют развитию осложнений при пролежнях. Большая роль кожоассоциированной лимфоидной ткани принадлежит В1-лимфоцитам. Эти клетки представляют собой подкласс В-лимфоцитов находящиеся на периферии, действующих как антигенпрезентирующие и синтезирующие клетки. Они секретируют «естественный» Ig, в отсутствие специфической инфекции или вакцинации, обеспечивая быстрый адаптивный иммунный ответ и процессы регенерации [3, 6, 7].

Учитывая, что до конца не выяснены механизмы развития пролежней и при неблагоприятном развитии и исходе этого заболевания большое значение принадлежит бактериальной инфекции, целью исследования послужило изучение фенотипического состава В-лимфоцитов периферической крови больных пролежнями.

## Материалы и методы

На базе КГБУЗ «Красноярская межрайонная клиническая больница № 20 им И.С. Берзона» обследовано 67 больных хирургического отделения с осложнением в виде пролежней (33 мужчи-

ны и 34 женщины). Средний возраст пациентов составил 62 года (54-70 лет). Обследование пролежневых ран включало в себя определение локализации, исследование глубины (степени) и размера поражения (измерение площади раны), окраски кожных покровов с определением характера краев пролежня и их отечности, оценку дна, наличие полости, в которой могут быть видны сухожилия и/или костные образования, характеристику экссудата (наличие запаха, цвет), наличие боли. Оценку развития пролежневого процесса проводили согласно ГОСТ Р 56819-2015, с определением стадий пролежней согласно международным рекомендациям NPUAP/ EPUAP [11, 20]. Обобщая данные площади (до и более 5 см) и степени тяжести пролежней (1-2-я и 3-4-я степени) были выделены 4 группы больных: группа А – площадь до 5 см, степень тяжести 1-2; группа В – площадь более 5 см, степень тяжести 1-2, группа С – площадь до 5 см, степень тяжести 3-4, группа D – площадь более 5 см, степень тяжести 3-4. Степень тяжести больных определяли по шкале SAPSII [18]. Наличие и степень полиорганной недостаточности по шкале SOFA [25]. Оценка синдрома системной воспалительной реакции (SIRS) по критериям ACCP/SCCM [9].

В качестве контроля был обследован 81 практически здоровый человек. Все группы обследуемых людей были сопоставимы по возрасту и полу.

Фенотип В-лимфоцитов исследовали методом проточной цитометрии из цельной периферической крови с использованием моноклональных антител (Beckman Coulter, USA), меченных

ТАБЛИЦА 1. ФЕНОТИП В-ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ПРОЛЕЖНЯМИ (Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

TABLE 1. PHENOTYPE OF BLOOD B LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH PRESSURE ULCERS (Me, Q<sub>0,25</sub>- Q<sub>0,75</sub>)

Показатели Parameters	Контроль Control n = 81	Больные Patients n = 67	p
Лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л Lymphocytes, 10 <sup>9</sup> /l	2,02 1,51-2,55	2,91 1,76-4,73	< 0,001
CD19 <sup>+</sup> , %	12,9 9,6-16,1	8,6 6,0-12,4	
CD19 <sup>+</sup> CD23 <sup>+</sup> , %	11,4 7,3-14,9	5,6 3,4-8,4	< 0,001
CD19 <sup>+</sup> CD38 <sup>+</sup> , %	7,5 6,1-8,1	2,4 0,6-7,0	< 0,001
CD19 <sup>+</sup> CD5 <sup>+</sup> , %	1,8 1,3-4,7	0,5 0,3-1,2	< 0,001
CD19 <sup>+</sup> CD5 <sup>-</sup>	11,1 8,6-19,3	7,5 4,3-9,3	< 0,001
CD19 <sup>+</sup> CD27 <sup>-</sup>	10,4 7,7-18,1	6,6 4,9-8,5	< 0,001
CD19 <sup>+</sup> CD27 <sup>+</sup> , %	2,9 2,1-5,4	1,1 0,5-2,8	< 0,001

**ТАБЛИЦА 2. ОСОБЕННОСТИ ФЕНОТИПА В-ЛИМФОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНОЙ ПЛОЩАДЬЮ ПРОЛЕЖНЕЙ (Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

**TABLE 2. FEATURES OF THE B LYMPHOCYTE PHENOTYPE IN PATIENTS WITH DIFFERENT AREA OF PRESSURE ULCERS (Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

Показатели Parameters	Контроль Control n = 81 1	Площадь пролежней до 5 см <sup>2</sup> Pressure ulcers are to 5 cm <sup>2</sup> n = 51 2	Площадь пролежней более 5 см <sup>2</sup> Pressure ulcers are more than 5 cm <sup>2</sup> n = 16 3
Лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л Lymphocytes, 10 <sup>9</sup> /l	2,02 1,51-2,55	3,54 2,17-4,82 p <sub>1</sub> < 0,001	1,78 1,30-2,41 p <sub>1</sub> < 0,001
CD19 <sup>+</sup> , %	12,9 9,6-16,1	9,1 7,1-13,6	6,0 3,8-10,1 p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> = 0,008
CD19 <sup>+</sup> CD23 <sup>+</sup> , %	11,4 7,3-14,9	6,9 4,3-9,3 p <sub>1</sub> < 0,001	4,5 2,5-7,6 p <sub>1</sub> < 0,001
CD19 <sup>+</sup> CD38 <sup>+</sup> , %	7,5 6,1-8,1	5,2 1,5-11,2 p <sub>1</sub> = 0,004	1,5 0,5-2,4 p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> = 0,049
CD19 <sup>+</sup> CD5 <sup>+</sup> , %	1,8 1,3-4,7	0,5 0,2-1,4 p <sub>1</sub> < 0,001	0,5 0,3-1,2 p <sub>1</sub> < 0,001
CD19 <sup>+</sup> CD5 <sup>-</sup>	11,1 8,6-19,3	8,8 4,1-10,7 p <sub>1</sub> = 0,004	5,7 1,5-7,7 p <sub>1</sub> < 0,001
CD19 <sup>+</sup> CD27 <sup>-</sup>	10,4 7,7-18,1	8,9 6,8-10,8	4,5 2,0-6,9 p <sub>1,2</sub> < 0,001
CD19 <sup>+</sup> CD27 <sup>+</sup> , %	2,9 2,1-5,4	1,5 0,5-3,9	0,6 0,6-0,9 p <sub>1</sub> < 0,001

Примечание. p<sub>1</sub> – статистически значимые различия с показателями контрольной группы; p<sub>2</sub> – -/- с показателями больных с размерами пролежней до 5 см<sup>2</sup>.

Note. p<sub>1</sub>, statistically significant differences with the control group; p<sub>2</sub>, -/- with indicators of patients with pressure injuries up to 5 cm<sup>2</sup>.

FITC (fluorescein isothiocyanate), PE или RD1 (phycoerythrin), ECD (phycoerythrin-Texas Red-X), PC5 (phycoerythrin-cyanin 5) и PC7 (phycoerythrin-cyanin 7) в следующей панели: CD5-FITC/CD23-PE/CD19-ECD/CD45-PC5/CD27-PC7. Пробоподготовку осуществляли по стандартной методике в соответствии с рекомендациями Хайдукова С.В. и соавт. [8]. Анализ окрашенных клеток проведен на проточном цитофлуориметре Navios™ (Beckman Coulter, США) на базе ФИЦ КНЦ СО РАН. В каждой пробе анализировали не менее 50 000 лимфоцитов.

Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с

Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2013 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (Q<sub>0,25</sub> и Q<sub>0,75</sub>). Достоверность различий между показателями оценивали по непараметрическому критерию Манна–Уитни. Статистический анализ осуществ-

ТАБЛИЦА 3. ФЕНОТИП В-ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ПРОЛЕЖНЯМИ РАЗЛИЧНОЙ СТАДИИ (Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

TABLE 3. PHENOTYPE OF B LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH PRESSURE ULCERS OF VARIOUS STAGES (Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Показатели Parameters	Контроль Control n = 81 1	Стадия 12 Stage 2 n = 51 2	Стадия 34 Stage 3 n = 16 3
Лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л Lymphocytes, 10 <sup>9</sup> /l	2,02 1,51-2,55	3,44 2,40-4,75 p <sub>1</sub> < 0,001	1,83 1,44-3,72 p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> = 0,022
CD19 <sup>+</sup> , %	12,9 9,6-16,1	9,1 6,4-14,0	8,4 5,9-10,3 p <sub>1</sub> < 0,001
CD19 <sup>+</sup> CD23 <sup>+</sup> , %	11,4 7,3-14,9	6,4 4,3-9,9 p <sub>1</sub> < 0,001	5,6 3,5-9,0 p <sub>1</sub> < 0,001
CD19 <sup>+</sup> CD38 <sup>+</sup> , %	7,5 6,1-8,1	5,2 2,5-14,7 p <sub>1</sub> = 0,004	2,2 0,9-5,1 p <sub>1</sub> = 0,007
CD19 <sup>+</sup> CD5 <sup>+</sup> , %	1,8 1,3-4,7	0,5 0,2-1,2 p <sub>1</sub> = 0,003	0,5 0,3-1,2 p <sub>1</sub> < 0,001
CD19 <sup>+</sup> CD5 <sup>-</sup>	11,1 8,6-19,3	7,1 5,08-10,85 p <sub>1</sub> = 0,011	7,8 5,5-10,8 p <sub>1</sub> < 0,001
CD19 <sup>+</sup> CD27 <sup>-</sup>	10,4 7,7-18,1	6,3 3,8-8,9 p <sub>1</sub> = 0,010	6,9 4,0-9,2 p <sub>1</sub> < 0,001
CD19 <sup>+</sup> CD27 <sup>+</sup> , %	2,9 2,1-5,4	1,3 0,5-2,2 p <sub>1</sub> = 0,023	0,9 0,6-3,4 p <sub>1</sub> = 0,012

Примечание. p<sub>1</sub> – статистически значимые различия с показателями контрольной группы; p<sub>2</sub> – -/- с показателями больных со стадией пролежни 12.

Note. p<sub>1</sub>, statistically significant differences with the control group; p<sub>2</sub>, -/- with indicators of patients with a stage of pressure injuries 12.

вляли в пакете прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., 2007).

## Результаты

При исследовании содержания В-лимфоцитов у больных с пролежнями выявлено снижение относительного числа В-клеток (табл. 1). Однако при перерасчете абсолютного числа В-лимфоцитов статистически значимые изменения отсутствуют (у больных с пролежнями число В-клеток составляет  $0,25 \times 10^9$  клеток/л, в контрольной группе –  $0,26 \times 10^9$  клеток/л). Активность В-лимфоцитов у больных с пролежнями понижена, о чем свидетельствует снижение числа клеток, экспрессирующих рецептор CD23 и CD38. Обнаружено понижение количества В1- (CD19<sup>+</sup>CD5<sup>+</sup>) и В2- (CD19<sup>+</sup>CD5<sup>-</sup>) лимфоцитов, а

также наивных (CD19<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup>) и В-клеток памяти (CD19<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>).

Значительный интерес представляет определение особенностей фенотипа В-лимфоцитов у больных с различными клиническими вариантами. Так, в зависимости от площади пролежневой раны, показатели В-клеток имеют большие различия (табл. 2). Если по сравнению с контролем показатели В-лимфоцитов у больных с малой площадью повреждения практически не отличаются, то у больных с раневой поверхностью 5 см<sup>2</sup> и выше выявлены выраженные изменения. Определяется снижение общего количества В-лимфоцитов за счет популяции В2-клеток, наивных В-лимфоцитов и В-клеток памяти. Кроме того, установлено понижение содержания В-лимфоцитов, экспрессирующих активацион-

ТАБЛИЦА 4. ФЕНОТИП В-ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ПРОЛЕЖНЯМИ РАЗЛИЧНЫХ ГРУПП (Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

TABLE 4. PHENOTYPE OF BLOOD B LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH PRESSURE ULCERS OF VARIOUS GROUPS

(Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Показатель Parameters	Контроль Control n = 81 1	Группа А Group A n = 35 2	Группа В Group B n = 16 3	Группа С Group C n = 8 4	Группа D Group D n = 8 4
Лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л Lymphocytes, 10 <sup>9</sup> /l	2,02 1,51-2,55	3,89 2,84-4,95 p <sub>1</sub> < 0,001	2,37 1,75-4,77 p <sub>1</sub> = 0,049	2,32 1,57-2,54 p <sub>2</sub> = 0,006	1,32 1,30-1,90 p <sub>1</sub> = 0,048 p <sub>2</sub> < 0,001 p <sub>3</sub> = 0,011
CD19 <sup>+</sup> , %	12,9 9,6-16,1	9,8 7,4-16,4 p <sub>1</sub> = 0,011	8,6 7,0-10,1 p <sub>1</sub> < 0,001	6,2 3,8-9,3 p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> = 0,028	5,9 4,3-10,7 p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> = 0,048
CD19 <sup>+</sup> CD23 <sup>+</sup> , %	11,4 7,3-14,9	7,4 5,3-8,1 p <sub>1</sub> < 0,001	7,0 4,5-9,2 p <sub>1</sub> < 0,001	4,5 1,2-6,9 p <sub>1</sub> < 0,001	3,5 1,5-6,6 p <sub>1</sub> = 0,004
CD19 <sup>+</sup> CD38 <sup>+</sup> , %	7,5 6,1-8,1	8,2 5,9-15,6	6,2 3,5-9,0 p <sub>1</sub> = 0,032	4,5 2,5-7,3 p <sub>1</sub> = 0,021 p <sub>2</sub> = 0,004	1,1 0,7-1,9 p <sub>1</sub> = 0,029 p <sub>2</sub> < 0,001
CD19 <sup>+</sup> CD5 <sup>+</sup> , %	1,8 1,3-4,7	0,5 0,2-1,5 p <sub>1</sub> = 0,038	0,6 0,3-1,0 p <sub>1</sub> = 0,011	0,7 0,2-4,2	0,5 0,3-1,2 p <sub>1</sub> = 0,022
CD19 <sup>+</sup> CD5 <sup>-</sup>	11,1 8,6-19,3	8,1 5,1-15,5	7,8 4,2-10,2 p <sub>1</sub> = 0,009	4,9 1,9-6,9 p <sub>1</sub> = 0,023	4,7 1,7-5,3 p <sub>1</sub> = 0,005 p <sub>2</sub> = 0,007
CD19 <sup>+</sup> CD27 <sup>-</sup>	10,4 7,7-18,1	7,3 5,8-14,4	5,3 2,7-7,7 p <sub>1</sub> = 0,002	4,3 1,8-6,9 p <sub>1</sub> = 0,019	4,0 0,3-5,2 p <sub>1</sub> = 0,006 p <sub>2</sub> = 0,003
CD19 <sup>+</sup> CD27 <sup>+</sup> , %	2,9 2,1-5,4	1,3 0,5-3,9	2,5 0,8-4,6	1,2 0,3-3,2	0,6 0,6-2,9 p <sub>1</sub> = 0,005

Примечание. p<sub>1</sub> – статистически значимые различия с показателями контрольной группы; p<sub>2</sub> – -/- с показателями больных с пролежнями группы А; p<sub>3</sub> – -/- с показателями больных с пролежнями группы В.

Note. p<sub>1</sub>, statistically significant differences with the control group; p<sub>2</sub>, -/- with indicators of patients with pressure ulcers of group A; p<sub>3</sub>, -/- with indicators of patients with pressure ulcers of group B.

ные маркеры (CD23 и CD38), что свидетельствует о неадекватной работе В-клеточного звена иммунитета.

В зависимости от стадии развития пролежней, несмотря на резкое снижение общего пула лимфоцитов, различий показателей В-клеточного иммунитета не обнаружено (табл. 3).

При распределении больных пролежнями с учетом площади и степени тяжести параметры В-клеток обнаружены значительные изменения (табл. 4). При тяжелом течении пролежней (большая площадь и степень тяжести 3 и более) выявляется снижение как общего числа лимфоцитов,

так и относительного уровня В-лимфоцитов. При этом снижение происходит за счет популяции В2-клеток (CD19<sup>+</sup>CD5<sup>-</sup>) и их наивных форм (CD19<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup>). Следует отметить, что в этой группе также установлено резкое снижение функциональной активности В-лимфоцитов. В группе больных с наименьшей тяжестью течения пролежней (площадь пролежней менее 5 см<sup>2</sup> и степень тяжести 2 и менее) количественные показатели В-лимфоцитов практически не отличались от показателей контрольной группы. Относительное снижение количества В-лимфоцитов компенсировалось увеличением в этой группе

**ТАБЛИЦА 5. ФЕНОТИП В-ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ПРОЛЕЖНЯМИ С РАЗЛИЧНЫМ ИСХОДОМ ЗАБОЛЕВАНИЯ (Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

TABLE 5. PHENOTYPE OF B LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH PRESSURE ULCERS WITH DIFFERENT OUTCOMES (Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Показатели Parameters	Контроль Control n = 81 1	Благоприятный исход Favorable outcome n = 60 2	Неблагоприятный исход Adverse outcome n = 7 3
Лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л Lymphocytes, 10 <sup>9</sup> /l	2,02 1,51-2,55	3,24 2,01-4,74 p <sub>1</sub> < 0,001	0,99 0,30-1,75 p <sub>1</sub> = 0,016 p <sub>2</sub> = 0,002
CD19 <sup>+</sup> , %	12,9 9,6-16,1	8,6 6,2-12,6	8,2 5,7-12,3 p <sub>1</sub> = 0,014
CD19 <sup>+</sup> CD23 <sup>+</sup> , %	11,4 7,3-14,9	6,6 0,4-7,0 p <sub>1</sub> < 0,001	4,6 0,3-6,2 p <sub>1</sub> < 0,001
CD19 <sup>+</sup> CD38 <sup>+</sup> , %	7,5 6,1-8,1	3,5 0,6-7,3 p <sub>1</sub> < 0,001	2,4 1,2-4,5 p <sub>1</sub> < 0,001
CD19 <sup>+</sup> CD5 <sup>+</sup> , %	1,8 1,3-4,7	0,5 0,3-1,2 p <sub>1</sub> < 0,001	0,6 0,3-1,4 p <sub>1</sub> < 0,001
CD19 <sup>+</sup> CD5 <sup>-</sup>	11,1 8,6-19,3	7,5 5,3-9,3 p <sub>1</sub> < 0,001	7,6 6,0-10,0 p <sub>1</sub> < 0,001
CD19 <sup>+</sup> CD27 <sup>-</sup>	10,4 7,7-18,1	6,6 4,9-8,5 p <sub>1</sub> = 0,008	5,9 4,5-9,4 p <sub>1</sub> < 0,001
CD19 <sup>+</sup> CD27 <sup>+</sup> , %	2,9 2,1-5,4	1,1 0,5-2,8 p <sub>1</sub> < 0,001	1,0 0,5-2,5 p <sub>1</sub> < 0,001

Примечание. p<sub>1</sub> – статистически значимые различия с показателями контрольной группы; p<sub>2</sub> – -/- с показателями больных с пролежнями с благоприятным исходом.

Note. p<sub>1</sub>, statistically significant differences with the control group; p<sub>2</sub>, -/- with indicators of patients with pressure ulcers with a favorable outcome.

абсолютным числом лимфоцитов. Однако функциональная активность В-лимфоцитов была нарушена, о чем свидетельствует снижение активированных В-лимфоцитов (CD19<sup>+</sup>CD23<sup>+</sup>).

Важным является оценка влияния содержания В-лимфоцитов на неблагоприятный исход у больных с пролежнями. Проведенное сравнение показателей В-лимфоцитов больных с пролежнями с благоприятным и неблагоприятным исходом не выявил статистически значимых отличий (табл. 5).

## Обсуждение

С патофизиологической точки зрения пролежни являются заболеваниями, этиопатогенез которых определяется нарушением кожного по-

крова под воздействием механического воздействия [4, 10, 15]. Однако не у всех больных развиваются пролежни, поэтому выявление факторов, влияющих на развитие пролежней, является актуальным. Одной из функций иммунной системы является поддержка целостности анатомических барьеров кожи и слизистых. В-лимфоциты – одна из ведущих популяций клеток, помимо продукции антител они продуцируют цитокины и экзосомы, являются антигенпрезентирующими клетками, в некоторых случаях обладают супрессивным действием [7, 16, 26]. Поэтому, учитывая отсутствие исследований этой популяции клеток при пролежнях, мы исследовали особенности фенотипического состава В-лимфоцитов периферической крови у больных пролежнями.

Роль В-лимфоцитов в воспалительных заболеваниях кожи хорошо известна. При инфекционно-воспалительных заболеваниях количество их обычно повышается, и это связано со стимуляцией выработки IgM, IgE и IgG [13, 17, 22]. В1-лимфоциты продуцируют аллерген-специфические антитела уже в первый день после повреждения на структуры кожи с образованием иммунных комплексов и активацией каскадных механизмов комплемента. Это в итоге приводит к привлечению Т-клеток к пораженному участку и формированию гиперчувствительности замедленного типа в коже [23, 24]. Наши исследования популяции В-лимфоцитов при пролежнях показали, что количество В-клеток на фоне увеличения общего числа лимфоцитов не изменяется, однако выявлено снижение их активности. Такие выводы нам позволило сделать изучение экспрессии на В-лимфоцитах CD23- и CD38-антигенов. CD23-антиген является лектином С-типа, низкоаффинным рецептором IgE, а также участвует в процессе регуляции антительной обратной связи [19]. CD38 циклическая ридозо-гидролаза АДФ, катализирует синтез цАДФ-рибозы, обеспечивающий энергетический обмен клетки [21]. Обнаружено снижение популяций В1- и наивных В2-лимфоцитов. Это, вероятно, связано с преморбидным фоном основного заболевания, отсутствием адекватного процесса

заживления раны на фоне некроза тканей и повреждения капилляров [12, 14, 27]. Нами установлено, что чем тяжелее клиническое течение пролежней (по площади и стадии развития), тем меньшее количество В2-лимфоцитов (как наивных, так и В-клеток памяти) выявляется в периферической крови больных. При этом данные изменения в количестве В-клеток у больных связаны с площадью повреждения, но не связаны со стадией развития пролежней, что свидетельствует о влиянии В-лимфоцитов на заживление пролежней. Это подтверждает и изучение популяций В-лимфоцитов в группах с различным исходом заболевания. Нами не выявлено статистически значимых изменений в группах с благоприятным и неблагоприятным исходом.

Таким образом, проведенные исследования В-лимфоцитов у больных пролежнями свидетельствуют об активной роли этих клеток в формировании развития пролежней именно на стадии заживления. При этом формирование фенотипического состава В-лимфоцитов не влияет на неблагоприятный исход заболевания, о чем свидетельствует отсутствие различий в показателях как количественного состава, так и по уровню экспрессии активационных маркеров на поверхности В-клеток.

## Список литературы / References

1. Борисов А.Г. Клиническая характеристика нарушения функции иммунной системы // Медицинская иммунология, 2013. Т. 15, № 1. С. 45-50. [Borisov A.G. Clinical characterization of functional disorders affecting immune system. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2013, Vol. 15, no. 1, pp. 45-50. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2013-1-45-50.
2. Борисов А.Г., Савченко А.А., Соколовская В.К. Заболеваемость, связанная с нарушениями функции иммунной системы (на примере Красноярского края) // Здравоохранение Российской Федерации, 2014. Т. 58, № 6. С. 38-41. [Borisov A.G., Savchenko A.A., Sokolovskaya V.K. Morbidity associated with dysfunctions of the immune system (on the example of the Krasnoyarsk Territory). *Zdravookhranenie Rossiyskoy Federatsii = Health Care of the Russian Federation*, 2014, Vol. 58, no. 6, pp. 38-41. (In Russ.)]
3. Борисов А.Г., Савченко А.А., Черданцев Д.В., Здзитовецкий Д.Э., Первова О.В., Кудрявцев И.В., Беленюк В.Д., Шапкина В.А. Типы иммунного реагирования при распространенном гнойном перитоните // Хирургия им. Н.И. Пирогова, 2016. № 9. С. 28-34. [Borisov A.G., Savchenko A.A., Cherdantsev D.V., Zdzitovetsky D.E., Pervova O.V., Kudryavtsev I.V., Belenyuk V.D., Shapkina V.A. Types of immune response in advanced suppurative peritonitis. *Khirurgiya. Zhurnal imeni N.I. Pirogova = Pirogov Russian Journal of Surgery*, 2016, no. 9, pp. 28-34. (In Russ.)]
4. Борисов С.А., Савченко А.А., Каспаров Э.В., Маценко М.В., Кудрявцев И.В. Типы иммунного реагирования при пролежнях // Российский иммунологический журнал, 2019. Т. 13 (22), № 4. С. 1432-1434. [Borisov S.A., Savchenko A.A., Kasparov E.V., Matsenko M.V., Kudryavtsev I.V. Types of immune response in pressure ulcers. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2019, Vol. 13 (22), no. 4, pp. 1432-1434. (In Russ.)]
5. Борисов С.А., Каспаров Э.В., Маценко М.В. Клинико-иммунологические аспекты развития пролежней // Современные проблемы науки и образования, 2017. № 5. С. 111-121. [Borisov S.A., Kasparov E.V., Matsenko M.V. Clinical and immunological aspects of the development of pressure ulcers. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*, 2017, no. 5, pp. 111-121. (In Russ.)]
6. Савченко А.А., Борисов А.Г., Здзитовецкий Д.Э., Лузан Н.А. Особенности состояния клеточного и гуморального иммунитета у больных распространенным гнойным перитонитом // Бюллетень Восточно-сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, 2012. № 3

(85). Ч. 2. С.159-163. [Savchenko A.A., Borisov A.G., Zdzitovetsky D.E., Luzan N.A. Features of the state of cellular and humoral immunity in patients with widespread purulent peritonitis. *Byulleten Vostochno-sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk.* = *Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2012, no. 3 (85), Pt. 2, pp. 159-163. (In Russ.)]

7. Савченко А.А., Каспаров Э.В., Арутюнян С.С., Борисов А.Г., Кудрявцев И.В., Мошев А.В. Фенотипический состав В-лимфоцитов у женщин с хроническим эндометритом и аднекситом // *Медицинская иммунология*, 2016. Т. 18, № 4. С. 379-384. [Savchenko A.A., Kasparov E.V., Arutyunyan S.S., Borisov A.G., Kudryavtsev I.V., Moshev A.V. Phenotypic profile of B-lymphocytes in women with chronic endometritis and adnexitis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2016, Vol. 18, no. 4, pp. 379-384. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2016-4-379-384.

8. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян Арег А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» (Проект) // *Медицинская иммунология*, 2012. Т. 14, № 3. С. 255-268. [Khaydukov S.V., Baydun L.A., Zurochka A.V., Totolian Areg A. Standardized technology “Research of lymphocytes subpopulation composition in peripheral blood using flow cytometry analyzers” (Draft). *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, Vol. 14, no. 3, pp. 255-268. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2012-3-255-268.

9. Bone R.S., Balk R.A.B., Cerra F.B. American college of Chest Physicians. Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guide lines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit. Care Med.*, 1992, Vol. 20, no. 6, pp. 864-874.

10. Coleman S., Nixon J., Keen J., Wilson L., McGinnis E., Dealey C., Stubbs N., Farrin A., Dowding D., Schols J.M., Cuddigan J., Berlowitz D., Jude E., Vowden P., Schoonhoven L., Bader D.L., Gefen A., Oomens C.W., Nelson E.A. A new pressure ulcer conceptual framework. *J. Adv. Nurs.*, 2014, Vol. 70, no. 10, pp. 2222-2234.

11. Edsberg L.E., Black J.M., Goldberg M., McNichol L., Moore L., Sieggreen M. Revised national pressure ulcer advisory panel pressure injury staging system: revised pressure injury staging system. *J. Wound Ostomy Continence Nurs.*, 2016, Vol. 43, no. 6, pp. 585-597.

12. Fonder M.A., Lazarus G.S., Cowan D.A., Aronson-Cook B., Kohli A.R., Mamelak A.J. Treating the chronic wound: a practical approach to the care of nonhealing wounds and wound care dressings. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 2008, Vol. 58, pp. 185-206.

13. Geiger B., Wenzel J., Hantschke M., Haase I., Stander S., von Stebut E. Resolving lesions in human cutaneous leishmaniasis predominantly harbour chemokine receptor CXCR3-positive T helper 1/T cytotoxic type 1 cells. *Br. J. Dermatol.*, 2010, Vol. 162, pp. 870-874.

14. Goldman R. Growth factors and chronic wound healing: past, present, and future. *Adv. Skin Wound Care*, 2004, Vol. 17, pp. 24-35.

15. Jaul E., Barron J., Rosenzweig J.P., Menczel J. An overview of co-morbidities and the development of pressure ulcers among older adults. *BMC Geriatr.*, 2018, Vol. 18, no. 1, pp. 305.

16. Kato T., Fahrman J.F., Hanash S.M., Vykoukal J. Extracellular vesicles mediate B cell immune response and are a potential target for cancer therapy. *Cells*, 2020, Vol. 9, no. 6, 1518. doi: 10.3390/cells9061518.

17. Lafyatis R., Kissin E., York M., Farina G., Viger K., Fritzler M.J., Merkel P.A., Simms R.W. B cell depletion with rituximab in patients with diffuse cutaneous systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.*, 2009, Vol. 60, pp. 578-583.

18. le Gall J.-R., Lemeshow S., Saulnier F. A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. *JAMA*, 1993, Vol. 270, pp. 2957-2963.

19. Lima J., Cambridge G., Vilas-Boas A., Martins C., Borrego L.M., Leandro M. Serum markers of B-cell activation in pregnancy during late gestation, delivery, and the postpartum period. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2019, Vol. 81, no. 3, e13090. doi: 10.1111/aji.13090.

20. National Pressure Ulcer Advisory Panel 2019 Award Recipients. *Adv. Skin Wound Care*, 2019, Vol. 32, Iss. 6, p. 252.

21. Romero-Ramírez H., Morales-Guadarrama M.T., Pelayo R., López-Santiago R., Santos-Argumedo L. CD38 expression in early B-cell precursors contributes to extracellular signal-regulated kinase-mediated apoptosis. *Immunology*, 2015, Vol. 144, no. 2, pp. 271-281.

22. Simon D., Hosli S., Kostylina G., Yawalkar N., Simon H.U. Anti-CD20 (rituximab) treatment improves atopic eczema. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2008, Vol. 121, pp. 122-128.

23. Szczepanik M., Akahira-Azuma M., Bryniarski K., Tsuji R.F., Kawikova I., Ptak W., Kiener C., Campos R.A., Askenase P.W. B-1 B cells mediate required early T cell recruitment to elicit protein-induced delayed-type hypersensitivity. *J. Immunol.*, 2003, Vol. 171, pp. 6225-6235.

24. Tsuji R.F., Szczepanik M., Kawikova I., Paliwal V., Campos R.A., Itakura A., Akahira-Azuma M., Baumgarth N., Herzenberg L.A., Askenase P.W. B cell-dependent T cell responses: IgM antibodies are required to elicit contact sensitivity. *J. Exp. Med.*, 2002, Vol. 196, 1277-1290.

25. Vincent J.L., Moreno R., Takala J., Willatts S., De Mendonça A., Bruining H., Reinhart C.K., Suter P.M., Thijs L.G. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med.*, 1996, Vol. 22, no. 7, pp. 707-710.

26. Wang Y., Liu J., Burrows P.D., Wang J.Y. B cell development and maturation. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2020, Vol. 1254, pp. 1-22.

27. Zhao R., Liang H., Clarke E., Jackson C., Xue M.J. Inflammation in chronic wounds. *Int. J. Mol. Sci.*, 2016, Vol. 17, 2085. doi: 10.3390/ijms17122085.

**Авторы:**

**Борисов С.А.** — аспирант лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“»; КГБУЗ «Красноярская межрайонная клиническая больница № 20 имени И.С. Берзона», г. Красноярск, Россия

**Савченко А.А.** — д.м.н., профессор, руководитель лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», г. Красноярск, Россия

**Каспаров Э.В.** — д.м.н., профессор, директор Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера — обособленного подразделения ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», г. Красноярск, Россия

**Фокин В.А.** — врач КГБУЗ «Красноярская межрайонная клиническая больница № 20 имени И.С. Берзона», г. Красноярск, Россия

**Маценко М.В.** — аспирант лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», г. Красноярск, Россия

**Кудрявцев И.В.** — к.б.н., старший научный сотрудник отдела иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург; доцент кафедры иммунологии, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Борисов А.Г.** — к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера», г. Красноярск, Россия

**Authors:**

**Borisov S.A.**, Postgraduate Student, Laboratory of Cellular and Molecular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; I. Berzon Krasnoyarsk Interdistrict Clinical Hospital No. 20, Krasnoyarsk, Russian Federation

**Savchenko A.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Cellular and Molecular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

**Kasparov E.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Director, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

**Fokin V.A.**, Physician, I. Berzon Krasnoyarsk Interdistrict Clinical Hospital No. 20, Krasnoyarsk, Russian Federation

**Matsenko M.V.**, Postgraduate Student, Laboratory of Cellular and Molecular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

**Kudryavtsev I.V.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg; Associate Professor, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

**Borisov A.G.**, PhD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Cellular and Molecular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

Поступила 05.08.2020  
Принята к печати 03.09.2020

Received 05.08.2020  
Accepted 03.09.2020

## ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ МАКРОФАГАЛЬНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ ПОСЛЕ SARS-CoV-2 ИНФИЦИРОВАНИЯ

Радаева О.А.<sup>1</sup>, Симбирцев А.С.<sup>2</sup>, Селезнева Н.М.<sup>1</sup>, Искандярова М.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева», г. Саранск, Республика Мордовия, Россия

<sup>2</sup> ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства России, Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** Понимание изменения цитокин-опосредованных звеньев иммунопатогенеза ЭАГ после перенесенного COVID-19 является актуальным научным вопросом. SARS-CoV-2 обладает прямыми эффектами действия на макрофаги, что с высокой вероятностью вносит изменения в регуляторную систему M-CSF-VEGF-A-IL-34 у данной категории больных, а значит, определяет изменение цитокин-опосредованных схем прогрессирования гипертензии. Современное состояние исследования в области иммунопатогенеза осложнений SARS-CoV-2 инфицирования и собственные данные о роли M-CSF в патогенезе ЭАГ обосновывают цель исследования — сопоставить уровни M-CSF и VEGF-A, IL-34 в сыворотке крови больных ЭАГ II стадии до и через 1 месяц после перенесенного COVID-19 для оценки характера изменения M-CSF-опосредованных механизмов прогрессирования гипертензии. Для достижения поставленной цели было сформировано 4 группы пациентов в зависимости от наличия ЭАГ и формы COVID-19 (без пневмонии и с пневмонией). Забор крови проводился через 1 месяц после перенесенного COVID-19. Содержание M-CSF и VEGF-A, IL-34 определяли иммуноферментным методом в сыворотке крови. Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью Stat Soft Statistica 13.5.

Сравнительный анализ содержания M-CSF в сыворотке крови больных ЭАГ II стадии до и после перенесенного COVID-19 определил, что, вне зависимости от формы заболевания (ОРВИ (без пневмонии) или с пневмонией), регистрируются более высокие уровни M-CSF через 1 месяц после выздоровления ( $p < 0,001$ ). При этом у больных ЭАГ II стадии через 1 месяц после SARS-CoV-2 инфицирования отсутствует компенсаторное увеличение VEGF-A в сыворотке крови на фоне значительного роста M-CSF (выше 458 пг/мл), что было зарегистрировано в период до инфекционного заболевания у данной категории пациентов и определяло формирование более выраженной коронарной коллатеральной сети при сравнении лиц с гемодинамически значимым изменением коронарных сосудов. Выявленная в нашем исследовании ассоциация повышенного содержания M-CSF (более 392 пг/мл)

### Адрес для переписки:

Радаева Ольга Александровна  
ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский  
Мордовский государственный университет  
имени Н.П. Огарева»  
430000, Россия, Республика Мордовия, г. Саранск,  
ул. Ульянова, 26а.  
Тел.: 8 (905) 378-41-98.  
E-mail: radaevamed@mail.ru

### Address for correspondence:

Radaeva Olga A.  
N.Ogarev National Research Mordovia State University  
430000, Russian Federation, Republic of Mordovia, Saransk,  
Ulyanov str., 26a.  
Phone: 7 (905) 378-41-98.  
E-mail: radaevamed@mail.ru

### Образец цитирования:

О.А. Радаева, А.С. Симбирцев, Н.М. Селезнева, М.С. Искандярова «Изменение уровня макрофагального колониестимулирующего фактора в сыворотке крови пациентов с эссенциальной гипертензией после SARS-CoV-2 инфицирования» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 4. С. 429-436.  
doi: 10.46235/1028-7221-430-SMC

© Радаева О.А. и соавт., 2020

### For citation:

O.A. Radaeva, A.S. Simbirtsev, N.M. Selezneva, M.S. Iskandiyarova "Serum macrophage colony-stimulating factor levels in patients with essential hypertension after SARS-CoV-2 infection", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 4, pp. 429-436.  
doi: 10.46235/1028-7221-430-SMC

DOI: 10.46235/1028-7221-430-SMC

в прединфекционном периоде у больных ЭАГ II стадии и увеличением процента развития COVID-19 с пневмоний, возможно, связана с гипотезой о роли дисрегулируемой активации компартамента мононуклеарных фагоцитов при развитии поражения ткани легкого. Приведенные результаты доказывают научную и клиническую ценность изучения роли M-CSF в аспекте изменения цитокинопосредованных схем прогрессирования ЭАГ после перенесенного COVID-19.

*Ключевые слова:* макрофагальный колониестимулирующий фактор, M-CSF, VEGF-A, IL-34, эссенциальная гипертензия, SARS-CoV-2, COVID-19, цитокины

## SERUM MACROPHAGE COLONY-STIMULATING FACTOR LEVELS IN PATIENTS WITH ESSENTIAL HYPERTENSION AFTER SARS-CoV-2 INFECTION

Radaeva O.A.<sup>a</sup>, Simbirtsev A.S.<sup>b</sup>, Selezneva N.M.<sup>a</sup>, Iskandiyarova M.S.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> N.Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Republic of Mordovia, Russian Federation

<sup>b</sup> State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, Federal Medical-Biological Agency of Russia, St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** Understanding changes in the cytokine-mediated mechanisms in immunopathogenesis of essential hypertension (EH) after COVID-19 poses a pressing scientific issue. SARS-CoV-2 exerts direct effects on macrophages with high probability altering regulatory M-CSF-VEGF-A-IL-34 axis, thereby accounting for change in cytokine-mediated patterns of hypertension progression. Immunopathogenesis of complications after SARS-CoV-2 infection and a role of M-CSF in EH pathogenesis justify study objective – to compare the serum M-CSF and VEGF-A, IL-34 levels in stage II EH patients prior to COVID-19 and one month after recovery to assess modality of altered M-CSF-mediated mechanisms behind hypertension progression. Four groups of patients were stratified depending on EH and clinical characteristics of COVID-19 (without/with pneumonia). Blood sampling was performed one month after COVID-19. The serum M-CSF and VEGF-A, IL-34 level was measured by using enzyme-linked immunosorbent assay. The data were statistically processed by using Stat Soft Statistica 13.5. Comparative analysis of serum M-CSF level in patients with stage II EH prior and after COVID-19 revealed that regardless of clinical course (with/without pneumonia) they were featured with higher levels of M-CSF one month after recovery ( $p < 0.001$ ) vs baseline level. The serum VEGF-A level in patients with stage II EH did not change in parallel with increased M-CSF (458 pg/ml or more) one month after SARS CoV 2 infection. However, M-CSF stimulated rise in serum VEGF-A level and accounted for formation of marked coronary collateral network prior to infection. A relationship between the increased serum M-CSF level (higher than 392 pg/ml) and elevated percentage of COVID-19 with pneumonia in patients with stage II EH prior to the infection might be related to the hypothesis about “a role of dysregulated activation of mononuclear phagocytes in development of lung tissue damage”. The data presented prove scientific and clinical value of assessing a role for M-CSF with respect to altered cytokine-mediated patterns of EH progression after COVID-19 recovery.

*Keywords:* macrophage colony-stimulating factor, M-CSF, VEGF-A, IL-34, essential hypertension, SARS-CoV-2, COVID-19, cytokines

Цитокины выступают регуляторными веществами, которые значимы при развитии как физиологических, так и патологических процессов в организме человека, что определяет актуальность изучения их роли в патогенезе заболеваний инфекционной и неинфекционной этиологии. Вспышка коронавирусной болезни (COVID-19), вызванная SARS-CoV2, представляет собой серьезную научную проблему. Внимание докторов

при COVID-19, в первую очередь, привлекает поражение легких (интерстициальный пневмонит) и развитие тяжелого острого респираторного дистресс-синдрома, но вирус влияет и на сердечно-сосудистую, нервную, иммунную системы [10]. Данные о вовлечении сердечно-сосудистой системы, к сожалению, недостаточно широко представлены в проведенных на данный момент исследованиях, тем более отсутствует информация

об отдаленных осложнениях [3] у пациентов с хроническими сердечно-сосудистыми заболеваниями, такими как эссенциальная артериальная гипертензия (ЭАГ), ишемическая болезнь сердца после SARS-CoV2 инфицирования.

Механизмы возможной взаимосвязи SARS-CoV2 инфицирования и прогрессирования ЭАГ были рассмотрены в недавнем заявлении Европейского Общества по артериальной гипертензии [6]. Значимым фактором, связывающим ЭАГ и COVID-19, является иммунная система. Взаимодействие между S-белком SARS-CoV2 и ангиотензин-превращающим ферментом 2 (ACE2) привлекло внимание исследователей, учитывая, что ACE2 играет решающую роль как в сердечно-сосудистой, так и в иммунной системах. ACE2 входит в состав ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и участвует в развитии артериальной гипертензии, сахарного диабета и сердечной недостаточности. На тканевом уровне ACE2 высоко экспрессируется в легких, почках, сердце и кровеносных сосудах. COVID-19 ассоциирован с быстро прогрессирующим системным воспалением, цитокиновым штормом разной степени выраженности, с неизвестными на данный момент изменениями цитокинового регулирования в последующем, что актуализирует анализ динамики содержания цитокинов в крови пациентов с ЭАГ после перенесенной инфекции [4]. Ряд авторов указывают, что у пациентов с COVID-19 средние- и долгосрочные последствия могут быть вызваны повышением уровня IL-6. Экспериментальные данные подтверждают атерогенную роль IL-6 и родственных цитокинов, а также его влияние на сердечный фиброз и недостаточность. Описана вероятность появления ряда патогенетически значимых цитокиновых комплексов, которые внесут специфический вклад в развитие осложнений COVID-19 при ЭАГ. К ним относятся пути, управляемые GM-CSF, TNF $\alpha$ , IL-17, IL-18, IFN $\gamma$  и рядом других. Является ли наблюдаемый цитокиновый дисбаланс у больных COVID-19 преходящим или устойчивым, остается неизвестным. Соответственно, мониторинг цитокиновых биомаркеров у этих пациентов в среднесрочной перспективе имеет большое значение.

По собственным данным, опубликованным ранее, у пациентов с ЭАГ II стадии значим анализ содержания в сыворотке периферической крови в динамике макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF), который в комплексе с уровнями VEGF-A, IL-34 и генетическими характеристиками рецептора M-CSF являются независимым предиктором развития сердечно-сосудистых осложнений [1]. SARS-CoV-2 обладает прямыми эффектами действия на макрофаги, что с высокой вероятностью вносит изменения в

регуляторную систему M-CSF-VEGF-A-IL-34 у данной категории больных, а значит, определяет изменение цитокин-опосредованных схем прогрессирования гипертензии. Современное состояние исследования в области иммунопатогенеза осложнений SARS-CoV-2 инфицирования и собственные данные о роли M-CSF в патогенезе ЭАГ обосновывают цель исследования – сопоставить уровни M-CSF и VEGF-A, IL-34 в сыворотке крови больных ЭАГ II стадии до и через 1 месяц после перенесенного COVID-19 для оценки характера изменения M-CSF-опосредованных механизмов прогрессирования гипертензии.

## Материалы и методы

Для достижения поставленной цели сформированы 4 группы пациентов из базы данных больных с ЭАГ II стадии (402 человека), которые находятся под наблюдением с 2008 года (комплексное обследование с анализом содержания 32 цитокинов проводилось в 2008, 2013, январе-феврале 2020 года): 1-я группа – пациенты с ЭАГ II стадии + инфицирование SARS CoV-2 без пневмонии, 2-я группа – пациенты с ЭАГ II стадии + инфицирование SARS CoV-2 с пневмонией, 3-я группа – лица без ЭАГ, инфицированные SARS-CoV-2 без пневмонии, 4-я группа – лица без ЭАГ, инфицированные SARS-CoV-2 с пневмонией (3-я и 4-я группы из контингента условно здоровых лиц (без гипертензии), которые также находятся под наблюдением в течение 12 лет (154 человека) и сопоставимы по возрасту). Критерии включения пациентов в исследование: 1955-1956 годы рождения, ЭАГ II стадии, длительность заболевания – 12-14 лет, гипотензивная терапия – иАПФ и диуретики, с достижением «целевого АД», сопоставимые метаболические показатели, подписание пациентом информированного согласия. Критерии исключения: ассоциированные клинические состояния (ИМ, стенокардия, коронарная реваскуляризация, ОНМК, ТНМК и др.), сахарный диабет 1/2 типов, аллергические/аутоиммунные заболевания, симптоматическая АГ, психические заболевания. Важным аспектом дизайна представленной работы является наличие данных о цитокиновом статусе включенных в исследование пациентов в период до инфицирования SARS-CoV-2 (январь-февраль 2020 года).

Диагноз COVID-19 был выставлен в соответствии с текущими клиническими рекомендациями по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции 2019 (COVID-19) с учетом результатов ПЦР на наличие РНК SARS-CoV-2 и выявлении иммуноглобулинов класса М и класса G к SARS-CoV-2 в динамике. У пациентов зарегистрировано два клинических варианта: ОРВИ или пневмония

без дыхательной недостаточности (легкое или среднетяжелое течение). Пациенты получали сопоставимую терапию (Плаквинил, Азитромицин, антикоагулянт и дополнительно Леволет в группе с пневмонией). Через 1 месяц после клинического выздоровления пациентов и двух отрицательных результатов ПЦР на наличие РНК SARS-CoV-2 был проведен забор крови в 8.00 натошак с использованием систем BD Vacutainer. Кровь центрифугировали при 1500-2000 об/мин в течение 15 минут, сыворотку отделяли и хранили в маркированных пробирках при температуре -30 °С не более 30 суток. Определение М-CSF, IL-34, VEGF-A было проведено методом ИФА на базе лаборатории кафедры иммунологии, микробиологии, вирусологии (микробиологическая и иммунологическая лаборатория – лицензия № 13.01.04.0001.Л.000005.06.11, бессрочная), сертифицированными специалистами в соответствии с поставленными исследователем задачами и совместно с исследователем на иммуноферментном анализаторе “Personal Lab™” (Adaltis, Италия). Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью Stat Soft Statistica 13.5. Данные представлены в виде медианы (Me) и перцентилей ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ ). Распределение данных отличалось от распределения Гаусса–Лапласа, поэтому при сравнении зависимых выборок использовали критерий Вилкоксона, несвязанных выборок – критерий Манна–Уитни. Рассчитывался абсолютный и относительный

риски развития COVID-19 с определением 95% доверительного интервала (ДИ), чувствительности и специфичности. Проводился анализ таблиц с использованием критерия Фишера (двустороннего) –  $\phi$ , нормированного значения коэффициента Пирсона ( $C'$ ).

## Результаты

Сравнительный анализ содержания М-CSF в сыворотке крови больных ЭАГ II стадии до и после перенесенного COVID-19 определил, что вне зависимости от формы заболевания (ОРВИ (без пневмонии) или с пневмонией) регистрируются более высокие уровни цитокина через 1 месяц после выздоровления ( $p < 0,001$ ) (табл. 1). При этом в группе с ЭАГ II стадии с COVID-19 ассоциированной пневмонией увеличение М-CSF более выраженное, чем у лиц с гипертензией и COVID-19 без пневмонии (на 69,7 (64,5-72,3) % и на 52,1 (47,3-54,2) % соответственно,  $p < 0,001$ ). Учитывая, что распределение данных пациентов отличалось от нормального, проводился анализ индивидуальной динамики показателя: только у двух больных (3,39%) с ЭАГ II стадии и COVID-19 определено снижение содержания М-CSF в сыворотке крови на 12% через 1 месяц после перенесенного SARSCoV2 инфицирования. В период до SARSCoV2 инфицирования у больных ЭАГ II стадии регистрировалась прямая связь между М-CSF и VEGF-A при уровне М-CSF выше 458 пг/мл ( $r = 0,78$ ;  $p < 0,001$ ) с повышением выра-

**ТАБЛИЦА 1. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УРОВНЕЙ М-CSF, VEGF-A И IL-34 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ЭАГ II СТАДИИ ДО И ЧЕРЕЗ 1 МЕСЯЦ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОГО COVID-19, Me ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ )**

TABLE 1. COMPARATIVE CHARACTERISTICS SERUM M-CSF, VEGF-A AND IL-34 LEVELS OF PATIENTS WITH STAGE II EH (BEFORE AND 1 MONTH AFTER COVID-19), Me ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ )

	Пациенты с ЭАГ II стадии и COVID-19 Patients with EH and COVID-19			
	без пневмонии without pneumonia (n = 32)		пневмония pneumonia (n = 27)	
	до before	через месяц month after	до before	через месяц month after
	1	2	3	4
<b>М-CSF, пг/мл</b> M-CSF, pg/ml	320 (197-351)	478 (321-680)* <sup>1</sup>	421 (364-589)* <sup>1</sup>	712 (593-805)* <sup>2,3</sup>
<b>VEGF-A, пг/мл</b> VEGF-A, pg/ml	230 (171-319)	227 (165-298)	290 (201-417)* <sup>1,2</sup>	311 (212-393)
<b>IL-34, пг/мл</b> IL-34, pg/ml	147 (121-169)	106 (101-134)* <sup>1</sup>	102 (93-117)* <sup>1</sup>	74,5 (56-82,3)* <sup>2,3</sup>

Примечание: \* – уровень достоверности  $p < 0,001$  (применяли критерий Вилкоксона для связанных совокупностей и критерий Манна–Уитни для несвязанных совокупностей).

Note: \*, significance level  $p < 0.001$  (used the Wilcoxon signed-rank test for related samples and the Mann–Whitney test for independent samples).

**ТАБЛИЦА 2. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УРОВНЕЙ M-CSF, VEGF-A И IL-34 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЛИЦ БЕЗ ЭАГ II СТАДИИ ДО И ЧЕРЕЗ 1 МЕСЯЦ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОГО COVID-19, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

TABLE 2. COMPARATIVE CHARACTERISTICS SERUM M-CSF, VEGF-A AND IL-34 LEVELS OF PATIENTS WITHOUT EH (BEFORE AND 1 MONTH AFTER COVID-19), Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

	Пациенты с COVID-19 без ЭАГ Patients with COVID-19 (without EH)			
	без пневмонии without pneumonia (n = 41)		пневмония pneumonia (n = 34)	
	до before	через месяц month after	до before	через месяц month after
	1	2	3	4
<b>M-CSF, пг/мл</b> M-CSF, pg/ml	187 (127-236)	183 (132-245)	191 (139-130)	205 (127-141)
<b>VEGF-A, пг/мл</b> VEGF-A, pg/ml	156 (107-198)	167 (121-201)	162 (115-203)	214 (156-237)*2,3
<b>IL-34, пг/мл</b> IL-34, pg/ml	95,3 (75,1-112)	92,1 (73,6-104,0)	101 (66,3-104,0)	97,3 (66,3-104,0)

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

**ТАБЛИЦА 3. УРОВНИ M-CSF В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ЭАГ II СТАДИИ И ЧАСТОТА РАЗВИТИЯ COVID-19**

TABLE 3. SERUM M-CSF LEVELS IN PATIENTS WITH EH AND THE PERCENT OF COVID-19

M-CSF, пг/мл M-CSF, pg/ml	I квантиль I quartile	II квантиль II quartile	III квантиль III quartile	IV квантиль IV quartile
		(142-312) n = 75	(323-391) n = 75	(392-457) n = 75
<b>Пациенты с COVID-19</b> Patients with COVID-19	13	14	17	15
<b>COVID-19 без пневмонии, человек</b> COVID-19 without pneumonia, patients	11	13	6	2
<b>COVID-19 с пневмонией, человек</b> COVID-19 with pneumonia, patients	2	1	11	13
<b>Риск COVID-19 с пневмонией, %</b> Absolute risk, %	2,67	1,33	14,7	17,4
	2 (0,00-4,24)		16 (10,1-21,9)	
<b>Отношение рисков</b> Relative risk	(I+II)/(III+IV) квантили – 8 (2,46-26,00)*			

Примечание. \* – p < 0,001.

Note. \*, p < 0.001.

женности коллатералей коронарной сети; отрицательная корреляция между М-CSF и IL-34, при содержании М-CSF выше 392 пг/мл ( $r = 0,83$ ,  $p < 0,001$ ). Важно отметить, что эффекты носили дозозависимый характер. После перенесенного COVID-19 у больных ЭАГ II стадии вне зависимости от клинической формы COVID-19: количественные характеристики VEGF-A до и после COVID-19 без динамики ( $p > 0,05$ ) – таблица 1, а прямая зависимость между М-CSF при уровне более 458 пг/мл и VEGF-A увеличением, которая была выявлена ранее, отменяется ( $r = 0,44$ ;  $p > 0,05$ ); при этом отрицательные корреляционные линии между М-CSF и IL-34 незначительно усилились ( $r = 0,89$ ,  $p < 0,001$ ).

У лиц с COVID-19 без ЭАГ изменения концентрации М-CSF и IL-34 в сыворотке периферической крови через 1 месяц после выздоровления при сравнении с данными до SARS-CoV2 инфицирования не выявлено (табл. 2). Зарегистрировано увеличение содержания VEGF-A при сопоставлении данных до и через 1 месяц после перенесенного COVID-19 в группе больных без ЭАГ с COVID-19 ассоциированной пневмонией, данное увеличение не коррелирует с уровнем М-CSF ( $r = 0,12$ ;  $p < 0,05$ ).

Был проведен интерквартильный анализ уровня М-CSF в сыворотке периферической крови больных ЭАГ II стадии в период до SARS-CoV2 инфицирования и частоты COVID-19 (табл. 3). Связи между содержанием М-CSF в сыворотке крови и общим числом случаев COVID-19 среди больных ЭАГ II стадии не выявлено. При анализе, в зависимости от клинической формы COVID-19 (без пневмонии и пневмония), определено, что при концентрации М-CSF более 392 пг/мл (III–IV квартили изменения М-CSF) абсолютный риск развития COVID-19 с пневмонией составил 16% (табл. 3), относительный риск – 8, стандартная ошибка относительного риска – 0,601,  $\chi^2 = 17,9$  ( $p < 0,001$ ), коэффициент Пирсона 0,38 (связь средняя), чувствительность – 0,89, специфичность 0,54.

## Обсуждение

Понимание изменения цитокин-опосредованных звеньев иммунопатогенеза ЭАГ после перенесенного COVID-19 является актуальным научным вопросом, так как все чаще публикуются статьи, подчеркивающие высокий потенциальный риск развития отдаленных сердечно-сосудистых осложнений после SARS-CoV2 инфицирования, механизм которых на данный момент неизвестен. Выявленное в исследовании значимое увеличение М-CSF в крови больных ЭАГ II стадии через 1 месяц после клинического и лабораторного выздоровления выступает

фактором, определяющим прогрессирование гипертензии. Данные опубликованных ранее исследований продемонстрировали, что данный цитокин может способствовать апоптозу гладкомышечных клеток сосудистого комплекса с дисбалансом синтеза матриксных металлопротеиназ третьего типа [2], изменяет баланс выживаемости морфологических компонентов артерий разного калибра, регулируя процессы ремоделирования и, по результатам собственного 10-летнего исследования, выступает независимым критерием, отражающим риск повреждения таких органов-мишеней, как миокард и головной мозг [11]. Важно отметить зарегистрированное в рамках представленного исследования изменение М-CSF-зависимых звеньев патогенеза ЭАГ после перенесенного COVID-19. У больных ЭАГ II стадии через 1 месяц после SARS-CoV2 инфицирования отсутствует компенсаторное увеличение VEGF-A в сыворотке крови на фоне значительного роста М-CSF (выше 458 пг/мл), что было зарегистрировано в период до инфекционного заболевания у данной категории пациентов. Есть ряд публикаций, описывающих несколько М-CSF-потенцируемых сигнальных путей клетки, которые приводят к производству VEGF-A [12]. М-CSF активирует MAP-киназы, которые играют ключевую роль в синтезе VEGF-A через активацию ERK, повышая промоторную активность p38, стабилизируя мРНК VEGF-A, именно этот механизм описывается как дозозависимый [13]. Тем самым у больных ЭАГ II стадии через 1 месяц после перенесенного формируются предпосылки для кратковременной или, возможно, длительной отмены протективного дозозависимого эффекта, который по собственным данным, опубликованным ранее [1], сопровождался формированием более выраженной коронарной коллатеральной сети при сравнении лиц с гемодинамически значимым изменением коронарных сосудов.

У больных ЭАГ II стадии через 1 месяц после SARS-CoV2 инфицирования снижены по сравнению с периодом до инфекционного заболевания уровни IL-34 в сыворотке периферической крови. По ряду экспериментальных работ [9] в ткани головного мозга регистрируется максимальная концентрация mRNA IL-34 и, возможно, именно его активность частично определяет морфофункциональную устойчивость клеток органа в условиях гемодинамического стресса, что доказывает негативный характер выявленных в период после COVID-19 изменений. Данный цитокин – дополнительный лиганд рецептора М-CSF, также есть информация, что М-CSF может подавлять синтез IL-34 по принципу обратной связи.

В результате полученных данных встает вопрос о причинах повышения уровня М-CSF в

сыворотке крови больных ЭАГ II через 1 месяц после SARSCoV2 инфицирования (у лиц без гипертензии данная тенденция не выявлена). Можно говорить о нескольких гипотезах. На фоне ЭАГ и метаболического дисбаланса происходит увеличение синтеза М-CSF в основном эндотелиальными клетками и потенциально перицитами мелких сосудов [14]. У больных гипертензией на фоне нарушения эндотелия сосудистой стенки происходит «обнажение» перицитов, которые на своей мембране экспрессируют ACE2 в значимой концентрации, что делает их мишенью для SARSCoV2 и может определять продукцию М-CSF. Кроме этого, дополнительно активированные у больных ЭАГ при SARSCoV2 инфицировании макрофаги являются значимым источником данного цитокина.

Выявленная в нашем исследовании ассоциация повышенного содержания М-CSF (более 392 пг/мл) в преинфекционном периоде у больных ЭАГ II стадии и увеличением процента развития COVID-19 с пневмоний, возможно, связана с гипотезой о роли дисрегулируемой активации компартмента мононуклеарных фагоцитов при развитии поражения ткани легкого [8]. Структура ткани легкого при SARSCoV2 поражении характеризуется истощением количества альвеолярных макрофагов и обилием воспалительных

макрофагов, что влияет на тяжесть течения заболевания [7]. В связи с этим больные ЭАГ, характеризующиеся более выраженным повышением М-CSF (III-IV квартили изменения цитокина) в крови в период перед SARSCoV2 инфицированием имеют больший риск дисрегулируемой активации мононуклеарных фагоцитов с последующей миграцией и поражением легкого. Высокая чувствительность, но низкая специфичность потенциального метода определения лиц с ЭАГ и повышенным риском развития SARSCoV2 инфицирования с поражением легкого, может объясняться значимостью определения полиморфного варианта гена рецептора М-CSF (определение планируется во второй фазе исследования).

Приведенные результаты доказывают научную и клиническую ценность изучения роли М-CSF в аспекте изменения цитокиноопосредованных схем прогрессирования ЭАГ после перенесенного COVID-19. Наблюдение в динамике позволит определить длительность выявленных закономерностей и даст основу для разработки в дальнейшем индивидуальных способов прогнозирования отдаленных рисков развития сердечно-сосудистых осложнений у больных ЭАГ после SARSCoV2 инфицирования.

## Список литературы / References

1. Радаева О.А., Симбирцев А.С. М-CSF, IL-34, VEGF-A как факторы риска развития инфаркта миокарда, острого нарушения мозгового кровообращения у больных эссенциальной артериальной гипертензией // Российский иммунологический журнал, 2015. Т. 9 (18), № 1. С. 93-101. [Radaeva, O.A., Simbirtsev A.S. M-CSF, IL-34, VEGF-A as risk factors of myocardial infarction and stroke in patients with essential hypertension. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2015, Vol. 9 (18), no. 1, pp. 93-101. (In Russ.)]
2. Berg K.E., Ljungcrantz I., Andersson L., Bryngelsson C., Hedblad B., Fredrikson G.N., Nilsson J., Björkbacka H. Elevated CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> monocytes predict cardiovascular events. *Circ. Cardiovasc. Genet.*, 2012, Vol. 5, pp. 122-131.
3. Carod-Artal F.J. Neurological complications of coronavirus and COVID-19. *Rev. Neurol.*, 2020, Vol. 70, no. 9, pp. 311-322.
4. Guzik T.J., Mohiddin S.A., Dimarco A., Patel V., Savvatis K., Marelli-Berg F.M., Madhur M.S., Tomaszewski M., Maffia P., D'Acquisto F., Nicklin S.A., Marian A.J., Nosalski R., Murray E.C., Guzik B., Berry C., Touyz R.M., Kreutz R., Wang D.W., Bhella D., McInnes I.B. COVID-19 and the cardiovascular system: implications for risk assessment, diagnosis, and treatment options. *Cardiovasc. Res.*, 2020, Vol. 116, no. 10, pp. 1666-1687.
5. Hu Y., Zhang L., Fan G., Xu J., Gu X., Cheng Z., Yu T., Xia J., Wei Y., Wu W., Xie X., Yin W., Li H., Liu M., Xiao Y., Gao H., Guo L., Xie J., Wang G., Jiang R., Gao Z., Jin Q., Wang J., Cao B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*, 2020, Vol. 395, no. 10223, pp. 497-506.
6. Kreutz R., Algharably E., Azizi M., Dobrowolski P., Guzik T., Januszewicz A., Persu A., Prejbisz A., Riemer T., Wang J., Burnier M.. Hypertension, the renin-angiotensin system, and the risk of lower respiratory tract infections and lung injury: implications for COVID-19. European society of hypertension COVID-19 task force review of evidence. *Cardiovasc. Res.*, 2020, Vol. 116, no. 10, pp. 1688-1699.
7. Liao M., Liu Y., Yuan J., Wen Y., Xu G., Zhao J., Cheng L., Li J., Wang X., Wang F., Liu L., Amit I., Zhang S., Zhang Z. Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19. *Nat. Med.*, 2020, Vol. 26, pp. 842-844.
8. Merad M., Martin J.C. Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages. *Nat. Rev. Immunol.*, 2020, Vol. 20, no. 6, pp. 355-362.

9. Nandi S., Cioc M., Yeung Y., Nieves E., Tesfa L., Lin H., Hsu A.W., Halenbeck R., Cheng H.Y., Gokhan S., Mehler M.F., Stanley E.R. Receptor-type Protein-tyrosine phosphatase  $\zeta$  is a functional receptor for interleukin-34. *J. Biol. Chem.*, 2013, Vol. 288, no. 30, pp. 21972-21986.
10. Nishiga M., Wang D.W., Han Y., Lewis D.B., Wu J.C. COVID-19 and cardiovascular disease: from basic mechanisms to clinical perspectives [published online ahead of print, 2020 Jul 20]. *Nat. Rev. Cardiol.*, 2020, pp. 1-16.
11. Radaeva O.A., Simbirtsev A.S., Kostina J.A. The change in the circadian rhythm of macrophage colony-stimulating factor content in the blood of patients with essential hypertension. *Cytokine: X*, 2019, Vol. 1, no. 3, 100010. doi: 10.1016/j.cytex.2019.100010.
12. Schiopu A., Bengtsson E., Gonçalves I., Nilsson J., Fredrikson G.N., Björkbacka H. Associations between macrophage colony-stimulating factor and monocyte chemoattractant protein 1 in plasma and first-time coronary events: a nested case-control study. *J. Am. Heart Assoc.*, 2016, Vol. 5, no. 9, e002851. doi: 10.1161/JAHA.115.002851.
13. Okazaki T., Ebihara S., Asada M., Yamanda S., Saijo Y., Shiraiishi Y., Ebihara T., Niu K., Mei H., Arai H., Yambe T. Macrophage colony-stimulating factor improves cardiac function after ischemic injury by inducing vascular endothelial growth factor production and survival of cardiomyocytes. *Am. J. Pathol.*, 2007, Vol. 171, pp. 1093-1103.
14. Zerneck A., Weber C. Chemokines in atherosclerosis: proceedings resumed. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2014, Vol. 34, no. 4, pp. 742-750.

---

**Авторы:**

**Радаева О.А.** — д.м.н., доцент, профессор кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева», г. Саранск, Республика Мордовия, Россия

**Симбирцев А.С.** — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, главный научный сотрудник ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства России, Санкт-Петербург, Россия

**Селезнева Н.М.** — к.м.н., доцент, доцент кафедры госпитальной терапии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева», г. Саранск, Республика Мордовия, Россия

**Искандярова М.С.** — ассистент кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева», г. Саранск, Республика Мордовия, Россия

---

**Authors:**

**Radaeva O.A.**, PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Professor, Immunology, Microbiology and Virology Department, N.Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Republic of Mordovia, Russian Federation

**Simbirtsev A.S.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Chief Research Associate, State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, Federal Medical-Biological Agency of Russia, St. Petersburg, Russian Federation

**Selezneva N.M.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Hospital Therapy Department, N.Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Republic of Mordovia, Russian Federation

**Iskandiyarova M.S.**, Assistant Professor, Immunology, Microbiology and Virology Department, N.Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Republic of Mordovia, Russian Federation

---

Поступила 30.07.2020  
Принята к печати 02.09.2020

---

Received 30.07.2020  
Accepted 02.09.2020

## ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОСВЯЗИ TNF $\alpha$ И S100B У ПАЦИЕНТОВ С ОПОЯСЫВАЮЩИМ ГЕРПЕСОМ И ПОСТГЕРПЕТИЧЕСКОЙ НЕВРАЛГИЕЙ

Кныш С.В., Небезкина Т.А., Костюшко А.В., Ильина П.С.

ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,  
г. Владивосток, Россия

**Резюме.** Одним из наиболее важных элементов в патогенезе опоясывающего герпеса и постгерпетической невралгии является нарушение нейроиммунного взаимодействия, характеризующееся развитием хронического воспаления структур нервной системы. Существующее в норме взаимодействие факторов иммунной и нервной систем подвергается дисбалансу с развитием патологической системы. Изменения уровней TNF $\alpha$  и S100B белка могут характеризовать особенности нейроиммунного воспаления при данной патологии. Цель – оценить взаимосвязь TNF $\alpha$  и S100B у пациентов с опоясывающим герпесом и постгерпетической невралгией.

В рамках проведенного исследования нами было обследовано 106 пациентов, находящихся на лечении с диагнозом «опоясывающий герпес». На основании данных об интенсивности болевого синдрома, а также результатов мониторинга болевого синдрома пациентов через 3 месяца после первичного обращения, было выделено 3 основных группы пациентов: группа I со слабым или умеренным болевым синдромом; группа II с сильным болевым синдромом; группа III с постгерпетической невралгией. Группу контроля составили 30 сопоставимых по возрасту практически здоровых добровольцев. Забор венозной крови осуществлялся двукратно, на 1-е и 10-е сутки заболевания. В группе контроля забор биологического материала осуществлялся однократно. Определение содержания TNF $\alpha$ , S100B в сыворотке крови осуществлялось методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием анализатора «Multiscan».

При определении TNF $\alpha$  во всех трех группах был выявлен его дефицит ( $p < 0,05$ ) на 1-е сутки, без различий между группами пациентов. На 10-е сутки болезни уровень TNF $\alpha$  не отличался от контрольных значений в группах I и II, в то время как в группе III показатель оставался сниженным, без достоверных различий с результатом, полученным на 1-е сутки. Было установлено равнозначное увеличение ( $p < 0,05$ ) уровня S100B в сыворотке крови пациентов в сравнении с контрольными значениями, без различий между группами. На 10-е сутки уровень S100B в сыворотке крови пациентов в группах I и II характеризовался положительной динамикой в сторону стабилизации, снижаясь до референсных интервалов в группе I и почти 2-кратно, без достижения контрольных значений, в группе II. У пациентов в группе III уровень S100B в сыворотке крови оставался повышенным относительно контроля без динамических изменений между 1-ми и 10-ми сутками. При проведении корреляционного анализа взаимосвязи TNF $\alpha$  и белка S100B была выявлена обратная связь между показателями, статистически значимая ( $p < 0,05$ ) в группе III.

**Ключевые слова:** опоясывающий герпес, TNF $\alpha$ , S100B, постгерпетическая невралгия

### Адрес для переписки:

Кныш Сергей Васильевич  
ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ  
690105, Россия, г. Владивосток, ул. Русская, 57к, кв. 107.  
Тел.: 8 (995) 773-65-23.  
E-mail: immunolog.vl@gmail.com

### Address for correspondence:

Knysh Sergey V.  
Pacific State Medical University  
690105, Russian Federation, Vladivostok, Russkaya str.,  
57k, apt 107.  
Phone: 7 (995) 773-65-23.  
E-mail: immunolog.vl@gmail.com

### Образец цитирования:

С.В. Кныш, Т.А. Небезкина, А.В. Костюшко, П.С. Ильина «Особенности взаимосвязи TNF $\alpha$  и S100B у пациентов с опоясывающим герпесом и постгерпетической невралгией» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 4. С. 437-442.  
doi: 10.46235/1028-7221-453-ARB

© Кныш С.В. и соавт., 2020

### For citation:

S.V. Knysh, T.A. Nevezhkina, A.V. Kostyushko, P.S. Ilyina  
“Relation between TNF $\alpha$  and S100B in patients with herpes zoster and postherpetic neuralgia”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 4, pp. 437-442.  
doi: 10.46235/1028-7221-453-ARB

DOI: 10.46235/1028-7221-453-ARB

## RELATION BETWEEN TNF $\alpha$ AND S100B IN PATIENTS WITH HERPES ZOSTER AND POSTHERPETIC NEURALGIA

Knysh S.V., Nevezhkina T.A., Kostyushko A.V., Ilyina P.S.

Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

**Abstract.** One of the most important components in the pathogenesis of herpes zoster and postherpetic neuralgia is presented by disturbed neuroimmune interaction, characterized by development of chronic inflammation in the nervous system structures. Normally existing interaction between immune and nervous systems is altered and results in development of pathological system. Altered level of TNF $\alpha$  and S100B proteins may characterize the features of neuroimmune inflammation during herpes zoster infection. Objective: to assess a relationship between TNF $\alpha$  and S100B level in patients with herpes zoster and postherpetic neuralgia. We examined 106 patients with herpes zoster within the framework of our study. Based on assessing intensity of pain syndrome and its three-month follow-up data after primary treatment patients were subdivided into 3 main groups: group I – weak or moderate pain syndrome; group II – severe pain syndrome; group III – postherpetic neuralgia. The control group contained 30 age-matched apparently healthy volunteers. Venous blood sampling was performed twice: on day 1 and day 10 after disease onset. Biological material in control group was collected once. Level of blood serum TNF $\alpha$  and S100B was measured by using solid-phase enzyme immunoassay (ELISA) on analyzer “Multiscan”. While assessing TNF $\alpha$  level in all three main groups, its lowered level was detected ( $p < 0.05$ ) on day 1, without finding inter-group differences. On day 10 after disease onset, level of TNF $\alpha$  did not differ from the control values found in groups I and II, while in group III it remained lowered, not being significantly differed from those found on day 1. Level of S100B in the blood serum in patients vs. control group was equivalently increased ( $p < 0.05$ ), showing no inter-group differences. On day 10, the level of S100B in the blood serum from patients of groups I and II tended to stabilize, by decreasing almost by 2-fold to reference intervals in group I, without reaching control values, in group II. Patients from group III were found to have serum level of S100B remained elevated compared to control group without dynamic changes between 1 and 10 days. A correlation analysis for TNF $\alpha$  and s100b protein revealed significant feedback relation between them ( $p < 0.05$ ) in group III.

*Keywords:* shingles, herpes zoster, TNF $\alpha$ , S100B, postherpetic neuralgia

Вирус ветряной оспы (Human alphaherpesvirus 3) из семейства Herpesviridae способен вызывать развитие опоясывающего герпеса, типично характеризующегося развитием острого ганглионита, в ряде случаев осложняющегося манифестацией хронической постгерпетической невралгии (ПГН). Существующие сведения о влиянии и особенностях состояния иммунной и нервной системы у пациентов не позволяют однозначно сказать о факторах, предрасполагающих к развитию ПГН, однако, учитывая хроническое нейроиммунное воспаление, лежащее в основе патогенеза заболевания, недооценивать их роль нельзя.

Учитывая то, что существующая в настоящее время терапия не имеет достаточной доказательной базы по вопросу возможности модификации риска развития ПГН, актуальным становится исследование направленной регуляции различных реакций иммунной системы через воздействие на белковые медиаторы [1]. Одними из наиболее актуальных можно назвать фактор некроза опухоли альфа (TNF $\alpha$ ) и, учитывая особенности его

взаимодействия с нейропептидами, – регуляторами состояния и функционирования нервной системы, белок S100B.

**Цель исследования** – оценить взаимосвязь TNF $\alpha$  и S100B у пациентов с опоясывающим герпесом и постгерпетической невралгией

### Материалы и методы

В рамках проведенного исследования нами было обследовано 106 пациентов, находящихся на лечении с диагнозом опоясывающий герпес. Средний возраст пациентов составил  $46,1 \pm 2,6$  года. Подтверждение диагноза проводилось на основании клинической картины заболевания, определения специфических антител IgG к вирусу ветряной оспы и IgG к гликопротеину E (anti-VZV IgG-gE). У пациентов проводилось ежедневное мониторинговое наблюдение симптомов, оценка выраженности болевого синдрома с использованием визуальной аналоговой и цифровой ранговой шкал. Все пациенты, включенные в исследование, получали терапию согласно клини-

ческим рекомендациям по опоясывающему лишая (herpes zoster) (2014). На основании данных об интенсивности болевого синдрома, а также результатов мониторингования болевого синдрома пациентов через 3 месяца после первичного обращения, было выделено 3 основных группы пациентов: группа I со слабым или умеренным болевым синдромом; группа II с сильным болевым синдромом; группа III с постгерпетической невралгией. Группу контроля составили 30 сопоставимых по возрасту, практически здоровых добровольца. Забор венозной крови осуществлялся двукратно, на 1-е и 10-е сутки заболевания. В группе контроля забор биологического материала осуществлялся однократно.

Определение содержания TNF $\alpha$ , S100B в биологическом материале (сыворотка крови) осуществлялось методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА), с использованием

анализатора “Multiscan”. Для проведения ИФА использовались реактивы, произведенные R&D systems, из серии DuoSet<sup>®</sup>. Достоверность различий между сравниваемыми группами оценивалась по методу Манна–Уитни–Вилкоксона. При значении  $p < 0,05$  нулевая гипотеза об отсутствии различий частот отклонялась. Определение связей между признаками, их направленности, степени выраженности проводилось методами оценки ранговой корреляции Спирмена.

## Результаты

При определении TNF $\alpha$  во всех трех группах был выявлен его дефицит ( $p < 0,05$ ) на 1-е сутки, без различий между группами пациентов. На 10-е сутки болезни уровень TNF $\alpha$  не отличался от контрольных значений в группах I и II, в то время как в группе с ПГН показатель оставался

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ СОДЕРЖАНИЯ И КОРРЕЛЯЦИИ TNF $\alpha$ , S100B В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ОБСЛЕДОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

TABLE 1. TNF $\alpha$  AND S100B SERUM LEVELS AND CORRELATION VALUES IN PATIENTS

Показатель Parameter	Группа контроля Control group (n = 30)	Группа I Group I (n = 42)	Группа II Group II (n = 40)	Группа III Group III (n = 24)
<b>TNF<math>\alpha</math> (пг/мл)</b> <b>1-е сутки</b> TNF $\alpha$ (pg/ml) 1 <sup>st</sup> day	4,4 2,2-6,4	1,4* <sup>#</sup> 1,10-1,98	1,45* <sup>#</sup> 0,98-2,04	2,4* 1,56-3,01
<b>TNF<math>\alpha</math> (пг/мл)</b> <b>10-е сутки</b> TNF $\alpha$ (pg/ml) 10 <sup>th</sup> day		4,96* <sup>#</sup> 1,83-5,80	5,01 <sup>†</sup> * 2,59-6,10	2,15* <sup>†</sup> 1,51-2,98
<b>S100B (пг/мл)</b> <b>1-е сутки</b> S100B (pg/ml) 1 <sup>st</sup> day	4,23 2,88-7,42	26,4 <sup>#</sup> 16,30-32,81	30,4 <sup>#</sup> 13,4-39,1	28,64* 15,1-38,2
<b>S100B (пг/мл)</b> <b>10-е сутки</b> S100B (pg/ml) 10 <sup>th</sup> day		5,16 <sup>#</sup> 3,01-9,01	19,1* <sup>#</sup> 15,32-24,15	28,9* 16,10-37,22
<b>S100B: TNF<math>\alpha</math></b> <b>1-е сутки, (p)</b> S100B: TNF $\alpha$ 1 <sup>st</sup> day, (p)	0,256	-0,428	-0,237	<b>-0,581*</b>
<b>S100B: TNF<math>\alpha</math></b> <b>10-е сутки (p)</b> S100B: TNF $\alpha$ 10 <sup>th</sup> day (p)		-0,601	-0,345	<b>-0,634*</b>

Примечание. Выделение полужирным – сила связи «средняя», корреляция значима на уровне 0,05; статистическая достоверность различий между группами: с группой контроля: \* –  $p < 0,05$ ; между группой I и группой III: \* –  $p < 0,05$ ; между группой I и группой II: # –  $p < 0,05$ ; между группой II и группой III: † –  $p < 0,05$ ; между значениями внутри группы на 1-е и 10-е сутки: \* –  $p < 0,05$ .

Note. **Bold** indicates the “average” link strength, the correlation is significant at the level of 0,05; statistical significance of differences between groups: with the control group: \*,  $p < 0.05$ ; between group I and group III: \*,  $p < 0.05$ ; between group I and group II: #,  $p < 0.05$ ; between group II and group III: †,  $p < 0.05$ ; between values within the group on the 1<sup>st</sup> and 10<sup>th</sup> day: †,  $p < 0.05$ .

сниженным, без достоверных различий с результатом, полученным на 1-е сутки.

Было установлено равнозначное увеличение ( $p < 0,05$ ) уровня S100B в сыворотке крови пациентов в сравнении с контрольными значениями, без различий между группами. На 10-е сутки уровень S100B в сыворотке крови пациентов в группах без ПГН (группа I и группа II) характеризовался положительной динамикой в сторону стабилизации, снижаясь до референсных интервалов в группе I и почти 2-кратно, без достижения контрольных значений, в группе II. У пациентов с ПГН уровень S100B в сыворотке крови оставался повышенным относительно контроля без динамических изменений между 1-ми и 10-ми сутками. При проведении корреляционного анализа взаимосвязи TNF $\alpha$  и белка S100B была выявлена обратная связь между показателями, статистически значимая ( $p < 0,05$ ) в группе III. Представленные результаты отражены в таблице 1.

## Обсуждение

TNF $\alpha$  при опоясывающем герпесе в литературе описан в основном с позиции роли данного медиатора в реактивации вируса ветряной оспы, особенно на фоне антицитотоксической терапии. Однако основная масса информации противоречива и не дает однозначного ответа о влиянии низкого или высокого уровня TNF $\alpha$  как на риск реактивации заболевания, так и на вероятность развития ПГН [3, 7]. Нельзя исключать того, что вирусное влияние на выраженность TNF $\alpha$  индуцированного апоптоза и некроптоза реализуется не только через ингибирование синтеза или связывание TNF $\alpha$ , но и через супрессию функциональной активности TNF $\alpha$ -зависимых сигнальных путей [6].

Белок S100B — один из наиболее широко представленных в исследованиях маркер повреждения нервной системы. Особенностью его функциональной активности является дозозависимость и двунаправленность действия. В физиологической концентрации S100B осуществляет преимущественно нейропротекцию и пролонгацию жизни клеточных структур. Патологическое повышение содержания белка наоборот ассоциируется с процессами нейрональной клеточной гибели, нарушением целостности гематоэнцефалического барьера, заместительным глиозом в нервной ткани [5, 8]. Не исключено и участие данного нейропептида в процессах центральной и периферической сенситизации — одном из центральных механизмов в развитии постгерпетической невралгии. Выявленное повышение содержания белка S100B, вероятно, является следствием и маркером степени повреждения нервных структур, вовлеченных в герпес-инду-

цированный ганглионит, что подтверждается установленными нами особенностями динамики показателя в группах обследованных пациентов.

При оценке взаимосвязи нейропептида S100B и TNF $\alpha$  в большинстве опубликованных источников указывается на стимулирующее двухстороннее или одностороннее действие [2, 4]. Однако полученные нами результаты демонстрируют иную картину. Учитывая то, что значимая отрицательная корреляция выявлена лишь в случае развития ПГН, мы можем предполагать особенность влияния хронического воспаления на взаимодействие вышеназванных медиаторов. Установленное нами повышение содержания S100B, вероятно, способствует выживанию глиальных клеток, однако является прямым следствием вирус-индуцированного повреждения периферической нервной системы, что в целом совпадает с вирусной стратегией, направленной на повышение выживаемости пораженных вирусом клеток, служащих резервуаром для формирования новых вирионов. В свою очередь, вирус ветряной оспы, с целью пролонгации жизненного цикла поврежденных клеток, подавляет выработку TNF $\alpha$ . Рассматривая эту ситуацию, мы можем полагать, что вирус реализует, с одной стороны, иммунное ускользание, а с другой — пролонгацию воспаления и хронизацию заболевания, что характеризуется формированием отрицательной корреляции между данными показателями.

Таким образом, оценивая взаимодействие иммунной и нервной системы на примере опоясывающего герпеса и постгерпетической невралгии, мы можем полагать, что модифицируемое вирусом взаимодействие медиаторов, а именно TNF $\alpha$  и S100B, обладает парадоксальными характеристиками, направленными на пролонгацию воспалительного процесса с повышением выживаемости вирусного резервуара, что согласуется с функцией отдельных факторов, однако противоречит общей стратегии противовирусной защиты организма и является ярким примером реализации «иммунного ускользания» вируса ветряной оспы.

## Благодарности

Авторы выражают признательность руководителю кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО ТГМУ МЗ РФ Маркеловой Е.В. за поддержку и наставничество, коллективу ЦНИЛ ФГБОУ ВО ТГМУ МЗ РФ за аналитическую поддержку при проведении лабораторных исследований.

## Список литературы / References

1. Караулов А.В., Сокуренок С.И., Калюжин О.В., Евсегнеева И.В. Направленная регуляция иммунных реакций в профилактике и лечении заболеваний человека // Иммунопатология, аллергология, инфектология, 2000. № 1. С. 7-13. [Karaulov A.V., Sokurenko S.I., Kalyzhin O.V., Yevsegneeveva I.V. Directed regulation of immune reactions in preventing and treating human diseases. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya = Immunopathology, Allergology, Infectology*, 2000, no. 1, pp. 7-13. (In Russ.)]
2. Foltran R.B., Diaz S.L. BDNF isoforms: a round trip ticket between neurogenesis and serotonin? *J. Neurochem.*, 2016, Vol. 138, no. 2., pp. 204-221.
3. Marra F., Parhar K., Huang B., Vadlamudi N. Risk factors for herpes zoster infection: a meta-analysis. *Open Forum Inf. Dis.*, 2020, Vol. 7, no. 1, ofaa005. doi: 10.1093/ofid/ofaa005.
4. Sante D.G., Amadio S., Sampaolese B., Clementi M.E., Valentini M., Volonte C., Casalbore P., Michetti F. The S100B inhibitor pentamidine ameliorates clinical score and neuropathology of relapsing-remitting multiple sclerosis mouse model. *Cells*, 2020, Vol. 9, no. 3, 748. doi: 10.3390/cells9030748.
5. Sorci G., Riuzzi F., Arcuri C., Tubaro C., Bianchi R., Giambanco I., Donato R. S100B protein in tissue development, repair and regeneration. *World J. Biol. Chem.*, 2013, Vol. 4, no. 1, pp. 1-12. doi: 10.4331/wjbc.v4.i1.1.
6. Steain M., Baker M.O.D.G., Pham C.L.L., Shanmugam N., Gambin Y., Sieracki E., McSharry B.P., Avdic S., Slobodman B., Sunde M., Abendroth A. Varicella zoster virus encodes a viral decoy RHIM to inhibit cell death. *PLoS Pathog.*, 2020, Vol. 16, no. 7, e1008473. doi: 10.1371/journal.ppat.1008473.
7. Winthrop K.L., Baddley J.W., Chen L., Liu L., Grijalva C.G., Delzell E., Beukelman T., Patkar N.M., Xie F., Saag K.G., Herrinton L.J., Solomon D.H., Lewis J.D., Curtis J.R. Association between the initiation of anti-tumor necrosis factor therapy and the risk of herpes zoster. *JAMA*, 2013, Vol. 309, no. 9, pp. 887-895.
8. Zhang P., Tan C.-W., Chen G.-H., Ge Y.-J., Xu J., Xia L. Fang W., Li X.-Y., Kong X.-Y. Patients with chronic insomnia disorder have increased serum levels of neurofilaments, neuron-specific enolase and S100B: does organic brain damage exist? *Sleep Med.*, 2018, Vol. 48, pp. 163-171.

---

### Авторы:

**Кныш С.В.** — ассистент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

**Невезжкина Т.А.** — ассистент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

### Authors:

**Knysh S.V.**, Assistant Professor, Department of Normal and Pathological Physiology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

**Nevezhkina T.A.**, Assistant Professor, Department of Normal and Pathological Physiology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

**Костюшко А.В.** — к.м.н., доцент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

**Ильина П.С.** — студентка лечебного факультета ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

**Kostyushko A.V.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Normal and Pathological Physiology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

**Ilyina P.S.**, Student, General Medicine Faculty, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

---

Поступила 01.08.2020  
Отправлена на доработку 01.09.2020  
Принята к печати 07.09.2020

Received 01.08.2020  
Revision received 01.09.2020  
Accepted 07.09.2020

## ПОЛИМОРФИЗМ rs2275913 ГЕНА *IL17A* В УЗБЕКСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ И ЕГО СВЯЗЬ С РАЗВИТИЕМ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО РИНИТА

Дустбабаева Н.Д.<sup>1</sup>, Ирсалиева Ф.Х.<sup>2</sup>, Нурматова Н.Ф.<sup>2</sup>,  
Байбекова В.Ф.<sup>2</sup>, Айдарова Н.П.<sup>2</sup>, Ахмедов Х.С.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Ташкентский институт усовершенствования врачей, г. Ташкент, Республика Узбекистан

<sup>2</sup> Ташкентская медицинская академия, г. Ташкент, Республика Узбекистан

<sup>3</sup> Республиканский научно-специализированный аллергологический центр Министерства здравоохранения Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Резюме.** В настоящее время сформированные новые представления о механизмах развития аллергических заболеваний в целом позволяют считать, что Th17-клетки участвуют в патогенезе аллергического ринита и характеризуются преимущественным синтезом цитокинов IL-17A и IL-17F. Цель – оценить полиморфизм rs2275913 гена *IL17A* в узбекской популяции и наличие связи с развитием аллергического ринита.

Объектами исследования стали 83 пациента с аллергическим ринитом, из них 38 (46%) с интермиттирующей формой и 45 (54%) пациента с персистирующей формой заболевания. В качестве контрольной группы были обследованы 123 здоровых добровольца. Генотипирование полиморфизма *IL17A* rs2275913 проводили с помощью метода – полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (Real-Time) «SNP-ЭКСПРЕСС»-РВ.

При анализе распределения частот аллелей G и A гена *IL17A* было зарегистрировано, что доминантным аллелем явился A аллель гена *IL17A* (38,7% против 19,5% соответственно,  $\chi^2 = 15,9$ ;  $p < 0,05$ ).

G/G генотип полиморфизма A/G гена *IL17A* значительно реже встречался в группе пациентов с АР по сравнению с практически здоровыми в контрольной группе. Выявлено увеличение частоты встречаемости гетерозиготного варианта G/A аллели гена *IL17A* у пациентов с АР по сравнению с контролем (56,9% против 30,2% соответственно,  $\chi^2 = 11,9$ ;  $p < 0,05$ ; OR = 3,1). При сравнении A/A генотипа гена *IL17A* в группах пациентов с АР и здоровых индивидов было отмечено, что A/A генотип в группе пациентов с АР встречается достоверно чаще, чем в контрольной группе (14,1% по сравнению с 5,9% соответственно,  $\chi^2 = 4,6$ ;  $p < 0,05$ ).

Результаты настоящего исследования показали, что генотип AA rs2275913 гена *IL17A* связан с развитием АР в узбекской популяции.

Этот полиморфизм может служить предиктором АР, предоставлять полезную информацию для разработки и внедрения патогенетически обоснованных методических подходов к лечению и профилактике аллергического ринита.

**Ключевые слова:** аллергический ринит, цитокины, IL-17, полиморфизм генов, патогенез

### Адрес для переписки:

Дустбабаева Назифа Дамировна  
Ташкентский институт усовершенствования врачей  
100031, Республика Узбекистан, г. Ташкент, Яккасарайский район, ул., Миробод, 16-26.  
Тел.: +99899-495-50-20.  
E-mail: nazifa.d@bk.ru

### Address for correspondence:

Dustbabaeva Nazifa Damirovna  
Tashkent Institute for Post-Graduate Medical Education  
100031, Republic of Uzbekistan, Tashkent, Yakkasaray district, Mirobod str., 16-26.  
Phone: +99899-495-50-20.  
E-mail: nazifa.d@bk.ru

### Образец цитирования:

Н.Д. Дустбабаева, Ф.Х. Ирсалиева, Н.Ф. Нурматова, В.Ф. Байбекова, Н.П. Айдарова, Х.С. Ахмедов «Полиморфизм rs2275913 гена *IL17A* в узбекской популяции и его связь с развитием аллергического ринита» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 4. С. 443-448.  
doi: 10.46235/1028-7221-450-IGP

© Дустбабаева Н.Д. и соавт., 2020

### For citation:

N.D. Dustbabaeva, F.Kh. Irsaliyeva, N.F. Nurmatova, V.F. Baybekova, N.P. Aydarova, Kh.S. Akhmedov "IL17A rs2275913 gene polymorphism in Uzbek ethnic group and its linkage with development of allergic rhinitis", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 4, pp. 443-448.  
doi: 10.46235/1028-7221-450-IGP

DOI: 10.46235/1028-7221-450-IGP

# IL17A rs2275913 GENE POLYMORPHISM IN UZBEK ETHNIC GROUP AND ITS LINKAGE WITH DEVELOPMENT OF ALLERGIC RHINITIS

Dustbabaeva N.D.<sup>a</sup>, Irsaliyeva F.Kh.<sup>b</sup>, Nurmatova N.F.<sup>b</sup>,  
Baybekova V.F.<sup>b</sup>, Aydarova N.P.<sup>b</sup>, Akhmedov Kh.S.<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Tashkent Institute for Post-Graduate Medical Education, Tashkent, Republic of Uzbekistan

<sup>b</sup> Tashkent Medical Academy, Tashkent, Republic of Uzbekistan

<sup>c</sup> Republican Scientific and Specialized Allergological Center, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Abstract.** Currently, new insights into the general mechanisms of developing allergic diseases suggest that Th17 cells are involved in the pathogenesis of allergic rhinitis characterized by dominant production of cytokines IL-17A and IL-17F. Objective: to assess *IL17A* rs2275913 gene polymorphism in the Uzbek ethnic group and its linkage with development of allergic rhinitis. There were examined 83 patients with allergic rhinitis, among which 38 (46%) had intermittent form and 45 (54%) – with persistent disease form. In control group there were included 123 apparently healthy subjects. Genotyping of *IL17A* rs2275913 polymorphism was carried out by using real-time polymerase chain reaction (Real-Time) “SNP-EXPRESS”-RV.

While analyzing frequency distribution of the G and A alleles within the *IL17A* gene, it was found that the A allele dominated (38.7% vs 19.5%, respectively,  $\chi^2 = 15.9$ ;  $p < 0.05$ ). The G/G genotype in the A/G *IL17A* gene polymorphism was much less abundant in AR patients compared to apparently healthy patients in control group. It was detected increased frequency of heterozygous G/A allele within the *IL17A* gene in AR patients vs. control group (56.9% vs 30.2%, respectively,  $\chi^2 = 11.9$ ;  $p < 0.05$ ; OR = 3.1). While comparing the A/A genotype of the *IL17A* gene it was shown that its prevalence was significantly higher in AR patients compared to healthy subjects (14.1% vs 5.9%, respectively,  $\chi^2 = 4.6$ ;  $p < 0.05$ ).

Our findings demonstrated that the AA genotype in the *IL17A* rs2275913 gene is associated with developing AR in the Uzbek ethnic group. Such trait may be used as AR predictor, provide valuable information for design and implementation of pathogenetically justified methodological approaches to therapy and prevention of allergic rhinitis.

**Keywords:** allergic rhinitis, cytokines, IL-17, polymorphism, gene, pathogenesis

## Введение

Одной из актуальных проблем современной аллергологии является аллергический ринит (АР). Проведенные эпидемиологические исследования свидетельствуют о прогрессирующем увеличении распространенности АР, особенно в развитых странах. По официальным данным Всемирной организации аллергии (WAO) АР в популяции составляет в среднем 10–35%. В последние годы у 80% больных АР отмечается средне тяжелые и тяжелые формы течения заболевания.

Развитие и повсеместный рост АР обусловлен влиянием средовых и наследственных факторов. Результаты проведенных в настоящее время генетических исследований позволили получить веские доказательства существования ассоциации генов, участвующих в механизмах развития аллергического ринита [5, 16, 25]. Важную роль в патогенезе АР осуществляют гены цитокинов, участвующие в иммунном ответе, развитии и активации аллергического воспаления. Наличие

того или иного аллельного варианта в генах цитокинов, участвующих в патогенезе АР, оказывает влияние на качество иммунного ответа и, соответственно, течение и исход болезни, а также изменчивость ответа на проводимую фармакотерапию [1, 2, 4, 6].

Семейство интерлейкинов-17 (IL-17) включает шесть белков-цитокинов с массой 20–30 кДа, и среди них IL-17A и IL-17F, являясь наиболее изученными, имеют самую высокую гомологию последовательности белка. Члены семейства IL-17 участвуют во многих этапах иммунного ответа и преимущественно секретируются Th17-популяцией клеток [3, 13]. Имеются доказательства того, что IL-17 играет важную роль в патогенезе аллергического ринита с наиболее тяжелой моноенсибилизацией к березе, стероид-резистентной бронхиальной астмы [11, 12]. В настоящее время полиморфизм генов *IL17A* и *IL17F* активно исследуется. Показано, что полиморфизм гена *IL17A* сопряжен с риском развития ревматоидного артрита, неалкогольной жировой

ТАБЛИЦА 1. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ ПРАЙМЕРОВ

TABLE 1. SEQUENCE OF OLIGONUCLEOTIDE PRIMERS

IL17A rs2275913	F	5'- AACAAAGTAAGAATGAAAAGAGGACATGGT-3'
	R	5'- CCCCCAATGAGGTCATAGAAGAATC-3

болезни печени и аспири-индуцированного респираторного заболевания у японцев [7, 15, 17]. Целью данного исследования было изучить полиморфизм rs2275913 гена *IL17A* в узбекской популяции и его связь с развитием аллергического ринита.

## Материалы и методы

### Информация о пациентах

Обследованы 83 пациента с аллергическим ринитом (АР), из них 38 (46%) с интермиттирующей формой и 45 (54%) пациента с персистирующей формой заболевания. Диагноз «АР» устанавливали согласно классификации ARIA – Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (9). В качестве контрольной группы (КГ) были обследованы 123 здоровых лиц, в том числе 61 мужчин и 62 женщин со средним возрастом 34 года. Лица в контрольной группе были физически здоровыми, не страдающие аллергическими заболеваниями.

### Реактивы и оборудование

Реагенты: выделение ДНК из цельной крови осуществлялось набором реагентов «ДНК-ЭКСПРЕСС-КРОВЬ» (производство ООО НПФ «Литех», Москва). ПЦР амплификацию в реальном времени проводили с использованием комплекта реагентов для АС-ПЦР выявления полиморфизма G197A гена *IL17* (производство ООО НПФ «Литех», Москва). Оборудование: ПЦР-амплификатор в режиме «реального времени» Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия).

### Получение образцов

После верификации диагноза и получения письменного согласия пациента или его родителей принять участие в исследовании, взята венозная кровь из локтевой вены объемом 1 мл в 0,05 мл 4% раствора цитрата натрия в соотношении 500 мкл крови на 50 мкл антикоагулянта, и доставлялась в лабораторию в течение 2 часов.

### Выделение ДНК

Выделение ДНК из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь» (НПФ «Литех», Москва).

**Детекция продуктов в режиме реального времени (Real-Time) «SNP-ЭКСПРЕСС» – РВ.**

Аналізу подвергалась геномная ДНК обследуемых, выделенная из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь».

С образцом выделенной ДНК параллельно проводились две реакции амплификации – с двумя парами аллель-специфичных праймеров. Для детекции амплифицированного фрагмента ДНК использовался интеркалирующий краситель SYBR Green, специфичный к двухцепочечной ДНК. Результаты анализа позволили дать три типа заключений: гомозигота по аллели 1; гетерозигота; гомозигота по аллели 2. Программа амплификации включала 1 мин предварительной денатурации при 93 °С, 35 циклов: 93 °С – 0:10 с, 60 °С – 0:10 с, 72 °С – 0:10 с; программу завершала элонгация при 72 °С в течение 7 мин. Специфические олигонуклеотидные праймеры с участками гена *IL17A* (rs2275913) представлены в таблице 1.

### Статистическая обработка данных

Для анализа полученных данных использовалось программное обеспечение BioStat 5.8.4.3. Проводили расчет средней арифметической изучаемого показателя (М), стандартной ошибки среднего (m), относительных величин (частота, %), отношения шансов (OR), относительного риска (RR), критерия хи-квадрат ( $\chi^2$ ) Пирсона и точного критерия Фишера. За статистически значимые изменения принимали уровень достоверности  $p < 0,05$ .

## Результаты

Все пациенты жаловались на сезонные и постоянные симптомы, которые включают в себя ринорею, назальную обструкцию, чихание, зуд, чувство жжения в носу, характерное дыхание ртом, сопение, храп, апноэ, изменение и гнусавость голоса.

При исследовании распределения частот аллелей G и A гена *IL17A* было зарегистрировано (табл. 2), что доминантным аллелем явился A аллель гена *IL17A* (38,7% против 19,5%, соответственно,  $\chi^2 = 15,9$ ;  $p > 0,05$ ). Полученные данные позволяют считать аллель A гена *IL17A* аллелем риска развития АР в обследованной популяции.

Далее нами проведен анализ (табл. 3) распределения частот генотипов полиморфизма исследуемого гена *IL17A*. Так, G/G гомозиготный генотип полиморфного участка A/G гена *IL17A* значительно реже встречался в группе пациентов с АР по сравнению с практически здоровыми в контрольной группе.

**ТАБЛИЦА 2. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ АЛЛЕЛЕЙ А/Г ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *IL17A* (rs2275913) У ПАЦИЕНТОВ АР И ЗДОРОВЫХ ИНДИВИДОВ**

TABLE 2. FREQUENCY DISTRIBUTION OF A/G ALLELES OF *IL17A* GENE POLYMORPHISM (rs2275913) IN AR PATIENTS AND HEALTHY INDIVIDUALS

Полиморфизм Polymorphism	Аллели Alleles	АР AR (n = 83)	КГ KG (n = 123)	$\chi^2$	p	OR (95% CI)	RR (95% CI)
<b><i>IL17A</i> rs2275913</b>	G	84,0-67,3%	175,0-86,5%	15,9	< 0,05	0,3 (0,21-0,59)	0,7 (0,66-0,88)
	A	48,0-38,7%	37,0-19,5%				

**ТАБЛИЦА 3. ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ ЧАСТОТА *IL17A* rs2275913 ПОЛИМОРФИЗМА У ПАЦИЕНТОВ И РЕГРЕССИОННЫЙ АНАЛИЗ ПРОГНОСТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ**

TABLE 3. GENOTYPIC INCIDENCE OF *IL17A* rs2275913 POLYMORPHISM IN PATIENTS AND REGRESSION ANALYSIS OF PROGNOSTIC FACTORS

Полиморфизм Polymorphism	Аллели Alleles	АР AR (n = 83)	КГ KG (n = 123)	$\chi^2$	p	OR (95% CI)	RR (95% CI)
<b><i>IL17A</i> rs2275913</b>	G/G	25,0-37,9%	75,0-72,9%	19,4	> 0,05	0,2 (0,11-0,45)	0,5 (0,34-0,71)
		44,0-68,1%	34,0-33,1%				
	G/A	37,0-56,9%	31,0-30,2	11,9	< 0,05	3,1 (1,62-6,06)	1,9 (1,34-2,93)
		32,0-49,1%	78,0-72,8%				
	A/A	10,0-14,1	6,0-5,9%	4,6	< 0,05	4,1 (1,03-16,70)	3,8 (1,0-14,2)
		59,0-91,9%	100,0-97,1%				

Выявлено увеличение частоты встречаемости гетерозиготного варианта G/A аллели гена *IL17A* у пациентов с АР по сравнению с контролем (56,9% против 30,2% соответственно,  $\chi^2 = 11,9$ ;  $p < 0,05$ ; OR = 3,1). При сравнении А/А генотипа гена *IL17A* в группах пациентов с АР и здоровых индивидов было отмечено, что А/А генотип в группе пациентов с АР встречается достоверно чаще, чем в контрольной группе (14,1% по сравнению с 5,9% соответственно,  $\chi^2 = 4,6$ ;  $p < 0,05$ ; OR = 4,1; CI 95% 1,03-16,7). Проведенный статистический анализ показал, что у носителей rs2275913 А/А развитие АР в 4,1 раз чаще, чем у неносителей этого генотипа.

## Обсуждение

В данном исследовании был изучен полиморфизм rs2275913 гена *IL17A* в узбекской популяции и его связь с развитием аллергического ринита. Генотип АА гена *IL17A* чаще встречался у пациентов с АР, чем у практически здоровых в контрольной группе. Обнаруженное существенное различие в полиморфизме гена *IL17A* rs2275913 между обследованными пациентами с АР и практически здоровыми составивших контрольную группу позволяет предположить, что

этот полиморфизм играет важную роль в развитии АР в узбекской популяции.

Ген *IL17A* находится на хромосоме 6p12.1 [22]. Сообщалось, что аллель rs2275913 в промоторной области гена *IL17* связан с риском язвенного колита [8], рака желудка [18] и атопического дерматита [19]. Из литературных источников известно, что одиночные нуклеотидные замены генов цитокинов оказывают влияние на продукцию цитокинов и развитие воспалительных заболеваний. Предикторной значимостью для аллергических заболеваний в семействе IL-17 обладают полиморфизмы гена *IL17A* (rs2275913, rs8193036, rs3819024 и rs4711998) и гена *IL17B* (rs1889570, rs763780) [21, 24]. Показано, что в азиатской популяции гетерозиготный генотип GA SNP IL-17 rs2275913 способствует повышению риска развития астмы [14]. Более того, Chen и соавт. продемонстрировали, что IL-17 SNP rs2275913 был вовлечен в некоторые признаки, связанные с ринитом и астмой, которые придают генетическую предрасположенность к астме у детей [10]. Результаты недавно проведенного метаанализа с общим числом участников 5016 [23] показывают, что аллель G rs2275913 в IL-17A является защитным фактором для развития астмы, что согласуется с нашими результатами.

## Заключение

Результаты настоящего исследования показали, что генотип AA гена *IL17A* rs2275913 связан с развитием АР. Этот полиморфизм может служить предиктором АР, предоставлять полезную информацию для выявления потенциальных тера-

певтических целей для биологического лечения аллергического ринита. Для подтверждения этих выводов необходимо проведение дальнейших широкомасштабных исследований связи между полиморфизмом гена *IL17A* и АР в разных этнических группах.

## Список литературы / References

1. Бережная Н.М. Интерлейкин 25 (IL-17E): виновник аллергии и противник рака // Цитокины и воспаление, 2010. № 9 (3). С. 3-14. [Berezhnaya N.M. Interleukin 25 (IL-17E): allergy culprit and cancer adversary. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2010, no. 9 (3), pp. 3-14. (In Russ.)]
2. Борисова А.И., Каримов Д.О., Идиятулина Э.Ф., Кутлина Т.Г., Валова Я.В., Муххамадиева Г.Ф., Нуритдинова Г.М. Ассоциация полиморфного локуса rs3939286 гена IL33 с риском развития и степенью тяжести бронхиальной астмы // Российский иммунологический журнал, 2018, Т. 12, № 4. С. 612-614. [Borisova A.I., Karimov D.O., Ilyatulina E.F., Kutlina T.G., Valova Y.V., Muhhamadieva G.F., Nuritdinova G.M. Association of the rs3939286 polymorphic locus of the IL33 gene with the risk of development and the severity of bronchial asthma. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2018, Vol. 12, no. 4, pp. 612-614. (In Russ.)]
3. Костарева О.С., Габдулхаков А.Г. Интерлейкин-17: функциональные и структурные особенности // Успехи биологической химии, 2019. Т. 59. С. 393-418. [Kostareva O.S., Gabdulkhakov A.G. Interleukin-17: functional and structural features. *Uspekhi sovremennoy biologii = Biology Bulletin Reviews*, 2019, Vol. 59, pp. 393-418. (In Russ.)]
4. Максимова Ю.В., Свечникова Е.В., Максимов В.Н., Колесник К.Н., Алешкина А.В., Акиншина Е.И., Немчанинова О.Б. Полиморфизм некоторых генов иммунного ответа при атопическом дерматите // Клиническая дерматология и венерология, 2015. Т. 14, № 5. С. 24-27. [Maksimova Yu.V., Svechnicova E.V., Maksimov V.N., Kolesnik K.N., Aleshkina A.V., Akinshina E.I., Nemchaninova O.B. Polymorphism of some immune response genes in atopic dermatitis. *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya = Russian Journal of Clinical Dermatology and Venerology*, 2015, Vol. 14, no. 5, pp. 24-27. (In Russ.)]
5. Фрейдин М.Б., Брагина Е.Ю., Федорова О.С., Деев И.А., Куликов Е.С., Огородова Л.М., Пузырев В.П. Полногеномный анализ ассоциаций аллергических заболеваний с молекулярными маркерами у русских жителей Западной Сибири // Молекулярная биология, 2011. Т. 45, № 3. С. 464-472. [Freidin M.B., Bragin E.Yu., Fedorova O.S., Deev I.A., Kulikov E.S., Ogorodova L.M., Puzyrev V.P. Genome-wide analysis of associations of allergic diseases with molecular markers in Russian residents of Western Siberia. *Molekulyarnaya biologiya = Molecular Biology*, 2011, Vol. 45, no. 3, pp. 464-472. (In Russ.)]
6. Чередниченко А.А., Трифонова Е.А., Вагайцева К.В., Бочарова А.В., Степанов В.А. Связь полиморфизма генов цитокинов и их рецепторов в популяциях человека с климатическими и географическими факторами // Генетика, 2014. Т. 50, № 10. С. 1254-1254. [Cherednichenko A.A., Trifonova E.A., Vagaitseva K.V., Bocharova A.V., Stepanov V.A. Relationship of polymorphism of genes of cytokines and their receptors in human populations with climatic and geographical factors. *Genetika = Russian Journal of Genetics*, 2014, Vol. 50, no. 10, pp. 1254-1254. (In Russ.)]
7. Akbulut U.E., Emeksiz H.C., Citli S., Cebi A.H., Korkmaz H.A.A., Baki G. IL-17A, MCP-1, CCR-2, and ABCA1 polymorphisms in children with non-alcoholic fatty liver disease. *Jornal de Pediatria (Versão em Português)*, 2019, Vol. 95, Iss. 3, pp. 350-357.
8. Arisawa T., Tahara T., Shibata T., Nagasaka M., Nakamura M., Kamiya Y., Fujita H., Nakamura M., Yoshioka D., Arima Y., Okubo M., Hirata I., Nakano H. The influence of polymorphisms of interleukin-17A and interleukin-17F genes on the susceptibility to ulcerative colitis. *J. Clin. Immunol.*, 2008, Vol. 28, no. 1, pp. 44-49.
9. Brożek J.L., Bousquet J., Baena-Cagnani C.E., Bonini S., Canonica G.W., Casale T.B., Schünemann H.J. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2010, Vol. 126, no. 3, pp. 466-476.
10. Chen J., Deng Y., Zhao J., Luo Z., Peng W., Yang J., Ren L., Wang L., Fu Z., Yang X., Liu E. The polymorphism of IL-17 G-152A was associated with childhood asthma and bacterial colonization of the hypopharynx in bronchiolitis. *J. Clin. Immunol.*, 2010, Vol. 30, pp. 539-545.
11. Chen J.H., Qin L., Shi Y.Y., Feng J.T., Zheng Y.L., Wan Y.F., Xu C.-Q., Yang X.-M., Hu C.P. IL-17 protein levels in both induced sputum and plasma are increased in stable but not acute asthma individuals with obesity. *Respir. Med.*, 2016, Vol. 121, pp. 48-58.
12. Ciprandi G., Fenoglio D., de Amici M., Quaglini S., Negrini S., Filaci G. Serum IL-17 levels in patients with allergic rhinitis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2008, Vol. 122, no. 3, pp. 650-651.
13. Doe C., Bafadhel M., Siddiqui S., Desai D., Mistry V., Rugman P., McCormick M., Woods J., May R., Sleeman M.A., Anderson I.K., Brightling C.E. Expression of the T helper 17-associated cytokines IL-17A and IL-17F in asthma and COPD. *Chest*, 2010, Vol. 138, no. 5, pp. 1140-1147.

14. Du J., Han J.C., Zhang Y.J., Qi G.B., Li H.B., Zhang Y.J., Cai S. Single-nucleotide polymorphisms of IL-17 gene are associated with asthma susceptibility in an Asian population. *Med. Sci. Monit.*, 2016, Vol. 22, pp. 780-787.
15. Elfasakhany F.M., Eldamarawi M.A., Khalil A.E. Association between interleukin-17 gene polymorphism and rheumatoid arthritis among Egyptians. *Meta Gene*, 2018, Vol. 16, pp. 226-229.
16. Khaitova N.M., Ziyadullaev S.K., Mukhamedov R.S. Investigation of association between bronchial asthma and gene FcεRIβ 109 C/T polymorphism in Uzbek population. *Med. Health Sci. J.*, 2011, Vol. 8, no. 4, pp. 55-58.
17. Kohyama K., Abe S., Kodaira K., Yukawa T., Hozawa S., Sagara H., Kurosawa M. IL-13 and IL-17A gene polymorphisms in Japanese patients with aspirin-exacerbated respiratory disease. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2011, Vol. 107, no. 6, pp. 510-516.
18. Li Z., Liu Y., Cao D., Jiang M., Luo F. IL-17A and IL-17F polymorphisms and gastric cancer risk: a meta-analysis. *Genet. Mol. Res.*, 2015, Vol. 14, pp. 7008-7017.
19. Narbutt J., Wojtczak M., Zalinska A., Przybylowska-Sygut K., Kuna P., Majak P., Sysa-Jedrzejowska A., Lesiak A. The A/A genotype of an interleukin-17A polymorphism predisposes to increased severity of atopic dermatitis and coexistence with asthma. *Clin. Exp. Dermatol.*, 2015, Vol. 40, pp. 11-16.
20. Onishi R.M., & Gaffen S.L. Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease. *Immunology*, 2010, Vol. 129, no. 3, pp. 311-321.
21. Veldhoen M., Hocking R.J., Atkins C.J., Locksley R.M., Stockinger B. TGF beta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity*, 2006, Vol. 24, no. 2, pp. 179-189.
22. Wang J.Y., Lin C.G., Bey M.S., Wang L., Yi-Fang Lin F., Huang L., Wu L.S.-H. Discovery of genetic difference between asthmatic children with high IgE level and normal IgE level by whole genome linkage disequilibrium mapping using 763 autosomal STR markers. *J. Human Genetics*, 2005, Vol. 50, pp. 249-258.
23. Zhai C., Li S., Feng W., Shi W., Wang J., Wang Q., Chai L., Zhang Q., Yan X., Li M. Association of interleukin-17a rs2275913 gene polymorphism and asthma risk: a meta-analysis. *Arch. Med. Sci.*, 2018, Vol. 14, no. 6, pp. 1204-1211.
24. Zhu M., Wang T., Chen R., Wang C., Liu S., Ji Y. Association between interleukin 17a gene polymorphisms and asthma risk: a meta-analysis. *Asian Pac. J. Allergy Immunol.*, 2016, Vol. 34, no. 2, pp. 115-123.
25. Ziyadullaev S.K., Khaitova N.M., Aripova T.U., Khaydarov M.M. Role of gene GSTp1 in the development of predisposition to allergic asthma in Uzbek population. *Korean J. Intern. Med.*, 2014, Vol. 2014, no. 1, p. 166.

---

**Авторы:**

**Дустбабаева Н.Д.** — ассистент курса клинической аллергологии, аллерголог-иммунолог, Ташкентский институт усовершенствования врачей, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Ирсалиева Ф.Х.** — д.м.н., доцент кафедры аллергологии, клинической иммунологии и сестринского дела, Ташкентская медицинская академия, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Нурматова Н.Ф.** — д.м.н., ассистент кафедры аллергологии, клинической иммунологии и сестринского дела, Ташкентская медицинская академия, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Байбекова В.Ф.** — ассистент кафедры аллергологии, клинической иммунологии и сестринского дела, Ташкентская медицинская академия, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Айдарова Н.П.** — ассистент кафедры аллергологии, клинической иммунологии и сестринского дела Ташкентской медицинской академии, Ташкентская медицинская академия, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Ахмедов Х.С.** — заместитель директора Республиканского научно-специализированного аллергологического центра Министерства здравоохранения Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

---

**Authors:**

**Dustbabaeva N.D.**, Assistant Course in Clinical Allergology, Allergologist-Immunologist, Tashkent Institute for Post-Graduate Medical Education, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Irsaliyeva F.K.**, PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Department of Allergology, Clinical Immunology and Nursing, Tashkent Medical Academy, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Nurmatova N.F.**, PhD, MD (Medicine), Assistant Professor, Department of Allergology, Clinical Immunology and Nursing, Tashkent Medical Academy, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Baybekova V.F.**, Assistant Professor, Department of Allergology, Clinical Immunology and Nursing, Tashkent Medical Academy, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Aydarova N.P.**, Assistant Professor, Department of Allergology, Clinical Immunology and Nursing, Tashkent Medical Academy, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Akhmedov Kh.S.**, Deputy Director, Republican Scientific and Specialized Allergological Center, Tashkent, Republic of Uzbekistan

---

Поступила 06.08.2020

Отправлена на доработку 01.09.2020

Принята к печати 03.09.2020

---

Received 06.08.2020

Revision received 01.09.2020

Accepted 03.09.2020

## ПОЛИМОРФИЗМ *IL17A* rs2275913 И ОСОБЕННОСТИ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ ПЕРСИСТИРУЮЩИМ АЛЛЕРГИЧЕСКИМ РИНИТОМ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ АЛЛЕРГЕН-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Ирсалиева Ф.Х.<sup>1</sup>, Дустбабаева Н.Д.<sup>2</sup>, Камалов З.С.<sup>3</sup>,  
Зиядуллаев Ш.Х.<sup>3</sup>, Нурматова Н.Ф.<sup>1</sup>, Ахмедов Ж.Х.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Ташкентская медицинская академия Министерства здравоохранения Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

<sup>2</sup> Ташкентский институт усовершенствования врачей, г. Ташкент, Республика Узбекистан

<sup>3</sup> Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

<sup>4</sup> ООО «Гранат Стом», п. Назарбек, Республика Узбекистан

**Резюме.** Аллергический ринит (АР) является глобальной проблемой здравоохранения. По результатам эпидемиологических исследований, аллергическим ринитом страдает около 20% населения всех возрастных групп. По причинам, которые до сих пор не совсем понятны, частота и заболеваемость АР существенно возросли за последние десятилетия. Только в Узбекистане распространенность АР за 10 лет увеличилась в 2 раза. Однако официальная статистика о распространенности аллергического ринита, основанная на показателях обращаемости пациентов, в десятки раз ниже действительных значений и ни в коей мере не отражает серьезность данной проблемы, хотя и она достаточна для представления масштабов распространения данного заболевания. Аллерген-специфическая иммунотерапия (АСИТ) представляет единственный метод лечения IgE-опосредованных заболеваний, способный изменить естественное развитие atopического процесса. Одним из наиболее перспективных направлений в лечении аллергических заболеваний является развитие и совершенствование метода аллерген-специфической иммунотерапии (АСИТ). Ряд авторов отмечают рост распространенности аллергических заболеваний (АЗ) респираторного тракта, в том числе пыльцевой этиологии. При данной патологии, имеющей в своей основе хронический воспалительный процесс, развивающийся преимущественно на слизистой оболочке органов дыхания, целью терапевтических мероприятий является достижение хорошего уровня контроля над симптомами заболевания, снижение риска последующих обострений и предотвращение утяжеления АЗ.

*IL-17A* является представителем семейства *Th17* и был описан относительно недавно. Гены *IL17* включают шесть белков-цитокинов с массой 20-30 кДа, и среди них *IL17A* и *IL17F* имеют самую высокую гомологию последовательности белка изучены во многих популяциях. Белки семейства *IL-17* принимают участие в различных реакциях иммунного ответа и преимущественно секретируются

### Адрес для переписки:

Ирсалиева Фатима Хуснутдиновна  
Ташкентская медицинская академия Министерства  
здравоохранения Республики Узбекистан  
100109, Республика Узбекистан, г. Ташкент,  
Алмазарский район. Медгородок, Г-30, 2в, кв. 5.  
Тел.: +99890-958-65-56.  
E-mail: Irsaliev73@mail

### Address for correspondence:

Irsaliev Fatima Kh.  
Tashkent Medical Academy  
100109, Republic of Uzbekistan, Tashkent, Almazar district,  
City of Doctors, G-30, 2v, apt 5.  
Phone: +99890-958-65-56.  
E-mail: Irsaliev73@mail

### Образец цитирования:

Ф.Х. Ирсалиева, Н.Д. Дустбабаева, З.С. Камалов,  
Ш.Х. Зиядуллаев, Н.Ф. Нурматова, Ж.Х. Ахмедов  
«Полиморфизм *IL17A* rs2275913 и особенности  
иммунологических показателей у больных  
персистирующим аллергическим ринитом при проведении  
аллерген-специфической терапии» // Российский  
иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 4. С. 449-460.  
doi: 10.46235/1028-7221-440-IPA

© Ирсалиева Ф.Х. и соавт., 2020

### For citation:

F.Kh. Irsaliev, N.D. Dustbabaeva, Z.S. Kamalov,  
Sh.Kh. Ziyadullaev, N.F. Nurmatova, Zh.Kh. Akhmedov  
“*IL17A* rs2275913 polymorphism and features of  
immunological parameters in patients with persistent allergic  
rhinitis during allergen-specific immunotherapy”, Russian  
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii  
Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 4, pp. 449-460.  
doi: 10.46235/1028-7221-440-IPA

DOI: 10.46235/1028-7221-440-IPA

Th17-популяцией клеток. Известно, что в прогрессировании многих инфекционных заболеваний существенное значение имеют иммунологические механизмы, в частности цитокины, принимающие участие в таких процессах, как воспаление, регенерация и фиброгенез, типичным представителем которых является IL-17A.

*Ключевые слова:* аллергический ринит, аллергенспецифическая иммунотерапия, цитокины, интерлейкины, однонуклеотидный полиморфизм, исследование генетической ассоциации

## **IL17A rs2275913 POLYMORPHISM AND FEATURES OF IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN PATIENTS WITH PERSISTENT ALLERGIC RHINITIS DURING ALLERGEN-SPECIFIC IMMUNOTHERAPY**

**Irsaliev F.Kh.<sup>a</sup>, Dustbabaeva N.D.<sup>b</sup>, Kamalov Z.S.<sup>c</sup>,  
Ziyadullaev Sh.Kh.<sup>c</sup>, Nurmatova N.F.<sup>a</sup>, Akhmedov Zh.Kh.<sup>d</sup>**

<sup>a</sup> Tashkent Medical Academy, Tashkent, Republic of Uzbekistan

<sup>b</sup> Tashkent Institute for Advanced Training of Doctors, Tashkent, Republic of Uzbekistan

<sup>c</sup> Institute of Immunology and Human Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

<sup>d</sup> LLC "Granat Stom", Nazarbek village, Republic of Uzbekistan

**Abstract.** Allergic rhinitis (AR) represents a global healthcare challenge. Epidemiology data demonstrate that around 20% of all-age group subjects suffer from allergic rhinitis. Over the last decades, AR incidence and morbidity have been markedly increased due to poorly understood causes. For instance, in the last decade AR prevalence has been elevated by 2-fold in Uzbekistan. However, medical records related to AR prevalence based on patient visit rate infer that it is dozens of times lower than actual data and reflects in no way severity of the problem, but sufficient enough to outline its large-scale spread. Allergen-specific immunotherapy (ASIT) requiring further development and adjustments represents one of the most promising approaches to treat allergic diseases. Some researchers note rise in respiratory tract allergic disease (AD) prevalence including caused by pollen allergens. Therapeutic interventions in this type of pathology emerging due to chronic inflammatory process mainly in airway mucosa are aimed at achieving good control over disease symptoms, lowering risk of subsequent exacerbations and preventing AD aggravation. IL-17 belongs to the Th17 cell-derived cytokines that was described relatively recently. *IL17* genes encode six proteins (molecular weight 20-30 kDa), among which *IL17A* and *IL17F* display peak sequence homology and were studied in numerous cell types. IL-17 family proteins take part in various reactions of immune response being mainly secreted by Th17 cells. It was shown that immunological mechanisms particularly mediated by cytokines such as IL-17A involved in inflammation, regeneration and fibrogenesis are crucial in progression of diverse infectious diseases.

*Keywords:* allergic rhinitis, allergen specific immunotherapy, cytokines, interleukins, single nucleotide polymorphism, genetic association study

### **Введение**

Аллергический ринит (АР) является глобальной проблемой здравоохранения. По результатам эпидемиологических исследований, аллергическим ринитом страдает около 20% населения всех возрастных групп. По причинам, которые до сих пор не совсем понятны, частота и заболеваемость АР существенно возросли за последние

десятилетия. Только в Узбекистане распространенность АР за 10 лет увеличилась в 2 раза. Однако официальная статистика о распространенности аллергического ринита, основанная на показателях обращаемости пациентов, в десятки раз ниже действительных значений и ни в коей мере не отражает серьезность данной проблемы, хотя и она достаточна для представления масштабов распространения данного заболевания

[9, 27]. Аллерген-специфическая иммунотерапия (АСИТ) представляет единственный метод лечения IgE-опосредованных заболеваний, способный изменить естественное развитие атопического процесса [11, 12, 24, 36]. Одним из наиболее перспективных направлений в лечении аллергических заболеваний является развитие и совершенствование метода аллерген-специфической иммунотерапии (АСИТ). Ряд авторов отмечают рост распространенности аллергических заболеваний (АЗ) респираторного тракта, в том числе пыльцевой этиологии. При данной патологии, имеющей в своей основе хронический воспалительный процесс, развивающийся преимущественно на слизистой оболочке органов дыхания, целью терапевтических мероприятий является достижение хорошего уровня контроля над симптомами заболевания, снижение риска последующих обострений и предотвращение утяжеления. АЗ [7, 33].

IL-17A является представителем семейства Th17 и был описан относительно недавно [2, 6]. Гены *IL17* включают шесть белков-цитокинов с массой 20-30 кДа, и среди них *IL17A* и *IL17F*, имеющие самую высокую гомологию последовательности белка, изучены во многих популяциях. Белки семейства IL-17 принимают участие в различных реакциях иммунного ответа и преимущественно секретируются Th17-популяцией клеток [17, 20, 32]. Известно, что в прогрессировании многих инфекционных заболеваний существенное значение имеют иммунологические механизмы, в частности цитокины, принимающие участие в таких процессах, как воспаление, регенерация и фиброгенез, типичным представителем которых является IL-17A [5, 18].

Считают, что IL-17A может оказывать как провоспалительное, так и противовоспалительное действия и играет ключевую роль в развитии местного воспалительного процесса [21]. Предполагают, что кожа и слизистые оболочки являются преимущественными зонами миграции Th17-клеток [28], цитокины которых, в частности IL-17A, стимулируют барьерные функции эпителия. IL-17A играет важную роль в патогенезе аутоиммунных заболеваний [10] и в иммунной защите организма против бактериальных и грибковых инфекций [31]. Однако в последнее время уделяется существенное внимание выяснению связи полиморфизма генов этого цитокина с предрасположенностью к ряду заболеваний.

**Целью данного исследования** было оценить связь между полиморфизмом *IL17A* rs 2275913 и особенностями изменения содержания в сыворотке крови иммунологических показателей у больных персистирующим аллергическим ринитом (ПАР) при проведении АСИТ.

## Материалы и методы

По полиморфизму гена *IL17A* rs2275913 генотипировано 63 пациента в возрасте 18-40 лет, страдающих среднетяжелым ПАР, в процессе АСИТ.

Критерии включения: наличие подтвержденного диагноза «ПАР» согласно международным стандартам ARIA [3], с длительностью обострений не менее 120 дней в году; возраст 18-40 лет ( $30,5 \pm 2,8$  лет); клиническая (в том числе фармакологическая ремиссия заболевания на момент включения в исследование); подтвержденная сенсibilизация к пыльцевым и/или бытовым аллергенам; наличие информированного согласия родителей.

Критерии исключения: наличие противопоказаний для АСИТ; ранее проведенная АСИТ; иммуномодулирующая терапия в течение последних 6 мес.; наличие неаллергической патологии ЛОР-органов.

Пациенты, включенные в исследование, получали амбулаторный вариант АСИТ по схеме, приведенной в таблице 1 [3].

63 пациента с аллергическим ринитом, из них 29 (46%) с интермиттирующей формой и 34 (54%) пациента с персистирующей формой заболевания. Диагноз «АР» устанавливали согласно классификации ARIA – Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma [13]. В качестве контрольной группы были обследованы 103 здоровых лиц, в том числе 51 мужчин и 52 женщины со средним возрастом 32 года. Лица в контрольной группе были физически здоровыми, без аллергических заболеваний.

Выделение ДНК из цельной крови осуществлялось набором реагентов «ДНК-экспресс-кровь» (производство ООО НПФ «Литех», Москва, Россия). ПЦР амплификацию в реальном времени проводили с использованием комплекта реагентов для АС-ПЦР выявления полиморфизма G197A гена *IL17* (производство ООО НПФ «Литех», Москва, Россия).

Оборудование: ПЦР-амплификатор в режиме «реального времени» Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия).

На основе установленного диагноза и письменного согласия пациента или его родителей принять участие в исследовании, взята венозная кровь из локтевой вены объемом 1 мл в 0,05 мл 4%-ного раствора цитрата натрия в соотношении 500 мкл крови на 50 мкл антикоагулянта и доставлялась в лабораторию в течение 2 часов.

Выделение ДНК из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь» (НПФ «Литех», Москва, Россия).

Детекция продуктов в режиме реального времени (Real-Time) «SNP-ЭКСПРЕСС»-PB.

ТАБЛИЦА 1. СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АСИТ

TABLE 1. SCHEME OF THE ASIT

Разведение аллергена Dilutions of the allergen	Доза аллергена, мл (в 1 мл 10000 PNU) Dose of allergen, ml (in 1 ml 10000 PNU)	Кратность введения Frequency of administration
1:10 000 0000	0,1-0,3-0,5	Ежедневно Daily
1:1 000 000	0,1-0,3-0,5	Ежедневно Daily
1:100 000	0,1-0,3-0,5	Ежедневно Daily
1:10 000	0,1-0,3-0,5	Ежедневно Daily
1:1 000	0,1-0,2-0,3-0,4-0,5	2 раза в неделю 2 times a week
1:100	0,1-0,2-0,3-0,4-0,5	1 раз в неделю 1 time a week
1:10	0,1-0,2-0,3-0,4-0,5	1 раз в 2 недели 1 time in 2 weeks
1:10	0,1-0,2-0,3-0,4-0,5	1 раз в 2 недели 1 time in 2 weeks

ТАБЛИЦА 2. НУКЛЕОТИДНЫЙ СОСТАВ ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ ПРАЙМЕРОВ

TABLE 2. NUCLEOTIDE COMPOSITION OF THE OLIGONUCLEOTIDE PRIMERS

IL17A rs2275913	F	5'- AACAAAGTAAGAATGAAAAGAGGACATGGT-3'
	R	5'- CCCCCAATGAGGTCATAGAAGAATC-3'

Аналізу подвергалась геномная ДНК обследуемых, выделенная из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь». С образцом выделенной ДНК параллельно проводились две реакции амплификации – с двумя парами аллель-специфичных праймеров. Для детекции амплифицированного фрагмента ДНК использовался интеркалирующий краситель SYBR Green, специфичный к двухцепочечной ДНК. Результаты анализа позволили дать три типа заключений: гомозигота по аллели 1; гетерозигота; гомозигота по аллели 2. Программа амплификации включала 1 мин предварительной денатурации при 93 °С, 35 циклов: 93 °С – 0:10 с, 60 °С – 0:10 с, 72 °С – 0:10 с; программу завершала элонгация при 72 °С в течение 7 мин. Специфические олигонуклеотидные праймеры с участками гена *IL17A* (rs2275913) представлены в таблице 2.

Для анализа полученных данных использовалось программное обеспечение BioStat5.8.4.3. Проводили расчет средней арифметической изучаемого показателя (M), стандартной ошибки среднего (m), относительных величин (частота, %),

отношения шансов (OR), относительного риска (RR), критерия хи-квадрат ( $\chi^2$ ) Пирсона и точного критерия Фишера. За статистически значимые изменения принимали уровень достоверности  $p < 0,05$ .

Эффективность терапии оценивалась по пятибалльной шкале Duchaine (1955) после окончания полного курса АСИТ: как «отличная» при полном исчезновении симптомов или незначительных назальных явлениях и носовом дискомфорте при контакте с аллергеном; как «хороший» результат лечения расценивали сохранение эпизодических симптомов АР; как «удовлетворительный» эффект – сохранение симптомов персистирующего АР, но менее выраженных, чем до лечения; как «неудовлетворительный» – исход лечения, при котором состояние больного не изменилось или ухудшилось.

Мониторинг уровня иммунологических параметров проводили до начала иммунокорректирующей терапии и после окончания курса АСИТ. Оно включало определение путем иммунофенотипирования мембранных антигенов лимфоцитов периферической крови (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>,

CD16<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, CD23<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>) с использованием моноклональных антител (АО «Сорбент», Россия). Для количественного определения общего IgE использовали «IgE-ИФА-Бест-стрип» (АО «Вектор-Бест», Россия). Концентрацию цитокинов (IL-4, IL-6, IL-8) определяли методом иммуноферментного анализа (ООО «Цитокин» СПб, Россия). Динамику сывороточного уровня иммунологических параметров оценивали дифференцированно в группах с хорошим/отличным и удовлетворительным/неудовлетворительным эффектом полного курса АСИТ.

Статистическая обработка материала проводилась с использованием пакета программ STATISTICA 6.0 количественная характеристика признака при нормальном распределении осуществлялась с помощью средней арифметической величины (M) и среднеквадратического отклонения (s); при распределении, отличном от нормального, использовали медианное значение показателя с интерквартильным размахом (Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)); для оценки достоверности различий между группами использовали критерии Манна-Уитни (для несвязанных групп) и Вилкоксона (для связанных групп).

## Результаты

Полученные результаты исследований показали распределения частот аллелей G и A гена *IL17A* (табл. 3) в доминантном аллеле A гена *IL17A* (35,7 против 16,5% соответственно,  $\chi^2 = 15,9$ ;  $p > 0,05$ ). Полученные данные позволяют считать аллель A гена *IL17A* аллелем риска развития АР в обследованной популяции.

Далее нами проведен анализ распределения частот генотипов полиморфизма исследуемого гена *IL17A* (табл. 4). Так, G/G гомозиготный генотип полиморфного участка A/G гена *IL17A* значительно реже встречался в группе пациентов с АР по сравнению с практически здоровыми в контрольной группе.

Выявлено увеличение частоты встречаемости гетерозиготного варианта G/A аллели гена *IL17A* у пациентов с АР по сравнению с контролем (53,9% против 27,2% соответственно,  $\chi^2 = 11,9$ ;  $p < 0,05$ ; OR = 3,1). При сравнении A/A-генотипа гена *IL17A* в группах пациентов с АР и здоровых индивидов было отмечено, что A/A-генотип в группе пациентов с АР встречается достоверно чаще, чем в контрольной группе (11,1% по срав-

**ТАБЛИЦА 3. ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АЛЛЕЛЕЙ A/G ГЕНА *IL17A* rs2275913 В ОБСЛЕДОВАННОЙ ПОПУЛЯЦИИ**

TABLE 3. FEATURES OF DISTRIBUTION OF A/G ALLELES OF THE *IL17A* rs2275913 GENE IN THE EXAMINED POPULATION

Полиморфизм Polymorphism	Аллели Alleles	АР AR (n = 63)	КГ KG (n = 103)	$\chi^2$	p	OR (95%CI)	RR (95%CI)
<i>IL17A</i> rs2275913	G	81,0-64,3%	172,0-83,5%	15,9	< 0,05	0,3 (0,21-0,59)	0,7 (0,66-0,88)
	A	45,0-35,7%	34,0-16,5%				

**ТАБЛИЦА 4. ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА *IL17A* rs2275913 ПОЛИМОРФИЗМА И РЕГРЕССИОННЫЙ АНАЛИЗ ПРОГНОСТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ**

TABLE 4. GENOTYPIC CHARACTERISTICS OF *IL17A* rs2275913 POLYMORPHISM AND REGRESSION ANALYSIS OF PREDICTIVE FACTORS

Полиморфизм Polymorphism	Гено-типы Genotypes	АР AR (n = 63)	КГ KG (n = 103)	$\chi^2$	p	OR (95%CI)	RR (95%CI)
<i>IL17A</i> rs2275913	G/G	22,0-34,9%	72,0-69,9%	19,4	> 0,05	0,2 (0,11-0,45)	0,5 (0,34-0,71)
		41,0-65,1%	31,0-30,1%				
	G/A	34,0-53,9%	28,0-27,2	11,9	< 0,05	3,1 (1,62-6,06)	1,9 (1,34-2,93)
		29,0-46,1%	75,0-72,8%				
	A/A	7,0-11,1	3,0-2,9%	4,6	< 0,05	4,1 (1,03-16,7)	3,8 (1,0-14,2)
		56,0-88,9%	100,0-97,1%				

**ТАБЛИЦА 5. КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ ПОЛЛИНОЗАМИ С ЭФФЕКТИВНОЙ И НЕЭФФЕКТИВНОЙ АЛЛЕРГЕН-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИММУНОТЕРАПИЕЙ**

TABLE 5. CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF POLLINOSIS PATIENTS WITH EFFECTIVE AND INEFFECTIVE ALLERGEN-SPECIFIC IMMUNOTHERAPY

Показатели Parameter	Эффективная АСИТ Effective ASIT (n = 39)	Неэффективная АСИТ Ineffective ASIT (n = 23)	p
Возраст, лет Age, years	29,3±1,9	33,9±1,1	< 0,01
Процент клинических проявлений Percentage of clinical manifestations	66,7±2,1	76,8±4,0	< 0,01
Интенсивность клинических проявлений, балл Intensity of clinical manifestations, the score	2,63±0,05	2,94±0,03	< 0,01
Число обострений, раз The number of exacerbations, time	4,4±0,4	6,9±0,7	< 0,01
Длительность обострений, дни Duration of exacerbations, days	91,8±9,9	120,0±10,7	< 0,05
Число причинно-значимых аллергенов Number of cause-significant allergens	5,2±0,4	8,0±0,5	< 0,01
Суммарная доза аллергена (в PNU) Total allergen dose (in PNU)	5935,1±316,8	4548,6±387,3	< 0,01
CD3 <sup>+</sup>	50,6±1,2	42,5±1,4	< 0,01
CD4 <sup>+</sup>	35,9±1,4	29,4±0,8	< 0,01
CD8 <sup>+</sup>	20,6±0,5	17,5±1,1	< 0,01
CD20 <sup>+</sup>	10,7±0,6	6,9±0,4	< 0,01
CD16 <sup>+</sup>	11,8±0,4	8,1±0,7	> 0,05
CD23 <sup>+</sup>	2,6±0,7	4,1±0,8	> 0,05
CD95 <sup>+</sup>	1,9±0,6	1,07±0,4	< 0,01
ИРИ IRI	1,24±0,04	0,83±0,01	< 0,01
IgA	1,81±0,05	1,47±0,13	< 0,01
IgM	1,20±0,02	1,10±0,01	> 0,05
IgG	12,2±0,4	10,1±0,2	< 0,01
Общий IgE General IgE	412,9±21,4	402,9±18,9	> 0,05

нению с 2,9% соответственно,  $\chi^2 = 4.6$ ;  $p < 0,05$ ; OR = 4,1; CI 95% 1,03-16,7). Проведенный статистический анализ показал, что у носителей rs2275913 A/A развитие AP в 4,1 раз чаще, чем у неносителей этого генотипа.

Прогноз неэффективности аллергенспецифической иммунотерапии – важный момент для повышения качества лечения больных поллиноза-

ми и разработки критериев, возможных методов и курсов продолжения аллергенспецифической иммунотерапии.

Анализ клинических симптомов ПАР после окончания полного курса АСИТ показал, что «хороший» или «отличный» эффект лечения был достигнут у 62,9% (у 39 из 62) пациентов, а

у 37,1% (у 23 из 62) он был квалифицирован как «удовлетворительный».

Клинико-аллергологическое обследование больных с эффективной и неэффективной АСИТ показало ряд факторов, оказывающих отрицательное влияние на результаты лечения. Данные по сравнительной характеристике эффективности и неэффективности АСИТ представлены в таблице 2, из которой видно, что пациенты с неэффективной АСИТ были старше ( $p < 0,05$ ), имели тяжелое течение заболевания ( $p < 0,05$ ), большую интенсивность клинических проявлений ( $p < 0,05$ ), частоту и длительность ( $p < 0,05$ ) периодов обострения, большую частоту причинно-значимых аллергенов и степень сенсибилизации, меньшую суммарную дозу (в PNU) и более низкие исходные иммунологические параметры. Также пациенты с неэффективной АСИТ имели исходные более низкие показатели  $CD3^+$ ,  $CD4^+$ ,  $CD8^+$ ,  $CD95^+$  и IgG ( $p < 0,01$ ) (табл. 5).

Как показали данные проведенного нами анализа, для обследованных пациентов значимыми предикторами неэффективности АСИТ являются мужской пол, повышающий риск формирования неэффективности АСИТ в 1,42 раза; возраст старше 30 лет – в 1,16 раз, сезоны обострений: весна-лето-осень – в 1,69 раза, весна-осень – в 1,4 раза, весна – в 1,3 раза; число причинно-значимых аллергенов более 5 – в 2,01 раза; суммарная доза аллергенспецифической терапии менее 4000 PNU – в 2,48 раза;  $CD3^+$  менее 45% – в 2,0

раза;  $CD4^+$  менее 25% – в 2,67 раза;  $CD8^+$  менее 20% – в 4,0 раза и IgG менее 10 г/л – в 4,4 раза.

Под влиянием первого курса АСИТ, признанным неэффективным, можно отметить достоверное снижение чувствительности назальных дыхательных путей к специфическому аллергену. Так, у пациентов отмечено снижение интенсивности заложенности носа на 50,8% (с 2,91 до 1,43 балла); снижение чихания – на 62,2% (с 2,91 до 1,1 балла); снижение конъюнктивальных проявлений – на 71,2% (2,83 до 0,82 балла) и респираторных проявлений – на 62,0% (с 3 до 1,14 балла).

Данные клинических проявлений коррелировали с выраженностью кожной чувствительности и представлены на рисунке 1.

В соответствии с полученными результатами у всех пациентов в сравнительном аспекте была изучена динамика показателей цитокинового статуса (табл. 6).

При этом прежде всего было обращено внимание на различную динамику показателей, отражающих течение воспалительного процесса. Динамика содержания IL-6 отражает усиление его экспрессии в первые дни лечения с существенным снижением в группе с хорошим/отличным эффектом к 30-му дню ( $p = 0,01$ ). Менее эффективная АСИТ характеризовалась медленным снижением уровня цитокина на протяжении всего наблюдения с достижением минимальных значений только к 90-му дню терапии ( $p < 0,05$ ).

Еще одним цитокином с выраженными провоспалительными свойствами является IL-8. Его

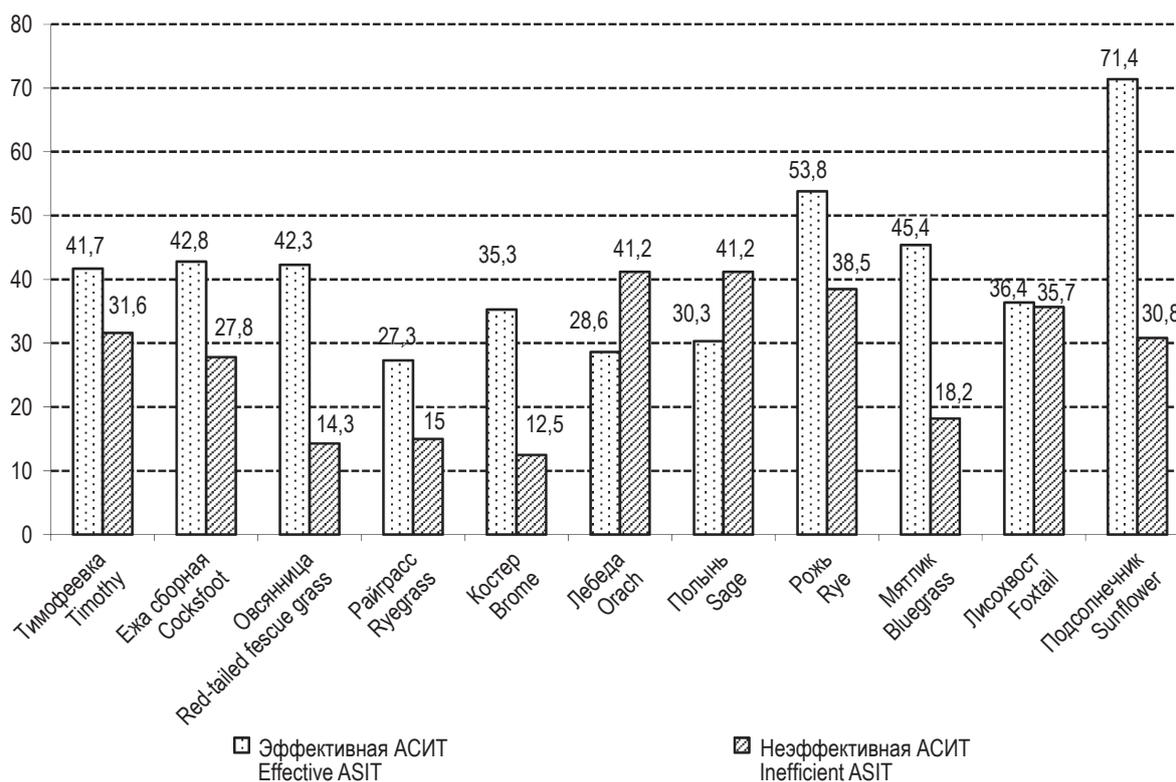
ТАБЛИЦА 6. ПОКАЗАТЕЛИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА У ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ АСИТ

TABLE 6. INDICATORS OF CYTOKINE STATUS IN PATIENTS WITH DIFFERENT EFFICIENCY OF ASIT

Показатель (0,25-0,75%) Parameter	До проведения АСИТ Before the allergen immunotherapy		АСИТ 30-й день ASIT 30 <sup>th</sup> day		АСИТ 90-й день ASIT 90 <sup>th</sup> day	
	I (n = 39)	II (n = 23)	I (n = 39)	II (n = 23)	I (n = 39)	II (n = 23)
IL-4R, пг/мл IL-4R, pg/ml	4,5 (0-15)	0,0 (0,0-0,5)	н. и. n. i.	н.и. n. i.	2,0 (0,0-6,1)*	0,0 (0,0-3,4)
IL-6R, пг/мл IL-6R, pg/ml	1,6 (0,75-3,15)	2,0 (1,45-2,85)	0,6 (0,22-1,00)	1 <sup>#</sup> (0,85-1,20)	0,35 (0,10-1,54)	0,54* <sup>#</sup> (0,41-0,61)
IL-8R, пг/мл IL-8R, pg/ml	1,48 (0,00-3,11)	1,05 (0,7-4,2)	3,9* <sup>#</sup> (3,1-6,9)	2,85* (0,0-3,5)	3,8* (0,0-8,1)	5,0* <sup>#</sup> (3,6-7,0)
IL-5R, пг/мл IL-5R, pg/ml	0,0 (0-5)	0,0 (0-14)	н. и. n. i.	н. и. n. i.	20,0 (0-31)	12,5 (5-24)

Примечание. \* –  $p < 0,05$  в среднем с исходными данными; <sup>#</sup> –  $p < 0,05$  в среднем с предыдущим исследованием; н. и. – не исследовано. I – отличный/хороший АСИТ; II – удовлетворительный/неудовлетворительный результат АСИТ.

Note. \*,  $p < 0.05$  on average with initial data; <sup>#</sup>,  $p < 0.05$  on average with the previous study; n. i., not investigated. I, excellent/good ASIT; II, satisfactory/unsatisfactory ASIT result.



**Рисунок 1. Процент пациентов с отсутствием кожной чувствительности к специфическим аллергенам после первого курса АСИТ и ее эффективности**

Figure 1. Percentage of patients with no skin sensitivity to specific allergens after the first course of ASIT and its effectiveness

роль при топической патологии заключается, в первую очередь, в регуляции поздней фазы аллергической реакции, но значение в механизмах эффективности АСИТ практически не охарактеризовано. По данным Ясоби и соавт., известно, что введение этиологически значимого аллергена больным сезонным аллергическим ринитом вне периода палинации не приводит к изменению синтеза IL-8 в течение суток [11, 23]. Однако другими авторами показано, что полный курс АСИТ сопровождался выраженным (3-4-кратным) усилением синтеза цитокина [16, 30], что позволяет сделать предположение об участии IL-8 в регуляции дополнительных механизмов АСИТ.

Результатами нашего исследования продемонстрировано повышение уровня цитокинов при проведении АСИТ. В группе с хорошим результатом лечения оно наблюдалось к 30-му дню терапии с сохранением достигнутого уровня в течение последующих двух месяцев. Низкая эффективность лечения ассоциировалась с более медленным и более продолжительным (до 90-го дня) повышением сывороточного содержания этого цитокина. Это согласуется с высказанным предположением о том, что низкая чувствительность к высоким разведениям аллергену может быть причиной недостаточной активации им-

мунной системы на ранних этапах лечения, что в последствии приводит к снижению его эффективности, а также с описанной динамикой других цитокинов, регулирующих воспалительный процесс на ранних этапах проведения АСИТ (IL-6) [26, 30].

Неожиданные результаты были получены для проаллергических цитокинов – IL-4 и IL-5. Несмотря на то, что для эффективной АСИТ описано снижение продукции цитокинов к концу полного курса лечения [26]. Известно, что различные дозы аллергена по-разному влияют на формирование Th-фенотипа иммунного ответа. В частности, известно, что низкие дозы аллергена промотируют Th2-вариант, а высокие дозы, характерные для поздних этапов АСИТ, способствуют синтезу Th1-спектра цитокинов [5, 21]. В нашем исследовании хороший/отличный эффект терапии сопровождался достоверным снижением уровня IL-4 в процессе лечения к 90-му дню ( $p = 0,017$ ), что соответствует существующим представлениям о механизмах АСИТ, и оставался неизменным во второй группе. Значительно большая частота случаев с неопределяемым уровнем IL-4 отмечена в группе пациентов с недостаточным лечебным эффектом (64,6% против 20,4%). Возможно, меньшие активационные способности иммунной

системы могут явиться причиной недостаточной эффективности АСИТ. Несмотря на то, что IL-13 по структурно-функциональным характеристикам близок к IL-4, его динамика имела противоположный характер (увеличение его уровня к 90-му дню наблюдения в обеих группах ( $p = 0,04$ )), что требует дальнейшего изучения. Данные о динамике изменения IL-5 в процессе АСИТ носят неоднозначный характер [10, 18, 26]. В нашем исследовании исходный уровень IL-5 у большинства больных был неопределяемым. К моменту достижения максимально лечебной дозы аллергена в группе с хорошим эффектом достигнуто достоверное ( $p = 0,02$ ) усиление продукции цитокина. Несмотря на то, что недостаточная эффективность лечения ассоциировалась с отсутствием достоверных изменений показателя, к этому моменту определяемые количества цитокинов имели 73,9% (17 из 23) больных. Возможно, в данном случае усиление синтеза IL-5 не отражает активацию аллергического воспаления, а может трактоваться как неспецифическая реакция организма на возросшую (максимальную) аллергенную нагрузку к этому сроку. Это согласуется с данными Moverare R. о том, что у больных с сенсибилизацией к пыльце растений происхождение АСИТ в период поллинии этиологически-значимых растений приводит к усилению эксперсии IL-4 и IL-5 [11, 21].

## Обсуждение

В данном исследовании оценивалось влияние *IL17A* rs2275913 полиморфизма на развитие аллергического ринита в узбекской популяции. Показана высокая встречаемость генотипа AA гена *IL17A* у пациентов с АР, по сравнению с практически здоровыми в контрольной группе. Существенное различие в полиморфизме гена *IL17A* rs2275913 между обследованными пациентами с АР и практически здоровыми, составившими контрольную группу, позволяет предположить, что этот полиморфизм играет важную роль в развитии АР в узбекской популяции [4, 19, 31].

Анализ литературных данных показывает, роль различных интерлейкинов, вовлекаемых в патогенез различных заболеваний респираторной системы и осуществляющих контроль аллергического ответа гены *IL3*, *IL4*, *IL5*, *IL9*, *IL13*, гены глюкокортикоидного рецептора р2-адренергического рецептора. Полиморфизм этих генов имеет существенное значение в детерминации подверженности данных заболеваний [15, 35, 37].

Ген *IL17A* находится на хромосоме 6р12.1 [4]. Данные последних лет свидетельствуют, что аллель rs2275913 в промоторной области гена *IL17* связан с риском язвенного колита [8], рака же-

лудка [29] и атопического дерматита [34, 35]. Из литературных источников известно, что одиночные нуклеотидные замены генов цитокинов оказывают влияние на продукцию цитокинов и развитие воспалительных заболеваний. Предикторной значимостью для аллергических заболеваний в семействе IL-17 обладают полиморфизмы гена *IL17A* (rs2275913, rs8193036, rs3819024 и rs4711998) и гена *IL17B* (rs1889570, rs763780) [24, 27]. Показано, что в азиатской популяции гетерозиготный генотип GASNPIL-17 rs2275913 способствует повышению риска развития астмы [20]. Более того, Chen и соавт. продемонстрировали, что IL-17 SNPrs2275913 был вовлечен в некоторые признаки, связанные с ринитом и астмой, которые придают генетическую предрасположенность к астме у детей [17]. Результаты недавно проведенного метаанализа с общим числом участников 5016 [28] показывают, что аллель G rs2275913 в *IL17A* является защитным фактором для развития астмы, что согласуется с нашими результатами [17].

## Заключение

Выявлены статистически значимые различия по концентрации IL-17A среди носителей разных генотипов как у больных АР, так и у здоровых лиц. Проведенные исследования показывают влияние генотипа AA гена *IL17A* rs2275913 на развитие АР, который может служить предиктором АР и иметь существенную информацию для выявления потенциальных терапевтических целей для лечения аллергического ринита. Для подтверждения этих выводов необходимо проведение дальнейших широкомасштабных исследований о связи между полиморфизмом гена *IL17A* и АР в различных этнических группах.

Результаты исследований показывают, что у больных полинозом отмечается иммунологическая супрессия Т-клеточного звена, характерные снижения абсолютного и относительного содержания CD3-лимфоцитов, также снижение числа лимфоцитов, CD4, CD8, CD16. Изменения в эффекторном звене функционирования иммунной системы являются следствием дисбаланса процессов пролиферации и апоптоза: на фоне увеличения апоптозного индекса иммунокомпетентных клеток имела место высокая аллергенспецифическая пролиферация лимфоцитов. Таким образом, эффективность АСИТ у больных с респираторными аллергиями зависит от исходной способности иммунной системы к активации низкими дозами аллергена, достаточно быстрой супрессии индуцированных ими провоспалительных цитокинов, а также активного функционирования системы противовоспалительных цитокинов.

## Список литературы / References

1. Бережная Н.М. Интерлейкин 25 (IL-17E): Виновник аллергии и противник рака // Цитокины и воспаление, 2010. Т. 9, № 3. С. 3-14. [Berezhnaya N.M. Interleukin 25 (IL-17E): the culprit of the allergy and the adversary of cancer. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2010, Vol. 9, no. 3, pp. 3-14. (In Russ.)]
2. Борисова А.И., Каримов Д.О., Идиятулина Э.Ф., Кутлина Т.Г., Валова Я.В., Муххамадиева Г.Ф., Нуртдинова Г.М. Ассоциация полиморфного локуса rs3939286 гена IL-33 с риском развития и степенью тяжести бронхиальной астмы // Российский иммунологический журнал, 2018. Т. 12, № 4. С. 612-614. [Borisova A.I., Karimov D.O., Idiyatulina E.F., Kutlina T.G., Valova Ya.V., Mukhamadieva G.F., Nurtdinova G.M. Association of the polymorphic locus rs3939286 of the IL-33 gene with a risk of development and severity of bronchial asthma. *Rossiyskiy immunologicheskij zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2018, Vol. 12, no. 4, pp. 612-614. (In Russ.)]
3. Гущин И.С. Аллергенспецифическая иммунотерапия atopических заболеваний: пособие для врачей. М., 2002, 32 с. [Gushchin I.S. Allergen-specific immunotherapy of atopic diseases: a guide for doctors]. Moscow, 2002. 32 p.
4. Костарева О.С. Интерлейкин-17: функциональные и структурные особенности // Успехи биологической химии, 2019. Т. 59. С. 393-418. [Kostareva O.S. Interleukin-17: functional and structural features. *Uspekhi biologicheskoy khimii = Advances in Biological Chemistry*, 2019, Vol. 59, pp. 393-418. (In Russ.)]
5. Максимова Ю.В., Свечникова Е.В., Максимов В.Н., Колесник К.Н., Алешкина А.В., Акиншина Е.И., Немчанинова О.Б. Полиморфизм некоторых генов иммунного ответа при atopическом дерматите // Клиническая дерматология и венерология, 2015. Т. 14, № 5. С. 24-27. [Maksimova Yu.V., Svechnikova E.V., Maksimov V.N., Kolesnik K.N., Aleshkina A.V., Akinshina E.I., Nemchaninova O.B. Polymorphism of some genes of the immune response in atopic dermatitis. *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya = Clinical Dermatology and Venereology*, 2015, Vol. 14, no. 5, pp. 24-27. (In Russ.)]
6. Чередниченко А.А., Трифонова Е.А., Вагайцева К.В., Бочарова А.В., Степанов В.А. Связь полиморфизма генов цитокинов и их рецепторов в популяциях человека с климатическими и географическими факторами // Генетика, 2014. Т. 50, № 10. С. 1254-1258. [Cherednichenko A.A., Trifonova E.A., Vagaitseva K.V., Bocharova A.V., Stepanov V.A. The relationship of polymorphism of cytokine genes and their receptors in human populations with climatic and geographical factors. *Genetika = Russian Journal of Genetics*, 2014, Vol. 50, no. 10, pp. 1254-1258. (In Russ.)]
7. Фрейдин М.Б., Брагина Е.Ю., Федорова О.С., Деев И.А., Куликов Е.С., Огородова Л.М., Пузырев В.П. Полногеномный анализ ассоциаций аллергических заболеваний с молекулярными маркерами у русских жителей Западной Сибири // Молекулярная биология, 2011. Т. 45, № 3. С. 464-472. [Freidin M.B., Bragina E.Yu., Fedorova O.S., Deev I.A., Kulikov E.S., Ogorodova L.M., Puzyrev V.P. Full genome analysis of associations of allergic diseases with molecular markers in Russian residents of Western Siberia. *Molekulyarnaya biologiya = Molecular Biology*, 2011, Vol. 45, no. 3, pp. 464-472. (In Russ.)]
8. Akbulut U.E., Emeksiz H.C., Citli S., Cebi A.H., Korkmaz H.A.A., Baki G. IL-17A, MCP-1, CCR-2, and ABCA1 polymorphisms in children with non-alcoholic fatty liver disease. *Jornal de Pediatria (VersãoemPortuguês)*, 2019, Vol. 95, no. 3, pp. 350-357.
9. Akdis M., Akdis C.A. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *J. Allergology Clin. Immunol.*, 2007, Vol. 119, Iss. 4, pp. 780-789.
10. Arisawa T., Tahara T., Shibata T., Nagasaka M., Nakamura M., Kamiya Y., Fujita H., Nakamura M., Yoshioka D., Arima Y., Okubo M., Hirata I., Nakano H. The influence of polymorphisms of interleukin-17A and interleukin-17F genes on the susceptibility to ulcerative colitis. *J. Clin. Immunol.*, 2008, Vol. 28, pp. 44-49.
11. Andersson T.N., Ekman G. J., Gronlund H., Buentke E., Eriksson T.L.J., Scheynius A., van Hage-Hamsten M., Gafvelin G. A novel adjuvant-allergen complex, CBP – r Fel d 1, induces up-regulation of CD86 expression and enhances cytokine release by human dendritic cells *in vitro*. *Immunology*, 2004, Vol. 113, no. 2, pp. 253-259.
12. Arshad S.H. Primary prevention of asthma and allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2005, Vol. 116, pp. 3-14.
13. Brożek J.L., Bousquet J., Baena-Cagnani C.E., Bonini S., Canonica G.W., Casale T.B., Schünemann H.J. Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2010, Vol. 126, no. 3, pp. 466-476.
14. Canonica W., Baena-Cagna C.E., Bousquet J., Bousquet P.J., Lockey R.F., Malling H.-J., Passalacqua G., Potter P., Valovirta E. Recommendations for standardization of clinical trials with Allergen Specific Immunotherapy for respiratory allergy. *Allergy*, 2007, Vol. 62, pp. 317-324.
15. Chen J., Deng Y., Zhao J., Zhengxiu L., Wansheng P., Juan Y., Luo R., Lijia W., Zhou F., Xiqiang Y., Enmei L. The polymorphism of IL-17 G-152A was associated with childhood asthma and bacterial colonization of the hypopharynx in bronchiolitis. *J. Clin. Immunol.*, 2010, Vol. 30, pp. 539-545.
16. Ciprandi G., Marseglia G.L., Tosca M.A. Allergen-specific immunotherapy: an update on immunological mechanisms of action. *Monaldi Arch. Chest. Dis.*, 2006, Vol. 65, no. 1, pp. 34-37.
17. Ciprandi G., Fenoglio D., de Amici M., Quaglini S., Negrini S., Filaci G. Serum IL-17 levels in patients with allergic rhinitis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2008, Vol. 122, no. 3, pp. 650-651.e2.
18. Chen J.H., Qin L., Shi Y.Y., Feng J.T., Zheng Y.L., Wan Y.F., Hu C.P. IL-17 protein levels in both induced sputum and plasma are increased in stable but not acute asthma individuals with obesity. *Respir. Med.*, 2016, Vol. 121, pp. 48-58.

19. Du J., Han J.C., Zhang Y.J., Qi G.B., Li H.B., Zhang Y.J., Cai S. Single-nucleotide polymorphisms of IL-17 gene are associated with asthma susceptibility in an Asian population. *Med. Sci. Monit.*, 2016, Vol. 22, pp. 780-787.
20. Doe C., Bafadhel M., Siddiqui S., Desai D., Mistry V., Rugman P., Anderson I.K. Expression of the T helper 17-associated cytokines IL-17A and IL-17F in asthma and COPD. *Chest*, 2010, Vol. 138, no. 5, pp. 1140-1147.
21. Elfasakhany F.M., Eldamarawi M.A., Khalil A.E. Association between interleukin-17 gene polymorphism and rheumatoid arthritis among Egyptians. *Meta Gene*, 2018, Vol. 16, pp. 226-229.
22. Fujisawa T., Nagao M., Hiraguchi Y., Hosoki K., Tokuda R., Usui S., Masuda S., Shinoda M., Hashiguchi A., Yamaguchi M. Biomarkers for allergen immunotherapy in cedar pollinosis. *Allergology Int.*, 2009, Vol. 58, no. 2, pp. 163-170.
23. Grzela K., Grzela T., Lazarczyk M., Korczak-Kowalska G., Wierzbicki P., Zawadzka-Krajewska A., Jozwiak J., Skopiński P. Influence of allergen-specific immunotherapy on IL-4-dependent IL-12 production by monocytes. *Int. J. Mol. Med.*, 2002, Vol. 10, pp. 481-484.
24. Irsaliev F., Razikova I., Kamalov Z., Dustbabayeva N., Nizamov K. Rationale for sublingual allergen-specific immunotherapy in immunocompromised patients. *Int. J. Pharmaceutical Res.*, 2020, Vol. 12, Iss. 2, pp. 230-236.
25. Jacobi H., Poulsen L.K., Reimert C.M. IL-8 and the activation of eosinophils and neutrophils following nasal allergen challenge. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 1998, Vol. 116, pp. 53-59.
26. Jutel M., Akdis M., Blaser K., Akdis C.A. Mechanisms of allergen specific immunotherapy – T-cell tolerance and more. *Allergy*, 2006, Vol. 61, no. 7, pp. 796-807.
27. Khaitova N.M., Ziyadullaev S.K., Mukhamedov R.S. Investigation of association between bronchial asthma and gene FcεRIβ 109 C/T polymorphism in Uzbek population. *Med. Health Sci. J.*, 2011, Vol. 8, no. 4, pp. 55-58.
28. Kohyama K., Abe S., Kodaira K., Yukawa T., Hozawa S., Sagara H., Kurosawa M. IL-13 and IL-17A gene polymorphisms in Japanese patients with aspirin-exacerbated respiratory disease. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2011, Vol. 107, no. 6, pp. 510-516.
29. Li Z., Liu Y., Cao D., Jiang M., Luo F. IL-17A and IL-17F polymorphisms and gastric cancer risk: a meta-analysis. *Genet. Mol. Res.*, 2015, Vol. 14, pp. 7008-7017.
30. Moverare R. Allergen-specific increase in interleukin (IL)-4 and IL-5 secretion from peripheral blood mononuclear cells during birch-pollen immunotherapy. *Allergy*, 2007, Vol. 53, Iss. 3, pp. 275-281.
31. Narbutt J., Wojtczak M., Zalinska A. The A/A genotype of an interleukin-17A polymorphism predisposes to increased severity of atopic dermatitis and coexistence with asthma. *Clin. Exp. Dermatol.*, 2015, Vol. 40, pp. 11-16.
32. Onishi R.M., Gaffen S.L. Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease. *Immunology*, 2009, Vol. 129, no. 3, pp. 311-321.
33. Park H.S. Clinical and immunologic changes after allergen immunotherapy with Hop Japanese pollen. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2001, Vol. 86, no. 4, pp. 444-448.
34. Silny W. Effectiveness of specific immunotherapy in the treatment of children and youngsters suffering from atopic dermatitis. Part III. Serum concentrations of selected immunologic parameters. *Wiadomoscilekarskie*, 2005, Vol. 58, no. 5-6, pp. 287-294.
35. Veldhoen M., Hocking R.J., Atkins C.J., Locksley R.M., Stockinger B. TGF beta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports *de novo* differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity*, 2006, Vol. 24, pp. 179-189.
36. Wang J.Y., Lin C.G., Bey M.S., Wang L., Lin F.Y.-F., Huang L., Wu L.S.-H. Discovery of genetic difference between asthmatic children with high IgE level and normal IgE level by whole genome linkage disequilibrium mapping using 763 autosomal STR markers. *J. Human Genetics*, 2005, Vol. 50, pp. 249-258.
37. Zhai C., Li S., Feng W., Shi W., Wang J., Wang Q., Li M. Association of interleukin-17a rs2275913 gene polymorphism and asthma risk: a meta-analysis. *Archivesofmedicalscience: AMS*, 2018, Vol. 14, no. 6, pp. 1204-1211.
38. Zhu M., Wang T., Chen R., Wang C., Liu S., Ji Y. Association between interleukin 17a gene polymorphisms and asthma risk: a meta-analysis. *Asian Pac. J. Allergy Immunol.*, 2016, Vol. 34, no. 2, pp. 115-123.

---

**Авторы:**

**Ирсалиева Ф.Х.** — д.м.н., аллерголог-иммунолог, доцент кафедры аллергологии и иммунологии, Ташкентская медицинская академия Министерства здравоохранения Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Дустбабаева Н.Д.** — ассистент курса клинической аллергологии, аллерголог-иммунолог, Ташкентский институт усовершенствования врачей, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Authors:**

**Irsaliev F.Kh.**, PhD, MD (Medicine), Allergist-Immunologist, Associate Professor, Department of Allergology and Immunology, Tashkent Medical Academy, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Dustbabaeva N.D.**, Assistant Course in Clinical Allergology, Allergist-Immunologist, Tashkent Institute for Advanced Training of Doctors, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Камалов З.С.** — д.м.н., профессор, аллерголог-иммунолог, заведующий лабораторией иммунорегуляции Института иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Зиядуллаев Ш.Х.** — д.м.н., аллерголог-иммунолог, заведующий лабораторией, Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Нурматова Н.Ф.** — д.м.н., аллерголог-иммунолог, доцент кафедры детских болезней № 1, Ташкентская медицинская академия Министерства здравоохранения Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Ахмедов Ж.Х.** — к.м.н., стоматолог, ООО «Гранат Стом», п. Назарбек, Республика Узбекистан

**Kamalov Z.S.,** PhD, MD (Medicine), Professor, Allergist-Immunologist, Head, Laboratory of Immunoregulation, Institute of Immunology and Human Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Ziyadullaev Sh.Kh.,** PhD, MD (Medicine), Allergist-Immunologist, Head of the Laboratory, Institute of Immunology and Human Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Nurmatova N.F.,** PhD, MD (Medicine), Pediatrician-Allergist, Associate Professor, Department of Childrens Diseases No. 1, Tashkent Medical Academy, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Akhmedov Zh.Kh.,** Dentist, LLC "Granat Stom", Nazarbek village, Republic of Uzbekistan

---

Поступила 04.08.2020  
Принята к печати 03.09.2020

---

Received 04.08.2020  
Accepted 03.09.2020

## ОЦЕНКА РАСПРОСТРАНЕННОСТИ И КЛИНИКО-АЛЛЕРГОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГРИБКОВОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ В САМАРЕ

Мазоха К.С., Манжос М.В., Хабибулина Л.Р., Асеева Е.В.,  
Селезнев А.В.

Медицинский университет «Реавиз», г. Самара, Россия

**Резюме.** Доминирующую роль в формировании сенсibilизации населения играют плесневые грибы *Alternaria spp.*, *Cladosporium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*. Споры микромицетов могут стать предрасполагающим фактором в развитии таких заболеваний, как бронхиальная астма (БА), аллергический риноконъюнктивит (АР), атопический дерматит (АД). Целью настоящего исследования было изучение распространенности и клинических проявлений грибковой сенсibilизации в г. Самаре. С 2016 по 2019 год проведено клиничко-аллергологическое обследование 855 пациентов различных возрастных групп с подозрением на наличие респираторной аллергии. Пациентам проведено определение уровня общего IgE и специфических IgE к респираторным аллергенам, в том числе грибам *Alternaria spp.*, *Cladosporium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, (RIDA Allergyscreen, R-Biopharm, Германия). Компонентная алергодиагностика с определением главных алергокомпонентов *rAlt a I* проведена 50 пациентам с сенсibilизацией к сорным травам и 26 – с диагностированной ранее сенсibilизацией к нативным экстрактам *Alternaria* (Phadia ImmunoCAP).

В результате проведенных исследований у 28,4% детей и 18,2% взрослых пациентов ( $p = 0,0322$ ) сенсibilизация к *Alternaria* диагностирована у 23% всех обследованных больных (27% детей и 14% взрослых); сенсibilизация к *Cladosporium* – у 11% пациентов (10% детей и 8% взрослых) сенсibilизация к *Aspergillus* – у 5% пациентов (6% детей и 2% взрослых); сенсibilизация к *Penicillium* – у 2% пациентов (1% детей и 3% взрослых). Среди больных с диагностированной грибковой аллергией доминировала сенсibilизация к *Alternaria* – у 90% больных. Она преобладала у пациентов молодого возраста, достигая максимального уровня (18%) в возрастной группе 7-17 лет, частота ее значительно снижалась у пациентов старше 50 лет ( $p = 0,00001$ ;  $\chi^2 = 61,31$ ). Истинная сенсibilизация к *Alternaria* (*Alt a I*) была выявлена более чем у половины пациентов (63%) с ранее подтвержденной сенсibilизацией к нативным экстрактам *Alternaria*. У 66% пациентов с грибковой сенсibilизацией диагностирован аллергический ринит, у 25% – бронхиальная астма. Сенсibilизация к *Alternaria* являлась фактором риска формирования БА в детском возрасте (ОШ = 2,415). Полученные данные свидетельствуют о распространенности грибковой сенсibilизации и ассоциированных с ней аллергических заболеваний в Самаре.

**Ключевые слова:** грибковая сенсibilизация, *Alternaria*, бронхиальная астма, аллергический ринит, аллергия, плесневые грибы

### Адрес для переписки:

Манжос Марина Валентиновна  
Медицинский университет «Реавиз»  
443001, Россия, г. Самара, ул. Чапаевская, 227.  
Тел.: 8 (917) 141-56-03.  
E-mail: mmv\_kinel@mail.ru

### Address for correspondence:

Manzhos Marina V.  
Medical University "Reaviz"  
443001, Russian Federation, Samara, Chapaevskaya str., 227.  
Phone: 7 (917) 141-56-03.  
E-mail: mmv\_kinel@mail.ru

### Образец цитирования:

К.С. Мазоха, М.В. Манжос, Л.Р. Хабибулина,  
Е.В. Асеева, А.В. Селезнев «Оценка  
распространенности и клиничко-аллергологическая  
характеристика грибковой сенсibilизации в Самаре»  
// Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23,  
№ 4. С. 461-466.  
doi: 10.46235/1028-7221-452-APA

© Мазоха К.С. и соавт., 2020

### For citation:

K.S. Mazokha, M.V. Manzhos, L.R. Khabibulina,  
E.V. Aseeva, A.V. Seleznev "Assessing prevalence and clinical  
and allergological characteristics of fungal sensitization in  
Samara City", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy  
Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 4, pp. 461-466.  
doi: 10.46235/1028-7221-452-APA

DOI: 10.46235/1028-7221-452-APA

## ASSESSING PREVALENCE AND CLINICAL AND ALLERGOLOGICAL CHARACTERISTICS OF FUNGAL SENSITIZATION IN SAMARA CITY

Mazokha K.S., Manzhos M.V., Khabibulina L.R., Aseeva E.V., Seleznev A.V.

Medical University "Reaviz", Samara, Russian Federation

**Abstract.** Molds *Alternaria spp.*, *Cladosporium spp.*, *Aspergillus spp.*, and *Penicillium spp.* play a major role in populational sensitization. Fungal spores may become a predisposing factor in developing bronchial asthma (BA), allergic rhinitis (AR) and atopic dermatitis (AD). The aim of our study was to investigate prevalence and clinical manifestation of fungal sensitization in the City of Samara. 2016 – 2019 general clinical and allergological examination of 855 patients of different age suspected for respiratory allergy was performed. All patients were tested for measuring serum level of total IgE and IgE specific to most common respiratory and food allergens, including fungal allergens derived from *Alternaria spp.*, *Cladosporium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, (RIDA Allergyscreen, R-Biopharm, Germany). 26 patients previously diagnosed positive to native *Alternaria* extracts and 50 patients with symptoms of exacerbated allergic rhinitis during summer and autumn were tested for serum level of IgE specific to recombinant molecular *Alternaria* component (*rAlt a 1*, Phadia ImmunoCAP). It was found that 28.4% pediatric and 18.2% adult patients ( $p = 0.0322$ ). 25% of patients appeared to be sensitized to fungal allergens. Sensitization to various mold-derived allergens was distributed as follows: *Alternaria* allergens – in 23% all patients examined, (27% children and 14% adults); *Cladosporium* – in 11% patients (10% children and 8% adults); *Aspergillus* – in 5% patients (6% children and 2% adults); *Penicillium* – in 2% patients (1% children and 3% adults). Moreover, sensitization to *Alternaria* allergens prevailed in more than 90% patients with fungal sensitization that was more common in young individuals (up to 18% in 7-17-year-old group), but profoundly declined in subjects over 50 years of age ( $p = 0.00001$ ,  $\chi^2 = 61.31$ ). True sensitization to *Alternaria* (*Alt a 1*) was detected in more than half (63%) of patients with confirmed sensitization to native *Alternaria* extracts, whereas 66% and 25% patients with fungal sensitization suffered from allergic rhinitis and asthma, respectively. Sensitization to *Alternaria* is a risk factor of developing asthma in childhood (OR = 2.415). The data obtained evidence about prevalence of fungal sensitization and associated allergic diseases in the Samara region.

**Keywords:** fungal sensitization, *Alternaria*, asthma, allergic rhinitis, allergy, molds

### Введение

Грибковая аллергия в последние годы привлекает все большее внимание исследователей. Доминирующую роль в формировании сенсibilизации населения играют плесневые грибы *Alternaria spp.*, *Cladosporium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.* [1, 2].

Распространенность сенсibilизации к аллергенам плесневых грибов варьирует в зависимости от многих факторов, таких как регион, возраст, вид плесневого гриба и колеблется от 6 до 24% [2, 3] достигая 44% среди атопиков [3].

Споры микромицетов могут стать предрасполагающим фактором в развитии таких заболеваний, как бронхиальная астма (БА), аллергический риноконъюнктивит (АР), атопический дерматит (АД). Грибковая сенсibilизация часто ассоциируется с бронхиальной астмой [3] преимущественно средней степени тяжести и тяже-

лой, связана с тяжелым течением астмы у взрослых, потребностью в интенсивной терапии и летальными исходами [3]. Сенсibilизация к *Alternaria* является фактором риска возникновения БА в детском и школьном возрасте [4].

**Целью настоящего исследования** было изучение распространенности и клинических проявлений микогенной сенсibilизации в г. Самаре.

### Материалы и методы

С 2016 по 2019 год было проведено клинко-аллергологическое обследование 855 пациентов с подозрением на наличие респираторной аллергии, среди них 69% – дети в возрасте от 2 до 17 лет (средний возраст  $8,49 \pm 3,71$ ) и 31% – взрослые в возрасте от 18 до 74 лет (средний возраст  $43,87 \pm 14,60$ ), 49% – мужчины и 51% – женщины.

Всем пациентам проведено комплексное клинко-аллергологическое обследование с опре-

делением уровня общего IgE и специфических IgE к респираторным и пищевым аллергенам, в том числе грибам *Alternaria spp.*, *Cladosporium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, (RIDA Allergyscreen, R-Biopharm, Германия). Компонентная аллергодиагностика с определением мажорных аллергокомпонентов *rAlt a 1* проведена 50 пациентам с сенсибилизацией к сорным травам и 26 – с диагностированной ранее сенсибилизацией к нативным экстрактам *Alternaria* (Phadia ImmunoCAP).

Статистическая обработка данных проводилась с применением методов вариационной статистики. Значимость различия для частотных показателей анализировали с использованием критерия  $\chi^2$ . Рассчитывали отношение шансов (ОШ). Полученные данные обрабатывали с применением пакета прикладных программ AtteStat, версия 10.5.1, статистических формул программы Microsoft Excel версия 5.0.

## Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований микогенная аллергия выявлена у 28,4% детей и 18,2% взрослых пациентов – в целом по группе составило 25% (табл. 1).

В спектре сенсибилизации у взрослых пациентов преобладала пыльцевая (38%) у детей – пищевая сенсибилизация (30%). При этом грибковая сенсибилизация чаще встречалась среди пациентов мужского пола, чем женского – 30% – 21% соответственно ( $\chi^2 = 7,15$ ;  $p = 0,0279$ ).

По данным литературы, сенсибилизация к плесневым грибам может возникнуть уже в раннем возрасте, она описана у детей с 6 месяцев [8, 12] и увеличивается к школьному возрасту [8]; сенсибилизация к *Alternaria* и *Cladosporium* более характерна для молодых пациентов и снижается с возрастом [1]. В Самаре грибковая сенсибилизация чаще встречалась среди детей (28%), чем среди взрослых (18%) ( $\chi^2 = 6,86$ ;  $p = 0,0322$ ). Для детей (от 2 до 17 лет), а также молодых пациентов (18-49 лет) характерна сенсибилизация к

*Alternaria*. У лиц старше 50 лет сенсибилизация к *Alternaria* наблюдалась лишь в 3% случаев.

У пациентов была диагностирована как поливалентная, так и изолированная грибковая сенсибилизация. Изолированная грибковая сенсибилизация была выявлена только у 6% пациентов. У 64% детей и 39% взрослых с грибковой сенсибилизацией наблюдалась одновременная гиперчувствительность к двум и более группам аллергенов. По данным литературы, также преобладает поливалентная сенсибилизация, которая выявляется у 75-80% пациентов [5].

У детей грибковая сенсибилизация наиболее часто сопровождалась сенсибилизацией к эпидермальным (11,4%) и пищевым (6,14%) аллергенам, у взрослых – к пыльцевым (24%).

У 39% пациентов с грибковой сенсибилизацией наблюдалась сенсибилизация одновременно к нескольким грибковым аллергенам, наиболее часто встречается сочетание сенсибилизации к *Alternaria* и *Cladosporium* (20%).

Сенсибилизация к *Alternaria* выявлена у 23% всех обследованных больных (27% детей и 14% взрослых); к *Cladosporium* – у 11% пациентов (10% детей и 8%; взрослых) сенсибилизация к *Aspergillus* – у 5% пациентов (6% детей и 2% взрослых); к *Penicillium* – у 2% пациентов (1% детей и 3% взрослых). Среди больных с диагностированной грибковой аллергией доминировала сенсибилизация к *Alternaria* – 90% случаев. При этом у половины пациентов с грибковой аллергией (52%) выявлена изолированная сенсибилизация к *Alternaria*. Сенсибилизация к *Alternaria* чаще встречается у пациентов молодого возраста, достигая максимального уровня (18%) в возрастной группе 7-17 лет, и значительно снижается у пациентов старше 50 лет ( $p = 0,00001$ ;  $\chi^2 = 61,31$ ). Возраст от 0 до 17 лет является фактором риска сенсибилизации к *Alternaria* (ОШ = 1,756).

Грибковые экстракты традиционно используются с целью диагностики грибковой аллергии. Надежность и точность обследования в значительной степени зависит от качества используемых грибковых экстрактов, и выявляемая сенси-

ТАБЛИЦА 1. ЧАСТОТА СЕНСИБИЛИЗАЦИИ У ЛИЦ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМ (%)

TABLE 1. FREQUENCY OF SENSITIZATION AMONG PERSONS WITH ALLERGIC DISEASES (%)

	Пыльцевая Pollen	Эпидермальная Epidermal	Бытовая Domestic	Пищевая Food	Грибковая Fungal
<b>Дети</b> Children	23,1	38,8	9,0	30,5	28,4
<b>Взрослые</b> Adults	38,2	26,8	10,5	15,4	18,2
<b>p</b>	0,0103	0,0747	0,9493	0,0001	0,0322

**ТАБЛИЦА 2. ЧАСТОТА ИЗОЛИРОВАННЫХ И СОЧЕТАННЫХ НОЗОЛОГИЧЕСКИХ ФОРМ ПРИ ГРИБКОВОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ (%)**

TABLE 2. FREQUENCY OF ISOLATED AND COMBINED ILLNESSES WITH FUNGAL SENSITIZATION

	Дети Children (n = 114)	Взрослые Adults (n = 33)	p
АР AR	58,77	57,58	0,9774
БА Asthma	1,75	9,09	0,0383
АД AD	8,77	3,03	0,5437
АР + БА AR + asthma	20,18	18,18	0,9371
АР + АД AR + AD	7,89	3,03	0,9816
АР + БА + АД AR + asthma + AD	2,63	-	-

билизация не всегда является истинной [3]. Это создает значительную проблему при интерпретации результатов аллергологического обследования в клинической практике.

Молекулярная (или компонентная) аллергодиагностика позволяет выявлять профиль сенсibilизации пациента на молекулярном уровне с помощью очищенных или рекомбинантных молекул аллергенов вместо неочищенных экстрактов и позволяет разграничить истинную сенсibilизацию от сенсibilизации вследствие перекрестной реактивности [1]. *Alt a 1* считается единственным специфичным компонентом при аллергии к роду *Alternaria*, выявляемым у 98% сенсibilизированных к *Alternaria* пациентов [3].

В нашем исследовании повышение уровня IgE к *Alt a 1* было выявлено более чем у половины пациентов (63%) с подтвержденной сенсibilизацией к нативным экстрактам *Alternaria*.

Связь бронхиальной астмы и грибковой сенсibilизации была доказана во многих исследованиях. По данным ряда авторов, распространенность грибковой сенсibilизации при БА в Москве составляет 28%. Грибковая сенсibilизация часто ассоциируется с бронхиальной астмой преимущественно средней степени тяжести и тяжелой, у взрослых она связана с тяжелым течением заболевания, потребностью в интенсивной терапии и даже летальными исходами [3].

В ходе проведенного исследования бронхиальная астма была выявлена у 25% пациентов с грибковой сенсibilизацией, статистически значимых различий в детской и взрослой популяции не выявлено (25% детей и 27% взрослых;  $p = 0,7166$ ;  $\chi^2 = 0,84$ ). Бронхиальная астма была диагности-

рована как у мужчин (17%), так и у женщин (8%) ( $\chi^2 = 2,01$ ;  $p = 0,3$ ). Сенсibilизация к *Alternaria* является фактором риска формирования БА в детском возрасте (ОШ = 2,415). Это согласуется с данными литературы. Так, по данным исследования Halonen et al., сенсibilизация к *Alternaria* в возрасте 6-11 лет приводила к статистически значимому повышению риска возникновения астмы в детском возрасте [3].

У 90% пациентов (как детей, так и взрослых) с БА наблюдались также симптомы АР, что подтверждает концепцию единого воспаления дыхательных путей. Аллергический ринит диагностирован у 66% пациентов с грибковой сенсibilизацией, 67% у детей и 61% у взрослых ( $p = 0,012$ ;  $\chi^2 = 5,4$ ), у 37% мужчин и 29% женщин ( $\chi^2 = 2,78$ ;  $p = 0,2$ ).

У пациентов с грибковой сенсibilизацией была диагностирована значительная частота сочетанных форм заболевания, которые составили 30,7% у детей и 21,2% у взрослых, что повышает частоту развития тяжелых форм БА (табл. 2).

Согласно полученным данным, у 24% детей с диагностированным АР и подтвержденной грибковой сенсibilизацией наблюдались симптомы бронхообструкции на фоне простудных заболеваний; такие дети находятся в группе высокого риска формирования БА в будущем.

Распространенность бронхиальной астмы и аллергического ринита была максимальна в группе 7-17 лет (6 и 10% от числа обследованных соответственно), в дальнейшем с возрастом снижалась, достигая в группе пациентов после 50 лет 2 и 3% соответственно.

Максимальная концентрация грибковых спор в воздухе отмечается в июле-сентябре, поэтому клинические проявления аллергии к плесневым грибам может проявляться под маской поллинозов или сопутствовать им [2]. В связи с этим у пациентов в возрастной группе старше 18 лет с сенсибилизацией к сорным травам был изучен уровень IgE-АТ к *Alt a 1* и *Cladosporium*. Показано, что ко-сенсибилизация к пыльце сорных трав и грибам рода *Cladosporium* наблюдалась в 3,3%, к

пыльце сорных трав и грибам рода *Alternaria* – в 6,9% случаев.

Проведенное исследование свидетельствует о значительной распространенности грибковой сенсибилизации и ассоциированных с ней аллергических заболеваний в Самаре. Выявлены клинико-аллергологические особенности пациентов с микогенной сенсибилизацией, что позволит оптимизировать тактику ведения данной группы пациентов в регионе.

## Список литературы / References

1. Бержец В.М., Хлгатян С.В., Коренева Е.А., Емельянова О.Ю., Радикова О.В. Изучение распространенности сенсибилизации к плесневым грибам у жителей Москвы и Московской области // Иммунопатология, аллергология, инфектология, 2012. № 3. С. 18-22. [Berzhets V.M., Khlgatian S.V., Koreneva E.A., Yemelyanova O.Yu., Radikova O.V. Prevalence of fungal sensitization in Moscow region patients. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya = Immunopatology, Allergology, Infectology*, 2012, no. 3, pp. 18-22. (In Russ.)]
2. Fukutomi Y., Taniguchi M. Sensitization to fungal allergens: Resolved and unresolved issues. *Allergol. Int.*, 2015, Vol. 64, Iss. 4, pp. 321-331.
3. Perzanowski M.S., Sporik R., Squillace S.P., Gelber L.E., Call R., Carter M., Platts-Mills T.A. Association of sensitization to *Alternaria* allergens with asthma among school-age children. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1998, Vol. 101, Iss. 5, pp. 626-632.
4. Reijula K., Leino M., Mussalo-Rauhamaa H. IgE-mediated allergy to fungal allergens in Finland with special reference to *Alternaria alternata* and *Cladosporium herbarum*. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2003, Vol. 91, no. 3, pp. 280-287.
5. Simon-Nobb B., Denk U., Poll V., Rid R., Breitenbach M. The spectrum of fungal allergy. *Allergy Immunol.*, 2008, Vol. 145, no. 1, pp. 58-86.

---

### Авторы:

**Мазоха К.С.** — аспирант кафедры внутренних болезней, Медицинский университет «Реавиз», г. Самара, Россия

**Манжос М.В.** — д.м.н., доцент, заведующая кафедрой внутренних болезней, профессор кафедры внутренних болезней, Медицинский университет «Реавиз», г. Самара, Россия

**Хабibuлина Л.Р.** — к.м.н., доцент кафедры морфологии и патологии, Медицинский университет «Реавиз», Москва, Россия

### Authors:

**Mazokha K.S.**, Postgraduate Student, Department of Internal Diseases, Medical University "Reaviz", Samara, Russian Federation

**Manzhos M.V.**, PhD, MD (Medicine), Head, Department of Internal Diseases, Medical University "Reaviz", Samara, Russian Federation

**Khabibulina L.R.** — PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Morphology and Pathology, Medical University "Reaviz", Samara, Russian Federation

**Асеева Е.В.** — к.м.н., доцент кафедры внутренних болезней, Медицинский университет «Реавиз», г. Самара, Россия

**Aseeva E.V.**, PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Internal Diseases, Medical University "Reaviz", Samara, Russian Federation

**Селезнев А.В.** — к.м.н., доцент кафедры внутренних болезней, Медицинский университет «Реавиз», г. Самара, Россия

**Seleznev A.V.**, PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Internal Diseases, Medical University "Reaviz", Samara, Russian Federation

---

Поступила 13.08.2020  
Отправлена на доработку 01.09.2020  
Принята к печати 07.09.2020

Received 13.08.2020  
Revision received 01.09.2020  
Accepted 07.09.2020

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЕНСИБИЛИЗАЦИИ БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ И АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ

Барило А.А., Смирнова С.В.

Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“, г. Красноярск, Россия

**Резюме.** Псориаз представляет собой аутоиммунное хроническое воспалительное заболевание, при котором поражаются различные органы и системы организма, но в основном кожа. В последние годы активно обсуждается вопрос об ассоциации аутоиммунных заболеваний с атопией. Данные литературы, посвященные изучению связи между атопией и псориазом крайне немногочисленны и весьма противоречивы, что обуславливает актуальность проводимого исследования. Особый интерес представляет изучение формирования транскутанной сенсibilизации в результате возможного увеличения проникновения аллергенов через дефектный эпидермальный барьер при псориазе. Целью работы было изучение спектра сенсibilизации к пыльцевым, грибковым и бытовым аллергенам больных псориазом и атопическим дерматитом и проведение сравнительного анализа полученных результатов.

В исследовании приняли участие больные вульгарным псориазом (1 группа, n = 27) в возрасте от 18 до 67 лет (средний возраст 41,0±3,1 лет). Группу сравнения составили больные атопическим дерматитом (2 группа, n = 41) в возрасте от 18 до 57 (средний возраст 28,0±1,5 лет). Проведено специфическое аллергологическое обследование (сбор аллергологического анамнеза, определение сенсibilизации). Кожное prick-тестирование выполнялось с использованием стандартизованных аллергенов (Allergopharma, Германия). Подсчет статистических данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. При сравнительном анализе спектра сенсibilизации к пыльцевым аллергенам установлена статистически значимо чаще сенсibilизация к пыльце деревьев и сорных трав больных атопическим дерматитом относительно больных псориазом. Сенсibilизация к бытовым аллергенам больных атопическим дерматитом была чаще в сравнении с больными псориазом, однако показатели не достигли статистической значимости. В группе больных псориазом более чем у половины выявлена сенсibilизация к пыльце луговых, сорных, злаковых трав и деревьев. Сенсibilизация к *Candida albicans* была чаще в группе больных псориазом в сравнении с атопическим дерматитом, однако значения не достигли статистической достоверности. В проведенном исследовании у больных псориазом в высоком проценте случаев выявлена сенсibilизация к *Candida albicans*, *Cladosporium herbarum* и бытовым аллергенам. Следовательно, наличие поврежденного эпидермального барьера при псориазе, вероятно, способствует увеличению проникновения ингаляционных аллер-

### Адрес для переписки:

Барило Анна Александровна  
Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера  
660022, Россия, г. Красноярск,  
ул. Партизана Железняка, 3г.  
Тел.: 8 (913) 158-40-20.  
E-mail: anntomsk@yandex.ru

### Address for correspondence:

Barilo Anna A.  
Research Institute of Medical Problems of the North  
660022, Russian Federation, Krasnoyarsk, Partizan  
Zheleznyak str., 3g.  
Phone: 7 (913) 158-40-20.  
E-mail: anntomsk@yandex.ru

### Образец цитирования:

А.А. Барило, С.В. Смирнова «Сравнительная характеристика сенсibilизации больных псориазом и атопическим дерматитом» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 4. С. 467-472.  
doi: 10.46235/1028-7221-448-STI

© Барило А.А., Смирнова С.В., 2020

### For citation:

A.A. Barilo, S.V. Smirnova "Sensibilization to inhalation allergens in patients with psoriasis and atopic dermatitis", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 4, pp. 467-472.  
doi: 10.46235/1028-7221-448-STI

DOI: 10.46235/1028-7221-448-STI

генов и формированию чрезкожной сенсibilизации. Поэтому дальнейшее изучение особенностей спектра сенсibilизации к различным группам аллергенов при псориазе является перспективным и может привести к открытию новых терапевтических мишеней.

*Ключевые слова:* псориаз, atopический дерматит, сенсibilизация, аллергены, иммунопатогенез, prick-тест

## SENSITIZATION TO INHALATION ALLERGENS IN PATIENTS WITH PSORIASIS AND ATOPIC DERMATITIS

Barilo A.A., Smirnova S.V.

*Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Science Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation*

**Abstract.** Psoriasis is an autoimmune chronic inflammatory disease that affects various body organs and systems, mainly targeting the skin. In recent years, an association of autoimmune diseases with atopy has been actively debated. The published data aimed at examining relationship between atopy and psoriasis are very scarce and highly contradictory that account for importance of our study. Generation of transcutaneous sensitization due to potential invasion of allergens across impaired epidermal barrier in psoriasis is of special interest. We aimed at investigating a range of sensitization to pollen, fungal and indoor allergens in patients with psoriasis and atopic dermatitis and comparatively analyze our data. There were enrolled patients with psoriasis vulgaris (group 1, n = 27) aged 18 to 67 years (mean age  $41.0 \pm 3.1$  years). The comparison group consisted of patients with atopic dermatitis (group 2, n = 41) aged 18 to 57 (mean age  $28.0 \pm 1.5$  years). Allergen-specific examination was carried out (collection of allergic history, determining sensitization). Skin prick testing was performed by using standardized allergens (Allergopharma, Germany). Statistical data were analyzed by using the Statistica 6.0 software package. While conducting a comparative analysis regarding a range of sensitization to pollen allergens, it was found that sensitization to tree and weed pollen in patients with atopic dermatitis vs psoriasis was observed at significantly higher rate. Sensitization to indoor allergens in patients with atopic dermatitis vs psoriasis tended to increase. More than half of patients with psoriasis revealed sensitization to pollen derived from meadows, weeds, grasses and trees. Sensitization to *Candida albicans* tended to rise in patients with psoriasis vs atopic dermatitis. Moreover, we found that patients with psoriasis exerted much higher sensitization to *Candida albicans*, *Cladosporium herbarum* and indoor allergens was revealed. Hence, presence of damaged epidermal barrier in psoriasis likely contributes to increased invasion of inhalation allergens and formation of percutaneous sensitization. Therefore, further investigation of features related to the range of sensitization to various allergen groups in psoriasis seems promising and may lead to discovery of new therapeutic targets.

*Keywords:* psoriasis, atopic dermatitis, sensitization, allergens, immunopathogenesis, prick-test

### Введение

Псориаз представляет собой аутоиммунное хроническое воспалительное заболевание, при котором поражаются различные органы и системы организма, но в основном кожа [4, 5, 7]. Этиология и патогенез псориаза до конца не изучены. Большинство исследователей связывают его развитие с аномальной активностью Т-лимфоцитов [7]. Полагают, что ключевую роль в иммунопатогенезе псориазической болезни играет дисбаланс провоспалительных и противовоспалительных цитокинов с преобладанием ци-

токинов Th1- и Th17-профиля [6,7]. В последние годы активно обсуждается вопрос об ассоциации аутоиммунных заболеваний с атопией [8, 10, 11, 13, 14]. Обнаружено повышение концентрации В-лимфоцитов в псориазических очагах поражения кожи, что позволяет сделать вывод о возможном преобладании Th2-типа иммунного ответа [15]. Кроме того, системный воспалительный процесс при псориазе рассматривается по аналогии с «атопическим маршем» при atopическом дерматите [9, 12]. Данные литературы, посвященные изучению связи между атопией и псориазом, крайне немногочисленны и весьма

противоречивы, что обуславливает актуальность проводимого исследования.

Единичные работы, посвященные изучению спектра сенсибилизации больных псориазом, содержат данные о концентрации специфических IgE к различным группам аллергенов. Так, определено наличие сенсибилизации к аллергенам пыльцы березы, тимофеевке, ржи, картофеля и моркови больных псориазом [15]. Установлено повышение частоты встречаемости сенсибилизации к клещам домашней пыли больных псориазом в сравнении с контрольной группой на основании анализа результатов скарификационных проб [14].

Особый интерес представляет изучение формирования транскутанной сенсибилизации в результате возможного увеличения проникновения аллергенов через дефектный эпидермальный барьер при псориазе [13, 14].

**Цель работы** – изучить спектр сенсибилизации к пыльцевым, грибковым и бытовым аллергенам больных псориазом и атопическим дерматитом и провести сравнительный анализ полученных результатов.

## Материалы и методы

В исследовании приняли участие больные вульгарным псориазом (1-я группа,  $n = 27$ ) в возрасте от 18 до 67 лет (средний возраст  $41,0 \pm 3,1$  лет). Группу сравнения составили больные атопическим дерматитом (2-я группа,  $n = 41$ ) в возрасте от 18 до 57 (средний возраст  $28,0 \pm 1,5$  лет). Дебют псориаза –  $30,0 \pm 1,3$  лет, атопического дерматита –  $17,5 \pm 2,5$  лет. Длительность заболевания в 1-й группе  $5,0 \pm 1,4$  лет, во 2-й группе –  $10,0 \pm 1,9$  лет. В группе больных атопическим дерматитом в 51,2% ( $n = 21$ ) отмечено сочетание кожных проявлений аллергии с аллергическим ринитом (дерматореспираторный синдром). Больным псориазом проводился подсчет степени тяжести клинического течения заболевания с применением индекса PASI (Psoriasis area and severity index), среднее значение которого составило 12,0 (8,4–21,6).

Проведено специфическое аллергологическое обследование (сбор аллергологического анамнеза, определение сенсибилизации). Кожное prick-тестирование выполнялось с использованием стандартизованных аллергенов (Allergopharma, Германия): пыльцевых (смеси аллергенов пыльцы деревьев – береза, дуб, клен, лещина, ольха; злаков – ежа, костер, лисохвост, мятлик, овсяница, пырей, райграс, рожь; сорных трав – лебеда, полынь, подсолнечник); грибковых (*Candida albicans*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium*

*notatum*); бытовых (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, домашняя пыль).

Подсчет статистических данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Полученные результаты представлены в виде: Me ( $Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$ ). Сравнение качественных признаков между группами проводили с помощью точного теста Фишера. Различия считались статистически достоверным при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Отягощенный аллергологический анамнез отмечен в группе больных псориазом в 37,0% ( $n = 10$ ) случаев, в группе больных атопическим дерматитом – в 58,5% ( $n = 24$ ) случаев. В литературе есть данные о повышении частоты встречаемости аллергических заболеваний у ближайших родственников при псориазе в сравнении с контролем [11].

При сравнительном анализе спектра сенсибилизации к пыльцевым аллергенам статистически значимо чаще установлена сенсибилизация к пыльце деревьев и сорных трав больных атопическим дерматитом относительно больных псориазом (табл. 1).

Наличие сенсибилизации к пыльце деревьев больных атопическим дерматитом согласуется с данными литературы [3]. Высокая частота встречаемости сенсибилизации к пыльце сорных трав у больных атопическим дерматитом, возможно, связана с географическими особенностями региона (Красноярский край) [1]. Известно, что спектр сенсибилизации к пыльцевым аллергенам различен в зависимости от географических особенностей региона проживания больных. Согласно данным литературы, у больных с аллергическими заболеваниями в Сибири преобладает сенсибилизация к пыльце деревьев и злаковых трав [3]. Сезонные проявления аллергии (поллиноз, проявляющийся рино-конъюнктивальным синдромом) у больных атопическим дерматитом отмечены в 34,1% ( $n = 14$ ) случаев. Сезонные проявления аллергии в виде аллергического ринита в группе больных псориазом выявлены лишь в 7,4% ( $n = 2$ ) случаев, однако более чем у половины исследуемой группы отмечена сенсибилизация к пыльце трав и деревьев. При этом наиболее высокая частота встречаемости сенсибилизации выявлена к пыльце злаковых трав – 68,0%. В литературе активно обсуждается вопрос о роли перекрестной пищевой аллергии к продуктам растительного происхождения у больных, сенсибилизированных к пыльцевым аллергенам [3]. При этом известно, что клиническая симптоматика перекрестной пищевой аллергии

**ТАБЛИЦА 1. СПЕКТР СЕНСИБИЛИЗАЦИИ К ПЫЛЬЦЕВЫМ, ГРИБКОВЫМ И БЫТОВЫМ АЛЛЕРГЕНАМ БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ И АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ, % (n)/N**

TABLE 1. SPECTRUM OF SENSITIZATION TO POLLEN, FUNGAL AND HOUSEHOLD ALLERGENS OF PATIENTS WITH PSORIASIS AND ATOPIC DERMATITIS, % (n)/N

Наименование аллергенов Allergens	1-я группа 1 <sup>st</sup> group	2-я группа 2 <sup>nd</sup> group	p
<b>Пыльцевые аллергены</b> Pollen allergens			
Луговые травы Meadow grass	60,0% (15/25)	56,1% (23/41)	p = 0,7
Деревья Trees	56,0% (14/25)	80,5% (33/41)	p = 0,03
Сорные травы Weed grass	52,0% (13/25)	85,4% (35/41)	p = 0,003
Злаковые травы Cereal herbs	68,0% (17/25)	68,3% (28/41)	p = 0,9
<b>Грибковые аллергены</b> Fungal allergens			
<i>Candida albicans</i>	48,1% (13/27)	30,0% (12/40)	p = 0,1
<i>Cladosporium herbarum</i>	53,8% (7/13)	52,4% (11/21)	p = 0,9
<i>Penicillium notatum</i>	26,6% (4/15)	27,5% (8/29)	p = 0,9
<b>Бытовые аллергены</b> Household allergens			
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	48,1% (13/27)	53,7% (22/41)	p = 0,6
<i>Dermatophagoides farinae</i>	48,1% (13/27)	53,7% (22/41)	p = 0,6
Домашняя пыль House dust	48,1% (13/27)	62,9% (22/35)	p = 0,2

Примечание. % (n) – относительное и абсолютное количество сенсibilизированных больных; N – количество тестированных больных.

Note. % (n), relative and absolute number of sensitized patients; N is the number of tested patients

может проявляться при употреблении в пищу продуктов, имеющих общие антигенные детерминанты с пыльцой растений вне зависимости от сезона поллинииции [2]. При изучении спектра сенсibilизации к грибковым аллергенам установлена высокая частота встречаемости сенсibilизации к *Cladosporium herbarum* в обеих группах: 53,8 и 52,4% соответственно. Сенсibilизация к *Candida albicans* была выше в группе больных псориазом в сравнении с атопическим дерматитом, однако значения не достигли статистической значимости. Вероятно, высокая сенсibilизация к грибковым аллергенам больных с поражением кожных покровов при псориазе и атопическом дерматите связана с колонизацией кожи грибами на фоне длительного применения терапии топическими глюкокортикостероидами [8].

Сенсibilизация к бытовым аллергенам больных атопическим дерматитом была чаще в сравнении с больными псориазом, однако показатели не достигли статистической значимости. В литературе имеются данные о том, что частота встречаемости сенсibilизации к клещам домашней пыли была выше в группе больных псориазом в сравнении с контролем [14]. В проведенном нами исследовании частота встречаемости к бытовым аллергенам (клещам рода *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae* и домашней пыли) больных псориазом составила 48,1% соответственно, что составляет практически половину исследуемой группы.

Таким образом, проведенные нами исследования выявили особенности спектра сенсibilизации к ингаляционным аллергенам больных

псориазом и атопическим дерматитом. В группе больных атопическим дерматитом отмечена высокая частота встречаемости сенсибилизации к пыльце деревьев и сорных трав, а также к бытовым аллергенам. В группе больных псориазом более чем у половины обследованных выявлена сенсибилизация к пыльце луговых, сорных, злаковых трав и деревьев. Кроме того, у больных псориазом в высоком проценте случаев выявлена сенсибилизация к *Candida albicans*, *Cladosporium herbarum* и бытовым аллергенам. Следовательно, наличие поврежденного эпидермального

барьера при псориазе, вероятно, способствует увеличению проникновения ингаляционных аллергенов и формированию чрезкожной сенсибилизации [11]. Поэтому дальнейшее изучение особенностей спектра сенсибилизации к различным группам аллергенов при псориазе является перспективным и может привести к открытию новых терапевтических мишеней.

#### Источник финансирования

Исследование выполнено при поддержке Совета по грантам при президенте РФ (МК-396.2020.7).

## Список литературы / References

1. Антипова Е.М. Сорная растительность северных лесостепей Средней Сибири // Вестник КрасГАУ, 2008. № 2. С. 80-84. [Antipova E.M. Weed vegetation of the northern forest-steppes of Central Siberia. *Vestnik KrasGAU = Bulletin of Krasnoyarsk State Agrarian University*, 2008, no. 2, pp. 80-84. (In Russ.)]
2. Барило А.А., Смирнова С.В. Роль алиментарных факторов и пищевой аллергии в развитии псориаза // Вопросы питания, 2020. Т. 89, № 1. С. 60-68. [Barilo A.A., Smirnova S.V. The role of nutrition, food allergy and the gastrointestinal tract in the etiopathogenesis of psoriasis. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition*, 2020, Vol. 89, no. 1, pp. 60-68. (In Russ.)]
3. Барило А.А., Смирнова С.В., Борисова И.В. Особенности спектра сенсибилизации при дермато-респираторных проявлениях аллергии у детей Хакасии // Якутский медицинский журнал, 2020. № 2 (70). С. 99-102. [Barilo A.A., Smirnova S.V., Borisova I.V. Features of the sensitization spectrum in dermatorespiratory manifestations of allergy in children of Khakassia. *Yakutskiy meditsinskiy zhurnal = Yakut Medical Journal*, 2020, no. 2 (70), pp. 99-102. (In Russ.)]
4. Барило А.А., Смирнова С.В., Смольникова М.В. Иммунологические показатели больных псориазом в различные возрастные периоды // Российский иммунологический журнал, 2017. Т. 11 (20), № 4. С. 680-681. [Barilo A.A., Smirnova S.V., Smolnikova M.V. Immunological indicators of patients with psoriasis in different age groups. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2017, Vol. 11 (20), no. 4, pp. 680-681. (In Russ.)]
5. Смирнова С.В., Барило А.А., Смольникова М.В. Прогностическое значение клинических и анамнестических маркеров псориазического артрита // Клиническая дерматология и венерология, 2016. Т. 15, № 1. С. 23-27. [Smirnova S.V., Barilo A.A., Smolnikova M.V. The prognostic value of clinical and anamnestic markers of psoriatic arthritis. *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya = Russian Journal of Clinical Dermatology and Venerology*, 2016, Vol. 15, no. 1, pp. 23-27. (In Russ.)]
6. Смирнова С.В., Смольникова М.В., Барило А.А. Концентрация IL-4, IL-6, IL-10, TNFα в сыворотке крови больных псориазом и псориазическим артритом // Цитокины и воспаление, 2015. Т. 16, № 3. С. 31-32. [Smirnova S.V., Smolnikova M.V., Barilo A.A. The concentration of IL-4, IL-6, IL-10, TNFα in the serum of psoriasis and psoriatic arthritis patients. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2015, Vol. 16, no. 3, pp. 31-32. (In Russ.)]
7. Chiricozzi A., Romanelli P., Volpe E., Borsellino G., Romanelli M. Scanning the Immunopathogenesis of Psoriasis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, Vol. 19, no. 1, 179. doi: 10.3390/ijms19010179.
8. Chovatiya R., Silverberg J.I. Pathophysiology of atopic dermatitis and psoriasis: implications for management in children. *Children (Basel)*, 2019, Vol. 6, no. 10, 108. doi: 10.3390/children6100108.
9. Furue M., Kadono T. Inflammatory skin march» in atopic dermatitis and psoriasis. *Inflamm. Res.*, 2017, Vol. 66, no. 10, pp. 833-842.
10. Guttman-Yassky E., Krueger J.G. Atopic dermatitis and psoriasis: two different immune diseases or one spectrum? *Curr. Opin. Immunol.*, 2017, Vol. 48, pp. 68-73.
11. Hajdarbegovic E., Westgeest A., Thio H.B. Atopy in cutaneous and arthropatic psoriasis. *J. Transl. Med.*, 2010, Vol. 8, no. 1, P15. doi: 10.1186/1479-5876-8-S1-P15.
12. Klonowska J., Gleń J., Nowicki R.J., Trzeciak M. New cytokines in the pathogenesis of atopic dermatitis – new therapeutic targets. *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, Vol. 19, no. 10, 3086. doi: 10.3390/ijms19103086.
13. Pigatto P.D. Atopy and contact sensitization in psoriasis. *Acta. Derm. Venereol. Suppl. (Stockh)*, 2000, Vol. 211, pp. 19-20.

14. Ünal E.S., Gül Ü., Dursun A.B., Öner Erkeköl F. Prediction of atopy via total immunoglobulin E levels and skin prick tests in patients with psoriasis. *Turk. J. Med. Sci.*, 2017, Vol. 47, no. 2, pp. 577-582.

15. Weryńska-Kalemba M., Filipowska-Grońska A., Kalemba M., Krajewska A., Grzanka A., Bożek A., Jarzab J. Analysis of selected allergic reactions among psoriatic patients. *Postepy Dermatol. Alergol.*, 2016, Vol. 33, no. 1, pp. 18-22.

---

**Авторы:**

**Барило А.А.** — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», г. Красноярск, Россия

**Смирнова С.В.** — д.м.н., профессор, руководитель научного направления, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», г. Красноярск, Россия

**Authors:**

**Barilo A.A.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Clinical Pathophysiology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Science Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

**Smirnova S.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Scientific Direction, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Science Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

---

Поступила 04.08.2020  
Принята к печати 03.09.2020

Received 04.08.2020  
Accepted 03.09.2020

## ИССЛЕДОВАНИЕ sIgE-ПРОФИЛЯ ПАЦИЕНТОВ С АЛЛЕРГИЕЙ НА АМБРОЗИЮ В САМАРЕ

**Жукова Н.Н., Манжос М.В., Селезнев А.В.**

Медицинский университет «Реавиз», г. Самара, Россия

**Резюме.** Считается, что амброзия трехраздельная не имеет широкого распространения на территории РФ и поэтому не может угрожать здоровью населения. Однако в России все-таки имеются районы, в которых более половины земель поражены Амброзией трехраздельной. Много очагов имеется в Самарской, Оренбургской областях, Татарстане и Башкирии. Амброзия трехраздельная распространена в Центральной России, в Северо-Кавказском регионе, встречается в Сибири.

Целью исследования было изучение специфического IgE-профиля пациентов с сенсibilизацией к пыльце амброзии в Самарской области. Было проведено клиническое и аллергологическое обследование 969 пациентов с явлениями ринита. Аллергологическую диагностику проводили методом кожного тестирования (prick-тест) с использованием стандартного набора бытовых, пыльцевых, эпидермальных аллергенов. По результатам кожных проб больным с сочетанной сенсibilизацией к амброзии и полыни был проведен анализ специфических IgE-антител (sIgE АТ) к главным аллергокомпонентам амброзии (Amb a 1, Amb. trifida) и полыни (Art v 1). Пациентам с отрицательными кожными пробами с аллергеном амброзии полыннолистной (*Ambrosia artemisiifolia*) и с клиническими проявлениями сезонной аллергии было также проведено исследование уровня специфических IgE-антител nAmb a 1 и Amb trif.

По данным кожных проб у пациентов преобладали сезонные и сочетанные (сезонный и круглогодичный) формы аллергического ринита. Из проведенных кожных проб к разным группам аллергенов преобладали положительные пробы к пыльцевым аллергенам (50,6%). Больше половины всех положительных реакций на пыльцевые аллергены составляли реакции к сорным травам. У пациентов, которым было проведено кожное тестирование аллергенами полыни и амброзии, чаще встречались положительные реакции на аллерген полыни (71,27%), к амброзии оказались сенсibilизированы 50,88% пациентов ( $p = 0,00001$ ). Кожная реакция на аллерген амброзии в данном регионе, как правило, была средней степени выраженности, тогда как при тестировании аллергеном полыни чаще встречались гиперергические реакции.

В данном регионе (Самарская область) преобладала косенсibilизация (к полыни и амброзии). У пациентов с косенсibilизацией с одинаковой частотой определялось сочетание одновременно специфических IgE-антител к двум видам амброзии и полыни (nAmb a 1 + nArt v 1 + Amb trif) и амброзии трехраздельной и полыни (Amb trif + nArt v 1). Почти у половины пациентов с отрицательными кожными пробами к амброзии определялись специфические IgE-антитела к Amb trif. Необходимо проводить дальнейшие исследования, которые помогут лучше разобраться в этой проблеме и, возможно, по-новому взглянуть на диагностику и лечение амброзийных поллинозов в конкретной местности.

*Ключевые слова:* сенсibilизация, поллиноз, молекулярная диагностика, амброзия трифиды, prick-тест, IgE-профиль

### Адрес для переписки:

Жукова Наталья Николаевна  
Медицинский университет «Реавиз»  
443124, Россия, г. Самара, 6-я просека, 155, 40.  
Тел.: 8 (927) 722-83-38.  
E-mail: natalia1807@mail.ru

### Address for correspondence:

Zhukova Natalia N.  
Medical University "Reaviz"  
443124, Russian Federation, Samara, 6<sup>th</sup> proseka, 155, 40.  
Phone: 7 (927) 722-83-38.  
E-mail: natalia1807@mail.ru

### Образец цитирования:

Н.Н. Жукова, М.В. Манжос, А.В. Селезнев  
«Исследование sIgE-профиля пациентов с аллергией на амброзию в Самаре» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 4. С. 473-478.  
doi: 10.46235/1028-7221-422-ESI

© Жукова Н.Н. и соавт., 2020

### For citation:

N.N. Zhukova, M.V. Manzhos, A.V. Seleznev "Examining sIgE-profile in patients with ambrosia allergy in Samara", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 4, pp. 473-478.  
doi: 10.46235/1028-7221-422-ESI

DOI: 10.46235/1028-7221-422-ESI

## EXAMINING sIgE-PROFILE IN PATIENTS WITH AMBROSIA ALLERGY IN SAMARA

Zhukova N.N., Manzhos M.V., Seleznev A.V.

Medical University "Reaviz", Samara, Russian Federation

**Abstract.** It is considered that *Ambrosia trifida* is not widespread in Russia, thereby avoiding its threatening effects to populational health. However, there are some areas in Russia where more than half of land area is covered by *Ambrosia trifida*. Many such foci are found in the Samara, Orenburg regions, Tatarstan and Bashkiria. *Ambrosia trifida* is distributed in Central Russia, the North Caucasus region and Siberia.

The objective of the study was to examine specific IgE-profile in ragweed sensitized patients in the Samara region. A clinical and allergy examination of 969 patients with allergic rhinitis was performed. Allergic diagnostics was performed by using skin testing (prick-test) with standard set of pollen, household, and epidermal allergens. The data of skin tests in patients co-sensitized with ragweed and *Artemisia* allowed to analyze IgE-antibodies specific to the major *Ambrosia* (*Amb a 1*, *Amb. trifida*) and *Artemisia* (*Art v 1*) allergens. Patients with negative skin test for the *Ambrosia artemisiifolia* and clinical manifestations of seasonal allergy were assessed for level of sIgE-antibodies *nAmb a 1* and *Amb trif*.

Skin test data demonstrated that seasonal and combined forms of allergic rhinitis dominated in patients examined. In particular, positive skin test data for pollen allergens dominated (50.6%) among all allergen groups so that more than half of them belonged to weed pollen allergens. Patients challenged with skin tests for *Artemisia* and ragweed allergens more likely displayed positive reaction to the *Artemisia* allergen (71.27%) and *Ambrosia artemisiifolia* (50.88%).

Co-sensitization (to *Artemisia* and ragweed) prevailed in this geographic region featured with equal rate of simultaneously detected sIgE specific to the two types of ragweed and *artemisia* (*nAmb a 1* + *nArt v 1* + *Amb trif*) as well as *Ambrosia trifida* and *Artemisia* (*Amb trif* + *nArt v 1*). Almost half of the patients with negative *Ambrosia art.* prick-test were found to bear sIgE specific to *Amb trif*. Further investigation will help to better understand this phenomenon and take a fresh look at diagnostics and treatment of ragweed allergy in relevant geographic area.

*Keywords: sensitization, pollinosis, molecular diagnostics, ambrosia trifida, ragweed, prick-test, IgE-profile*

Когда говорят об амброзии, то обычно подразумевают амброзию полыннолиственную. Роль амброзии трехраздельной в развитии аллергических заболеваний часто не учитывается. Считается, что амброзия трехраздельная не имеет широкого распространения на территории РФ и поэтому не может угрожать здоровью населения. Однако в России все-таки имеются районы, в которых более половины земель поражены амброзией трехраздельной. Много очагов имеется в Самарской, Оренбургской областях, Татарстане и Башкирии. Очаги амброзии трехраздельной имеются в Брянской, Владимирской, Воронежской, Липецкой, Тульской, Рязанской областях, в Ставропольском крае, в Чеченской республике, Ингушетии.

По данным Россельхознадзора, опубликованным в Национальном докладе о карантинном фитосанитарном состоянии территории РФ в 2019 году, 107 муниципальных районов поражены амброзией трехраздельной, карантинные

зоны установлены в 20 субъектах РФ [2]. Площадь карантинных зон амброзии трехраздельной в РФ – 2707886,9 га, что в 2 раза меньше площади распространения лидера среди сорных растений – Амброзии полыннолиственной. Только в одной Самаре амброзией трехраздельной поражены 46597 га, что составляет более 80% площади земель города.

Амброзия – карантинное сорное растение, наносит вред сельскому хозяйству и является частой причиной развития сезонных проявлений аллергии. В связи с тем, что имеются данные о существовании сильных перекрестных реакций между амброзией трехраздельной и амброзией полыннолиственной, диагностика и лечение амброзийного поллиноза проводится одним аллергеном амброзии полыннолиственной. При этом упускается факт, что существуют районы, где амброзия трехраздельная является преобладающим видом. Некоторые авторы уже предлагали

обратить внимание на региональные особенности течения поллинозов связанных с цветением именно амброзии трехраздельной [4].

Для лучшего понимания влияния средовых факторов на развитие сенсибилизации и особенностей развития амброзийного поллиноза в конкретной местности было проведено наше исследование.

**Целью исследования** было изучение специфического IgE-профиля пациентов с сенсибилизацией к пыльце амброзии в Самарской области.

## Материалы и методы

Проведено клинико-аллергологическое обследование 969 пациентов (43,8% женщин и 56,2% мужчин) с явлениями ринита. Аллергологическую диагностику проводили методом кожного тестирования (prick-тест) с использованием стандартного набора бытовых, пыльцевых, эпидермальных аллергенов (16 наименований).

Оценка кожных prick-тестов проводилась по стандартной методике: где «1+» соответствует слабоположительной реакции, а «4+» — очень резко положительной [3].

В дальнейшем по результатам КП 33 больным с косенсибилизацией к амброзии и полыни был проведен анализ sIgE-АТ к главным аллергокомпонентам амброзии (Amb a 1, Amb. trifida) и полыни (Art v 1). Пациентам с клиническими проявлениями поллиноза и отрицательными кожными пробами с аллергеном амброзии полыннолистной (n = 25) также проведено исследование уровня sIgE-АТ к nAmb a 1 и Amb trif.

Определение аллергокомпонентов (Amb a 1, Art v 1 и Amb. trifida) проводилось на аппарате Phadia 250 с помощью диагностической тест-системы ImmunoCap ISAC (Швеция).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием общепринятых методов вариационной статистики. Применялись методы непараметрической статистики, использовался метод кросстабуляции ( $\chi^2$ ). Критическое значение уровня значимости принимали равным 5%. Полученные данные обрабатывали с применением пакета прикладных программ AtteStat, версия 10.5.1, статистических формул программы Microsoft Excel, версия 5.0.

## Результаты

По данным кожных проб (КП) у пациентов преобладали сезонные и сочетанные (сезонный и круглогодичный) формы аллергического ринита: сезонный наблюдался у 40,4% пациентов, круглогодичный — в 20,1% случаев, доля сочетанных форм составила 39,5% ( $\chi^2 = 110,68$ ,  $p = 0,00001$ ).

Из проведенных проб к разным группам аллергенов преобладали положительные пробы к пыльцевым аллергенам — 50,6%, доли положительных реакций на бытовые и эпидермальные аллергены составили 34,9 и 14,5%, соответственно ( $\chi^2 = 438,9546$ ;  $p = 0,00001$ ) (рис. 1).

У пациентов с сезонным аллергическим ринитом в 47,2% случаев имела реакция только к одной группе пыльцевых аллергенов: только к деревьям, только к злаковым или только к сорным травам. Чуть больше половины пациентов

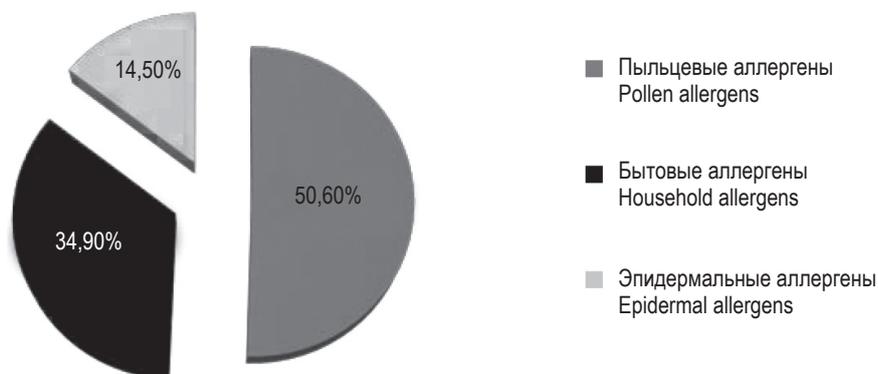


Рисунок 1. Распределение положительных реакций (КП) к разным группам аллергенов (%)

Figure 1. Distribution of positive reactions (prick-test) to different groups of allergens (%)

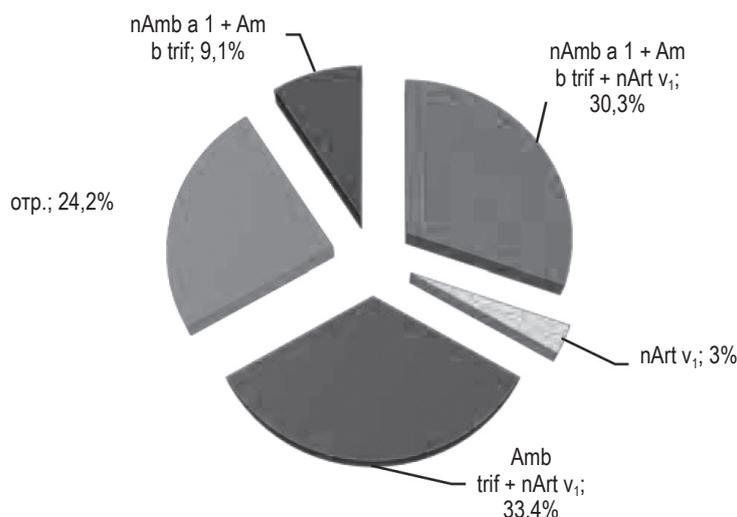


Рисунок 2. Структура IgE-профиля больных с косенсibilизацией к амброзии и полыни

Figure 2. Structure of the IgE profile of patients with co-sensitization to ragweed and artemisia

(52,8%) были сенсibilизированы к двум и более группам пыльцевых аллергенов. В структуре пыльцевой сенсibilизации среди положительных реакций только к одной группе аллергенов положительные реакции к сорным травам преобладали и составили 56,5%, доли моно-сенсibilизации к аллергенам пыльцы деревьев и группе злаковых трав составили 36,7 и 6,8%, соответственно ( $\chi^2 = 199,6$ ;  $p = 0,00001$ ).

В структуре сенсibilизации к аллергенам сорных трав положительные КП с аллергеном полыни (*Artemisia vulgaris*) и амброзии (*Ambrosia artemisiifolia*) в совокупности составили 37,8%.

По результатам кожных проб, проведенных аллергенами полыни и амброзии, положительные реакции на аллерген полыни встречались статистически чаще: 71,27% пациентов имели сенсibilизацию к полыни, 50,88% оказались сенсibilизированы к амброзии ( $\chi^2 = 40,04$ ;  $p = 0,00001$ ).

У пациентов, сенсibilизированных к полыни, чаще наблюдались гиперергические реакции (КП  $\geq 3+$ ) – в 50,5% случаев. При кожном тестировании аллергеном амброзии реакция у пациентов в большинстве случаев была средней степени выраженности (КП = 2+), доля таких реакций составила 49,4%.

При исследовании моно- и косенсibilизации к амброзии и полыни были получены следующие результаты. Моносенсibilизация к амброзии составила 5,9%, доля моносенсibilизации к полы-

ни – 32,7%, косенсibilизация составила 61,4% ( $\chi^2 = 234,66$ ;  $p = 0,00001$ ).

У больных с косенсibilизацией по результатам КП проведен анализ наличия sIgE-АТ к главным аллергокомпонентам амброзии и полыни – nAmb a 1, nArt v1 и Amb trif. Показано, что при косенсibilизации к полыни и амброзии аллергокомпоненты только к мажорному аллергену полыни nArt v 1 диагностировалась в 3,0%, к амброзии (Amb trif и/или nAmb a 1) – в 9,1%, сочетанная сенсibilизация в 63,7% случаев. В 24,2% сенсibilизация не выявлена. С одинаковой частотой определялось сочетание одновременно sIgE-АТ к двум видам амброзии и полыни (nAmb a 1 + nArt v 1 + Amb trif) и амброзии трехраздельной и полыни (Amb trif + nArt v 1) – 30,3 и 33,4% соответственно ( $\chi = 0,07$ ,  $p = 0,9657$ ) (рис. 2).

При исследовании уровня sIgE-АТ к nAmb a 1 и Amb trif у пациентов ( $n = 25$ ) с клиническими проявлениями поллиноза и отрицательными кожными пробами с аллергеном амброзии полыннолистной было показано, что положительные sIgE-АТ одновременно к nAmb a 1 и Amb trif определялись в 20% случаев и в 48% – изолированно к Amb trif.

## Обсуждение

В структуре сенсibilизации в Самарской области преобладает пыльцевая сенсibilизация

(50,6%). Около половины (47,2%) пациентов с сезонными проявлениями аллергии имеют сенсibilизацию только к одной группе пыльцевых аллергенов, остальные пациенты сенсibilизированы к двум и более группам пыльцевых аллергенов. Из всех проведенных кожных проб наиболее часто оказываются положительными *prick*-тесты с сорными травами. Среди пациентов, имеющих сенсibilизацию только к одной группе пыльцевых аллергенов, повышенная чувствительность к аллергенам группы сорных трав была зафиксирована у 56,5% пациентов.

Общепризнанным фактом является зависимость клинических проявлений сезонной аллергии от концентрации пыльцы в воздухе. Большое количество пыльцевых зерен в единице объема воздуха является наиболее важным фактором роста сенсibilизации у населения [1].

По результатам кожного *prick*-тестирования были получены данные о том, что у пациентов чаще обнаруживается сенсibilизация к полыни, чем к амброзии ( $p = 0,00001$ ). Кожная реакция на аллерген амброзии, как правило, средней степени выраженности, тогда как при тестировании аллергеном полыни чаще встречаются гиперергические реакции.

Примечательный факт, что у пациентов с ко-сенсibilизацией к амброзии и полыни по результатам КП с одинаковой частотой определялись специфические IgE-АТ одновременно к двум видам амброзии и полыни (nAmb a 1 + nArt v 1 + Amb trif) и сочетание IgE-АТ к амброзии трехраздельной и полыни (Amb trif + nArt v 1) при отсутствии nAmb a 1 – 30,3 и 33,4% соответственно ( $p = 0,9657$ ).

При этом у 2/3 пациентов с клиникой поллиноза и отрицательных КП с амброзией полынно-листной обнаруживаются sIgE-АТ или одновременно к nAmb a 1 и Amb trif, или только к Amb trif.

Несмотря на то, что общепризнанным является факт сильных перекрестных реакций между видами амброзии (*A. artemisiifolia* и *A. trifida*) [5], существуют исследования, в которых поставлены под сомнение данные сведения [4]. Хотя возможно, что это характерно только для тех районов, где преобладающим видом является амброзия трехраздельная.

Дальнейшие исследования позволят оценить возможность применения полученных данных для проведения эффективной АСИТ с учетом этиологической специфики региона.

## Список литературы / References

1. Ильина Н.И., Лусс Л.В., Курбачева О.М., Назарова Е.В., Павлова К.С. Влияние климатических факторов на спектр и структуру аллергических заболеваний на примере Московского региона // Российский аллергологический журнал, 2014. № 2. С. 25-31. [Ilyina N.I., Luss L.V., Kurbacheva O.M., Nazarova E.V., Pavlova K.S. Influence of climatic factors on the spectrum and structure of allergic diseases on the example of the Moscow region. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal = Russian Allergological Journal*, 2014, no. 2, pp. 25-31. (In Russ.)]
2. Национальный доклад о карантинном фитосанитарном состоянии территории РФ в 2019 году [Электронный ресурс] / М-во сел. хоз-ва Рос. Федерации. Федер. служба по ветеринар. и фитосанитар. надзору. Электрон. дан. М., 2020. 28 с. Режим доступа: <https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/usefulinf/files/nd2020.pdf>. [National report on the quarantine phytosanitary status of the territory of the Russian Federation in 2019 [Electronic resource] / Ministry of agriculture of Russia. Federal service for veterinary and phytosanitary surveillance. Electron]. Moscow, 2020. 28 p. Access mode: <https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/usefulinf/files/nd2020.pdf>.

3. Хаитов. Р.М., Ильина Н.И. Аллергология и иммунология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. С. 58. [Khaitov R.M., Ilyina N.I. Allergology and immunology: national guide]. Moscow: GEOTAR-Media, 2014. P. 58.
4. Asero R., Weber B., Mistrello G., Amato S., Madonini E., Cromwell O. Giant ragweed specific immunotherapy is not effective in a proportion of patients sensitized to short ragweed: Analysis of the allergenic differences between short and giant ragweed. *J. Allergy Clin. Immunol.*, Vol. 116, Iss.5, pp. 1036-1041.
5. Christensen L.H., Ipsen H., Nolte H., Maloney J., Nelson H.S., Weber R., Lund K. Short ragweeds is highly cross-reactive with other ragweeds. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2015, Vol. 115, no. 6, pp. 490-495.e1.

---

**Авторы:**

**Жукова Н.Н.** — аллерголог-иммунолог, оториноларинголог, ассистент кафедры внутренних болезней, Медицинский университет «Реавиз», г. Самара, Россия

**Манжос М.В.** — д.м.н., доцент, заведующая кафедрой внутренних болезней, Медицинский университет «Реавиз», г. Самара, Россия

**Селезнев А.В.** — к.м.н., доцент кафедры внутренних болезней, Медицинский университет «Реавиз», г. Самара, Россия

---

**Authors:**

**Zhukova N.N.**, Allergist-Immunologist, Otorhinolaryngologist, Assistant, Department of Internal Diseases, Medical University "Reaviz", Samara, Russian Federation

**Manzhos M.V.**, PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Head, Department of Internal Diseases, Medical University "Reaviz", Samara, Russian Federation

**Seleznnev A.V.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Internal Diseases, Medical University "Reaviz", Samara, Russian Federation

---

Поступила 29.07.2020  
Принята к печати 02.09.2020

---

Received 29.07.2020  
Accepted 02.09.2020

## ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ КОМПОНЕНТОВ СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА И ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ РАЗЛИЧНЫХ ФРАКЦИЙ У ПОДРОСТКОВ С ОЖИРЕНИЕМ И МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ ПОД ВЛИЯНИЕМ АНТИГИПОКСАНТОВ

Кукина Г.Н.<sup>1</sup>, Кирюхина С.В.<sup>2</sup>, Лабунский Д.А.<sup>2</sup>, Колмыков В.А.<sup>2</sup>,  
Юрасова Е.Ю.<sup>2</sup>, Бояркин Е.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФКУ «Главное бюро медико-социальной экспертизы по Республике Мордовия», г. Саранск, Республика Мордовия, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева», г. Саранск, Республика Мордовия, Россия

**Резюме.** В данной работе мы рассматриваем тему ожирения у подростков и изменение динамики компонентов системы комплемента и иммунных комплексов различных фракций под влиянием антигипоксантов, так как ожирение является одним из самых распространенных неинфекционных заболеваний во всем мире и вызывает интерес многих ученых. Появляются новые исследования, в которых выявлен дисбаланс в иммунной системе, который нарастает при ожирении и затрагивает многие иммунные процессы, а также возрастает интерес к изучению синдрома обструктивного апноэ во сне, который приводит к гипоксии тканей, тем самым увеличивая риск сердечно-сосудистых заболеваний. В ходе данного исследования мы выявили метаболический синдром у 89% пациентов с ожирением (1-я и 2-я группы) и у 25% у подростков с нормальной массой тела (2-я контрольная группа). Мы проанализировали компоненты комплемента и циркулирующие иммунные комплексы различных фракций больных. Проведенное нами исследование выявило положительную динамику изучаемых показателей под воздействием комплексной терапии с использованием антиоксиданта мексидола и гипербарической оксигенации, что может свидетельствовать о вовлечении кислород-зависимых нейроиммунных механизмов в патогенез метаболического синдрома при ожирении. Выявлена системная активация регулирующих механизмов поддержания гомеостаза, данная активация необходима для образования биологически активного сывороточного фактора тимуса, обеспечивающего дифференцировку лимфоцитов, то есть патогенетическая терапия обеспечивает коррекцию дисрегуляторного влияния традиционной терапии ожирения и оптимизирует иммунные реакции. В ходе исследования мы наблюдали, что при комплексном лечении в сочетании с мексидолом и ГБО происходит более полное восстановление клинических функций и иммунных реакций, а также данный вид терапии положительно влияет на динамику психической активности пациентов. Данные терапев-

### Адрес для переписки:

Кукина Галина Николаевна  
ФКУ «Главное бюро медико-социальной экспертизы  
по Республике Мордовия»  
430034, Россия, Республика Мордовия,  
г. Саранск, ул. Пушкина, д. 68, кв. 3  
Тел.: 8 (927) 195-11-77.  
E-mail: forasmol@mail.ru

### Address for correspondence:

Kukina Galina N.  
Main Bureau of Medical and Social Expertise in the Republic  
of Mordovia  
430034, Russian Federation, Republic of Mordovia, Saransk,  
Pushkin str., 68, apt 3.  
Phone: 7 (927) 195-11-77.  
E-mail: forasmol@mail.ru

### Образец цитирования:

Г.Н. Кукина, С.В. Кирюхина, Д.А. Лабунский,  
В.А. Колмыков, Е.Ю. Юрасова, Е.В. Бояркин  
«Изучение динамики компонентов системы  
комплемента и иммунных комплексов различных  
фракций у подростков с ожирением и метаболическим  
синдромом под влиянием антигипоксантов»  
// Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23,  
№ 4. С. 479-486.  
doi: 10.46235/1028-7221-434-EDC

© Кукина Г.Н. и соавт., 2020

### For citation:

G.N. Kukina, S.V. Kiryukhina, D.A. Labunsky,  
V.A. Kolmykov, E.Yu. Yurasova, E.V. Boyarkin  
“Examining  
dynamic changes in the complement system components and  
immune complexes of various fractions in adolescents with  
obesity and metabolic syndrome affected by antihypoxants”,  
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii  
Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 4, pp. 479-486.  
doi: 10.46235/1028-7221-434-EDC

DOI: 10.46235/1028-7221-434-EDC

тические эффекты мы связываем с антиоксидантным и антигипоксическим эффектами, используемых фармакологических групп. Также мы выявили, что дети с ожирением уже имеют метаболический синдром и предрасположены к осложнениям связанным с ним, поэтому для ранней диагностики метаболического синдрома необходимо исследовать детей с нормальной массой тела, что позволит диагностировать метаболические изменения на более раннем этапе, так как изменение биохимических показателей крови, таких как триглицериды, липопротеиды очень низкой плотности, уровень гликемии и других происходит задолго до первых изменений во внешности.

*Ключевые слова:* ожирение, метаболический синдром, система комплемента, антигипоксанты, мексидол, подростки

## EXAMINING DYNAMIC CHANGES IN THE COMPLEMENT SYSTEM COMPONENTS AND IMMUNE COMPLEXES OF VARIOUS FRACTIONS IN ADOLESCENTS WITH OBESITY AND METABOLIC SYNDROME AFFECTED BY ANTIHYPOXANTS

Kukina G.N.<sup>a</sup>, Kiryukhina S.V.<sup>b</sup>, Labunsky D.A.<sup>b</sup>, Kolmykov V.A.<sup>b</sup>, Yurasova E.Yu.<sup>b</sup>, Boyarkin E.V.<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Main Bureau of Medical and Social Expertise in the Republic of Mordovia, Saransk, Republic of Mordovia, Russian Federation

<sup>b</sup> N. Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Republic of Mordovia, Russian Federation

**Abstract.** In this paper, we consider a relation between adolescent obesity and dynamic changes in the complement system components and immune complexes of various fractions affected by antihypoxants, because obesity is one of the most common non-communicable diseases worldwide and rises an interest for many researchers. New studies emerge revealing an imbalanced immune system that aggravates upon obesity and affects multiple immune processes, as well as increasing interest in studying obstructive sleep apnea syndrome resulting in tissue hypoxia, thereby increasing a risk of cardiovascular diseases. Our study allowed to detect metabolic syndrome in 89% of obese patients (groups 1 and 2) and 25% of adolescents with normal body weight (control group 2). We analyzed the complement components and circulating immune complexes of various fractions and revealed positive dynamics of the examined parameters due to combination therapy with the anti-oxidant Mexidol and hyperbaric oxygenation, which may indicate that oxygen-dependent neuroimmune mechanisms might be involved in the pathogenesis of metabolic syndrome in obesity. Such systemic activation of regulatory mechanisms for maintaining homeostasis is necessary for formation of biologically active thymus-derived serum factor ensuring lymphocyte differentiation, i.e. pathogenetic therapy corrects dysregulatory impact of traditional therapy for obesity and optimizes immune responses. During the study we observed that the combination treatment using Mexidol and HBO resulted in better recovery of clinical functions and immune responses, and that such therapy exerted a positive effect on dynamics of patient mental activity. We believe that such therapeutic effects were due to antioxidant and antihypoxic activity of the applied pharmacological drugs. We also found that obese children are featured with metabolic syndrome and predisposed to developing relevant complications. Hence, for early diagnostics of metabolic syndrome it is necessary to study children with normal body weight that will allow to diagnose metabolic changes at earlier stage, because changes in blood biochemical parameters such as triglycerides, very low-density lipoproteins, glycemia levels etc. occur long before initial changes in person appearance might emerge.

*Keywords:* obesity, metabolic syndrome, complement system, antihypoxants, Mexidol, adolescents

Ожирение, по данным ВОЗ, за последние 10 лет является одним из самых распространенных неинфекционных заболеваний во всем мире. Его распространение настолько велико, что оно приобретает масштабы эпидемии. Согласно национальным клиническим рекомендациям по диа-

гностике, лечению и профилактике ожирения (2017), ожирение – это хроническое мультифакторное гетерогенное заболевание [6].

В ряде исследований было установлено, что метаболические нарушения, инсулинорезистентность (ИР), связанные с ожирением, наблюда-

ются именно при висцеральном типе ожирения (абдоминальный или центральный) при котором доминирующим является накопление белого жира, преимущественно в брыжейке и сальнике [4], и именно он является предиктором таких заболеваний, как сахарный диабет 2 типа, сердечно-сосудистых заболеваний.

Висцеральная жировая ткань хорошо иннервирована и имеет богатую сеть капилляров, сообщающихся с воротной веной. Она обладает высокой чувствительностью к липолитическому действию катехоламинов за счет высокой плотности  $\beta$ -адренорецепторов адипоцитов, особенно  $\beta_3$ -рецепторов к кортикостероидам, андрогенам и низкую — к антилиполитическому действию инсулина за счет низкой плотности 2-адренорецепторов и рецепторов к инсулину [7].

В печени большое количество неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК), которые образуются в адипоцитах при распаде триглицеридов (ТГ) и попадают в воротную вену. Они подавляют чувствительность к инсулину ферментов цикла Кребса, ферментов гликолиза, гликогенеза. Таким образом усиливается глюконеогенез. Большое количество НЭЖК приводит к развитию инсулинорезистентности (ИР) путем уменьшения связывания инсулина рецепторами гепатоцитов и количество самих рецепторов, в печени вызывает образование липопротеидов очень низкой плотности (ЛОНП), обогащенных ТГ. Происходит повышение в крови содержания ТГ, что приводит к гиперлипидемии (ГЛП), которая усугубляет ИР. Таким образом, в развитии инсулинорезистентности при ожирении главную роль играют НЭЖК и масса висцерального жира. В свою очередь, гиперинсулинемия (ГИ) при ИР способствует накоплению жиров, депонируя глюкозу и жиры в жировой ткани. С другой стороны, ГИ подавляет распад жиров, что способствует прогрессированию ожирения и ГИ. ГИ, воздействуя на гипоталамические центры, приводит к развитию гиперфагии и дальнейшему прогрессированию ожирения [2].

В последних исследованиях выявлено, что с нарастанием ожирения возрастает дисбаланс в иммунной системе, который затрагивает процесс созревания дифференцировки лимфоцитов, усиление экспрессии рецепторов как про-, так и противовоспалительных цитокинов, активации апоптоза, нарушение процессов адаптации резервов фагоцитарного звена [3]. Также при ожирении часто наблюдается синдром обструктивного апноэ во сне, который приводит к гипоксии тканей увеличивая риск сердечно-сосудистых заболеваний [1].

К сожалению, людей с метаболическим синдромом (МС) становится все больше, он поража-

ет взрослых и детей любого возраста, это связано с постоянным ростом ожирения и распространенностью сидячего образа жизни [13]. МС или не диагностируется, или диагностируется на поздних этапах, когда развиваются такие заболевания, как сахарный диабет 2 типа, артериальная гипертензия, дислипидемия [2]. У пациентов с ожирением при лечении традиционными методами или при лечении другими препаратами в сравнении со здоровыми пациентами не учитываются иммунные реакции и их изменения в ходе фармакотерапии. В связи с этим, исследование особенностей влияния патогенетической терапии на нейроиммунные показатели гомеостаза у больных с ожирением, а также определение места антиоксидантов и антигипоксантов в комплексной терапии для лечения данных больных является актуальной задачей.

## Материалы и методы

Клинические наблюдения проводили с участием больных с диагнозом «ожирение» (по МКБ 10 E66.0, E66.8, E66.9), находящихся на лечении в Мордовской республиканской детской больнице. У некоторых пациентов была выявлена коморбидность с депрессией и другими расстройствами психической деятельности. Все исследования осуществляли с согласия пациентов или их законных представителей в соответствии с «Законом о психиатрической помощи и гарантиях прав граждан при ее оказании», а также заключением ЛЭК ФГОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева» № 79 от 18.03.2018 г. Критериями исключения из исследования являлись: сопутствующая соматическая патология в стадии декомпенсации, онкологические заболевания, длительный предшествующий прием статинов, клаустрофобия, непереносимость исследуемых лекарственных препаратов, злокачественная артериальная гипертензия, системные аутоиммунные заболевания, заболевания печени, больные с сахарным диабетом 1 и 2 типа, пациенты с положительной динамикой от безмедикаментозного лечения ожирения, больные с весом более 130 кг.

В исследовании участвовали 28 юношей и 32 девушки в возрасте от 17 до 18 лет, средний возраст  $17,5 \pm 0,4$ . Пациенты были рандомизированы на 3 группы. В 1-ю и 2-ю группу мы включили пациентов с индексом массы тела более  $30 \text{ кг/м}^2$ . В первой группе ( $n = 20$ ) лечение осуществляли традиционными методами: модификация образа жизни, гипокалорийное питание, дозированная физическая нагрузка, прием орлистата по 120 мг 3 раза в день *per os*. Пациентам второй группы ( $n = 20$ ), наряду с традиционной терапией, с первого дня лечения давали антиоксидант мексидол

в дозе 125 мг 2 раза в день внутрь в течение 20 дней. Одновременно использовали гипербарическую оксигенацию. Сеансы ГБО проводили 1 раз в день первые 10 дней при избыточном давлении 0,8–1,0 атм., период изопрессии составлял 40 минут.

У всех исследуемых мы оценивали индекс массы тела (ИМТ), окружность живота с помощью обычной сантиметровой ленты, измерение артериального давления (АД), использовались лабораторные методы исследования: оценка углеводного обмена проводилась по уровням гликированного гемоглобина (HbA1c), гликемии натощак, инсулина натощак, постпрандиальной гликемии, инсулинорезистентность по индексу НОМА. Оценка липидного спектра включала в себя определение общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ), липопротеины высокой (ЛПВП) и низкой (ЛПНП) плотности. Для исследования липидного обмена и углеводного у больных была исследована плазма крови. Забор производился из локтевой вены после 12-часового голодания. Оценка психопатологических симптомов, осуществляемая по картам Авруцкого–Зайцева и шкалам депрессии Гамильтона, а также исследования сывороточных концентраций циркулирующих иммунных комплексов разной молекулярной массы и компонентов системы комплемента, проводилась при поступлении в стационар, на 20-й и 30-й дни терапии.

Критериями эффективности проводимой фармакотерапии являлись: полнота редукции степени выраженности симптомов заболевания, снижение частоты их встречаемости, восстановление социального статуса пациента.

В качестве контроля 1 использовали кровь 50 здоровых доноров. Контролем 2 служили показатели пациентов: с нормальным ИМТ (18–25), обхват талии (ОТ) у девушек менее 80 см, а у юношей – менее 94 см, и дополнительные критерии: липопротеины низкой плотности (ЛПНП) менее 3 ммоль/л, уровня ТГ менее 1,7 ммоль/л, ЛПВП более 1 ммоль/л у юношей и более 1,2 ммоль/л у девушек; гипергликемия натощак с уровнем глюкозы в плазме крови не более 6,1 ммоль/л, без нарушение толерантности к глюкозе при уровне глюкозы в плазме крови через 2 ч после приема углеводов более 7,8 и менее 11,1 ммоль/л. АД до 130 и 80 мм рт. ст. [7].

Статистический анализ результатов исследования проводили с помощью русифицированной версии программы STATISTICA 6.0. Определялись основные статистические характеристики: среднее, ошибка среднего. Достоверность различий рассчитана с помощью Т-критерия Стьюдента в случае равенства дисперсий, его модификации (Т-критерий с отдельными оценками

дисперсий) при 5%-ном уровне значимости на персональном компьютере Authentic AMD.

## Результаты и обсуждение

В ходе исследования мы выявили метаболический синдром у 89% пациентов с ожирением (1-й и 2-й группы) и у 25% у подростков с нормальной массой тела (2-я контрольная группа). Во второй контрольной группе наблюдалось повышение ТГ выше 1,7 ммоль/л у 36,6%, повышение ЛПНП выше 3,1 ммоль/л у 43,7%, сахара крови выше 6,1 ммоль/л у 33,4% обследуемых. Полученные нами данные согласуются с мнением Учамприной и соавт. о том, что раннее проявления МС у подростков с нормальной массой тела связано с накоплением жира в висцеральных депо [9], которые, как правило, сопровождаются метаболическими и гемодинамическими нарушениями.

В первой группе исследований были проанализированы компоненты комплемента и циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) крупной, средней и мелкой фракций у больных, получающих традиционную терапию препаратом «Орлистат». «Традиционная» терапия усиливала изменения иммунных реакций, вызванные заболеванием. На 20-й день и в большей степени на 30-й день терапии регистрировали снижение общей комплементарной активности сыворотки крови. Корректирующего влияния на С3-, С4-, С5-компоненты комплемента данный вид лечения не оказывал. К 20-му дню лечения наблюдалось повышение F<sub>n</sub>, а к 30-му – снижение до 354±89,48). Перераспределение уровней циркулирующих иммунных комплексов выражалось в снижении крупных ЦИК и значительном увеличении количества средних и мелких.

В этих условиях повышается риск развития вторичных инфекционных осложнений, углубляется нарушение нейроиммунных взаимодействий, что ставит вопрос о целесообразности применения средств, предупреждающих данные изменения. Как показано в наших экспериментальных и клинических исследованиях, проведенных нами ранее [5, 10, 11], таким активирующим действием на показатели иммунитета обладает комбинация антиоксидантов и гипербарической оксигенации. Поэтому является интересным изучение возможностей коррекции данных иммунологических сдвигов методом комплексной терапии традиционная терапия + ГБО + мексидол (группа 2) у больных с ожирением. Показатели иммунных реакций представлены в таблице 1. По нашим наблюдениям, сочетанное применение наряду с традиционной терапией препаратов метаболического типа действия предотвращало дисфункциональные иммунологические расстройства системы комплемента, наблюдаемые в

**ТАБЛИЦА 1. ДИНАМИКА КОМПОНЕНТОВ КОМПЛЕМЕНТА И ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ ПРИ ОЖИРЕНИИ НА ФОНЕ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ТЕРАПИИ**

TABLE 1. DYNAMICS OF COMPLEMENT COMPONENTS AND CIRCULATING IMMUNE COMPLEXES IN OBESITY AGAINST THE BACKGROUND OF VARIOUS TYPES OF THERAPY

№	Вид исследования Type of study	Уровень исследуемого показателя в крови на разных сроках лечения Level of the test indicator in the blood at different periods of treatment							
		Контроль 1 Control 1	Контроль 2 Control 2	1-я группа 1 <sup>st</sup> group			2-й группа 2 <sup>nd</sup> group		
				1-й день 1 <sup>st</sup> day	20-й день 20 <sup>th</sup> day	30-й день 30 <sup>th</sup> day	1-й день 1 <sup>st</sup> day	20-й день 20 <sup>th</sup> day	30-й день 30 <sup>th</sup> day
1	К, у. е. К, с. у.	4,95±0,04	5,25±0,14	4,82±0,14	5,20±0,06* <sup>ca</sup>	5,32±0,04* <sup>ca</sup>	4,76±0,15	4,92±0,15	4,96±0,06 <sup>b</sup>
2	С1, пг/мл С1, pg/ml	193,30±15,32	199,50±12,26	219,05±22,55	228,50±16,72	219,43±32,99	236,10±34,51	267,20±42,05* <sup>cb</sup>	233,10±31,05
3	С3, пг/мл С3, pg/ml	0,74±0,04	0,79±0,08	1,04±0,16* <sup>c</sup>	1,103±0,210* <sup>c</sup>	1,45±0,48* <sup>c</sup>	1,056±0,130* <sup>c</sup>	0,81±0,04 <sup>b</sup>	0,75±0,15 <sup>ab</sup>
4	С4, пг/мл С4, pg/ml	0,22±0,03	0,28±0,07	0,50±0,07* <sup>c</sup>	0,55±0,05* <sup>c</sup>	0,54±0,06* <sup>c</sup>	0,40±0,07*	0,45±0,06* <sup>c</sup>	0,31±0,06* <sup>cb</sup>
5	С5, пг/мл С5, pg/ml	0,11±0,02	0,12±0,03	0,04±0,01* <sup>c</sup>	0,04±0,01* <sup>c</sup>	0,05±0,01* <sup>c</sup>	0,051±0,020* <sup>c</sup>	0,052±0,020* <sup>c</sup>	0,142±0,020 <sup>ab</sup>
6	Fn, пг/мл Fn, pg/ml	404,20±39,27	394,20±32,19	507,40±80,37	708,30±297,31	354,00±89,48 <sup>b</sup>	501,40±95,47	558,40±173,18	386,00±99,52 <sup>b</sup>
7	ЦИКк, у. е. Cycles k, с. у.	2,00±0,95	2,10±0,75	2,00±0,48	0,64±0,21* <sup>ca</sup>	0,25±0,11* <sup>ca</sup>	2,70±0,88	1,09±0,29 <sup>ac</sup>	1,10±0,29 <sup>ab</sup>
8	ЦИКс, у. е. Cycles с, с. у.	6,2±1,0	5,2±1,4	3,8±0,5* <sup>c</sup>	15,2±1,0* <sup>ca</sup>	21,8±0,5* <sup>ca</sup>	4,1±0,3*	3,21±0,90* <sup>b</sup>	3,2±0,9* <sup>b</sup>
9	ЦИКм, у. е. Cycles m, с. у.	45,8±11,1	51,6±9,1	60,3±5,0*	77,1±11,1* <sup>c</sup>	82,3±11,3* <sup>ca</sup>	66,1±6,2*	54,6±12,1	63,1±15,0

Примечание.\* – отличия от контроля 1, достоверны при  $p < 0,05$ ; <sup>c</sup> – отличия от контроля 2, достоверны при  $p < 0,05$ ; <sup>a</sup> – отличия от соответствующих значений в 1-й день, достоверны при  $p < 0,05$ ; <sup>b</sup> – отличия от пациентов, получавших «традиционную» фармакотерапию в соответствующий день наблюдения, достоверны при  $p < 0,05$ .

Note. \*, differences from control 1 are significant at  $p < 0.05$ ; <sup>c</sup>, differences from control 2, reliable at  $p < 0.05$ ; <sup>a</sup>, differences from the corresponding values on day 1, reliable at  $p < 0.05$ ; <sup>b</sup>, differences from patients who received "traditional" pharmacotherapy on the corresponding day of observation are significant at  $p < 0.05$ .

1-й группе: общая комплементарная активность сыворотки крови, а также Fn-компонент на протяжении всего лечения оставались в пределах нормальных величин, С3 и С5 компоненты комплемента снижались до уровня доноров – С3 к 20-му дню терапии до  $0,81 \pm 0,04$  пг/мл, С5 к 30-му дню до  $0,142 \pm 0,02$  пг/мл. При этом уровень С4 компонента комплемента оставался повышенным. Данное сочетание лекарственных воздействий в группе 2 оказывало выраженное протективное действие на динамику циркулирующих иммунных комплексов разной молекулярной массы. Наблюдалось снижение всех классов ЦИК, причем крупных и мелких до уровня доноров, средних – вдвое ниже этого уровня.

Выполненное на первом этапе клинических наблюдений изучение эффективности традици-

онной терапии ожирения с помощью орлистата выявило отсроченное развитие клинического эффекта: наблюдалось снижение холестерина и ТГ. При этом, несмотря на ослабление симптоматики, полного исчезновения расстройств не наблюдалось – частота встречаемости симптомов оставалась достаточно высокой. Наряду с этим, применение данного вида терапии не оказывало корректирующего влияния на симптомы угнетения психической активности в виде утомляемости, психофизической истощаемости, снижения продуктивности в труде и учебе.

Данная терапия усугубляла иммунные расстройства, вызванные заболеванием: снижала общую комплементарную активность сыворотки крови в сочетании с дисбалансом С3-, С4-, С5-,

Fn-компонентов комплемента, повышала количество средних и мелких ЦИК.

Проведенное нами исследование плазменных концентраций гуморальных факторов иммунных реакций – компонентов системы комплемента во второй группе пациентов, а также динамики крупной, средней и мелкой фракции циркулирующих иммунных комплексов выявило положительную динамику изучаемых показателей под воздействием комплексной терапии с использованием антиоксиданта мексидола и гипербарической оксигенации, что может свидетельствовать о вовлечении кислород-зависимых нейроиммунных механизмов в патогенез метаболического синдрома при ожирении. Оптимизирующее влияние на иммунные реакции проявилось в нормализации уровней C3-, C5-, Fn-компонентов комплемента, отсутствии роста средней и мелкой фракции иммунных комплексов, изменения крупной фракции ЦИК были менее значительными, чем в 1-й группе.

Выявленная системная активация регулирующих механизмов поддержания гомеостаза – оптимизация синтеза компонентов системы комплемента и уровней циркулирующих иммунных комплексов разной молекулярной массы, согласуется с работами Симбирцева А.С. и Ferrari D. и соавт. [8, 12] об активации иммунных реакций под воздействием метаболических препаратов. Данная активация необходима для образования биологически активного сывороточного фактора тимуса, обеспечивающего дифференцировку лимфоцитов, то есть патогенетическая терапия обеспечивает коррекцию дизрегуляторного вли-

яния традиционной терапии ожирения и оптимизирует иммунные реакции.

## Выводы

В ходе исследования мы наблюдали, что наиболее полное восстановление клинических функций, а также иммунных реакций наблюдается во 2-й обследуемой группе при комплексном лечении, что, по-видимому, связано, с одной стороны, с активирующим действием сочетания ГБО, мексидола и традиционной терапии ожирения на иммунные реакции, с другой – с нормализацией нейроиммунных взаимодействий, положительно влияя на динамику показателей психической активности пациентов.

Терапевтический эффект применяемой нами комплексной терапии ожирения обусловлен, по-видимому, антиоксидантными и антигипоксическими свойствами комплекса используемых фармакологических средств.

Результаты нашего исследования выявили, что для ранней диагностики метаболического синдрома необходимо исследовать детей с нормальной массой тела, что позволит диагностировать метаболические изменения на более раннем этапе, так как изменение биохимических показателей крови происходит задолго до первых изменений во внешности. Мы предполагаем, что для скрининга МС у подростков нужно использовать такие параметры, как: окружность живота, липидограмма, гликированный гемоглобин, индекс НОМА, которые позволят врачам диагностировать МС на начальных этапах, а не в период развития сложных заболеваний.

## Список литературы / References

1. Балыкова Л.А., Гарина С.В., Назарова И.С., Белкина Н.Р., Сергеева Я.Р. Новый способ фармакологической коррекции постгипоксической кардиопатии новорожденных детей // Медицинский совет, 2018. № 8. С. 19-25. [Balykova L.A., Garina S.V., Nazarova I.S., Belkina N.R., Sergeeva Ya.R. New method of pharmacological correction of posthypoxic cardiopathy of newborn children. *Meditsinskiy Sovet = Medical Council*, 2018, Vol. 2, pp. 19-25. (In Russ.)]
2. Бокарев И.Н. Метаболический синдром // Клиническая медицина, 2014. Т. 8. С. 71-76. [Bokarev I.N. Metabolic syndrome. *Klinicheskaya meditsina = Clinical Medicine*, 2014, Vol. 8, pp. 71-76. (In Russ.)]
3. Гусова З.Р., Дзантиева Е.О., Хрипун И.А. Иммунологические аспекты ожирения // Альманах клинической медицины, 2015. № 1. С. 30-35. [Gusova Z.R., Dzantjeva E.O., Khripun I.A. Immunological aspects of obesity. *Almanakh klinicheskoy meditsiny = Almanac of Clinical Medicine*, 2015, no. 1, pp. 30-35. (In Russ.)]
4. Дедов И.И., Мельниченко Г.А. Ожирение: этиология, патогенез, клинические аспекты. М.: Медицинское информационное агентство, 2004. С. 16-20. [Dedov I.I., Melnichenko G.A. Obese: etiology, pathogenesis, clinical aspects]. Moscow: Medical News Agency, 2004, pp. 16-20.
5. Кирюхина С.В. Экспериментально-клиническое обоснование патогенетической фармакологической коррекции обсессивно-фобических, конверсионных, астенических расстройств. Саранск, 2010. 40 с. [Kiryukhina S.V. Experimental and clinical justification of pathogenetic pharmacological correction of obsessive-phobic, conversion, asthenic disorders. doctor of medical Sciences]. Saransk, 2010. 40 p.
6. Национальные клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике ожирения. 2017. 7 с. [National clinical guidelines for the diagnosis, treatment and prevention of obesity. 2017. 7 p.]

7. Рекомендации Консенсуса российских экспертов по проблеме МС в Российской Федерации. 2010. С. 602-603. [Recommendations of the Consensus of Russian experts on the problem of MS IN the Russian Federation. 2010. pp. 602-603.]
8. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции // Цитокины и воспаление, 2004. Т. 3, № 2. С. 16-23. [Simbirtsev A.S. Cytokines: classification and biological functions. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2004, Vol. 3, no. 2, pp. 16-23. (In Russ.)]
9. Учамприна В.А., Романцова Т.И., Калашникова М.Ф. Комплексный подход к лечению метаболического синдрома // Ожирение и метаболизм, 2014. № 1. С. 32-36. [Uchamprina V.A., Romantsova T.I., Kalashnikova M.F. Complex approach to the treatment of metabolic syndrome. *Ozhirenie i metabolizm = Obesity and Metabolism*, 2014, no. 1, pp. 32-36. (In Russ.)]
10. Labunskiy D., Kiryukhina S., Podsevatkin V. Hyperbaric oxygenation in treatment of tourette disease in comparison with medication therapy and their influence of immunity parameters. *Eur. J. Neurol.*, 2019, Vol. 26, Suppl. 1, p. 949.
11. Labunskiy D., Kiryukhina S., Podsevatkin V. Comparison of experimental cellular and molecular therapy in motor neuron disease. *Eur. J. Neurol.*, 2019, Vol. 26, Suppl. 1, p. 829.
12. Ferrari D., Pizzirani C., Adinolfi E. The P2X7 receptor: a key player in IL-1 processing and release. *J. Immunol.*, 2006, Vol. 176, pp. 3877-3883.
13. Fornari E., Maffei S. Treatment of metabolic syndrome in children. *Front. Endocrinol.*, 2019, Vol. 10, 702. doi: 10.3389/fendo.2019.00702.

---

**Авторы:**

**Кукина Г.Н.** — врач-педиатр ФКУ «Главное бюро медико-социальной экспертизы по Республике Мордовия», г. Саранск, Республика Мордовия, Россия

**Кирюхина С.В.** — д.м.н., доцент, профессор кафедры нервных болезней и психиатрии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева», г. Саранск, Республика Мордовия, Россия

**Лабунский Д.А.** — к.м.н., старший преподаватель кафедры нервных болезней и психиатрии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева», г. Саранск, Республика Мордовия, Россия

---

**Authors:**

**Kukina G.N.**, Pediatrician, Main Bureau of Medical and Social Expertise in the Republic of Mordovia, Saransk, Republic of Mordovia, Russian Federation

**Kiryukhina S.V.**, PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Professor, Department of Nervous Diseases and Psychiatry, N. Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Republic of Mordovia, Russian Federation

**Labunsky D.A.**, PhD (Medicine), Senior Lecturer, Department of Nervous Diseases and Psychiatry, N. Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Republic of Mordovia, Russian Federation

**Колмыков В.А.** — ординатор кафедры нервных болезней и психиатрии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева», г. Саранск, Республика Мордовия, Россия

**Юрасова Е.Ю.** — аспирант кафедры нервных болезней и психиатрии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева», г. Саранск, Республика Мордовия, Россия

**Бояркин Е.В.** — аспирант кафедры общей хирургии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева», г. Саранск, Республика Мордовия, Россия

**Kolmykov V.A.**, Resident, Department of Nervous Diseases and Psychiatry, N. Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Republic of Mordovia, Russian Federation

**Yurasova E.Yu.**, Postgraduate Student, Department of Nervous Diseases and Psychiatry, N. Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Republic of Mordovia, Russian Federation

**Boyarkin E.V.**, Postgraduate Student, Department of General Surgery, N. Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Republic of Mordovia, Russian Federation

---

Поступила 01.08.2020  
Отправлена на доработку 02.09.2020  
Принята к печати 07.09.2020

---

Received 01.08.2020  
Revision received 02.09.2020  
Accepted 07.09.2020

## УЛЬТРАЗВУКОВЫЕ КРИТЕРИИ СПЛЕНОМЕГАЛИИ У ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ ЛИХОРАДКИ И ИНФЕКЦИОННЫМ МОНОНУКЛЕОЗОМ

Перепелица С.А.<sup>1,2</sup>, Перминова Л.А.<sup>1</sup>, Степанян И.А.<sup>1,3</sup>, Захар Е.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт общей реаниматологии имени В.А. Неговского ФГБНУ «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии», Москва, Россия

<sup>3</sup> ГБУЗ «Инфекционная больница Калининградской области», г. Калининград, Россия

**Резюме.** Ультразвуковое исследование селезенки является перспективным направлением, которое позволяет точно определить нормальные размеры органа в различных возрастных группах и при патологических состояниях. Цель — оценить изменение размеров селезенки у пациентов на фоне лихорадочного состояния и с инфекционным мононуклеозом.

Проведено ультразвуковое морфометрическое исследования селезенки у пациентов с лихорадочным состоянием (группа А, n = 22) и с инфекционным мононуклеозом (группа В n = 24) с определением эхоструктуры органа, четкость контура, ее однородность. На основании морфометрических данных произведены расчеты массы селезенки и коэффициентов по методике Возгомент О.В. и соавт.: расчет массы селезенки (Мс) проведен по формуле:  $M_s = 0,34 \cdot L^2 \cdot h$ , где L — длина селезенки, h — толщина селезенки (в см); расчет коэффициента массы селезенки (КМС) проведен по формуле:  $1000 \text{ м/масса тела (в граммах)}$ , где m — масса селезенки; расчет отношения массы селезенки к росту (КИ) проведен по формуле:  $\text{масса селезенки (г) / рост (см)}$ ; расчет отношения массы селезенки к площади поверхности тела (Кс) проведен по формуле:  $\text{масса селезенки (г) / площадь поверхности тела (м}^2\text{)}$ . Статистический анализ проводили с использованием пакета программ Statistica 10.0.

Лихорадочное состояние в большинстве случаев не сопровождается изменениями размеров селезенки. Лишь в 1 (4,5%) случае выявлена микроспления у пациента в возрасте 58 лет, и в 2 (9%) случаях установлена спленомегалия (диапазон КМС 5,5–5,9) у молодых пациентов в возрасте 18 и 25 лет. Течение инфекционного мононуклеоза в 25% случаев не сопровождается изменением размеров селезенки. В остальных наблюдениях имеет место как микроспления (20,8%), так и спленомегалия (54,2%). Микроспления выявлена у пациентов со средним возрастом  $43,6 \pm 14,5$  лет, спленомегалия (диапазон КМС 4–8, 9) характерна для молодых людей в возрасте  $25 \pm 8$  лет.

На фоне лихорадочного состояния в большинстве случаев не происходит изменения размеров селезенки. При инфекционном мононуклеозе выявлено три варианта изменения размеров селезенки: отсутствие ответа органа, микроспления, характерная для пациентов старшего возраста и спленомегалия, выявляемая у молодых людей. Ультразвуковое исследование селезенки с оценкой его морфометрических характеристик являются объективными критериями, позволяющими провести полно-

### Адрес для переписки:

Перепелица Светлана Александровна  
ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет  
имени Иммануила Канта»  
236041, Россия, г. Калининград, ул. А. Невского, 14.  
Тел.: 8 (906) 218-80-91.  
E-mail: sveta\_perepeliza@mail.ru

### Address for correspondence:

Perepelitsa Svetlana A.  
I. Kant Baltic Federal University  
236041, Russian Federation, Kaliningrad, A. Nevsky str., 14.  
Phone: 7 (906) 218-80-91.  
E-mail: sveta\_perepeliza@mail.ru

### Образец цитирования:

С.А. Перепелица, Л.А. Перминова, И.А. Степанян, Е.В. Захар «Ультразвуковые критерии спленомегалии у пациентов с синдромом лихорадки и инфекционным мононуклеозом» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 4. С. 487-492.  
doi: 10.46235/1028-7221-404-UCO

© Перепелица С.А. и соавт., 2020

### For citation:

S.A. Perepelitsa, L.A. Perminova, I.A. Stepanyan, E.V. Zakhar "Ultrasound criteria of splenomegaly in patients with fever and infectious mononucleosis", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 4, pp. 487-492.  
doi: 10.46235/1028-7221-404-UCO

DOI: 10.46235/1028-7221-404-UCO

ценную оценку состояния иммунного органа и выявить степень вовлеченности его в патологический процесс на доклиническом уровне.

*Ключевые слова:* селезенка, коэффициент массы селезенки, иммунитет, ультразвуковое исследование, инфекционный мононуклеоз, лихорадка

## ULTRASOUND CRITERIA OF SPLENOMEGALY IN PATIENTS WITH FEVER AND INFECTIOUS MONONUCLEOSIS

Perepelitsa S.A.<sup>a, b</sup>, Perminova L.A.<sup>a</sup>, Stepanyan I.A.<sup>a, c</sup>, Zakhar E.V.<sup>c</sup>

<sup>a</sup> I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

<sup>b</sup> V. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation, Moscow, Russian Federation

<sup>c</sup> Infectious Hospital of the Kaliningrad Region, Kaliningrad, Russian Federation

**Abstract.** Ultrasound examination of the spleen is a promising approach allowing to accurately determine its normal size in various age groups as well as in pathological conditions. Objective – to evaluate spleen size changes in patients with febrile state and infectious mononucleosis. Ultrasound morphometric examination of the spleen was carried out in patients with febrile state (group “A”, n = 22) and infectious mononucleosis (group “B” n = 24) by assessing organ echo structure, contour clarity, and its uniformity. Morphometric data allowed to measure spleen weight and various coefficients by using the method proposed by Vozgoment et al. for calculating spleen weight (Wt) with formula:  $Wt = 0.34 * L^2h$ , where L – the length of the spleen, h – the thickness of the spleen (cm); spleen weight coefficient (SWC) by using the formula:  $1000 m / \text{body weight (in grams)}$ , where m – the mass of the spleen; spleen weight-to-body height ratio (KI) by using the formula:  $\text{spleen weight (g)} / \text{height (cm)}$ ; spleen weight-to-body surface area ratio (Ks) by using the formula:  $\text{spleen weight (g)} / \text{body surface area (m}^2\text{)}$ . Statistical analysis was performed by using Statistica 10.0 software package. Febrile state in most cases is not accompanied by changes in spleen size. However, decreased spleen size was found in one (4.5%) patient aged 58 years, whereas splenomegaly – in 2 (9%) cases (SWC range 5.5–5.9) in young patients aged 18 and 25 years. The course of infectious mononucleosis in 25% cases was not accompanied by change in spleen size. In other cases, both decreased (20.8%) and increased (54.2%) spleen size were observed. In particular, decreased spleen size was detected in patients with average age of  $43.6 \pm 14.5$  years, whereas increased spleen size (SWC range 4–8.9) was typical for young people aged  $25 \pm 8$  years. Febrile state in most cases is not paralleled altered spleen size. Infectious mononucleosis was associated with the three types of altered spleen size: no change, decreased spleen size characteristic to older patients, or increased spleen size observed in young subjects. Ultrasound examination of the spleen with measuring its morphometric parameters represent objective criteria allowing to fully assess the state of this immune organ and reveal degree of its involvement in the pathological process at the preclinical level.

*Keywords:* spleen, spleen mass coefficient, immunity, ultrasound procedure, infectious mononucleosis, fever

Селезенка является вторичным иммунным органом и играет важную роль в модуляции иммунной системы, дифференцировке и активации Т- и В-лимфоцитов. Функции селезенки разнообразны, одна из них – препятствие генерализации инфекционного процесса и развитию сепсиса [7]. Спленомегалия может быть вызвана широким спектром заболеваний, включая инфекционный мононуклеоз [5], гематологические заболевания и цирроз печени [7]. Ультразвуковое исследование селезенки является перспективным направлением, которое позволяет точно

определить нормальные размеры органа в различных возрастных группах и при патологических состояниях [6].

**Цель исследования** – оценить изменение размеров селезенки у пациентов на фоне лихорадочного состояния и с инфекционным мононуклеозом.

### Материалы и методы

Проведено проспективное исследование, которое было одобрено Независимым этическим комитетом Центра клинических исследований

ФГАОУ ВО «БФУ им. И. Канта» (выписка из Протокола заседания НЭК № 6 от 08.02.2018 г.) и выполнено в ГБУЗ «Инфекционная больница Калининградской области. В исследование включили 46 пациентов, среди них выделены две группы:

– А – 22 пациента с диагнозом «Лихорадка неуточненная». Средний возраст в группе составлял  $51,4 \pm 19$  лет, масса тела –  $79 \pm 17,8$  кг, рост –  $169 \pm 9,9$  см, площадь поверхности тела –  $1,89 \pm 0,23$  м<sup>2</sup>. Для всех пациентов было характерно острое начало заболевания, повышение температуры тела до 38-40°, симптомы общей интоксикации. Лечение начиналось в амбулаторных условиях, в связи с отсутствием эффекта пациенты направлялись в инфекционный стационар, где после специфических лабораторных исследований этиологическая причина лихорадки не была установлена. Проводилось симптоматическое и патогенетическое лечение. Период повышения температуры не превышал 10 дней.

– В – 24 пациента с диагнозом «Инфекционный мононуклеоз (ИМ)». Средний возраст в группе составлял  $33,4 \pm 16,6$  лет, масса тела –  $75,8 \pm 14,6$  кг, рост –  $173,8 \pm 9$  см, площадь поверхности тела –  $1,88 \pm 0,18$  м<sup>2</sup>. Для всех пациентов было характерно острое начало заболевания, повышение температуры тела до 38-40°, боль в горле, признаки тонзиллита, лимфаденопатия. Диагноз инфекционного мононуклеоза устанавливался на основании характерной клинической картины и специфических лабораторных данных (иммуноферментный анализ и ПЦР).

В группе А средний возраст пациентов имел статистически значимые отличия по сравнению с группой В ( $p = 0,02$ ). По антропометрическим характеристикам статистически значимых отличий между группами не выявлено ( $p > 0,05$ ).

Ультразвуковое исследование проводилось на аппарате Aixplorer (SuperSonic Imagine, Франция) конвексным датчиком с частотой датчика 1-6 МГц. Во время стандартного исследования селезенки оценивались эхоструктура органа, четкость контура, ее однородность. Линейные измерения селезенки проводились в двух взаимноперпендикулярных плоскостях. Проведено измерение длины, ширины и толщины органа. На основании морфометрических данных произведены расчеты массы селезенки и коэффициентов по методике Возгомент О.В. и соавт.:

Расчет массы селезенки ( $M_c$ ) проведен по формуле:

$M_c = 0,34 * L^2 * h$ , где  $L$  – длина селезенки,  $h$  – толщина селезенки (в см);

1. Расчет коэффициента массы селезенки (КМС) проведен по формуле:  $1000 m / \text{масса тела}$  (в граммах), где  $m$  – масса селезенки;

2. Расчет отношения массы селезенки к росту (KI) проведен по формуле: масса селезенки (г) / рост (см);

3. Расчет отношения массы селезенки к площади поверхности тела ( $K_s$ ) проведен по формуле: масса селезенки (г) / площадь поверхности тела (м<sup>2</sup>) [1];

4. Расчет площади поверхности тела по формуле Мостеллера (1987).

Статистический анализ проводили с использованием пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Для данных, распределение которых в вариационном ряду носило нормальный характер, использовали среднее арифметическое ( $M$ ) и стандартное отклонение ( $SD$ ). Для количественных признаков, отличных от нормального распределения, определяли медиану ( $Me$ ) и междуквартильный размах ( $Q_{0,25} - Q_{0,75}$ ). В исследуемой выборке качественные данные анализировались путем вычисления доли наблюдений (в процентах). Сравнение групп по качественному признаку проводилось с помощью критерия  $\chi^2$  или точного критерия Фишера. Различия считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

При проведении ультразвукового сканирования аномалий развития органа не выявлено. Установлено, что у пациентов обеих групп селезенка имеет четкий контур, паренхима однородная, изоэхогенная. Результаты морфометрического исследования органа представлены в таблице 1.

Анализ показал, что у пациентов группы В, по сравнению с группой А, длина селезенки статистически значимо больше ( $p = 0,002$ ). Отличий по толщине и ширине органа между группами не выявлено ( $p > 0,05$ ), то есть из трех линейных размеров увеличение селезенки происходит за счет длины. На основании полученных измерений, проведены расчеты массы селезенки, а также коэффициенты: КМС, KI,  $K_s$ . Полученные результаты свидетельствуют о наличии спленомегалии у пациентов группы В. У пациентов этой группы масса селезенки в 1,5 раза больше, по сравнению с пациентами группы А. Выявлены статистически значимые отличия ( $p = 0,014$ ). В группе А масса селезенки является параметром, зависящим от массы тела пациента, так как между этими показателями выявлена прямая корреляционная связь средней силы:  $r = 0,5$ ;  $p = 0,02$ . В группе В корреляционная зависимость между массой тела и массой селезенки отсутствует:  $r = 0,07$ ;  $p = 0,8$ . Для более точной оценки спленомегалии используется КМС, который исключает подобные влияния. В группе В КМС статистически значимо больше, чем у пациентов группы А ( $p = 0,009$ ). Аналогичные результаты получены при расчете

ТАБЛИЦА 1. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ И РАСЧЕТНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЕЛЕЗЕНКИ, М (SD)

TABLE 1. COMPARATIVE ANALYSIS OF MORPHOMETRIC AND CALCULATED PARAMETERS OF THE SPLEEN, M (SD)

Показатель Index	Группа А Group A n = 22	Группа В Group B n = 24	р
Длина селезенки, см Spleen length, cm	10,8±1,5	12,1±2,6*	0,002
Толщина селезенки, см Spleen thickness, cm	4,9±0,8	5,5±1,5	0,08
Ширина селезенки, см Spleen width, cm	5,7±1,0	6,3±1,8	0,24
Масса селезенки, грамм Spleen weight, gram	202,0±82,8	306,7±175,3*	0,014
Коэффициент массы селезенки, КМС Spleen mass coefficient, SMC	2,6±1,1	4,1±2,4*	0,009
Отношение массы селезенки к росту, КI Spleen mass-to-height ratio, KI	1,2±0,5	1,7±0,9*	0,02
Отношение массы селезенки к площади поверхности тела, Кs Ratio of spleen mass to body surface area, Ks	105,7±39,8	160,4±88,1*	0,01

Примечание. \* p < 0,05 – статистически значимые отличия между группами.

Note. \* p < 0.05, statistically significant differences between groups.

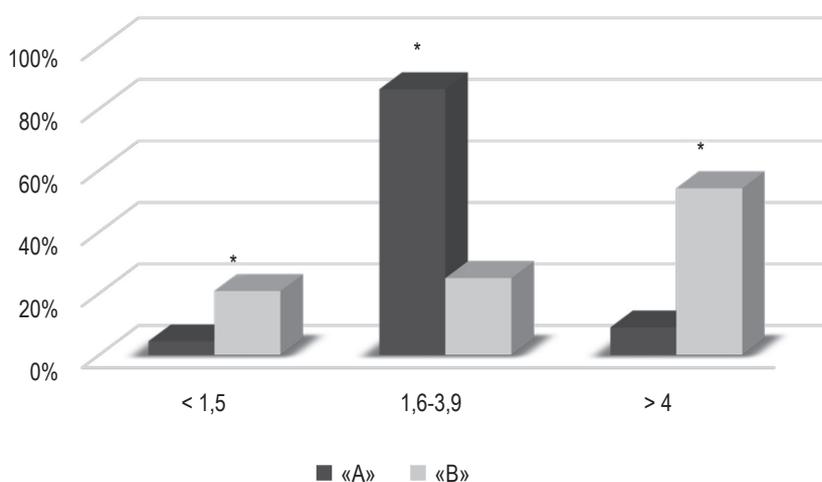


Рисунок 1. Распределение пациентов в зависимости от величины КМС

Figure 1. Distribution of patients depending on the value of the coefficient of the mass of the spleen

KI, Ks. Они также статистически значимо больше у пациентов группы В, по сравнению с группой А ( $p = 0,02$  и  $p = 0,01$  соответственно). Изучив 4 параметра: массу селезенки, КМС, KI, Ks, можно сделать вывод, что в группе В имеет место спленомегалия.

Наиболее информативным показателем, характеризующим размер селезенки, является КМС, так как при его расчете исключаются влияние других антропометрических факторов.

Величина КМС от 1,5 до 4 является нормальным показателем, увеличение его более 4 – признак спленомегалии, уменьшение менее 1,5 – микроспленения [1]. Мы провели градацию КМС в каждой группе по величине КМС. Результаты исследования представлены на рисунке 1.

Величина КМС менее 1,5 выявлена у 4,5% пациентов группы А и 20,8% в группе В ( $p = 0,04$ ). КМС, соответствующий нормальным показателям, свидетельствующий об отсутствии изменения размера органа, выявляется статистически значимо чаще в группе А (86,4%), по сравнению с группой В (25%) ( $p = 0,0000$ ). Признаки спленомегалии и увеличение КМС более 4 характерно для 9% пациентов группы А и 54,2% группы В. Также выявлены статистически значимые отличия ( $p = 0,01$ ).

Лихорадочное состояние в большинстве случаев не сопровождается изменениями размеров селезенки. Лишь в 1 (4,5%) случае выявлена микроспленения у пациента в возрасте 58 лет, и в 2 (9%) случаях установлена спленомегалия (диа-

пазон КМС 5,5-5,9) у молодых пациентов в возрасте 18 и 25 лет.

Течение ИМ в 25% случаев не сопровождается изменением размеров селезенки. В остальных наблюдениях имеет место как микроспленения (20,8%), так и спленомегалия (54,2%). Микроспленения выявлена у пациентов со средним возрастом  $43,6 \pm 14,5$  лет, спленомегалия (диапазон КМС 4-8,9) характерна для молодых людей в возрасте  $25 \pm 8$  лет.

## Выводы

1. На фоне лихорадочного состояния в большинстве случаев не происходит изменения размеров селезенки.

2. При инфекционном мононуклеозе выявлено три варианта изменения размеров селезенки: отсутствие ответа органа, микроспленения, характерная для пациентов старшего возраста, и спленомегалия, выявляемая у молодых людей.

3. Ультразвуковое исследование селезенки с оценкой его морфометрических характеристик и расчетом массы органа, коэффициента массы селезенки, отношения массы селезенки к росту (KI) и отношения массы селезенки к площади поверхности тела (Ks) являются объективными критериями, позволяющими провести полноценную оценку состояния иммунного органа и выявить степень вовлеченности его в патологический процесс на доклиническом уровне.

4. Исследование является неинвазивным, малозатратным, может проводиться многократно, не имеет противопоказаний.

## Список литературы / References

1. Возгомент О.В., Пыков М.И., Зайцева Н.В., Акатова А.А., Аминова А.И. Значение ультразвукового метода исследования селезенки в диагностике заболеваний у иммунокомпрометированных детей // Доктор.Ру, 2014. Т. 97, № 9. С. 37-39. [Vozgoment O.V., Pykov M.I., Zaitseva N.V., Akatova A.A., Aminova A.I. The significance of the ultrasonic method of investigation of spleen in the diagnostics of diseases in immunocompromised children. *Doctor.Ru = Doctor.Ru*, 2014, Vol. 97, no. 9, pp. 37-39. (In Russ.)]
2. Alaoui C.R., Rami M., Khatalla K., Elmadi A., Bouabdellah Y. Spontaneous rupture of the spleen in a child. *Pan. Afr. Med. J.*, 2019. no. 32, 184. doi: 10.11604/pamj.2019.32.184.4260.
3. Becker J.A., Smith J.A. Return to play after infectious mononucleosis. *Sports Health.*, 2014, Vol. 6, no. 3, pp. 232-238.
4. Fugl A., Andersen C.L. Epstein-Barr virus and its association with disease – a review of relevance to general practice. *BMC Fam. Pract.*, 2019, Vol. 20, no. 1. 62. doi: 10.1186/s12875-019-0954-3.
5. Hocqueloux L., Causse X., Valery A., Jandali J.-C., Maitre O., Soin C., Buret J., Ouane F., Niang M., Mille C., Prazuck T., Guinard J., Guigon A. The high burden of hospitalizations for primary EBV infection: a 6-year prospective survey in a French hospital. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2015, Vol. 21, no. 11, pp. 1041.e1-7.

6. Pelizzo G., Guazzotti M., Klersy C., Nakib G., Costanzo F., Andreatta E., Bassotti G., Calcaterra V. Spleen size evaluation in children: time to define splenomegaly for pediatric surgeons and pediatricians. *PLoS ONE*, 2018, Vol. 13, no. 8, e0202741. doi: 10.1371/journal.pone.0202741.

7. Rotbain E.C., Hansen D.L., de Muckadell O., Wibrand F., Lund A.M, Frederiksen H. Splenomegaly – Diagnostic validity, work-up, and underlying causes. *PLoS ONE*, 2017, Vol. 12, no. 11, e0186674. doi:10.1371/journal.pone.186674.

---

**Авторы:**

**Перепелица С.А.** — д.м.н., профессор кафедры хирургических дисциплин медицинского института ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград; ведущий научный сотрудник лаборатории клетки при критических состояниях, Научно-исследовательский институт общей реаниматологии имени В.А. Неговского ФГБНУ «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии», Москва, Россия

**Перминова Л.А.** — к.м.н., доцент кафедры терапии ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

**Степанян И.А.** — аспирант, ассистент кафедры фундаментальной медицины ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»; врач ультразвуковой диагностики ГБУЗ «Инфекционная больница Калининградской области», г. Калининград, Россия

**Захар Е.В.** — врач-инфекционист 1 инфекционного отделения ГБУЗ «Инфекционная больница Калининградской области», г. Калининград, Россия

**Authors:**

**Perepelitsa S.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Surgical Disciplines, Medical Institute, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad; Leading Researcher, Cells in Critical Conditions Laboratory, V. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology, Moscow, Russian Federation

**Perminova L.A.**, PhD (Medicine), Associate Professor, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

**Stepanyan I.A.**, Postgraduate Student, Assistant Professor, Department of Fundamental Medicine, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad; Doctor of Ultrasound Diagnostics, Infectious Hospital of the Kaliningrad Region, Kaliningrad, Russian Federation

**Zakhar E.V.**, Infectious Disease Doctor, 1<sup>st</sup> Infectious Department. Infectious Hospital of the Kaliningrad Region, Kaliningrad, Russian Federation

---

Поступила 23.07.2020  
Отправлена на доработку 01.09.2020  
Принята к печати 02.09.2020

---

Received 23.07.2020  
Revision received 01.09.2020  
Accepted 02.09.2020

## СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ ОРГАНИЗМА К РАЗЛИЧНЫМ АНТИГЕНАМ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ В С ЛЯМБЛИОЗОМ КИШЕЧНИКА

Нурматова Н.Ф.<sup>1</sup>, Мирсалихова Н.Х.<sup>1</sup>, Асильбекова М.А.<sup>1</sup>,  
Ирсалиева Ф.Х.<sup>1</sup>, Дустбабаева Н.Д.<sup>2</sup>, Ахмедов Ж.Х.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Ташкентская медицинская академия, г. Ташкент, Республика Узбекистан

<sup>2</sup> Ташкентский институт усовершенствования врачей, г. Ташкент, Республика Узбекистан

<sup>3</sup> ООО «Гранат Стом», п. Назарбек, Ташкентская область, Республика Узбекистан

**Резюме.** Целью исследования явилось оценить сенсibilизацию организма определив антигенсвязывающих лимфоцитов к различным антигенам у детей, больных хроническим гепатитом В с лямблиозом кишечника.

Проведено изучение АСЛ у 126 детей, больных ХГВ, и 30 практически здоровых детей в возрасте от 4 до 14 лет. Из детей, больных ХГВ, 93 были с подтвержденным лямблиозом кишечника (I группа), а остальные 33 – больные без лямблиозной инвазии (II группа). Наличие сенсibilизации и аутоиммунного процесса выявляли по активности показателей специфического иммунитета – количеству АСЛ методом непрямого розеткообразования к HBsAg, *G. lamblia* и ткани кишечника

Выявленный нами четкий параллелизм между степенью активности заболевания и содержанием АСЛ к изучаемым антигенам свидетельствует о наличии сенсibilизации и аутоиммунных реакций во взаимосвязи с лямблиозной инвазией у детей, больных ХГВ. Результаты исследования АСЛ в зависимости от длительности ХГВ с лямблиозной инвазией показали, что с увеличением продолжительности болезни количество АСЛ к HBsAg уменьшается и их максимальное содержание выявлено при длительности болезни до 3 лет. Это, по-видимому, можно объяснить мобилизацией организма в борьбе против инфекции в общебиологическом смысле, а дальнейшее снижение их количества – адаптацией организма к возросшей антигенной нагрузке. Количество АСЛ к ткани кишечника также имело определенную взаимосвязь с длительностью заболевания. Полученные данные свидетельствуют о нарастании аутосенсibilизации с увеличением продолжительности заболевания. Аналогичные результаты получены при изучении количества АСЛ к *G. lamblia*, что подтверждает роль сенсibilизации и аутосенсibilизации в патогенетических механизмах развития ХГВ с лямблиозной инвазией, особенно при длительном течении заболевания.

Таким образом, течение ХГВ с лямблиозной инвазией сопровождается реакцией специфического звена иммунитета. Увеличение количества АСЛ к HBsAg, ткани кишечника и к *G. lamblia* происходит с нарастанием степени активности патологического процесса и длительности заболевания в печени, которое указывает на значение сенсibilизации и аутосенсibilизации в патогенезе развития ХГВ с лямблиозной инвазией, отягощая течение и исход болезни.

### Адрес для переписки:

Нурматова Наргиза Фатхуллаевна  
Ташкентская медицинская академия  
100109, Республика Узбекистан, г. Ташкент, Алмазарский район, Медгородок, 5, кв. 7.  
Тел.: +99890-321-34-78.  
E-mail: nargiza-nurmatova78@yandex.ru

### Address for correspondence:

Nurmatova Nargiza F.  
Tashkent Medical Academy  
100109, Republic of Uzbekistan, Tashkent, Almazar district, City of doctors, 5, apt 7.  
Phone: +99890-321-34-78.  
E-mail: nargiza-nurmatova78@yandex.ru

### Образец цитирования:

Н.Ф. Нурматова, Н.Х. Мирсалихова, М.А. Асильбекова, Ф.Х. Ирсалиева, Н.Д. Дустбабаева, Ж.Х. Ахмедов «Сенсibilизация организма к различным антигенам у детей, больных хроническим гепатитом В с лямблиозом кишечника» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 4. С. 493-498.  
doi: 10.46235/1028-7221-454-BST  
© Нурматова Н.Ф. и соавт., 2020

### For citation:

N.F. Nurmatova, N.Kh. Mirsalikhova, M.A. Asilbekova, F.Kh. Irsaliev, N.D. Dustbabaeva, J.Kh. Akhmedov "Body sensitization to various antigens in children with chronic hepatitis B and concomitant giardiasis", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 4, pp. 493-498.  
doi: 10.46235/1028-7221-454-BST  
DOI: 10.46235/1028-7221-454-BST

Достоверность полученных результатов позволяет сделать вывод о непосредственной взаимосвязи лямблиозной инфекции с пролонгированием как патологического процесса в печени, так и в целом инфекционного процесса у детей, больных ХВГ. Эти данные со всей очевидностью подчеркивают важность своевременной элиминации *G. lamblia* при поражении печени. При этом назначение специфического препарата (схемы) должно учитывать его гепатотоксичность, биодоступность и эффективность.

*Ключевые слова:* хронический гепатит В, лямблиоз, антигенсвязывающие лимфоциты, HBsAg, *G. lamblia* и ткани кишечника, дети

## BODY SENSITIZATION TO VARIOUS ANTIGENS IN CHILDREN WITH CHRONIC HEPATITIS B AND CONCOMITANT GIARDIASIS

Nurmatova N.F.<sup>a</sup>, Mirsalikhova N.Kh.<sup>a</sup>, Asilbekova M.A.<sup>a</sup>, Irsalieva F. Kh.<sup>a</sup>, Dustbabaeva N.D.<sup>b</sup>, Akhmedov J.Kh.<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Tashkent Medical Academy, Tashkent, Republic of Uzbekistan

<sup>b</sup> Tashkent Institute for Post-Graduate Medical Education, Tashkent, Republic of Uzbekistan

<sup>c</sup> LLC "Granat Stom", Nazarbek village, Tashkent region, Republic of Uzbekistan

**Abstract.** The aim of the study was to evaluate body sensitization by measuring antigen-binding lymphocytes specific to various antigens in children with chronic hepatitis B and intestinal giardiasis.

The study of ASL was carried out in 126 children with CHB and 30 apparently healthy children aged 4 to 14 years. Among children with CHB, 93 had confirmed intestinal giardiasis (group I), and the remaining 33 were patients without lambliasis (group II). Sensitization and an autoimmune process were detected by assessing activity of specific immunity parameters such as ASL amount by indirect rosette formation against HBsAg, *G. lamblia* and intestinal tissue. We found that intensity of disease activity and ASL level against the examined antigens were paralleled evidencing about sensitization and autoimmune reactions related to giardiasis invasion in children with CHB. Depending on the duration of CHB with lamblial invasion ASL study data showed that prolonging disease duration resulted in lowered ASL to HBsAg peaking upon disease lasting up to 3 years. Apparently, it might be accounted for by body mobilization fighting against infection in general biological sense, and their further decline may occur due to host adaptation to increased antigenic load. The amount of ASL to the intestinal tissue was also somehow related with duration of the disease. The data obtained indicate increased self-sensitization along with increased duration of the disease. Similar data were obtained while studying amount of ASL to *G. lamblia*, thereby confirming a role of sensitization and self-sensitization in pathogenetic mechanisms of the developing CHB with giardial invasion especially during long-term course. Thus, the course of CHB with lambliasis invasion is accompanied by reaction of specific immune arm. Rise in amount of ASL to HBsAg, intestinal tissue and *G. lamblia* occurs along with deteriorating degree of disease activity and duration of hepatic disease suggesting about importance of sensitization and self-sensitization in pathogenesis of CHB development with giardiasis invasion, aggravating the course and outcome of the disease. The data reliability allows to conclude that giardiasis infection and prolongation of both hepatic pathological process and entire infectious process in children with CVH are directly interconnected. These data clearly underscore importance of timely eradication of *G. lamblia* upon liver damage. At the same time, administration of specific drugs (scheme) should be performed by taking into account its hepatotoxicity, bioavailability and effectiveness.

*Keywords:* chronic hepatitis B, giardiasis, antigen-binding lymphocyte, HBsAg, *G. lamblia* and intestinal tissue, children

## Введение

Хронические вирусные гепатиты (ХВГ) являются одной из наиболее важных проблем здравоохранения в XXI веке, которые наносят значительный экономический ущерб и нередко

приводящих к инвалидизации детей [1, 2, 8, 9, 10]. Известно, что любые сопутствующие патологии инфекционной и неинфекционной природы зачастую определяют неблагоприятное течение основного заболевания. Существенное влияние на течение ХГВ оказывают и паразитарные

кишечные заболевания, среди которых наиболее значимой является лямблиозная инвазия, где пораженность детей достигает 40–60% [3, 4, 5]. В итоге формируется глобальная проблема микст-инфекций вирусно-паразитарной этиологии с вытекающими отсюда нерешенными многими вопросами. Широкое распространение лямблиозной инвазии у детей и ХВГ сформировали проблему микст-инфекций вирусно-паразитарной этиологии [5]. При рассмотрении взаимодействия макроорганизма и паразитов установлены, что патогенная роль реализуется как минимум тремя механизмами: механическим воздействием, токсическим влиянием, а также инокуляцией и активацией патогенных микроорганизмов [3, 6, 7]. Важное значение имеет способность паразитов сенсибилизировать организм хозяина и изменять его реактивность. Изучение антигенсвязывающей способности лимфоцитов, помимо оценки их функциональной активности у детей, больных хроническим гепатитом В (ХГВ), позволяет определить степень сенсибилизации организма к тем или иным антигенам, которые значимы в общей иммунной перестройке и развитии аутоиммунных процессов. В связи с этим целью нашей исследований явилось изучить определение антигенсвязывающих лимфоцитов (АСЛ) к различным антигенам у детей, больных ХГВ с лямблиозом кишечника.

## Материалы и методы

Проведено изучение АСЛ у 126 детей, больных ХГВ, и 30 практически здоровых детей в возрасте от 4 до 14 лет. Из детей, больных ХГВ, 93 были с подтвержденным лямблиозом кишечника (I группа), а остальные 33 – больные без лямблиозной инвазии (II группа). Диагноз «ХГВ» устанавливался на основании анамнеза, клинико-лабораторных данных и инструментальных исследований. Этиологический диагноз был подтвержден на основании выявления в сыворотке крови маркеров HBV-вируса и исключения HCV, HDV-вирусов. Диагностика лямблиоза проводилась методами: ИФА-определение антигена *G. lamblia* в фекалиях, ПЦР качественного анализа – определение DNA *G. lamblia* в крови и фекалиях, ИФА-определение антител к *G. lamblia* класса IgM и IgG в сыворотке крови и трехкратным микроскопическим обследованием фекалий. Наличие сенсибилизации и аутоиммунного процесса выявляли по активности показателей специфического иммунитета – количеству АСЛ методом непрямого розеткообразования к HBsAg, *G. lamblia* и ткани кишечника. Метод заключается в следующем: сенсибилизированные лимфоциты связывают специфический антиген своими поверхностными рецепторами. Индикатором раст-

воримого антигена служат эритроциты человека I (O) Rh(-), на которых при помощи бифункционального агента – глютарового альдегида – прочно фиксирован антиген. В результате реакции образуется розетка, состоящая из центрально расположенного лимфоцита и приклепленных к нему эритроцитов, на которых прочно фиксирован антиген (HBsAg и *G. lamblia*). Для учета неспецифического взаимодействия лимфоцитов с антигеном мы параллельно проводили реакцию розеткообразования с эритроцитами, нагруженными сывороточным альбумином человека. Нагружение антигена на эритроциты через хлорид хром – CrCl<sub>3</sub>. Для приготовления антигенного эритроцитарного диагностикума к осадку из 0,1 и 0,1–1% хлорид хрома, приготовленного на изотоническом растворе хлорида натрия. Инкубируют взвесь 5 минут при комнатной температуре, затем обмывают 3 раза забуферным изотоническим раствором хлористого натрия, 4-й раз – средой 199. Суспензия эритроцитов доводится до 100 × 10<sup>6</sup> в 1 мл. Параллельно приготавливают аналогичным методом контрольный диагностикум, используя сывороточный альбумин человека (в концентрации, равной с антигеном) для контроля неспецифической адгезии лимфоцитов. Техника постановки реакции непрямого розеткообразования для выявления АСЛ состоит в следующем: лимфоциты больного смешивают с эритроцитами, нагруженными антигеном. Смесь центрифугируют, инкубируют. Из осадка готовят окрашенный микропрепарат, который микроскопируют. Суспензия лимфоцитов (0,1 мл 2 × 10<sup>5</sup> клеток/мл) смешивается с 0,1 мл белкового антигенного эритроцитарного диагностикума в соотношении 1:50. Центрифугируют при 800 об/мин 5 мин. Пробирку ставят в холодильник на 1 ч при 4 °С. Фиксация образовавшихся розеток, приготовление мазков и подсчет клеток проводят аналогично Е-РОК. Параллельно ставят реакцию с эритроцитами, нагруженными альбумином для контроля неспецифической адгезии лимфоцитов. Содержание АСЛ в крови больного определяют по разности между опытной и контрольной пробами. Антигены HBs и *G. lamblia* использованы с набора фирмы PLATESCREEN (Италия) и «Биотек» (США).

## Результаты

У детей, больных ХГВ, независимо от наличия или отсутствия лямблиоза кишечника, частота выявления АСЛ к HBsAg была повышена в большинстве случаев (соответственно, 95,7 и 72,0% против 6,7% в норме). Следует отметить, что при наличии *G. lamblia* частота выявления АСЛ к HBsAg выше, чем у больных II группы, что, по-видимому, связано с определенным влиянием

*G. lamblia* на повышение сенсibilизации организма больных детей к HBsAg. АСЛ к ткани кишечника у детей I группы выявлены у большинства детей (80,0%), II группы – в 54,0% случаев, что было, соответственно, в 8,0 и 5,4 раза выше, чем у практически здоровых детей. Наибольшая частота выявления АСЛ к ткани кишечника у больных ХГВ с лямблиозом указывает на роль лямблиозных антигенов в развитии аутосенсibilизации организма.

Частота выявления АСЛ к *G. lamblia* у детей, больных ХГВ с лямблиозом кишечника составила 100,0%, тогда как у больных ХГВ без лямблиоза кишечника этот показатель был равен 16,0% (при норме 10,0%). Средние уровни АСЛ к HBsAg, ткани кишечника и к *G. lamblia* приведены в таблице 1.

Уровень АСЛ к HBsAg у больных II группы превышали норму в 9,8, а у больных I группы – в 16,3 раза. Количество АСЛ к HBsAg у больных ХГВ с лямблиозом кишечника были в 1,7 раза больше, чем у больных без лямблиоза ( $p < 0,01$ ). Максимальное содержание АСЛ к ткани кишечника выявлено у больных I группы, что было в 3,5 раза выше аналогичного показателя II группы больных и 14,6 раза выше нормы.

Содержание АСЛ к *G. lamblia* у детей I группы было достоверно выше, чем у больных II группы и практически здоровых детей ( $p < 0,001$ ). Следует отметить, что у детей, больных ХГВ с лямблиозом кишечника, содержание АСЛ среди всех изучаемых антигенов было наибольшим к *G. lamblia*.

Содержание АСЛ в зависимости от степени активности ХГВ у детей больных с сопутствующим лямблиозом кишечника представлены в таблице 2.

Как видно из таблицы, у детей, больных ХГВ с лямблиозом кишечника, определялось достоверное ( $p < 0,05-0,001$ ) повышение содержания АСЛ

к HBsAg по сравнению со здоровыми детьми, причем у больных с минимальной активностью в 7,7 раза, умеренной – в 15,7 раза и выраженной – в 22,2 раза.

Показатели содержания АСЛ к ткани кишечника также статистически значимо ( $p < 0,01-0,001$ ) отличались от нормальных величин, в среднем составляя при минимальной степени активности –  $7,1 \pm 0,2\%$ , умеренной –  $12,4 \pm 0,5\%$  и выраженной активности заболевания –  $23,6 \pm 0,9\%$ .

Особого внимания заслуживают результаты изучения уровня сенсibilизации лимфоцитов к специфическим антигенам, поэтому учет данного показателя является высокоинформативным для характеристики ХГВ с лямблиозной инвазией. Сенсibilизация организма к лямблиозному антигену наглядно демонстрирует изменение содержания АСЛ к *G. lamblia* в зависимости от степени активности заболевания. Содержание АСЛ к *G. lamblia* у детей I группы при минимальной, умеренной и выраженной степенях активности болезни было достоверно выше ( $p < 0,001$ ), чем у практически здоровых детей. Причем самые высокие значения АСЛ к *G. lamblia* выявлены у детей с выраженной активностью ХГВ, что составило  $23,6 \pm 0,9\%$ .

Выявленный нами четкий параллелизм между степенью активности заболевания и содержанием АСЛ к изучаемым антигенам свидетельствует о наличии сенсibilизации и аутоиммунных реакций во взаимосвязи с лямблиозной инвазией у детей, больных ХГВ.

Результаты исследования АСЛ в зависимости от длительности ХГВ с лямблиозной инвазией показали, что с увеличением продолжительности болезни количество АСЛ к HBsAg уменьшается и их максимальное содержание выявлено при длительности болезни до 3 лет. Это, по-видимому,

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ АСЛ К HBsAg, ТКАНИ КИШЕЧНИКА И *G. LAMBLIA* У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ХГВ (%)

TABLE 1. CONTENT OF ASL TO HBsAg, INTESTINAL TISSUE AND *G. LAMBLIA* IN CHILDREN WITH CHB (%)

Показатели Indicators	ХГВ с лямблиозом (I) CHB with giardiasis (I) n = 93	ХГВ без лямблиоза (II) CHB without giardiasis (II) n = 33	Пр. здоровые дети Healthy children n = 30
АСЛ к HBsAg ABL to HBsAg	$17,9 \pm 1,0^{* **}$	$10,8 \pm 1,1^{*}$	$1,100 \pm 0,002$
АСЛ к ткани кишечника ABL to intestinal tissue	$15,6 \pm 1,1^{* **}$	$7,8 \pm 0,2^{*}$	$1,40 \pm 0,05$
АСЛ к <i>G. lamblia</i> ABL to <i>G. lamblia</i>	$20,4 \pm 0,9^{* **}$	$2,30 \pm 0,02^{*}$	$1,00 \pm 0,01$

Примечание. \* – достоверность различий в сравнении с группой практически здоровых детей; \*\* – достоверность различий между группами I и II.

Note. \*, reliability of differences in comparison with the group of practically healthy children; \*\*, reliability of differences between groups I and II.

**ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ АСЛ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ХГВ С ЛЯМБЛИОЗОМ КИШЕЧНИКА, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ АКТИВНОСТИ ЗАБОЛЕВАНИЯ (%)**

TABLE 2. CONTENT OF ASL IN CHILDREN WITH CHB WITH INTESTINAL GIARDIASIS, DEPENDING ON THE ACTIVITY OF THE DISEASE (%)

Показатели Indicators	Пр. здоровые дети Healthy children n = 30	Степень активности ХГВ CHB activity		
		Минимальная Minimum n = 31	Умеренная Moderate n = 31	Выраженная Expressed n = 31
АСЛ к HBsAg ABL to HBsAg	1,10±0,02	8,5±0,3*	17,3±0,1*	24,4±0,7*
АСЛ к ткани кишечника ABL to intestinal tissue	1,40±0,05	7,1±0,2*	12,4±0,5*	23,6±0,9*
АСЛ к <i>G. lamblia</i> ABL to <i>G. lamblia</i>	1,00±0,01	10,7±1,1*	19,8±1,2*	27,6±1,5*

Примечание. \* – достоверное отличие по сравнению с группой практически здоровых детей (p < 0,05–0,001).

Note. \*, significant difference in comparison with the group of practically healthy children (p < 0.05–0.001).

можно объяснить мобилизацией организма в борьбе против инфекции в общебиологическом смысле, а дальнейшее снижение их количества – адаптацией организма к возросшей антигенной нагрузке. Количество АСЛ к ткани кишечника также имело определенную взаимосвязь с длительностью заболевания. Этот показатель при длительности заболевания до 3 лет был повышен до 9,8±0,4%, при длительности 3-5 лет – 15,8±0,9% и более 5 лет 19,7±1,2%. Полученные данные свидетельствуют о нарастании аутоенсибилизации с увеличением продолжительности заболевания. Аналогичные результаты получены при изучении количества АСЛ к *G. lamblia*, что подтверждает роль сенсибилизации и аутоенсибилизации в патогенетических механизмах развития ХГВ с лямблиозной инвазией, особенно при длительном течении заболевания.

Таким образом, течение ХГВ с лямблиозной инвазией сопровождается реакцией специфиче-

ского звена иммунитета. Увеличение количества АСЛ к HBsAg, ткани кишечника и к *G. lamblia* происходит с нарастанием степени активности патологического процесса и длительности заболевания в печени, которое указывает на значение сенсибилизации и аутоенсибилизации в патогенезе развития ХГВ с лямблиозной инвазией, отягчающая течение и исход болезни.

Достоверность полученных результатов позволяет сделать вывод о непосредственной взаимосвязи лямблиозной инфекции с пролонгированием как патологического процесса в печени, так и в целом инфекционного процесса у детей, больных ХГВ. Эти данные со всей очевидностью подчеркивают важность своевременной элиминации *G. lamblia* при поражении печени. При этом назначение специфического препарата (схемы) должно учитывать его гепатотоксичность, биодоступность и эффективность.

## Список литературы / References

1. Ивашкин В.Т., Герман Е.Н., Маевская М.В. Скрытая инфекция вирусом гепатита В // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии, 2008. № 2. С. 4-11. [Ivashkin V.T., German E.N., Maevskaya M.V. Hidden infection with hepatitis B virus. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii* = *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*, 2008, no. 2, pp. 4-11. (In Russ.)]
2. Ивашкин В.Т., Буеверов А. Хронические заболевания печени сегодня и завтра // Врач, 2004. № 6. С. 4-6. [Ivashkin V.T., Bueverov A. Chronic liver disease today and tomorrow. *Vrach* = *Doctor*, 2004, no. 6, pp. 4-6. (In Russ.)]
3. Корниенко Е.А., Минина С.Н., Фаина С.А., Калинина Н.М., Суворов А.Н. Диагностика и лечение лямблиоза у детей // Инфекционные болезни, 2009. Т. 7, № 1. С. 43-48. [Kornienko E.A., Minina S.N., Fadina S.A., Kalinina N.M., Suvorov A.N. Diagnosis and treatment of giardiasis in children. *Infektsionnyye bolezni* = *Infectious diseases*, 2009, Vol. 7, no. 1, pp. 43-48. (In Russ.)]
4. Куропатенко М.В., Бандурина Т.Ю., Безушкина Н.А. Паразитозы, лямблиоз и аллергические заболевания в детском возрасте // Русский медицинский журнал, 2003. Т. 11, № 3. С. 143-146. [Kuropatenko M.V., Bandurina T.Yu., Bezushkina N.A. Parasitoses, giardiasis and allergic diseases in childhood // *Russkiy meditsinskiy zhurnal*, 2003. T. 11, No. 3. P. 143-146.]

Bandurina T.Yu., Bezushkina N.A. Parasitoses, giardiasis and allergic diseases in childhood. *Russkiy meditsinskiy zhurnal = Russian Medical Journal*, 2003, Vol. 11, no. 3, pp. 143-146. (In Russ.)]

5. Caccio S.M., Ryan U. Molecular epidemiology of giardiasis. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 2008, Vol.160, no. 2, pp. 75-80.

6. Heyworth M.F. Immunological aspects of Giardia infections. *Parasite*, 2014, Vol. 21, 55. doi: 10.1051/parasite/2014056.

7. Ma'ayeh S.Y. Characterization of the Giardia intestinalis secretome during interaction with human intestinal epithelial cells: the impact on host cells. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2017, Vol. 11, no. 12, e0006120. doi: 10.1371/journal.pntd.0006120.

8. Malik R., Hardikar W. Hepatitis B and C in Children. *Indian J. Pediatr.*, 2016, Vol. 83, no. 11, pp. 1303-1310.

9. Mysore K.R., Leung D.H. Hepatitis B and C. *Clin. Liver Dis.*, 201, Vol. 22, no. 4, pp. 703-722.

10. Shah U., Kelly D., Cahng M.H. et al. Management of chronic hepatitis B in children. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 2009, Vol. 48, no. 4, pp. 399-404.

---

**Авторы:**

**Нурматова Н.Ф.** — д.м.н., педиатр-аллерголог, доцент кафедры детских болезней № 1, Ташкентская медицинская академия, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Мирсалихова Н.Х.** — д.м.н., педиатр, доцент кафедры детских болезней № 1, Ташкентская медицинская академия, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Асильбекова М.А.** — к.м.н., педиатр, ассистент кафедры детских болезней № 1, Ташкентская медицинская академия, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Ирсалиева Ф.Х.** — д.м.н., аллерголог-иммунолог, доцент кафедры аллергологии и иммунологии, Ташкентская медицинская академия, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Дустбабаева Н.Д.** — ассистент курса клинической аллергологии, аллерголог-иммунолог, Ташкентский институт усовершенствования врачей, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Ахмедов Ж.Х.** — к.м.н., стоматолог, ООО «Гранат Стом», п. Назарбек, Ташкентская область, Республика Узбекистан

---

**Authors:**

**Nurmatova N.F.**, PhD, MD (Medicine), Pediatrician-Allergist, Associate Professor, Department of Childhood Diseases No. 1, Tashkent Medical Academy, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Mirsalikhova N.Kh.**, PhD, MD (Medicine), Pediatrician, Associate Professor, Department of Childhood Diseases No. 1, Tashkent Medical Academy, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Asilbekova M.A.**, PhD (Medicine), Pediatrician, Assistant Professor, Department of Childhood Diseases No. 1, Tashkent Medical Academy, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Irsaliev F.Kh.**, PhD, MD (Medicine), Allergist-Immunologist, Associate Professor, Department of Allergology and Immunology, Tashkent Medical Academy, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Dustbabaeva N.D.**, Assistant Course in Clinical Allergology, Allergologist-Immunologist, Tashkent Institute for Post-Graduate Medical Education, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Akhmedov J.Kh.**, PhD (Medicine), Dentist, LLC "Granat Stom", Nazarbek village, Tashkent region, Republic of Uzbekistan

---

Поступила 08.08.2020

Принята к печати 01.09.2020

---

Received 08.08.2020

Accepted 01.09.2020

## **МАСКИ ПЕРВИЧНОГО ИММУНОДЕФИЦИТА: КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ВАКЦИНОАССОЦИИРОВАННОГО ПАРАЛИТИЧЕСКОГО ПОЛИОМИЕЛИТА**

**Савин Т.В.<sup>1,3</sup>, Кузнецова Р.Н.<sup>1,2</sup>, Кузнецова А.А.<sup>3</sup>, Тотолян Арег А.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет», Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** Врожденные ошибки иммунной системы – гетерогенная группа редких генетически детерминированных заболеваний иммунной системы, при которых в результате мутаций нарушается функция кодируемого белка. По данным последней классификации врожденных ошибок иммунной системы, предложенной в 2019 году Международным союзом иммунологических сообществ, 406 нозологий, при которых описаны 430 различных генетических дефектов. Наиболее часто встречаемой группой врожденных ошибок иммунной системы является преимущественный дефицит образования антител. Диагностика врожденных ошибок иммунной системы является непростой задачей для клинициста в связи с широким спектром клинических проявлений, таких как инфекционные, аллергические и аутоиммунные заболевания, злокачественные новообразования. Также у данной группы пациентов возможно развитие вакциноассоциированных заболеваний на фоне введения живых вакцин в соответствии с Национальным календарем профилактических прививок. Среди вакциноассоциированных заболеваний наиболее часто встречаются вакциноассоциированный паралитический полиомиелит, вакциноассоциированный энцефалит (возникает с частотой менее 1 случая на 1 000 000 введенных доз живой вакцины против кори, краснухи, ветряной оспы), вакциноассоциированный серозный менингит (возникает с частотой 1 случай на 250 000 – 500 000 введенных доз паротитной вакцины) и осложнения БЦЖ-иммунизации в виде местных (инфильтрат, холодный абсцесс в месте введения возникают с частотой 8,6 случаев на 100 000 вакцинированных) и генерализованных осложнений (БЦЖ-лимфадениты регистрируются с частотой 15,5 случаев на 100 000 вакцинированных, БЦЖ-остит возникает с частотой 3,5 случая на 100 000 вакцинированных). Вакциноассоциированный полиомиелит встречается у привитых оральной полиомиелитной вакциной на первое, второе и, крайне редко, на третье введение. Частота встречаемости составляет от 1 случая на 700 000 введенных доз на первое введение до 1 случая на 3 500 000 введенных доз на третье введение оральной полиомиелитной вакцины. Основной причиной вакциноассоциированного паралитического полио-

---

**Адрес для переписки:**

Савин Тихон Валерьевич  
ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский  
государственный медицинский университет имени  
академика И.П. Павлова»  
194017, Россия, Санкт-Петербург, пр. Тореца, 102,  
корп. 5, кв. 40.  
Тел.: 8 (911) 288-39-74.  
E-mail: savintihon@gmail.com

**Address for correspondence:**

Savin Tikhon V.  
First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University  
194017, Russian Federation, St. Petersburg, Torez ave., 102,  
bldg 5, apt 40.  
Phone: 7 (911) 288-39-74.  
E-mail: savintihon@gmail.com

---

**Образец цитирования:**

Т.В. Савин, Р.Н. Кузнецова, А.А. Кузнецова,  
Арег А. Тотолян «Маски первичного иммунодефицита:  
клинический случай вакциноассоциированного  
паралитического полиомиелита» // Российский  
иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 4. С. 499-504.  
doi: 10.46235/1028-7221-398-PMI

© Савин Т.В. и соавт., 2020

**For citation:**

T.V. Savin, R.N. Kuznetsova, A.A. Kuznetsova,  
Areg A. Totolian "Primary immunodeficiency masks: A clinical  
case of vaccine-associated paralytic poliomyelitis", Russian  
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii  
Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 4, pp. 499-504.  
doi: 10.46235/1028-7221-398-PMI

DOI: 10.46235/1028-7221-398-PMI

миелита является врожденный дефект гуморального звена иммунной системы у первично привитых оральной полиомиелитной вакциной или же тесный контакт непривитых пациентов с привитыми оральной полиомиелитной вакциной. В публикации описывается клинический случай вакциноассоциированного паралитического полиомиелита у пациента с первичным иммунодефицитом. Цель данной публикации — показать важность иммунологической настороженности по поводу первичного иммунодефицита и своевременность начала заместительной иммунотерапии до окончательного подтверждения формы иммунодефицитного состояния.

*Ключевые слова:* первичный иммунодефицит, вакциноассоциированный паралитический полиомиелит, клинический случай

## PRIMARY IMMUNODEFICIENCY MASKS: A CLINICAL CASE OF VACCINE-ASSOCIATED PARALYTIC POLIOMYELITIS

Savin T.V.<sup>a, c</sup>, Kuznetsova R.N.<sup>a, b</sup>, Kuznetsova A.A.<sup>c</sup>, Totolian Areg A.<sup>a, b</sup>

<sup>a</sup> First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>b</sup> St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>c</sup> St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** Human inborn immune-related errors comprise a heterogeneous group of rare genetically determined diseases of the immune system caused by loss or gain of function mutations altering relevant protein functions. The 2019 International Union of Immunological Societies recently proposed the classification for such pathologies now comprising 406 distinct disorders with 430 different gene defects. Predominantly antibody deficiencies represent most common group of human inborn immune-related errors, which diagnostics poses uneasy challenge for general practitioner due to a broad range of their clinical manifestations, such as infection, allergy, autoimmunity and malignancy. In addition, patients with human immune-related inborn errors may develop a vaccine-associated disease after administering live vaccines in accordance with the Russia-wide National Vaccine Schedule. Most common among vaccine-associated diseases are vaccine-associated paralytic poliomyelitis, vaccine-associated encephalitis (1 case per 1 000 000 doses of measles, rubella, varicella vaccine), vaccine-associated meningitis (1 case per 250 000 – 500 000 doses of mumps vaccine) as well as adverse effects related to BCG immunization: local (infiltration, cold abscess – 8.6 case per 100,000 vaccinated patients) and disseminated complications (BCG lymphadenitis – 15.5 case per 100 000 vaccinated patients, BCG osteitis – 3.5 case per 100 000 vaccinated patients). Vaccine-associated paralytic poliomyelitis in vaccinated patients occurs after the first, second and rarely third oral polio vaccine dose inoculation. Incidence rate for vaccine-associated paralytic polio after 1 and 3 oral vaccine inoculation ranges from 1 case per 700 000 vaccine doses to 1 case per 3 500 000, respectively. Vaccine-associated paralytic poliomyelitis mainly emerges due to inborn mutations related to humoral immunity after primary vaccination with oral polio vaccine or close contact of unvaccinated patients with subjects vaccinated with oral polio vaccine. Here, we describe a clinical case of vaccine-associated paralytic poliomyelitis in patient with primary immunodeficiency. Our is aimed at emphasizing importance of immunological alertness with regard to detecting primary immunodeficiencies and timely apply a replacement therapy prior to verifying type of immunodeficiency.

*Keywords:* primary immunodeficiency, vaccine-associated paralytic poliomyelitis, clinical case

## Введение

Врожденные ошибки иммунитета являются гетерогенной группой генетически детерминированных нарушений иммунной системы, включающие в себя порядка 406 нозологий, среди которых самыми часто встречающимися формами являются иммунодефициты с преимущественным нарушением гуморального звена [3]. Клинические проявления врожденных дефек-

тов иммунной системы могут быть представлены хроническими рецидивирующими инфекционными, аллергическими и аутоиммунными заболеваниями, развитием злокачественных новообразований и неадекватной реакцией на вакцинацию. Одним из таких проявлений может быть вакциноассоциированный паралитический полиомиелит (ВАПП) – вариант развития полиомиелита, связанного с введением живой оральной аттенуированной вакцины Себина. В Рос-

сийской Федерации в период с 2006 по 2016 год было зарегистрировано всего 35 случаев ВАПП, из них 20 случаев — у контактных лиц [2]. Различают ВАПП у реципиента — при возникновении у пациента типичной клинической картины в виде острого инфекционного начала с развитием, в ряде случаев, вялых парезов или параличей без признаков спастичности в период от 6 до 30 дней после вакцинации оральной полиовирусной вакциной (ОПВ), выделении вируса вакцинного происхождения, сохранении остаточных параличей через 60 дней после начала заболевания; и ВАПП у контактного — при наличии тех же критериев у пациента, не получавшего ОПВ, даже если прямой контакт с реципиентом вакцины не установлен [1]. Об этом варианте ВАПП пойдет речь в данной статье.

## Материалы и методы

Мальчик в возрасте 11 месяцев был впервые консультирован в медицинском центре ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера в связи с подозрением на первичный иммунодефицит.

Из анамнеза известно, что ребенок рожден от второй беременности, двое срочных родов. Беременность протекала с осложнениями на фоне токсикоза второй половины. Роды физиологические. Масса тела при рождении — 4130 г, длина — 54 см, оценка по шкале Апгар — 8/9. Из родильного дома выписан на 5-е сутки в удовлетворительном состоянии. В первые дни жизни вакцинирован против туберкулеза (БЦЖ-М) и против вирусного гепатита В (ВГВ).

Период новорожденности протекал без особенностей, психомоторное развитие соответствовало возрасту. Находился на естественном вскармливании. Наследственный анамнез не отягощен, в том числе по первичным иммунодефицитам, брак не близкородственный.

В возрасте 3 месяцев ребенок был вакцинирован против ротавирусной инфекции («РотаТек», Мерк Шарп и Доум Корп., США) и получил вторую вакцинацию против ВГВ («Вакцина гепатита В рекомбинантная дрожжевая», ЗАО «Комбиотех НПК», Россия). Через несколько часов после вакцинации у мальчика отмечался подъем температуры до фебрильных цифр. На вторые сутки ребенок осмотрен врачом-педиатром, установлен диагноз «ОРВИ», назначена противовирусная и симптоматическая терапия. У пациента сохранялась вялость, сонливость, фебрильная лихорадка, отказ от груди, также мать заметила снижение двигательной активности в правой верхней конечности, мальчик был госпитализирован в специализированный инфекционный стационар.

При поступлении в стационар в неврологическом статусе отмечалась диффузная мышечная гипотония, умеренное снижение объема активных движений в нижних конечностях, левой верхней конечности и значительное снижение в правой верхней конечности, гипорефлексия физиологических рефлексов, патологические рефлексы отсутствовали. В клиническом анализе крови при поступлении отмечался лейкоцитоз ( $15,3 \times 10^9/\text{л}$ ), нейтрофилез ( $9,6 \times 10^9/\text{л}$ ), ускорение СОЭ (35 мм/ч). При двухкратном исследовании кала методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) выявлен полиовирус 3 типа, серологическом исследовании крови (3-и сутки болезни — 22-е сутки болезни) выявлено нарастание титра иммуноглобулинов G к 3 типу полиовируса. При проведении фенотипирования лимфоцитов методом проточной цитометрии на фоне лейкопении ( $5,2 \times 10^9/\text{л}$ ) отмечалась лимфопения ( $2,3 \times 10^9/\text{л}$ ), снижение числа Т-хелперов ( $\text{CD3}^+\text{CD4}^+$ ) ( $1,17 \times 10^9/\text{л}$ ), Т-цитотоксических клеток ( $\text{CD3}^+\text{CD8}^+$ ) ( $0,26 \times 10^9/\text{л}$ ).

В связи с развившейся дыхательной недостаточностью тяжелой степени, ребенок переведен в отделение реанимации для подключения к аппарату искусственной вентиляции легких. Учитывая нарастающую неврологическую симптоматику, пациенту проведена люмбальная пункция. В ликворе: белок — 1,7 г/л, цитоз — 14/3, нейтрофилы — 0, мононуклеары — 14. Исследование ликвора на энтеровирусы, ЦМВ, ВЭБ, вирусы герпеса 1, 2 и 6 типов методом ПЦР — отрицательно. При проведении электронейромиографии (ЭНМГ) выявлены признаки поражения мотонейронов передних рогов спинного мозга на уровне С3-Т1 с обеих сторон, D>S, значительной степени выраженности с преобладанием нарушений на уровне С5-С7 справа, поражения мотонейронов передних рогов спинного мозга на уровне С5-С6 с обеих сторон, D>S, с функционально значимой денервацией *m. deltoideus*, *m. biceps brevis* справа. Проведение МРТ головного мозга, шейного и грудного отделов спинного мозга патологических изменений не выявило. В связи с сохраняющейся неврологической симптоматикой, длительным нахождением пациента на ИВЛ на 16-е сутки болезни наложена трахеостома. На 40-е сутки от начала заболевания ребенок был переведен на самостоятельное дыхание через трахеостомическую трубку.

На фоне проводимой противовирусной, респираторной и симптоматической терапии увеличился объем активных движений в конечностях. Комиссией по диагностике полиомиелита и острых вялых параличей установлен окончательный диагноз — «Полиовирусная инфекция, вызванная вакцинным вирусом 3 типа, распро-

страненная спинальная форма (ВАПП у контактного)». На 96-е сутки от начала заболевания, пациент выписан на амбулаторное лечение.

В возрасте 6 месяцев мальчик госпитализирован в клинику по поводу абсцедирующего фурункула подбородка. В посеве мокроты из трахеостомы на флору обнаружен *Pseudomonas aeruginosa* 107 КОЕ/мл. Проведен разрез и дренирование абсцесса, назначена антибактериальная терапия, рана зажила вторичным натяжением.

В возрасте 7 месяцев перенес инфекцию мочевыводящих путей. В общем анализе мочи обнаружена бактериурия, лейкоцитурия (30-40 в п/зр), в посеве мочи отмечался рост *Enterobacter aerogenes* 106 КОЕ/мл. При УЗИ почек и мочевыводящих путей было обнаружено повышение эхогенности синусов почек, правосторонняя пиелоэктазия. Проведен курс антибактериальной терапии.

В возрасте 11 месяцев получал антибактериальную терапию по поводу острого гнойного среднего отита слева, левостороннего шейного лимфаденита. В возрасте 1 года при плановом обследовании в посеве мокроты на флору выявлена колонизация грибами рода *Trichosporon*.

В неврологическом статусе отмечается сохранение периферического пареза в мышцах верхних и нижних конечностей, степень выраженности которых уменьшилась.

## Результаты и обсуждение

По результатам иммунологического обследования в ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера выявлено снижение уровня иммуноглобулина G (3,20 г/л), подкласса иммуноглобулина G1 (1,54 г/л), подкласса иммуноглобулина G2 (0,59 г/л), иммуноглобулина M (0,30 г/л), относительного числа CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>T-лимфоцитов (50,2%), повышение C4 компонента комплемента (0,38 г/л), относительного числа HLA-DR позитивных лимфоцитов (42,2%). По данным анамнеза и иммунологического обследования пациенту выставлен диагноз D84.9 «Первичный иммунодефицит недифференцированный». Начата терапия препаратами внутривенных иммуноглобулинов (ВВИГ).

В 1 год 5 месяцев мальчик повторно консультирован в медицинском центре ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. В состоянии ребенка отмечалась положительная динамика. На момент обращения жалобы на сохраняющуюся гипотонию в правой верхней конечности. Проведены обследования: клини-

ческий анализ крови — без патологических изменений; иммунологическое обследование — незначительное повышение относительного числа В-лимфоцитов (31,9%), НСТ-тест (базальный — 19; стимулированный — 77). На фоне терапии внутривенными иммуноглобулинами, отмечалась нормализация уровня иммуноглобулинов, предтрансфузионный уровень составил: IgG — 11,59 г/л, IgM — 0,39 г/л, IgA — 0,43 г/л, IgG1 — 4,43 г/л, IgG2 — 3,18 г/л, IgG3 — 0,68 г/л, IgG4 — 0,55 г/л.

В настоящее время ребенок получает заместительную терапию внутривенными иммуноглобулинами в дозе 0,4 г/кг ежемесячно, наблюдается в центре ПИД медицинского центра ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Пациент включен в регистр больных с ПИД. Диагноз: D84.9 «Первичный иммунодефицит недифференцированный».

Описанный случай является клиническим фенотипом первичного иммунодефицита, так как для детей с врожденными ошибками иммунной системы характерны инфекции, вызванные вакцинами штаммами микроорганизмов. В настоящее время известно более 300 генов, мутации в которых приводят к развитию ПИД. Множественность генетических дефектов при сходных клинических проявлениях заболевания и в то же время широкая фенотипическая вариабельность дефектов одного и того же гена, а также описанные эпигенетические факторы требуют более детального и трудоемкого обследования пациента с клиническими масками первичного иммунодефицита. Учитывая многообразие клинических проявлений первичных иммунодефицитов, врачи должны обращать внимание настораживающие признаки врожденных ошибок иммунитета, в особенности специалисты амбулаторного звена оказания медицинской помощи.

Учитывая длительный временной интервал с момента постановки диагноза ПИД до окончательного генетического подтверждения диагноза, необходимо как можно раньше начать адекватную терапию, включая и введение ВВИГ, для сохранения жизни пациента и улучшения его состояния здоровья и качества жизни. Описанный выше случай, на наш взгляд, демонстрирует необходимость проведения иммунологического мониторинга и своевременного назначения заместительной иммунотерапии до окончательного подтверждения формы иммунодефицитного состояния, что подтверждает положительная клиническая динамика у пациента.

## Список литературы / References

1. Иванова О.Е., Еремеева Т.П., Морозова Н.С., Шакарян А.К., Гмыль А.П., Яковенко М.Л., Короткова Е.А., Чернявская О.П., Байкова О.Ю., Силенова О.В., Красота А.Ю., Краснопрошина Л.И., Мустафина А.Н., Козловская Л.И. Вакциноассоциированный паралитический полиомиелит в Российской Федерации в период изменения схемы вакцинации (2006-2013 гг.) // Вопросы вирусологии, 2016. Т. 61, № 1. С. 9-15. [Ivanova O.E., Ereemeeva T.P., Morozova N.S., Shakaryan A.K., Gmyl A.P., Yakovenko M.L., Korotkova E.A., Chernjavskaja O.P., Baykova O.Yu., Silenova O.V., Krasota A.Yu., Krasnoproshina L.I., Mustafina A.N., Kozlovskaja L.I. Vaccine-associated paralytic poliomyelitis in Russian Federation during the period of changes in vaccination schedule (2006-2013 years). *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2016, Vol. 61, no. 1, pp. 9-15. (In Russ.)]
2. Шакарян А.К., Таточенко В.К., Иванова О.Е., Морозова Н.С., Чернявская О.П., Еремеева Т.П., Козловская Л.И., Михайлова Ю.М., Еровиченков А.А. Клиническая характеристика случаев вакциноассоциированного паралитического полиомиелита в Российской Федерации в 2006-2016 гг. // Инфекционные болезни, 2019. Т. 17, № 1. С. 115-123. [Shakaryan A.K., Tatochenko V.K., Ivanova O.E., Morozova N.S., Chernyavskaya O.P., Ereemeeva T.P., Kozlovskaya L.I., Mikhailova Yu.M., Erovichenkov A.A. Clinical characteristics of cases of vaccine-associated paralytic polio documented in the Russian Federation in 2006-2016. *Infektsionnye bolezni = Infectious Diseases*, 2019, Vol. 17, no. 1, pp. 115-123. (In Russ.)]
3. Bousfiha A., Jeddane L., Picard C., Al-Herz W., Ailal F., Chatila T., Cunningham-Rundles C., Etzioni A., Franco J.L., Holland S.M., Klein C., Morio T., Ochs H.D., Oksenhendler E., Puck J., Torgerson T.R., Casanova J.-L., Sullivan K.E., Tangye S.G. Human inborn errors of immunity: 2019 update of the IUIS phenotypical classification. *J. Clin. Immunol.*, 2020, Vol. 40, no. 1, pp. 66-81.

---

### Авторы:

**Савин Т.В.** — старший лаборант кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»; ординатор кафедры детских болезней имени профессора И.М. Воронцова ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет», Санкт-Петербург, Россия

**Кузнецова Р.Н.** — к.м.н., доцент кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»; врач аллерголог-иммунолог Медицинского центра ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

### Authors:

**Savin T.V.**, Senior Laboratory Assistant, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University; Resident, I. Vorontsov Department of Childhood Diseases, St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

**Kuznetsova R.N.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University; Allergist-Immunologist, Medical Centre, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

**Кузнецова А.А.** — д.м.н., профессор кафедры факультетской педиатрии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет», Санкт-Петербург, Россия

**Kuznetsova A.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Faculty Pediatrics, St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

**Тотolian Арег А.** — д.м.н., профессор, академик РАН, заведующий кафедрой иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»; директор ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

**Totolian Areg A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Head, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University; Director, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

---

Поступила 06.07.2020  
Принята к печати 02.09.2020

---

Received 06.07.2020  
Accepted 02.09.2020

## РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ СЛУЧАЕВ ПЕРВИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТОВ У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА

Дерябина С.С.<sup>1,2,3</sup>, Черемохин Д.А.<sup>1,2</sup>, Тузанкина И.А.<sup>2,3,4</sup>,  
Болков М.А.<sup>2,3</sup>, Шинвари Х.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ГБУЗ СО «Клинико-диагностический центр „Охрана здоровья матери и ребенка“», г. Екатеринбург, Россия

<sup>2</sup> ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

<sup>3</sup> ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени Первого президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

<sup>4</sup> ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1», г. Екатеринбург, Россия

**Резюме.** В Российской Федерации ежегодно рождаются около 20 тыс. детей с пороками сердца. При этом примерно у 5 тыс. детей присутствует критическая форма данной патологии, требующая оперативной коррекции в первые сутки и недели после рождения. И хотя своевременная пре- и постнатальная диагностика врожденной патологии сердца позволяет оказать адекватную терапевтическую и хирургическую помощь таким пациентам, минимизировать осложнения, которые могут возникнуть на любом из этапов лечения ребенка, удается не всегда. Очень часто прооперированные пациенты не в силах справиться с серьезными осложнениями, вызванными инфекционными заболеваниями респираторного тракта, эндокарда и мозговых оболочек. Особое место занимают случаи тяжелого послеоперационного периода: долго незаживающие послеоперационные раны и септические нарушения, приводящие к летальному исходу. В статье высказывается мнение, что врожденный порок сердца у таких детей может являться маркером первичного иммунодефицитного состояния, характеризующегося снижением показателей клеточного и гуморального иммунитета. В настоящее ретроспективное исследование вошли 29 детей, умерших на первом году жизни, в историях болезни которых указывалось на наличие ВПС и манифестацию признаков иммунозависимой патологии. В ходе работы были проанализированы сведения о течении беременностей с целью выявления факторов, способствующих ранней диагностике у детей иммунозависимой патологии, ассоциированной с ВПС, в пренатальный период. Проведен анализ существующих проблем в диагностике и лечении детей с врожденным пороком сердца и «скрытой» формой ПИД. Отмечено, что из двадцати известных синдромов, проявляющихся с врожденным пороком сердца, семь в настоящее время относят к группе первичных иммунодефицитов. Указываются варианты врожденных пороков сердца среди пациентов исследуемой группы, начиная от нарушений клапанного аппарата до наличия нефункциональных отверстий между камерами сердца, и наличие признаков иммунозависимой патологии: уменьшение размеров тимуса при ультразвуковом исследовании и сниженные показатели генетических маркеров

### Адрес для переписки:

Дерябина Светлана Степановна  
ГБУЗ СО «Клинико-диагностический центр „Охрана  
здоровья матери и ребенка“»  
620067, Россия, г. Екатеринбург, ул. Флотская, 52.  
Тел.: 8 (343) 374-31-10.  
E-mail: ssderyabina@gmail.com

### Address for correspondence:

Deryabina Svetlana S.  
Medical Center "Health Care of Mother and Child"  
620067, Russian Federation, Yekaterinburg, Flotskaya str., 52.  
Phone: 7 (343) 374-31-10.  
E-mail: ssderyabina@gmail.com

### Образец цитирования:

С.С. Дерябина, Д.А. Черемохин, И.А. Тузанкина,  
М.А. Болков, Х. Шинвари «Ретроспективный анализ  
случаев первичных иммунодефицитов у детей  
с врожденными пороками сердца» // Российский  
иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 4. С. 505-514.  
doi: 10.46235/1028-7221-492-ARA  
© Дерябина С.С. и соавт., 2020

### For citation:

S.S. Deryabina, D.A. Cheremokhin, I.A. Tuzankina,  
M.A. Bolkov, Kh. Shinvary "Retrospective analysis of pediatric  
primary immunodeficiencies with congenital heart defects",  
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii  
Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 4, pp. 505-514.  
doi: 10.46235/1028-7221-492-ARA  
DOI: 10.46235/1028-7221-492-ARA

нарушения Т- и В-клеточного неогенеза — ТREC и KREC, ретроспективно полученные при исследовании сухих пятен крови новорожденных. В заключении названо главное условие успешного дифференциального диагноза ПИД на фоне врожденной сердечной патологии — наличие осведомленности и высокой степени настороженности у врачей-специалистов разного профиля для разработки алгоритмов их взаимодействия в отношении ведения пациентов с названной сочетанной патологией.

*Ключевые слова:* первичные иммунодефициты (ПИД), врожденные пороки сердца (ВПС), молекулярно-генетическая диагностика, ретроспективный анализ

## RETROSPECTIVE ANALYSIS OF PEDIATRIC PRIMARY IMMUNODEFICIENCIES WITH CONGENITAL HEART DEFECTS

Deryabina S.S.<sup>a, b, c</sup>, Cheremokhin D.A.<sup>a, b</sup>, Tuzankina I.A.<sup>b, c, d</sup>,  
Bolkov M.A.<sup>b, c</sup>, Shinvary Kh.<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Medical Center “Health Care of Mother and Child”, Yekaterinburg, Russian Federation

<sup>b</sup> Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

<sup>c</sup> First President of Russian Federation B. Yeltsin Ural Federal University, Yekaterinburg, Russian Federation

<sup>d</sup> Regional Children Clinical Hospital No. 1, Yekaterinburg, Russian Federation

**Abstract.** Around 20,000 children with heart defects are born annually in the Russian Federation, among which around 5,000 children are manifested by its critical course that requires surgical correction within the first days after birth. Although timely pre- and postnatal diagnostics of congenital heart pathology allows to provide proper therapeutic and surgical assistance for such patients, it is hard to minimize severe complications at any stage of the child’s treatment. Quite often, post-surgery patients are unable to cope with serious complications caused by infectious diseases of the respiratory tract, endocardium and meninges. A special place is taken by cases of severe postoperative period: long-term non-healing postoperative wounds and septic disorders leading to patient death. Here we put forward an idea that congenital heart disease may serve as a marker of primary immunodeficiency characterized by lowered parameters of cellular and humoral immunity. Current retrospective study included 29 children died within the first year of life, whose medical records demonstrated confirmed congenital heart disease and manifested signs of immune-dependent pathology. There were analyzed data regarding pregnancy course in order to identify factors contributing to early diagnostics of immune-related pathology associated with CHD. The analysis of existing problems affecting proper diagnostics and treatment of children with congenital heart disease coupled to “covert” PID form was performed. It was noted that among twenty described syndromes manifested with congenital heart disease, seven are currently referred to the group of primary immunodeficiencies. Types of congenital heart defects in the study group ranged from disorders of the valve apparatus to the non-functional opening between heart chambers. Signs of immune-related pathology included decreased thymus size revealed by ultrasound examination as well as lowered value of genetic markers TREC and KREC, retrospectively obtained from neonatal dry blood spots. Finally, we name a key element for successful differential diagnostics of PID with congenital heart disease — awareness of various medical workers about such pathology for developing algorithms for their interaction with regard to management of such comorbid patients.

*Keywords:* primary immunodeficiency (PID), congenital heart defects (CHDs), molecular diagnostics, retrospective analysis

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-29-14059.

### Введение

Несмотря на снижение младенческой смертности, связанное с созданием и развитием про-

грамм детского здоровья в системе российского здравоохранения, доля младенцев, погибающих от врожденных аномалий системы кровообращения, остается неизменной — около 10 процентов. Общая суммарная летальность при врожденных пороках сердца (ВПС) чрезвычайно высока, на 1-й неделе жизни умирают 29% новорожденных

с такой патологией, до второго месяца не доживают 42%, всего к году умирают до 87% детей [1].

В Российской Федерации ежегодно рождаются 1 700 000 – 2 000 000 детей, около 20 тыс. из которых имеют при рождении пороки сердца. При этом примерно у 5 тыс. детей присутствует критическая форма данной патологии, требующая оперативной коррекции в первые сутки и недели после рождения. И хотя своевременная пре- и постнатальная диагностика врожденной патологии сердца позволяет оказать адекватную терапевтическую и хирургическую помощь таким пациентам, минимизировать осложнения, которые могут возникнуть на любом из этапов лечения ребенка, удается не всегда. Очень часто прооперированные пациенты не в силах справиться с серьезными осложнениями, вызванными инфекционными заболеваниями респираторного тракта, эндокарда и мозговых оболочек. Одной из главных патогенетических причин данного явления ранее считали гемодинамические нарушения, однако в последнее время, благодаря новым технологиям и расширению знаний в области кардиологии, иммунологии и генетики выяснилось, что врожденный порок сердца у таких детей может являться маркером первичного иммунодефицитного состояния, характеризующегося снижением показателей клеточного и гуморального иммунитета. Впервые взаимосвязь между врожденными пороками сердца и первичными иммунодефицитами была отражена в случаях синдрома ДиДжорджи, характеризующегося врожденными пороками сердца, лицевыми дизморфиями, гипоплазией тимуса, расщелиной неба и гипокальциемией (CATCH-22). На сегодняшний день зарегистрировано более десятка таких синдромов, зачастую ПИД у таких детей скрывается за клинической картиной гемодинамических нарушений и ускользает от взора врача терапевта или кардиолога. Особенное место занимают случаи тяжелого послеоперационного периода: долго незаживающие послеоперационные раны и септические нарушения, приводящие к летальному исходу. Под причинно-значимым фактором здесь вполне могут скрываться проблемы процессов репарации, в которых иммунная система как раз и является одним из ключевых элементов. Однако не всегда ВПС являются частью симптомокомплекса синдрома ПИД, не исключается возможность сочетанной иммунной и сердечно-сосудистой патологии. Необходимо тесное сотрудничество врачей специалистов разного профиля, а также сотрудников неспециализированных медицинских учреждений для

разработки алгоритмов их взаимодействия при подозрении или диагностике у ребенка ВПС.

## Материалы и методы

В настоящее ретроспективное исследование вошли 29 детей, умерших на первом году жизни, в историях болезни которых указывалось на наличие ВПС и манифестацию признаков иммунозависимой патологии.

## Результаты и обсуждение

Своевременная внутриутробная диагностика порока и правильное ведение беременности и родов является залогом успешного постнатального лечения ребенка с врожденным пороком сердца. При этом необходима четкая координация работы всех звеньев системы: акушерско-гинекологической службы, врачей-неонатологов, кардиохирургов и реанимационных бригад.

В ходе работы были проанализированы сведения о течении беременностей с целью выявления факторов, способствующих ранней диагностике у детей иммунозависимой патологии, ассоциированной с ВПС, в пренатальный период. Основными критериями, которые учитывались при анализе, являлись возраст матери на момент родов, предыдущий акушерский анамнез (количество беременностей и родов), наличие и причина отягощенности и/или угрозы прерывания настоящей беременности.

Причинно-следственные связи между возрастом матери на момент беременности и ВПС у рожденного ребенка в современных литературных источниках не являются однозначными. В ряде ранних исследований говорится о прямой корреляции «возраст матери – вероятность формирования ВПС у ребенка», особенно для женщин старше 35 лет [3]. С другой стороны, в более современных исследованиях данная тенденция не наблюдается, хотя авторы и не исключают возможность ошибочного анализа данных из-за редкости ВПС [6].

Полученные данные в нашей работе согласуются с современными данными, и средний возраст матерей на момент родов составил 29 лет.

Считается, что важнейшими аспектами проявления заболевания являются наследственность и ее взаимодействие с окружающей средой. Имеются данные о ряде наследственных заболеваний, характеризующихся ВПС, которые являются следствием нуклеотидных перестроек и мутаций (табл. 1).

ТАБЛИЦА 1. ВПС ПРИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

TABLE 1. CHDS IN HEREDITARY DISEASES

Синдром Syndrome	Врожденный порок сердца Congenital heart defect	Частота выявления ВПС, % Frequency of CHDs, %
<b>Синдром Вольфа–Хиршхорна</b> (делеция 4p) Deletion 4p (Wolf–Hirschhorn syndrome)	<b>ДМПП, ДМЖП, ОАП, ДЛВПВ, атрезия аорты, декстракардия, тетрада Фалло, атрезия трикуспидального клапана</b> ASD, VSD, PDA, LSVС, aortic atresia, dextrocardia, TOF, tricuspid atresia	50-65
<b>Синдром Кри-дю-ша</b> (делеция 5p) Deletion 5p (cri-du-chat)	<b>ДМЖП, ДМПП, ОАП</b> VSD, ASD, PDA	30-60
<b>Синдром Вильма–Бюрена</b> (делеция 7q11.23) Deletion 7q11.23 (Williams–Beuren syndrome)	<b>Надклапанный стеноз аорты / легочной артерии, периферический стеноз легочной артерии</b> Supravalvar AS and PS, PPS	53-85
<b>Синдром трисомии хромосомы 8</b> Trisomy 8 mosaicism	<b>ДМЖП, ОАП, коарктация аорты, стеноз легочной артерии, TAPVR, общий артериальный ствол</b> VSD, PDA, CoA, PS, TAPVR, truncus arteriosus	25
<b>Синдром делеции 8p</b> Deletion 8p syndrome	<b>ДПЖП, стеноз легочной артерии, ДМЖП, тетрада Фалло</b> AVSD, PS, VSD, TOF	50-75
<b>Синдром трисомии хромосомы 9</b> Trisomy 9	<b>ОАП, ДЛВПВ, ДМЖП, тетрада Фалло, правый желудочек с двумя выходами</b> PDA, LSVС, VSD, TOF/PA, DORV	65-80
<b>Синдром Ди Джорджи тип 2</b> (делеция 10p13-p14) Deletion 10p13-p14 (Di George syndrome type 2)	<b>Двустворчатый аортальный клапан, ДМПП, ДМЖП, ОАП, стеноз легочной артерии, коарктация аорты, общий артериальный ствол</b> BAV, ASD, VSD, PDA, PS, CoA, truncus arteriosus	50
<b>Синдром Якобсена</b> (делеция 11q) Deletion 11q (Jacobsen syndrome)	<b>СГЛС, стеноз аорты, коарктация аорты, синдром Шона</b> HLHS, valvar AS, VSD, CoA, Shone's complex	56
<b>Синдром Патау</b> (трисомия хромосомы 13) Trisomy 13 (Patau syndrome)	<b>ДМПП, ДМЖП, ОАП, СГЛС, латеральные дефекты, предсердный изомеризм</b> ASD, VSD, PDA, HLHS, laterality defects, atrial isomerism	80
<b>Синдром Эдвардса</b> (трисомия хромосомы 18) Trisomy 18 (Edwards syndrome)	<b>ДМПП, ДМЖП, ОАП, тетрада Фалло, правый желудочек с двумя выходами, правостороннее положение магистральных сосудов, коарктация аорты, двустворчатый аортальный клапан, двустворчатый клапан легочной артерии, поливальвулярная узелковая гипоплазия</b> ASD, VSD, PDA, TOF, DORV, D-TGA, CoA, BAV, BPV, polyvalvular nodular dysplasia	90-100
<b>Синдром Аллагиле</b> (делеция 20p12) Deletion 20p12 (Alagille syndrome)	<b>Периферический стеноз аорты, тетрада Фалло, стеноз легочной артерии (преимущественно поражаются правые отделы сердца)</b> Peripheral PA, hypoplasia, TOF, PS, (left-sided heart lesions and septal defects less common)	85-94

Таблица 1 (окончание)  
Table 1 (continued)

Синдром Syndrome	Врожденный порок сердца Congenital heart defect	Частота выявления ВПС, % Frequency of CHDs, %
<b>Синдром Дауна</b> (трисомия хромосомы 21) Trisomy 21 (Down syndrome)	<b>ДПЖП, ДМЖП, ДМПП (тетрада Фалло, ППМС – менее специфичны)</b> AVSD, VSD, ASD, (TOF, D-TGA less common)	40-50
<b>Синдром делеции 22q11.2</b> (синдром Ди Джорджи, велокардиофациальный синдром, дефицит TBX1) Deletion 22q11 (DiGeorge, velocardiofacial, deficiency of TBX1)	<b>Коарктация аорты (тип В) общий артериальный ствол, аномалии аорты, тетрада Фалло, ДМЖП</b> IAA-B, truncus arteriosus, isolated aortic arch anomalies, TOF, conoventricular VSD	75
<b>Синдром Тернера (моносомия хромосомы X)</b> Monosomy X (Turner syndrome, 45, X)	<b>Коарктация аорты, двустворчатый аортальный клапан, клапанный стеноз аорты, СГЛС, расслоение аорты</b> CoA, BAV, valvar AS, HLHS, aortic dissection	25-35
<b>Синдром Клайнфельтера</b> (47, XXY) Klinefelter syndrome (47, XXY)	<b>Пролапс митрального клапана, венозная тромбоэмболическая болезнь, ОАП, ДМПП</b> MVP, venous thromboembolic disease, PDA, ASD	50
<b>Синдром Кабуки 1</b> (недостаточность KMT2D) и 2 типа (недостаточность KDM6A) Kubaki syndrome type 1 (deficiency of KMT2D) and type 2 (deficiency of KDM6A)	<b>ДМЖП, ДМПП, двустворчатый аортальный клапан, атриовентрикулярный клапанный пролапс, коарктация аорты, добавочная левая верхняя полая вена, СГЛС</b> ASD, VSD, BAV, AVVP, CoA, ALSVC	28-80
<b>CHARGE-синдром</b> CHARGE syndrome	<b>ДПЖП, ОАП, обструкция левого/правого желудочка, дефекты оттока</b> VSD, PDA, left/right ventricular obstruction, outflow defects	66-92
<b>Дефицит G6PC3</b> Deficiency of G6PC3	<b>ДМПП, ОАП, недостаточность митрального клапана</b> ASD, PDA, mitral valve insufficiency	75-80
<b>Дефицит MST1</b> Deficiency of MST1	<b>ДМПП, гипоплазия сердечной ткани вследствие апоптоза кардиомиоцитов (на мышинной модели)</b> ASD, hypoplasia of cardiac tissue due to apoptosis of cardiomyocytes (in a mouse model)	? nd

**Примечание.** ВПС – врожденный порок сердца, ДМПП – дефект межпредсердной перегородки, ДМЖП – дефект межжелудочковой перегородки, ДПЖП – дефект предсердно-желудочковой перегородки, ОАП – общий аортальный проток, СГЛС – синдром гипоплазии левых отделов сердца, ППМС – правосторонняя позиция магистральных сосудов.

Note. CHD indicates congenital heart defects; ASD, atrial septal defect; VSD, ventricular septal defect; PDA, patent ductus arteriosus; LSVC, persistent left superior vena cava; TOF, tetralogy of Fallot; AS, aortic stenosis; PS, pulmonic stenosis; PPS, peripheral pulmonary stenosis; CoA, coarctation of the aorta; TAPVR, total anomalous pulmonary venous return; AVSD, atrioventricular septal defect; TOF/PA, tetralogy of Fallot with pulmonary atresia; DORV, double-outlet right ventricle; BAV, bicuspid aortic valve; HLHS, hypoplastic left heart syndrome; IUGR, intrauterine growth retardation; TEF, tracheoesophageal fistula; CDH, congenital diaphragmatic hernia; D-TGA, D-transposition of the great arteries; BPV, bicuspid pulmonary valve; PA, pulmonary artery; IAA-B, interrupted aortic arch type B; ALSVC, accessory left superior vena cava; and MVP, mitral valve prolapse.

ТАБЛИЦА 2. ПЕРВИЧНЫЕ ИММУНОДЕФИЦИТЫ С ВПС В ФЕНОТИПЕ

TABLE 2. PRIMARY IMMUNODEFICIENCY WITH CHDS IN PHENOTYPE

Название ПИД Name of PID	Группа ПИД Group of PID	Нарушения в иммунологическом звене Immunological disorders
<b>Синдром делеции 22q11.2 (синдром Ди Джорджи, велокардиофациальный синдром, дефицит TBX1)</b> Deletion 22q11 (Di George, velocardiofacial, deficiency of TBX1)	<b>Комбинированные ПИД, ассоциированные с синдромальными проявлениями – дефекты тимуса с другими врожденными аномалиями</b> Combined PID associated with syndromic manifestations – thymic defects with other congenital anomalies	<b>Гипо-/аплазия тимуса, сниженное количество CD3<sup>+</sup> клеток</b> Thymic hypo-/aplasia, reduced CD3 <sup>+</sup> cell count
<b>Синдром Ди Джорджи тип 2</b> Deletion 10p13-p14 (Di George syndrome type 2)		<b>Сниженное количество CD3<sup>+</sup> клеток, низкий ответ лимфоцитов на фитогемагглютинин</b> Decreased number of CD3 <sup>+</sup> cells, low lymphocyte response to phytohemagglutinin
<b>CHARGE-синдром</b> CHARGE syndrome		
<b>Синдром Дауна</b> Down syndrome	<b>Комбинированные ПИД, ассоциированные с синдромальными проявлениями – другие комбинированные иммунодефициты</b> Combined PID associated with syndromic manifestations – other combined immunodeficiencies	<b>Гипо-/дисплазия ткани тимуса, сниженное количество CD3<sup>+</sup> клеток</b> Hypo-/dysplasia of thymus tissue, reduced number of CD3 <sup>+</sup> cells
<b>Синдром Кабуки 1-го и 2-го типа</b> Kabuki syndrom type 1 (deficiency of KMT2D) and type 2 (deficiency of KDM6A)		
<b>Дефицит G6PC3</b> Deficiency of G6PC3	<b>Врожденные дефекты числа и функции фагоцитов – врожденная нейтропения</b> Congenital defects in the count and function of phagocytes – congenital neutropenia	<b>Врожденная нейтропения</b> Congenital neutropenia
<b>Дефицит MST1</b> Deficiency of MST1	<b>Комбинированные ПИД, обычно менее тяжелые чем ТКИН</b> Combined PIDs, usually less severe than SCID	<b>Сниженное количество Т-клеток, сниженное количество наивных Т-клеток, повышенное количество Т-клеток памяти, но с низким их репертуаром, сниженное количество В-клеток</b> Decreased number of T cells, decreased number of naive T cells, increased number of memory T cells, but with a low repertoire of them, decreased number of B cells

Интересно заметить, что из двадцати синдромов, проявляющихся в виде ВПС, семь в настоящее время относят к группе первичных иммунодефицитов (табл. 2). Хотя мы понимаем, что в данной ситуации нельзя ограничиваться лишь этими синдромами и исключить того, что ВПС представляют собой обширную и разнородную

группу заболеваний, не обязательно связанных с наследственной патологией.

Характерной чертой матерей пациентов с ВПС и ПИД является наличие отягощенного акушерского анамнеза: невынашивание беременности (3 случая), медицинские аборт (3 случая), внематочные беременности (2 случая). Пять женщин

ТАБЛИЦА 3. СОСТОЯНИЕ ЗДОРОВЬЯ НА 1-Й МИНУТЕ ЖИЗНИ ПО ШКАЛЕ АПГАР

TABLE 3. STATE OF HEALTH AT 1<sup>ST</sup> MINUTE OF LIFE ON THE APGAR SCALE

Состояние State	Частота выявления ВПС, % Frequency of cases, %
Хорошее (7-10 баллов) Good (7-10 score)	21%
Удовлетворительное (4-6 баллов) Satisfactory (4-6 score)	36%
Критическое (0-3 балла) Critical (0-3 score)	43%

подвергались угрозе прерывания беременности: у 3 она возникала в первом триместре, у 2 – во втором. Причем, несмотря на разные причины осложнения беременностей (анемия, артериальная гипертензия, TORCH-инфекции, бактериальный вагинит и др.), большинство из них в том или ином виде приводят к нарушению трофики плода, что, по нашему мнению, может способствовать формированию у него внутриутробных пороков развития.

Традиционно в неонатальный период, а также на протяжении первых двух лет жизни иммунная система ребенка переживает ряд критических периодов, в течение которых организм сталкивается с множеством новых чужеродных антигенов. Поэтому рекуррентные или хронические инфекции в педиатрической практике являются достаточно распространенным явлением [2, 5]. Главным условием успешного дифференциального диагноза ПИД на фоне врожденной сердечной патологии мы считаем наличие осведомленности и высокой степени настороженности у специалистов кардиологического отделения в отношении данных заболеваний.

Средний возраст плода на момент рождения составил 32,8 недели (Me – 33,0). В 71% случаев дети рождались с разной степенью недоношенности: дети с экстремальной и глубокой недоношенностью (n = 9), дети с недоношенностью средней и легкой степени (n = 6) и доношенные (n = 6). Средний вес ребенка с экстремальной и глубокой недоношенностью на момент рождения составил  $836 \pm 316$  г (Me – 760 г), со средней и легкой степенью недоношенности –  $2663 \pm 445$  г (Me – 2630 г) и у доношенных –  $3153 \pm 620$  г (Me – 3275 г). В 69% случаев дети рождались с антропометрическими отклонениями, однако это не выявило статистической значимости различий между основной и контрольной группой недоношенных детей без ПИД.

При анализе состояния здоровья ребенка на момент рождения учитывались оценки по шкале Апгар на 1-й и 5-й минутах жизни (табл. 3). У 43% состояние здоровья на 1-й минуте жизни расценивалось как критическое, однако уже на пятой минуте 34% детей были переведены в группу с удовлетворительными физиологическими показателями. Причиной этого перехода, по всей видимости, явилась возможность использования современных протоколов ведения пациентов в отделениях реанимации и интенсивной терапии для новорожденных.

Варианты врожденных пороков сердца среди пациентов исследуемой группы были очень разнообразны, начиная от нарушений клапанного аппарата до наличия нефункциональных отверстий между камерами сердца, включая и транзиторные пороки, такие как открытое овальное окно и общий атриовентрикулярный канал. Что же касается признаков иммунозависимой патологии, то единственным визуализированным признаком иммунодефицитного состояния было отмечено уменьшение размеров тимуса при ультразвуковом исследовании. Однако не вызывает сомнения тот факт, что выявленные у исследуемых детей anomalies тимуса, особенно его гипо-/аплазированное состояние или диспластические изменения органа (79% случаев), как раз и могли свидетельствовать о нарушениях в системе Т-клеточного и регуляторного компонентов иммунной системы. В качестве дополнительного критерия для подтверждения иммунозависимой патологии мы провели количественный анализ генетических маркеров нарушения Т- и В-клеточного неогенеза – TREC и KREC – в сухих пятнах крови, взятых у новорожденных для неонатального биохимического скрининга. Значения TREC и KREC, полученные в ходе проведения ПЦР в режиме реального времени, сравнивали с установленными ранее референсными

значениями для новорожденных разной степени доношенности [4].

У всех пациентов, входящих в аналитическую группу, показатели TREC и KREC оказались ожидаемо ниже значений референсных пределов, полученных в предыдущих работах. Средние значения TREC в группе экстремально и глубоко недоношенных пациентов – 8,9 копий /  $10^4$  лейкоцитов (Me – 6,4 копий /  $10^4$  лейкоцитов), KREC – 17,5 копий /  $10^4$  лейкоцитов (Me – 13,4 копий /  $10^4$  лейкоцитов); для недоношенных легкой и средней степени – TREC – 6,9 копий /  $10^4$  лейкоцитов (Me – 5,8 копий /  $10^4$  лейкоцитов), KREC – 2,0 копий /  $10^4$  лейкоцитов (Me – 1,3 копий /  $10^4$  лейкоцитов); для доношенных TREC – 33,2 копий /  $10^4$  лейкоцитов (Me – 6,4 копий /  $10^4$  лейкоцитов), KREC – 6,6 копий /  $10^4$  лейкоцитов (Me – 3,8 копий /  $10^4$  лейкоцитов).

Несмотря на разнообразие клинических картин пациентов, входящих в анализируемую группу, диапазон непосредственных причин смерти таких детей предсказуем: неонатальный сепсис (31%), полиорганная недостаточность (28%), дыхательная недостаточность (19%), сердечная недостаточность (10%) и др. В большинстве случаев постмортальных заключений основной причиной смерти указан кардиологический диагноз, при этом у четырех детей в графе «сопутствующая патология» указано иммунодефицитное состояние. Причины смерти «ранний неонатальный сепсис» и «полиорганная недостаточность» в 59% позволяет сделать вывод о том, что анатомо-физиологические особенности иммунной системы новорожденных, в частности неадекватность иммунного реагирования, обусловленная функциональной несостоятельностью иммунитета, способствуют генерализации инфекционного процесса в раннем младенческом возрасте. При этом важно, что одним из достоверных признаков первичного повреждения иммунной системы является как раз выраженная полнота инфицирования. На следующем месте в рейтинге причин смертности детей с ВПС и ПИД находятся сердечная и дыхательная недостаточности, что является вполне ожидаемым в рамках исследования пациентов с заболеваниями сердечно-сосудистой системы.

Лишь у одного пациента лабораторно был подтвержден синдром Ди Джорджи. Для всех остальных постановка диагноза «первичный иммунодефицит» была произведена уже постмортально, при анализе медицинской документации пациентов.

Как известно, своевременная и точная диагностика врожденной патологии является одной из основ современной медицины. В настоящее время имеется все необходимое для превентивной и ранней диагностики многих наследственных заболеваний, в том числе и «редких» первичных иммунодефицитов. Использование передовых методов фетального ультразвукового исследования и молекулярно-генетической диагностики, а также расширение программ неонатального скрининга могут дать возможное разрешение данной проблемы; при этом не вызывает сомнения, что вероятность оказания своевременной и качественной помощи детям с первичной иммунной недостаточностью, отягощенной сердечно-сосудистой патологией, определяется возможностью ее выявления именно в первые дни жизни.

## Заключение

Самым неутешительным аспектом данной работы явился тот факт, что всем пациентам исследуемой группы диагноз ПИД был установлен постмортально. Именно поэтому архиважным представляется популяризация знаний, получаемых в научной и профессиональной среде, для увеличения степени настороженности врачей-специалистов, так как за казенными формулировками «сердечная недостаточность» и «дыхательная недостаточность», отмеченными в постмортальных заключениях пациентов с ВПС, могут скрываться и другие заболевания, в частности ПИД, нередко проявляющийся как ранний неонатальный сепсис, который сложно и практически невозможно контролировать. Уже на данном этапе работы можно говорить о реальной важности совершенствования пренатальной диагностики, расширения спектра заболеваний, диагностируемых в рамках неонатального скрининга, а также разработки новых протоколов ведения пациентов с сочетанной патологией.

## Список литературы / References

1. Детская кардиохирургия. Руководство для врачей. Под ред. Л.А. Бокерия, К.В. Шаталова. М.: НЦССХ им. А.Н. Бакулева, 2016. С. 24-40. [Pediatric heart surgery: a guide for doctors. Ed. L.A. Bokeriya, K.V. Shatalov]. Moscow: A. Bakulev National Center for Cardiovascular Surgery, 2016, pp. 24-40.

2. Литвицкий П.Ф., Синельникова Т.Г. Врожденный иммунитет: механизмы реализации и патологические синдромы: ч. 2 // Вопросы современной педиатрии, 2009. Т. 8, № 2. С. 59-67. [Litvitskiy P.Ph., Sinelnikova T.G. Inborn immunity: mechanisms of realization and pathological syndromes: Pt 2. *Voprosy sovremennoy pediatrii = Current Pediatrics*, 2009, Vol. 8, no. 2, pp. 59-67. (In Russ.)]
3. Тузанкина, И.А. К вопросу диагностики иммунопатологии // Медицинская иммунология, 2010. Т. 12, № 6. С. 485-496. [Tuzankina I.A. Some issues of diagnostics in immune pathology. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2010, Vol. 12, no. 6, pp. 485-496. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2010-6-485-496.
4. Тузанкина И.А., Дерябина С.С., Болков М.А. Первичные иммунодефициты в раннем возрасте. М., 2018. С. 104-110. [Tuzankina I.A., Deryabina S.S., Bolkov M.A. Primary immunodeficiencies at an early age]. Moscow, 2018, pp. 104-110.
5. Щербина А.Ю. Маски первичных иммунодефицитных состояний: проблемы диагностики и терапии / А.Ю. Щербина // Российский журнал детской гематологии и онкологии, 2016. Т. 3, № 1. С. 52-58. [Shcherbina A.Yu. Masks of primary immunodeficiency disorders: diagnostic and therapeutic problems. *Rossiyskiy zhurnal detskoy gematologii i onkologii = Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology*, 2016, Vol. 3, no. 1, pp. 52-58. (In Russ.)]
6. Best K.E., Rankin J. Is advanced maternal age a risk factor for congenital heart disease? *Birth Defects Res. A*, 2016, Vol. 106, no. 6, pp. 461-467.
7. Pierpont M.E. Genetic basis for congenital heart defects: current knowledge. A scientific statement from the american heart association congenital cardiac defects committee, council on cardiovascular disease in the young. *Circulation*, 2007, Vol. 115, no. 23, pp. 3015-3303

---

**Авторы:**

**Дерябина С.С.** — к.б.н., заведующая лабораторией молекулярной диагностики ГБУЗ СО «Клинико-диагностический центр „Охрана здоровья матери и ребенка“»; научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук; научный сотрудник кафедры иммунохимии ХТИ ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени Первого президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

**Черемохин Д.А.** — врач клинической лабораторной диагностики лаборатории молекулярной диагностики ГБУЗ СО «Клинико-диагностический центр „Охрана здоровья матери и ребенка“»; аспирант ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

**Тузанкина И.А.** — д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук; ведущий научный сотрудник кафедры иммунохимии ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени Первого президента России Б.Н. Ельцина»; врач аллерголог-иммунолог научного отдела ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1», г. Екатеринбург, Россия

**Authors:**

**Deryabina S.S.**, PhD (Biology), Head, Laboratory of Molecular Diagnostics, Medical Center “Health Care of Mother and Child”; Research Associate, Laboratory of Immunology of Inflammation, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Research Associate, Department of Immunochemistry, First President of Russian Federation B. Yeltsin Ural Federal University, Yekaterinburg, Russian Federation

**Cheremokhin D.A.**, Laboratory Doctor, Laboratory of Molecular Diagnostics, Medical Center “Health Care of Mother and Child”; Postgraduate Student, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

**Tuzankina I.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Chief Research Associate, Laboratory of Immunology of Inflammation, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Leading Research Associate, Department of Immunochemistry, First President of Russian Federation B. Yeltsin Ural Federal University; Allergist-Immunologist, Scientific Department, Regional Children Clinical Hospital No. 1, Yekaterinburg, Russian Federation

**Болков М.А.** — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук; научный сотрудник кафедры иммунохимии ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени Первого президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

**Шинвари Хайбер** — аспирант кафедры иммунохимии ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени Первого президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

**Bolkov M.A.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Immunology of Inflammation, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Research Associate, Department of Immunochemistry, First President of Russian Federation B. Yeltsin Ural Federal University, Yekaterinburg, Russian Federation

**Shinwari Khyber**, Postgraduate Student, Department of Immunochemistry, First President of Russian Federation B. Yeltsin Ural Federal University, Yekaterinburg, Russian Federation

---

Поступила 25.08.2020  
Принята к печати 07.09.2020

Received 25.08.2020  
Accepted 07.09.2020

## **ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ОСТРОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ПОЧЕК ПОСЛЕ АОРТОКОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ**

**Маркелова Е.В., Фомина О.И., Арсенина В.Ю.**

*ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет», г. Владивосток, Россия*

**Резюме.** Проблема острого повреждения почки (ОПП) после кардиохирургических вмешательств остается нерешенной, несмотря на высокий уровень развития хирургической техники, защиты органов и тканей в условиях искусственного кровообращения. Частого развития осложнения по данным разных авторов достигает до 42%, а необходимость проведения методов заместительной почечной терапии до 1-8%. Основной причиной развития ОПП с исходом в острую почечную недостаточность (ОПН) принято считать синдром системного воспалительного ответа и активацию системы свертывания крови. Выброс большого количества цитокинов ассоциируется с субклиническим повреждением почек, в первую очередь с блокированием фильтрации в почечных клубочках. Определение концентрации в крови маркеров воспаления, которые могли бы отражать активность воспалительного процесса, важно для прогнозирования и выбора метода лечения, а также для выявления предикторов тяжелого течения с возможностью начала ранней ЗПТ после госпитализации. Цель исследования – оценка диагностического и прогностического значения показателей врожденного иммунитета – интерлейкинов (IL) 6, 8, 10, 17 и фактора некроза опухоли альфа (TNF $\alpha$ ), ростовых факторов TGF- $\beta$ 1 у пациентов с острым повреждением почек до и после АКШ.

Была исследована сыворотка крови 120 пациентов обоего пола с ишемической болезнью сердца (ИБС) до и после АКШ, разделенных на 3 группы: с ОПП (I гр.), с ОПП и фоновым заболеванием сахарным диабетом 2 типа (II гр.), ОПП (III гр.), группа практически здоровых добровольцев сопоставимых по полу и возрасту (IV гр.).

Зарегистрировано увеличение концентрации цитокинов IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, TNF $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1 во всех группах после операции на первые и вторые сутки у пациентов с острым повреждением почки. Более подробно изучен вопрос иммунных нарушений у пациентов кардиохирургического профиля с острым повреждением почки, планируемых на операцию аортокоронарное шунтирование.

*Ключевые слова:* острое повреждение почки, ишемическая болезнь сердца, аортокоронарное шунтирование, цитокины, биомаркеры

---

**Адрес для переписки:**

Маркелова Елена Владимировна  
ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный  
медицинский университет»  
Тел.: 8 (914) 707-85-59  
E-mail: [markev2010@mail.ru](mailto:markev2010@mail.ru)

**Address for correspondence:**

Markelova Elena V.  
Pacific State Medical University  
Phone: 7 (914) 707-85-59  
E-mail: [markev2010@mail.ru](mailto:markev2010@mail.ru)

---

**Образец цитирования:**

Е.В. Маркелова, О.И. Фомина, В.Ю. Арсенина  
«Динамика показателей врожденного иммунитета при  
остром повреждении почек после аортокоронарного  
шунтирования» // Российский иммунологический  
журнал, 2020. Т. 23, № 4. С. 515-522.  
doi: 10.46235/1028-7221-460-DOI  
© Маркелова Е.В. и соавт., 2020

**For citation:**

E.V. Markelova, O.I. Fomina, V.Yu. Arsenina “Dynamics  
of innate immunity parameters in acute kidney injury  
after coronary artery bypass grafting”, Russian Journal of  
Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020,  
Vol. 23, no. 4, pp. 515-522.  
doi: 10.46235/1028-7221-460-DOI  
DOI: 10.46235/1028-7221-460-DOI

## DYNAMICS OF INNATE IMMUNITY PARAMETERS IN ACUTE KIDNEY INJURY AFTER CORONARY ARTERY BYPASS GRAFTING

Markelova E.V., Fomina O.I., Arsenina V.Yu.

*Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation*

**Abstract.** Acute kidney injury (AKI) developing after cardiac surgery remains unsolved issue despite the high level of surgical techniques as well as organ and tissue protection during artificial blood circulation. Various publications demonstrate that complications emerge in as many as 42% cases, whereas renal replacement therapy is required in up to 1-8% cases. Systemic inflammatory response syndrome and activation of the blood coagulation system largely underlie developing AKI finally resulting in acute renal failure. Release of large amounts of cytokines is associated with subclinical renal damage, primarily with blocking renal glomerular filtration. Measuring concentration of serum inflammatory markers that could reflect activity of inflammatory events is crucial for predicting and selecting treatment methods as well as for identifying predictors of severe course with opportunity of early onset renal replacement therapy after hospitalization. Objective of our study was to assess diagnostic and prognostic value of innate immunity parameters such as interleukin (IL) 6, 8, 10, 17, tumor necrosis factor alpha (TNF $\alpha$ ), growth factor TGF- $\beta$ 1 in patients with acute kidney injury before and after CABG. Blood serum samples collected from 120 patients (males and females) with ischemic heart disease (IHD) were examined before and after CABG. It was found that patients with acute kidney injury had elevated serum level of cytokines IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, TNF $\alpha$ , and TGF- $\beta$ 1 in all groups on day 1 and day 2 after surgery. Hence, we provided the data on more detailed investigation of immune alterations in cardiosurgical patients with AKI prepared for planned CABG.

*Keywords:* acute kidney injury, coronary bypass, cardiac, cytokines, biomarkers

Острое почечное повреждение (ОПП) является одним из частых осложнений у пациентов перенесших кардиохирургические вмешательства. Ежегодно по всему миру проводится более 2 миллионов операций на открытом сердце с применением искусственного кровообращения. Доля случаев ОПП, связанных с проведенными сердечно-сосудистыми операциями, варьируется от 5 до 42%, и эти осложнения стоят на 2-м месте после сепсиса и так же сопряжены с высокой летальностью, длительным пребыванием в отделении реанимации, с увеличением стоимости лечения за счет применения методов заместительной почечной терапии (ЗПТ) в 1-5% случаев [4].

Авторы, освещая проблему острого повреждения почек различного генеза, не пришли к единому мнению об особенностях развития иммунных нарушений при данной патологии. Основными факторами развития ренального повреждения являются: снижение перфузии, нейрогуморальная активация, оксидативный стресс, нефротоксины, механические факторы, которые могут индуцировать в организме пациента каскад защитно-приспособительных реакций [7]. Послед-

ние годы большое внимание уделяется поиску так называемых биомаркеров острого почечного повреждения, позволяющих проводить раннее выявление патологических изменений в почках и определять их характер, дифференцировать поражение разных отделов нефрона, точно установить стадию процесса, оценить выраженность воспаления и интенсивность фиброгенеза. Ранее открытые биомаркеры: NGAL, Cystatine С достаточно информативны в раннем послеоперационном периоде, но, учитывая высокую стоимость, рутинно не применяются в практике [8, 10]. Определение концентрации в сыворотке крови маркеров воспаления, которые могли бы отражать активность воспалительного процесса, важно для прогнозирования и коррекции метода лечения, а также для выявления предикторов тяжелого течения с возможностью начала ранней ЗПТ после госпитализации. Однако до сих пор нет единого мнения о направленности, степени изменений про- и противовоспалительных цитокинов на системном уровне у пациентов с ишемической болезнью сердца с ОПП до и после

операций на сердце, их прогностической ценности, и проблема все еще остается дискуссионной.

Поэтому **целью исследования** было выявление иммунологических предикторов развития и неблагоприятного прогноза острого повреждения почек у пациентов с ишемической болезнью, перенесших операцию аортокоронарное шунтирование.

## Материалы и методы

Обследованы пациенты (n = 120) в возрасте от 44 до 75 лет обоего пола с ишемической болезнью сердца, которым проведена операция аортокоронарное шунтирование в условиях искусственного кровообращения на базе университетской клиники Дальневосточного федерального университета г. Владивостока. Группу контроля составили практически здоровые люди (n = 30), сопоставимые по возрасту и полу. Критериями включения в исследования считали:

– пациентов с ишемической болезнью сердца 44-75 лет обоего пола (n = 40) до и после операции аортокоронарное шунтирование с осложнениями раннего послеоперационного периода, связанными с острым повреждением почек (I группа);

– пациентов с ишемической болезнью сердца 44-75 лет обоего пола с сопутствующей патологией (сахарный диабет) (n = 40) до и после операции аортокоронарное шунтирование с осложнениями раннего послеоперационного периода, связанными с острым повреждением почек (II группа);

– пациентов с ишемической болезнью сердца 44-75 лет обоего пола (n = 40) до и после операции аортокоронарное шунтирование без патологии послеоперационного периода (III группа);

– группа практически здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту (n = 30).

Определение уровня интерлейкинов (IL-6, IL-8, IL-10, IL-17) и фактора некроза опухоли альфа – TNF $\alpha$  и трансформирующих факторов роста TGF- $\beta$  1, а также маркеров острого повреждения почки NGAL и Cystatine C проведено в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием диагностических наборов R & D Systems (США). Протокол исследования был одобрен местным этическим комитетом Тихоокеанского государственного медицинского университета Минздрава России в соответствии с Декларацией Хельсинкской этики, принятой Всемирной медицинской ассоциацией, в этических принципах медицинских исследований с участием людей и «Принципами надлежащей клинической практики в Российской Федерации». Письменное информированное согласие было получено от всех пациентов до включения в исследование (протокол № 4 от 26.12.2016). У пациентов основных групп производился четырехкратный забор материала: перед операцией, на 1-е, 2-е и 7-е сутки после операции. Они ретроспективно были распределены на три группы в зависимости от клинического состояния после АКШ; у людей контрольной группы – однократный забор крови. Клинические интраоперационные данные: сред-

ТАБЛИЦА 1. УРОВЕНЬ КРЕАТИНИНА СЫВОРОТКИ КРОВИ И БИОМАРКЕРОВ ОПП У ПАЦИЕНТОВ С ИБС ПОСЛЕ АКШ

TABLE 1. CREATININE AND AKI MARKERS IN THE SERUM OF PATIENTS WITH IHF AFTER CABG

Биомаркер Biomarker	Группа контроля Control group (n = 30)	Группа с ОПП Group with acute kidney injury (n = 80)		Группа без почечных осложнений Group without renal complications (n = 40)	
		До операции Before the operation	Первые сутки First day	До операции Before the operation	Первые сутки First day
NGAL, нг/мл NGAL, ng/ml	52,42 (37,79-60,27)	16,36 (11,33-28,55)	53,62 (37,86-76,59)	21,41 (15,97-38,63)	32,71 (23,45-48,51)
Cystatin C, нг/мл Cystatin C, ng/ml	561,42 (489,10-610,95)	706,61 (482,84-789,27)	732,92 (694,94-906,43)	1067,36 (894,33-1362,69)	764,21 (577,29-962,39)
Креатинин, мкмоль/л Creatininy, mcmol/l	66,4 (50,3-79,8)	72,8 (60,4-80,1)	105,3 (90,1-120,7)	70,9 (59,7-79,3)	78,4 (84,5-90,4)

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ИБС ПОСЛЕ АКШ, Me ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ ), пг/мл

TABLE 2. CYTOKINE AND GROWTH FACTORS CONTENT IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH IHD AFTER CABG, Me ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ ), pg/ml

Биомаркер	Пациенты с ИБС после АКШ, разделенные на группы в зависимости от клинического течения Patients with IHD after CABG depending on etiology															
	Группа контроля IV control group (n = 30)				Группа с ОПП I group with AKI (n = 40)				Группа с ОПП и СД 2 типа II group with AKI and DM type 2 (n = 40)				Группа без ОПП III group without AKI (n = 40)			
	До операции Before the operation	1-й день 1 <sup>st</sup> day	2-й день 2 <sup>nd</sup> day	7-й день 7 <sup>th</sup> day	До операции Before the operation	1-й день 1 <sup>st</sup> day	2-й день 2 <sup>nd</sup> day	7-й день 7 <sup>th</sup> day	До операции Before the operation	1-й день 1 <sup>st</sup> day	2-й день 2 <sup>nd</sup> day	7-й день 7 <sup>th</sup> day	До операции Before the operation	1-й день 1 <sup>st</sup> day	2-й день 2 <sup>nd</sup> day	7-й день 7 <sup>th</sup> day
<b>IL-6</b>	3,03 (2,95-13,3)	2,66 (2,63-2,74)***	23,02 (20,67-34,07)*	34,8 (24,72-46,11)*	9,94 (5,41-16,68)*	4,2 (3,1-6,4)***	32,9 (21,80-44,32)*	32 (20,44-43,10)*	7,53 (4,21-10,55)*	2 (1,67-2,20)***	22,43 (10,24-43,55)*	21,46 (13,21-32,71)*	5,11 (3,14-9,52)***			
<b>IL-8</b>	19,47 (8,41-29,32)	6,1 (5,78-11,98)**	48,4 (35,36-128,23)*	14,8 (10,87-15,42)**	16,1 (14,35-19,60)***	16,1 (14,35-19,60)***	46,8 (43,3-48,9)*	12,3 (10,27-13,40)**	14,64 (13,38-15,40)***	5,15 (4,56-5,50)**	23,51 (17,96-46,08)**	7,3 (6,95-9,30)*	4,8 (2,50-5,02)**			
<b>IL-10</b>	18,5 (7,12-36,69)	5,8 (5,61-5,98)***	407,015 (346,22-431,21)*	9,93 (7,91-20,44)***	8,4 (7,40-16,58)***	13,14 (12,61-13,67)**	421,57 (354,64-517,04)*	34,17 (28,61-51,05)*	11,575 (10,37-13,62)***	5,26 (5,24-6,33)***	90,63 (69,12-402,50)*	13,66 (11,21-18,44)***	13,78 (13,01-15,01)***			
<b>IL-17</b>	5,57 (1,89-9,45)	4,095 (4,03-4,15)***	4,3 (4,04-4,60)***	4,17 (3,54-4,21)***	3,99 (3,92-4,05)**	3,065 (3,0375-3,09)***	3,33 (3,10-3,41)***	3,61 (2,98-4,19)***	3,29 (3,01-3,57)**	4,07 (3,92-5,24)***	3,93 (3,9-5,1)***	3,79 (3,32-5,37)***	4,21 (3,74-5,34)***			
<b>TGF-β1</b>	19,02 (17,50-23,54)	15,41 (13,44-17,32)***	19,99 (15,30-23,01)***	21 (18,15-21,80)***	18,9 (15,2-19,0)***	10,01 (9,40-12,89)***	14,9 (13-20)***	10,56 (9,5-12,0)***	9,49 (9,01-12,10)***	7,81 (6,02-9,01)***	11 (10,51-11,00)***	7,94 (6,43-8,41)***	6,59 (6,54-7,92)***			
<b>TNFα</b>	2,8 (0,8-10,9)	2,17 (1,88-2,19)***	4,95 (3,96-5,94)***	1,87 (1,71-2,07)***	2,3 (2,06-2,54)***	8,635 (6,75-10,51)*	9,12 (5,75-7,30)*	8,73 (1,71-10,40)***	6,07 (3,335-10,600)*	1,19 (1,06-1,93)***	4,34 (4,12-5,02)***	0,76 (0,65-0,99)***	0,87 (0,65-0,95)**			

Примечание. \* p < 0,001 – в сравнении с контрольной группой; \*\* p < 0,01 – в сравнении с контрольной группой; \*\*\* p < 0,05 – в сравнении с контрольной группой.

Note. \* p < 0.001, in comparison with the control group; \*\* p < 0.01, in comparison with the control group; \*\*\* p < 0.05, in comparison with the control group.

нее время пережатия аорты составило  $94 \pm 18$  мин, среднее время искусственного кровообращения (ИК)  $85 \pm 29$  мин, среднее время искусственного кровообращения после снятия зажима аорты  $52 \pm 18$  мин. Клинические послеоперационные данные: средняя продолжительность инотропной/вазопрессорной поддержки в ОРИТ составила  $10 \pm 8$  часов; средняя продолжительность пребывания в ОРИТ составила  $50 \pm 18$  часа; случаев внутригоспитальной летальности не было. Лабораторные данные: определение креатинина и маркеров острого повреждения почек NGAL и Cystatine C представлены в таблице 1. Достоверность различий между сравниваемыми группами оценивалась по методу Манна–Уитни–Вилкоксона. При значении  $p < 0,05$  нулевая гипотеза об отсутствии различий частот отклонялась. Определение связей между признаками, их направленности, степени выраженности проводилось методами оценки ранговой корреляции Спирмена.

## Результаты

Проведенное нами исследование позволило выявить, что концентрация  $\text{TNF}\alpha$  в группе II с ренальными осложнениями до оперативного вмешательства значительно превышала аналогичную в группе IV,  $p < 0,001$ . На первые сутки концентрация  $\text{TNF}\alpha$  в сыворотке пациентов с осложнениями вырастала и была достоверно выше по сравнению с уровнем до проведения вмешательства: в группе I,  $p < 0,001$ , что также было существенно выше чем в группе контроля,  $p < 0,001$ . На вторые сутки после оперативного вмешательства содержание  $\text{TNF}\alpha$  оставалось на высоких значениях только в группе II,  $p < 0,001$ , в сравнении с остальными группами. Снижение уровня  $\text{TNF}\alpha$  отмечалось на 7-е сутки после операции во всех группах, но его высокое содержание по-прежнему оставалось на высоких значениях в группе II ( $p < 0,001$ ). Анализ содержания  $\text{IL-6}$  до операции в группе II выявил повышенное содержание в сравнении с группой I, III и IV,  $p < 0,05$ . На 1-е сутки после операции в группах I, III и II уровень был выше более чем в 10 раз, чем в контрольной группе,  $p < 0,001$ , а также значения оставались повышенными и на 2-е сутки после операции. Показатели  $\text{IL-6}$  через неделю после вмешательства во всех сравниваемых группах статистически значимо снижались по сравнению с предыдущими значениями, однако также превышали референсный интервал ( $p < 0,001$ ). Уровень  $\text{IL-8}$  на первые сутки после операции в группах с осложнениями I и II более чем в два раза пре-

вышали аналогичный в группе IV,  $p < 0,001$ . На 2-е сутки показатель в группе II и III достоверно снижались,  $p < 0,01$ , но значения не превышали значения контрольной группы,  $p < 0,001$ . Через неделю после операции сывороточный уровень показателя приближался к контрольным значениям во всех сравниваемых группах. Нами установлено, что уровень  $\text{IL-17}$  в группах I, II, III на всех этапах исследования был значительно ниже, чем в группе IV,  $p < 0,05$ . Достоверных различий в динамике на всех этапах забора крови не выявлено. При анализе содержания противовоспалительных цитокинов у пациентов с осложнениями в группах I и II зафиксировано повышение  $\text{IL-10}$  более чем в 4 раза по сравнению с значением как в группе III, так и в группе IV,  $p < 0,001$ . Однако сывороточный уровень цитокина в группе II на 2-е сутки более чем в 2 раза превышал значения I и III группы,  $p < 0,001$ . На седьмые сутки уровень цитокина во всех сравниваемых группах был ниже референсных величин. Анализ показателей концентрации трансформирующего фактора роста  $\text{TGF-}\beta\text{-1}$  в сыворотке крови пациентов до АКШ показал достоверно более высокие его уровни в группе I и в группе II в сравнении группой III, однако они были ниже, чем в группе контроля,  $p < 0,05$ . В последующие дни в группе I отмечались более высокие значения в сравнении с группой II и III,  $p < 0,05$ . Результаты представлены в таблице 2.

## Обсуждение

ОПП характеризуется развитием острой воспалительной реакции, развивающейся на фоне вяло текущего воспалительного процесса (наличия сопутствующей возрастной патологии). Острое тканевое воспаление служит ответом на повреждение паренхимы почки, индуцируемой длительной ишемией (в данном случае при механическом воздействии – пережатии аорты и длительностью искусственного кровообращения), тогда как предшествующее хроническое воспаление зависит от наличия факторов риска и сопутствующих заболеваний, таких как ишемическая болезнь сердца, нарушения углеводного обмена. При оперативных вмешательствах снижается почечный кровоток, оксигенация почечной паренхимы, что сопровождается резкой активацией секреции провоспалительных цитокинов:  $\text{TNF}\alpha$ ,  $\text{IL-6}$ ,  $\text{IL-8}$ . Это сопровождается усугублением ишемии органа и развитием в нем воспаления, инициированного оксидативным стрессом, асептическим воспалением, которое ведет к серьезным повреждением структуры паренхимы почки,

вплоть до острого канальцевого некроза. В дополнение к цитокинам патологический процесс усугубляется миграцией в орган клеточных элементов (нейтрофилов) и компонентов плазмы крови, которые реагируют на собственные измененные клетки развитием воспалительной реакции с участием механизмов врожденного иммунитета, где иницилирующими агентами служат собственные погибшие клетки и их фрагменты [6]. Они активируют молекулы адгезии и взаимодействуют с эндотелием по механизму роллингадгезии. Развивается дисфункция эндотелия, повышается проницаемость сосудов, что приводит к выходу форменных элементов крови в межтканевую жидкость. Активированные лейкоциты, пришедшие из крови, синтезируют провоспалительные цитокины, хемокины, матриксные металлопротеиназы, оксид азота и активные формы кислорода. Хемокины чрезвычайно важны для развития тканевого воспаления, так как регулируют выход из сосудистого русла и инфильтрацию очага воспаления практически всеми типами лейкоцитов и их функциональной активации. Фактор некроза опухоли является мощным провоспалительным цитокином и играет решающую роль в процессе воспаления, в частности вызывая дисфункцию эндотелия микрососудов органа, участвует в метаболизме липидов, в процессах свертывания крови, в формировании инсулинорезистентности, являясь активным участником реакций иммунного ответа и апоптоза. Его активация при ишемически-реперфузионных поражениях почек приводит к увеличению образования хемокинов и активности нейтрофилов, что усиливает воспаление почечной паренхимы [11]. Он стимулирует экспрессию большого количества медиаторов воспаления: IL-6, цитокинов IL-8. Хотя дисбаланс и увеличение уровня провоспалительного цитокина TNF полностью не отражают развитие патологических изменений и прогноз. Длительная ишемия сопровождается увеличением уровней других провоспалительных медиаторов в сыворотке крови, прежде всего IL-6, концентрация которого значительно вырастает уже в первые часы после операции на открытом сердце и коррелирует с развитием ОПП и высокой смертностью. По мнению некоторых авторов, установлено, что плазменные уровни IL-6 и IL-8 ассоциируются с уровнем смертности у пациентов с ОПП. В настоящее время признано, что хроническое воспаление и активация иммунной системы принимают активное участие в патогенезе сахарного диабета, а также в развитии и прогрессировании диабетической нефропатии. Известно, что воспалительные медиаторы, в том

числе воспалительные цитокины, выступают строгими предикторами развития СД и диабетической нефропатии [2]. В то же время воспаление может играть ключевую роль в возникновении таких нарушений, как резистентность к инсулину, гипергликемия, оксидативный стресс и эндотелиальная дисфункция с вторичными последствиями, играющими важную роль в развитии повреждения почек и прогрессировании заболевания. Цитокины в этом случае регулируют воспалительный иммунный ответ с участием цитокин-ассоциированных сигнальных путей и оказывают плеiotропное действие при повреждении ткани. Основные цитокины, участвующие в патогенезе сахарного диабета – TNF $\alpha$ , IL-6. Кроме того, исследования последних лет показали, что воспаление и, в частности, воспалительные цитокины выступают определяющими в развитии микрососудистых осложнений диабета, в том числе нейропатии, ретинопатии и нефропатии. На основании этих данных авторы работы предположили, что биологическая активность TNF $\alpha$  играет значительную роль в развитии поражения почек при сахарном диабете. Нам удалось подтвердить достаточно высокую экспрессию TNF $\alpha$  у пациентов с СД 2 типа. Также TNF $\alpha$  индуцирует апоптоз и некроз клеток, может способствовать развитию микрососудистых осложнений при диабете, изменяет внутри клубочковый кровоток и скорость клубочковой фильтрации (СКФ) за счет гемодинамического дисбаланса между сосудосуживающими и сосудорасширяющими медиаторами, а также изменяет проницаемость эндотелия. TNF $\alpha$  нарушает распределение рецепторов адгезии, участвующих в межклеточной адгезии, и препятствует образованию стресс-волокон F-актина. В результате происходит перестройка межклеточных связей, что приводит к потере эндотелиальной проницаемости. Считается, что достоверно более высокая сывороточная концентрация IL-17 у пациентов с гипертензией служит признаком иммуновоспалительной активации с аутоиммунным компонентом, однако в нашем исследовании данный факт не подтвердился. Известно, что противовоспалительное действие IL-10 связано с подавлением синтеза провоспалительных цитокинов и усилением функциональной активности Т-лимфоцитов [1]. Одним из главных механизмов осуществления иммунорегуляторной роли IL-10 в плане подавления развития иммунного ответа является его участие в генерации и осуществлении эффекторных функций Т-лимфоцитов. По-видимому биологическая роль данного цитокина заключается в ограничении развития реакций врожденного и

приобретенного иммунитета, способных вызвать повреждение почечной паренхимы. TGF- $\beta$ 1 является мощным профибротическим фактором, а также в норме является важным регулятором клеточной пролиферации, дифференцировки, апоптоза, иммунного ответа, ремоделирования экстрацеллюлярного матрикса. Существует мнение, что TGF- $\beta$ 1 играет роль в прогрессировании гломерулосклероза и интерстициального фиброза. У пациентов с нарушением углеводного обмена с поражением почек и без него отмечается повышенный уровень TGF- $\beta$ 1, коррелирующий с биохимическими показателями: повышением креатинина, снижением скорости клубочковой фильтрации, что отражает участие данного цитокина как основного фактора механизма развития ОПП за счет активации процесса фиброза. Гипергликемия и продукты завершеного гликозилирования увеличивают продукцию TGF- $\beta$ 1 и

могут влиять на толщину базальной мембраны, изменяя фильтрацию и существенно снижая гломерулярную функцию [11]. Стоит отметить, что дефицит TGF- $\beta$ 1 может играть защитную роль при развитии почечных осложнений. Это видно по группе без послеоперационных ренальных осложнений. Таким образом, иммунологические аспекты острого ренального повреждения достаточно многогранны, однако их необходимо учитывать при развитии нарушений функции почек у больных, перенесших кардиохирургическую операцию [3, 9].

### Благодарности

Авторы выражают признательность сотрудникам кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО ТГМУ МЗ РФ, а также благодарность всем пациентам, принявшим участие в исследовании.

### Список литературы / References

1. Бокерия Л.А., Кацья Г.В., Сигаев И.Ю. Результаты полной артериальной реваскуляризации миокарда у больных ишемической болезнью сердца с мультифокальным атеросклерозом // *Анналы хирургии*, 2002. № 6. С. 19-22. [Bockeria L.A., Katsiya G.V., Sigaev I.Yu. Results of complete arterial myocardial revascularization in patients with ischemic heart disease with multifocal atherosclerosis. *Annaly khirurgii = Annals of Surgery*, 2002, Vol. 6, pp. 19-22. (In Russ.)]
2. Маркелова Е.В., Здор В.В., Романчук А.Л., Бирко О.Н. Матриксные металлопротеиназы их взаимосвязь с системой цитокинов, диагностический и прогностический потенциал // *Имунопатология, аллергология, инфектология*, 2016. № 2. С. 11-22. [Markelova E.V., Zdor V.V., Romanchuk A.L., Birko O.N. Matrix metalloproteinases, their relationship with the cytokine system, diagnostic and prognostic potential. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya = Immunopathology, Allergology, Infectology*, 2016, Vol. 2, pp. 11-22. (In Russ.)]
3. Aqeedi R.A., Asaad N., Qahtani A., Singh R., Hajar A., Abdul W.A., Jassim A.S. Acute coronary syndrome in patients with prior coronary artery bypass surgery: observations from a 20-year registry in a Middle-Eastern country. *PLoS ONE*, 2012, Vol. 7, no. 7, pp. 1-10.
4. Bove T., Monaco F., Covello R.D., Zangrillo A. Acute renal failure and cardiac surgery. HSR proceedings. Intensive care cardiovascular anesthesia. *HSR Proc. Intensive Care Cardiovasc. Anesth.*, 2009, Vol. 1, no. 3, pp. 13-21.
5. Eckle T., Hartmann K., Bonney S., Reithel S., Mittelbronn M., Walker L.A., Lowes B.D., Han J., Borchers C.H., Buttrick P.M., Kominsky D.J., Colgan S.P., Eltzchig H.K. Adora2b-elicited Per2 stabilization promotes a HIF-dependent metabolic switch crucial for myocardial adaptation to ischemia. *Nat. Med.*, 2012. Vol. 18, no. 5, pp. 774-782.
6. Haase-Fielitz A., Bellomo R., Devarajan P., Story D., Matalanis G., Dragun D., Haase M. Novel and conventional serum biomarkers predicting acute kidney injury in adult cardiac surgery – a prospective cohort study. *Crit. Care Med.*, 2009, Vol. 37, no. 2, pp. 553-560.
7. Hobson C.E., Sinan Y., Segal M., Schold J., Tribble C., Layon J., Bihorac A. Acute kidney injury is associated with increased long-term mortality after cardiothoracic surgery. *Circulation*, 2009, Vol. 119, pp. 2444-2453.
8. Kidher E., Harling L., Ashrafiyan H., Naase H., Chukwuemeka A., Anderson A., Francis D., Athanasiou T. Pulse wave velocity and neutrophil gelatinase-associated lipocalin as predictors of acute kidney injury following aortic valve replacement. *J. Cardiothorac. Surg.*, 2014, Vol. 9, pp. 1-10.

9. Lamy A., Devereaux P.J., Prabhakaran D., Taggart D.P., Hu S., Paolasso E., Straka Z., Piegas L., Akar A., Jain A. Off-pump or on-pump coronary-artery bypass grafting at 30 days. *New Engl. J. Med.*, 2012, Vol. 366, pp. 1489-1497.
10. Mao H., Katz N., Ariyanon W., Blanca-Martos L., Adybelli Z., Giuliani A., Danesi T., Kim J., Nayak A., Neri M., Virzi G., Brocca A., Scalzotto E., Salvador L., Ronco C. Cardiac surgery-associated acute kidney injury. *Cardiorenal Med.*, 2013, Vol. 3, pp. 178-199.
11. Samra M., Abcar A. False estimates of elevated creatinine. *Perm. J.*, 2012. Vol. 16, pp. 51-52.

---

**Авторы:**

**Маркелова Е.В.** — д.м.н., профессор кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет», г. Владивосток, Россия

**Фомина О.И.** — ассистент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет», г. Владивосток, Россия

**Арсенина В.Ю.** — студентка лечебного факультета ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет», г. Владивосток, Россия

---

**Authors:**

**Markelova E.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Normal and Pathologic Physiology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

**Fomina O.I.**, Assistant Professor, Department of Normal and Pathologic Physiology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

**Arsenina V.Yu.**, Student, General Medicine Faculty, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

---

Поступила 15.08.2020

Отправлена на доработку 01.09.2020

Принята к печати 09.09.2020

---

Received 15.08.2020

Revision received 01.09.2020

Accepted 09.09.2020

## **ПЕРСониФИЦИРОВАННЫЙ АЛГОРИТМ ИММУНОКОРРЕКЦИИ ВНУТРИВЕННЫМИ ИММУНОГЛОБУЛИНАМИ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ОСЛОЖНЕНИЙ ОЖоговой БОЛЕЗНИ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСНОГО АНАЛИЗА ИММУННОГО СТАТУСА**

**Козлова М.Н., Земсков В.М., Шишкина Н.С., Барсуков А.А.,  
Демидова В.С., Алексеев А.А.**

*ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского»  
Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия*

**Резюме.** Препараты внутривенных иммуноглобулинов с доказанной эффективностью широко используются для лечения различных иммунодефицитных, аутоиммунных, воспалительных и инфекционных заболеваний. Однако до настоящего времени не разработаны алгоритмы применения препаратов иммуноглобулинов для коррекции иммунного статуса при ожоговой болезни, профилактики и лечения инфекционно-септических осложнений у тяжелообожженных. В данной работе представлены результаты проспективного контролируемого исследования на 70 пациентах по изучению эффективности применения препаратов иммуноглобулинов для внутривенного введения в комплексном лечении пострадавших с обширными ожогами. Расширенное иммунологическое обследование (более 300 исследований) у данной категории больных на разных стадиях ожоговой болезни включало фенотипический анализ лимфоцитов, гранулоцитов, моноцитов (конститутивные и активационные маркеры, функциональная активность клеток), уровень иммуноглобулинов и кислородного метаболизма фагоцитов. Для анализа результатов учитывали только статистически различающиеся показатели. Отбор больных по использованию внутривенных иммуноглобулинов для профилактики или лечения септических осложнений проводили по разработанной нами ранее формуле прогноза сепсиса, обладающей 95% специфичностью: ЛФ < 9,3%, НК-клетки < 5%, HLA-DR<sup>+</sup> Мн < 50%, IgG < 4,0-6,0 г/л, ЛИИ > 4,0 ед., CD64<sup>+</sup> Гр > 90-100%, П/я Нф > 21%. Иммунозаместительная терапия препаратом «Габриглобин-IgG» в дозе по 50 мл в/в ежедневно для профилактики генерализации инфекции у больных с ожогами в течение 5 дней, а при лечении сепсиса — 10 дней, в сравнении с группами контроля, оказывала выраженное иммуномодулирующее действие, не только восстанавливая исход-

### **Адрес для переписки:**

*Козлова Мария Николаевна  
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский  
центр хирургии имени А.В. Вишневского» Министерства  
здравоохранения РФ  
117997, Россия, Москва, ул. Большая Серпуховская, 27.  
Тел.: 8 (903) 731-91-57.  
E-mail: mnkozlova@rambler.ru*

### **Address for correspondence:**

*Kozlova Maria N.  
A. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery  
117997, Russian Federation, Moscow, Bolshaya  
Serpukhovskaya str., 27.  
Phone: 7 (903) 731-91-57.  
E-mail: mnkozlova@rambler.ru*

### **Образец цитирования:**

*М.Н. Козлова, В.М. Земсков, Н.С. Шишкина,  
А.А. Барсуков, В.С. Демидова, А.А. Алексеев  
«Персонализированный алгоритм иммунокоррекции  
внутривенными иммуноглобулинами для профилактики  
и лечения осложнений ожоговой болезни на основе  
комплексного анализа иммунного статуса»  
// Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23,  
№ 4. С. 523-528.  
doi: 10.46235/1028-7221-459-PAO*

*© Козлова М.Н. и соавт., 2020*

### **For citation:**

*M.N. Kozlova, V.M. Zemskov, N.S. Shishkina,  
A.A. Barsukov, V.S. Demidova, A.A. Alekseev "Personalized  
algorithm of immunocorrection with intravenous  
immunoglobulins for preventing and treating complications of  
burn disease by comprehensively analyzing immune status",  
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii  
Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 4, pp. 523-528.  
doi: 10.46235/1028-7221-459-PAO*

**DOI:** 10.46235/1028-7221-459-PAO

ный дефицит IgG, но и нормализуя дефицит целого ряда ключевых иммунных показателей — общих лимфоцитов, В-клеток и Т-лимфоцитов, естественных киллеров, цитотоксических Т-лимфоцитов. Применение габриглобина для профилактики сепсиса оказалось эффективным в 72% наблюдений (в контроле без препарата — 37%), а при его лечении клинико-иммунологическая эффективность составила 79% (в контроле — 32%). При этом, наряду с общепринятыми иммунными показателями у тяжелообожженных, изучены иммунные маркеры, которые ранее не рассматривались: CD56<sup>+</sup> и CD25<sup>+</sup> моноциты, CD14<sup>+</sup> и CD40<sup>+</sup> гранулоциты, CD40<sup>+</sup> лимфоциты (субпопуляция В-лимфоцитов), различные эффекторные и регуляторные субпопуляции естественных киллеров. Это позволило нам получить принципиально новую информацию о состоянии иммунной системы, воспалении, бактериальных осложнениях у тяжелообожженных пациентов и использовать персонализированный подход иммунокоррекции с использованием различных препаратов внутривенных иммуноглобулинов для эффективного комплексного лечения последствий ожоговой травмы.

*Ключевые слова:* внутривенные иммуноглобулины, ожоговая болезнь, сепсис, иммунодиагностика, иммунокоррекция, ожоги

## PERSONALIZED ALGORITHM OF IMMUNOCORRECTION WITH INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULINS FOR PREVENTING AND TREATING COMPLICATIONS OF BURN DISEASE BY COMPREHENSIVELY ANALYZING IMMUNE STATUS

**Kozlova M.N., Zemskov V.M., Shishkina N.S., Barsukov A.A., Demidova V.S., Alekseev A.A.**

*A. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, Moscow, Russian Federation*

**Abstract.** Intravenous immunoglobulin preparations with proven effectiveness are widely used for treatment of various immunodeficient, autoimmune, inflammatory and infectious diseases. Nevertheless, algorithms for use of immunoglobulin preparations to correct immune status in burn disease, prevention, etc. have not been developed yet. Here we present the results of a prospective controlled study with 70 patients assessing effectiveness of using immunoglobulin preparations for intravenous administration in complex treatment of subjects suffering from extensive burns. Expanded immunological examination (more than 300 studies) in this patient cohort at different stages of burn disease consisted of phenotyping lymphocytes, granulocytes, monocytes (constitutive and activation markers, cell functional activity), immunoglobulin level and phagocyte oxygen metabolism. Data analysis included significant parameters only. Patient selection for using intravenous immunoglobulins to prevent or treat septic complications was performed by using the previously proposed 95%-specificity sepsis prognosis formula: LF < 9.3%, NK cells < 5%, HLA-DR<sup>+</sup> M<sub>n</sub> < 50%, IgG < 4.0-6.0 g/l, LII > 4.0 u, CD64<sup>+</sup> G<sub>y</sub> > 90-100%, N/I NF > 21%. Immunosuppressive therapy with drug “Gabriglobin-IgG” at a dose of 50 ml per day for preventing infection spread in patients with burns for 5 days as well as for treatment of sepsis for 10 days, exerted pronounced immunomodulatory effect compared to control groups not only restoring baseline IgG deficiency, but also normalizing quantitative deficit of key immune parameters such as total lymphocytes, B and T cells, natural killer cells, cytotoxic T lymphocytes. Use of gabriglobin for sepsis prevention was effective in 72% of cases (control group without gabriglobin — 37%), so that clinical and immunological effectiveness was as high as 79% (control group — 32%). At the same time, along with conventional immune indicators in heavily burned patients, immune markers previously underestimated were: CD56<sup>+</sup> and CD25<sup>+</sup> monocytes, CD14<sup>+</sup> and CD40<sup>+</sup> granulocytes, CD40<sup>+</sup> lymphocytes (B cell subset), various effector and regulatory natural killer subsets. It allowed to obtain radically new information about immune system state, inflammation, and bacterial complications in heavily burned patients and apply a personalized approach for immunocorrection by using several intravenous immunoglobulin preparations for effective comprehensive treatment of burn injury-related consequences.

*Keywords:* intravenous immunoglobulins, burn disease, sepsis, immunodiagnostics, immunocorrection, burns

### Актуальность работы

Совершенствование технологии комплексного лечения пострадавших от ожогов с использованием современных методов хирургического лечения, направленных на раннее восстановление кожных покровов, применение инновационных методов интенсивной терапии, ожоговой болезни, включая рациональную антибактериальную, в том числе деэскалационную терапию, позволило значительно уменьшить вероятность развития раневой инфекции, снизить частоту сепсиса и улучшить результаты оказания специализированной медицинской помощи тяжелообожженным. Тем не менее инфекционные осложнения остаются основной причиной тяжести ожоговой болезни и летальных исходов у пострадавших от ожогов [1, 3]. Одним из факторов развития тяжелой инфекции при ожогах является послеожоговая иммуносупрессия, сопряженная с воспалительной реакцией, которая вызывает выраженные изменения иммунной системы организма и приводит к иммунодефициту [5]. В этой связи направленная иммунодиагностика может служить дополнительным инструментом в определении тяжести ожоговой болезни, своевременном выявлении пациентов с высоким риском септических осложнений для обеспечения соответствующей комплексной терапии и иммунокоррекции.

Проблема иммунокорректирующей терапии у тяжелообожженных остается чрезвычайно актуальной и до конца не решенной. Среди наиболее изученных и широко используемых препаратов с доказанной эффективностью для лечения и профилактики различных иммунодефицитных, аутоиммунных, воспалительных и инфекционных заболеваний наибольший интерес представляют препараты человеческого нормального иммуноглобулина для внутривенного введения (ВВИГ). В настоящее время ВВИГ включены в международные рекомендации лечения сепсиса, одобрены FDA для использования не только в качестве заместительной терапии, но и по другим показаниям с противoinфекционной и иммуномодулирующей направленностью [4]. Различные препараты ВВИГ не являются идентичными между собой по составу основного компонента поликлонального, полиспецифического IgG (90-98% в зависимости от препарата) и целостности его Fc-фрагмента, содержат различные концентрации IgA, IgM, субклассов IgG и минорных компонентов (растворимые клеточные рецепторы, цитокины и их антагонисты, молекулы главного комплекса гистосовместимости, молекулярные компоненты Fcγ-фрагментов и др.), которые во многом обеспечивают иммуномодулирующее действие ВВИГ [2]. Целесообразность использо-

вания иммуноглобулина в комплексной терапии у тяжелообожженных связана с его возможностью не только восстанавливать вторичный иммунодефицит основного компонента IgG, но и восполнять широкий спектр опсонизирующих и нейтрализующих антител против различных возбудителей (более 100 типов в человеческих иммуноглобулинах), ограничивать избыточное действие провоспалительных цитокинов, связывать и ускорять выведение эндотоксинов, суперантигенов и аутоиммунных компонентов, предотвращать комплемент-опосредованное повреждение тканей, нивелировать анергию и тем самым снижать риск инфекционных осложнений ожоговой болезни.

Однако до настоящего времени не разработаны алгоритмы применения ВВИГ для коррекции иммунного статуса при ожоговой болезни, профилактики и лечения инфекционно-септических осложнений у тяжелообожженных. В большинстве проведенных исследований не проводилась надлежащая комплексная оценка иммунного статуса и нельзя исключить, что многие пациенты с предсуществующими клеточными или фагоцитарными нарушениями, которые нуждались в других формах иммунотерапии, обоснованно получали препарат ВВИГ.

**Цель работы** – оценить эффективность иммунокорректирующей терапии ВВИГ и разработать персонализированный алгоритм ее проведения на основе комплексного анализа иммунного статуса для профилактики и лечения инфекционно-септических осложнений ожоговой болезни.

### Материалы и методы

В данной работе обобщены результаты проспективного контролируемого исследования у 50 пациентов с ожоговой болезнью по изучению клинико-иммунологической эффективности иммунозаместительной терапии ВВИГ «Габриглобин-IgG» [6]. Также оценена эффективность применения различных режимов, доз введения и других отечественных ВВИГ (Иммуновенин, Имбиоглобулин) у 20 пациентов для профилактики и лечения осложнений ожоговой болезни. Расширенное иммунологическое обследование пациентов на разных стадиях ожоговой болезни проводилось в динамике (более 300 исследований) и включало фенотипический анализ фагоцитарных (нейтрофилы, моноциты) и лимфоидных клеток методом проточной цитометрии в цельной венозной крови (антикоагулянт К<sub>3</sub>ЭДТА) на проточном цитофлуориметре FACSCalibur фирмы Becton Dickinson (США) с панелью моноклональных антител (CD3, CD4, CD8, CD16, CD56, CD21, CD25, CD14, CD11b, CD45, CD54, CD64, CD70, CD40, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>,

CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>), меченых флуорохромами FITC и (или) PE по инструкции фирмы Becton Dickinson (США), с определением иммунорегуляторного индекса CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>. Уровень иммуноглобулинов (А, М, G) в сыворотке крови измеряли методом турбидиметрии на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Screen Master Plus фирмы Hospitex Diagnostics S.r.L. (Италия) с использованием реактивов фирмы Biosystems (Испания). Анализировали кислородный метаболизм фагоцитов индуцированный опсонизированной сывороткой человека зимозаном А фирмы Sigma (США) методом хемилюминесценции (ХЛ) на мультиплетном анализаторе Synergy 2 SLAD производства BioTek Instruments Inc. (США) в цельной крови, с оценкой внутриклеточной генерации активных форм кислорода (АФК) при добавлении люминола фирмы Sigma (США) и внеклеточных АФК при использовании люцигерина фирмы Sigma (США). Клинический анализ крови измеряли на приборе CELL-DYN Ruby фирмы Abbott (США) с определением лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИ), индексов сдвига формулы крови (ИС) и лейкоцитов крови (ИСЛК). Результаты обрабатывали двойным статистическим методом по формуле расстройств иммунной системы (ФРИС) с оценкой степени изменений иммунной системы, и по критерию  $\chi^2$  Пирсона. Для анализа результатов отбирали только статистически различающиеся показатели. Применяли биохимические методы исследования, гематологический и бактериологический анализы, проводилось клинико-инструментальное обследование больных. Иммунодиагностику высокого риска генерализации инфекции и септических осложнений проводили по разработанной нами формуле прогноза сепсиса, обладающей 95%-ной специфичностью. Данная формула состоит из семи маркеров, из которых 4 резко снижены (ЛФ < 9,3%, НК-клетки < 5%, HLA-DR<sup>+</sup> Мн < 50%, IgG < 4,0-6,0 г/л) и 3 резко повышены (ЛИИ > 4,0 ед, CD64<sup>+</sup> Gr 90-100%, П/я Нф > 21%) [7]. Клиническую эффективность применения ВВИГ оценивали с использованием модифицированной шкалы, учитывающей 11 клинико-лабораторных показателей (изменение температуры, лейкоцитоза, пульса и частоты дыхания, АД, общего белка, прокальцитонина и тромбоцитов, протеинурии, СОЭ, степень тяжести клинического состояния), определяли суммарную эффективность (хороший и удовлетворительный эффект) и отсутствие эффекта.

## Результаты и обсуждение

Наиболее выраженные изменения показателей иммунного статуса возникали у тяжелообож-

женных с площадью ожогового поражения более 30% п.т. и наличием глубоких ожогов в сочетании с термоингаляционным поражением на фоне инвазивной раневой инфекции, полиорганной дисфункции. Основные негативные изменения у данной категории больных были сопряжены с резкой эндогенной интоксикацией с возрастанием ЛИИ  $6,2 \pm 2,7$  у. е. до терминальной фазы и токсическим повреждением гранулоцитов, нарушением утилизации бактериальных продуктов фагоцитами на фоне оксидативного стресса с повышением ХЛ в 2,7 раза. При развитии сепсиса отмечено возрастание «септического» маркера CD64<sup>+</sup> Gr > 90%, нарушение презентации антигенов при дефиците HLA-DR<sup>+</sup> Мн до  $41,3 \pm 3,8\%$ , а также сочетанный дефицит гуморального иммунного звена на уровне ключевых иммуноглобулинов IgG  $4,3 \pm 0,8$  г/л, IgM  $0,43 \pm 0,09$  г/л и клеточной киллерной системы – НК-клетки (CD16<sup>+</sup>)  $4,2 \pm 0,6\%$  и Т-киллеры (CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>)  $2,4 \pm 0,4\%$ . Развитие дефицита Т-клеточного иммунного звена (Т-хелперы, Т-цитотоксические лимфоциты) являлось фактором неблагоприятного течения ожоговой болезни и риска летального исхода, особенно при развитии сепсиса.

Для профилактики генерализации инфекции 15 пациентов получили ВВИГ «Габриглобин-IgG» в дозе по 50 мл (2,5 г) в/в ежедневно, курс 5 дней – суммарная доза 250 мл (12,5 г), а при лечении сепсиса у 15 пациентов проведен 10-дневный курс внутривенных инфузий – 500 мл (25 г) препарата по 50 мл ежедневно. Иммунозаместительная терапия габриглобином для профилактики генерализации инфекции и лечения сепсиса у больных с ожогами в сравнении с группой контроля (20 больных) оказывала выраженное иммуномодулирующее действие, не только восстанавливая исходный дефицит IgG, но и нормализуя дефицит целого ряда ключевых иммунных показателей – общих лимфоцитов, В-клеток и Т-лимфоцитов, естественных киллеров, цитотоксических Т-лимфоцитов. Также на фоне применения габриглобина обнаружено достоверное ( $P < 0,05$ ) снижение индексов эндогенной интоксикации (ЛИИ, ИСЛК, ИС) и маркеров иммунной гиперактивации – клетки с экспрессией CD64<sup>+</sup>, CD70<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>, оксидативный стресс фагоцитов. Применение габриглобина для профилактики сепсиса оказалось эффективным в 72% наблюдений (в контроле без габриглобина – 37%), а при его лечении эффективность составила 79% (в контроле – 32%).

Наряду с общепринятыми иммунными показателями у тяжелообожженных изучены иммунные маркеры, которые ранее прицельно не рассматривались: CD56<sup>+</sup> и CD25<sup>+</sup> моноциты, CD14<sup>+</sup> Gr, CD40<sup>+</sup> Лф (субпопуляция 2 – В-Лф) и CD40<sup>+</sup> Gr,

различные эффекторные и регуляторные субпопуляции естественных киллеров: CD56<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>, CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>. Это позволило нам получить принципиально новую информацию о состоянии иммунной системы, воспалении, бактериальных осложнениях у тяжелообожженных пациентов и использовать персонализированный подход в выборе иммунокорректирующей терапии, использовать гибкий режим применения препаратов ВВИГ для эффективного комплексного лечения последствий ожоговой травмы.

Так, у 20 тяжелообожженных пациентов наиболее выраженные положительные изменения клинико-лабораторных и иммунологических параметров отмечены при использовании ВВИГ в более высоких разовых дозах (0,2-0,4 г/кг), рассчитанных на массу тела больного, особенно после проведения курсового лечения в виде продолженных инфузий 3-5 дней подряд при условии своевременного начала иммунозаместительной терапии до развития сепсиса. В ряде наблюдений у 7 пациентов с обширными ожогами более 70% п. т., рефрактерным течением септического процесса, комбинированной травмой и лизисом пересаженных аутодермотрансплантатов потребовались повторные курсы введения ВВИГ (900-

1200 мл) с положительным клинико-иммунологическим эффектом.

## Выводы

1. Способность ВВИГ не только возмещать дефицитные факторы гуморального иммунного ответа, но и оказывать иммуномодулирующий эффект, предотвращать внутрисосудистую активацию системы комплемента, купировать развитие системного воспаления и другие изменения гомеостаза, позволяет рассматривать ВВИГ в качестве эффективного лекарственного средства этиопатогенетической направленности при тяжелой ожоговой травме и септических осложнениях ожоговой болезни.

2. Для достижения наилучшего результата лечения ожоговой болезни на фоне проводимой комплексной терапии, этапного хирургического и местного лечения ожоговых ран терапию ВВИГ следует адаптировать к индивидуальным потребностям пациента, учитывая как тяжесть ожоговой травмы, так и нарушения иммунного статуса.

3. Гибкий режим применения ВВИГ и решение вопроса о необходимости проведения повторных курсов иммунокоррекции должны основываться на персонализированном подходе.

## Список литературы / References

1. Алексеев А.А., Крутиков М.Г., Яковлев В.П. Ожоговая инфекция. Этиология, патогенез, диагностика, профилактика и лечение: монография. М.: Вузовская книга, 2010. 416 с. [Alekseev A.A., Krutikov M.G., Yakovlev V.P. Burn infection. Etiology, pathogenesis, diagnosis, prevention and treatment: monograph]. Moscow: University Book, 2010. 416 p.
2. Durandy A., Kaveri S.V., Kuijpers T.W., Basta M., Miescher S., Ravetch J.V., Rieben R. Intravenous immunoglobulins—understanding properties and mechanisms. *Clin. Exp. Immunol.*, 2009, Vol. 158, Suppl. 1, pp. 2-13.
3. Norbury W., Herndon D.N., Tanksley J., Jeschke M.G., Finnerty C.C. Infection in burns. *Surg. Infect. (Larchmt)*, 2016, Vol. 17, no. 2, pp. 250-255.
4. Perez E.E., Orange J.S., Bonilla F., Chinen J., Chinn I.K., Dorsey M., El-Gamal Y., Harville T.O., Hossny E., Mazer B., Nelson R., Secord E., Jordan S.C., Stiehm E.R., Vo A.A., Ballow M. Update on the use of immunoglobulin in human disease: a review of evidence. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2017, Vol. 139 (3S), pp. 1-46.
5. Stanojic M., Vinaik R., Jeschke M.G. Status and challenges of predicting and diagnosing sepsis in burn patients. *Surg. Infect. (Larchmt)*. 2018, Vol. 19, no. 2, pp. 168-175.
6. Zemskov V.M., Alekseev A.A., Kozlova M.N., Shiskina N.S., Bleykhman D.A., Zemskov A.M., Suchkov S.V. Changes in the immune system depending on the stage of burn disease and the area of thermal destruction. Immunoglobulin replacement therapy with gabriglobin. *Int. J. Recent Sci. Res.*, 2017, Vol. 8, Iss. 2, pp. 15653-15662.
7. Zemskov V.M., Alekseev A.A., Gnatenko D.A., Kozlova M.N., Shishkina N.S., Zemskov A.M., Zhegalova I.V., Bleykhman D.A., Bahov N.I., Suchkov S.V. Composite biomarker panel as a highly informative and reliable tool for predicting septic complications. *Jacobs J. Biomarkers*, 2016, Vol. 2, no. 1, 016, pp. 1-10.

---

### Авторы:

**Козлова М.Н.** — к.м.н., старший научный сотрудник  
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский  
центр хирургии имени А.В. Вишневского»  
Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

### Authors:

**Kozlova M.N.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate,  
A. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery,  
Moscow, Russian Federation

**Земсков В.М.** — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник, руководитель группы клинической иммунологии КДЛ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Шишкина Н.С.** — младший научный сотрудник клинко-диагностической лаборатории ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Барсуков А.А.** — к.м.н., старший научный сотрудник клинко-диагностической лаборатории ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Демидова В.С.** — д.б.н., заведующая клинко-диагностической лабораторией ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Алексеев А.А.** — д.м.н., профессор, заместитель директора ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Zemskov V.M.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Clinical Immunology group, A. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, Moscow, Russian Federation

**Shishkina N.S.**, Junior Research Associate, Clinical and Diagnostic Laboratory, A. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, Moscow, Russian Federation

**Barsukov A.A.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Clinical and Diagnostic Laboratory, A. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, Moscow, Russian Federation

**Demidova V.S.**, PhD, MD (Biology), Head, Clinical and Diagnostic Laboratory, A. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, Moscow, Russian Federation

**Alekseev A.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Deputy Director, A. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, Moscow, Russian Federation

---

Поступила 19.08.2020  
Принята к печати 07.09.2020

---

Received 19.08.2020  
Accepted 07.09.2020

## ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОГО СТАТУСА ПРИ СОТряСЕНИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ

Норка А.О.<sup>1,3</sup>, Воробьев С.В.<sup>1,6</sup>, Кузнецова Р.Н.<sup>3,4</sup>, Серебрякова М.К.<sup>2</sup>, Кудрявцев И.В.<sup>2,3</sup>, Коваленко С.Н.<sup>5</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup> ФБУН «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

<sup>5</sup> ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны РФ, Санкт-Петербург, Россия

<sup>6</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** Черепно-мозговая травма является одним из наиболее распространенных видов повреждений, при этом в общей структуре травмы преобладают ее легкие формы. В настоящее время известно, что в ответ на повреждение головного мозга запускается реакция иммунной системы, но его роль в формировании клинических проявлений, возможных осложнений и последствий остается малоизученной проблемой до настоящего времени. Что создает необходимость в оценке клеточного иммунитета у пациентов с ЧМТ различной степени тяжести в остром периоде заболевания с последующим изучением взаимосвязи установленных изменений. В настоящее время считается, что иммунная система играет ведущую роль в функции головного мозга.

Основой для этого является то, что существует взаимосвязь между клетками иммунной системы на периферии и мозгом, и эта связь усиливается в ответ на иммунный ответ. Кроме того, воспаление, опосредованное клетками иммунитета, оказывает не только нейродеструктивные эффекты, но и участвует в восстановлении поврежденной нервной ткани.

С применением многоцветного цитометрического анализа в рамках данной работы было проведено исследование по определению количества основных субпопуляций CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> лимфоцитов, Т-хелперов центральной (СМ, CD45RA-CD62L<sup>+</sup>) и эффекторной (ЕМ, CD45RA-CD62L<sup>-</sup>) памяти.

### Адрес для переписки:

Норка Анна Олеговна  
ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский  
государственный медицинский университет  
имени академика И.П. Павлова» Министерства  
здравоохранения РФ  
197022, Россия, Санкт-Петербург,  
ул. Льва Толстого, 6-8.  
Тел.: 8 (911) 218-85-00.  
E-mail: norka-anna@mail.ru

### Address for correspondence:

Norka Anna O.  
First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University  
197022, Russian Federation, St. Petersburg,  
L. Tolstoy str., 6-8.  
Phone: 7 (911) 218-85-00.  
E-mail: norka-anna@mail.ru

### Образец цитирования:

А.О. Норка, С.В. Воробьев, Р.Н. Кузнецова,  
М.К. Серебрякова, И.В. Кудрявцев, С.Н. Коваленко  
«Особенности изменений показателей иммунного  
статуса при сотрясении головного мозга в остром  
периоде» // Российский иммунологический журнал,  
2020. Т. 23, № 4. С. 529-536.  
doi: 10.46235/1028-7221-529-FAI

© Норка А.О. и соавт., 2020

### For citation:

A.O. Norka, S.V. Vorobyev, R.N. Kuznetsova,  
M.K. Serebriakova, I.V. Kudryavtsev, S.N. Kovalenko  
“Features of altered immune status in acute brain concussion”,  
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii  
Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 4, pp. 529-536.  
doi: 10.46235/1028-7221-529-FAI

DOI: 10.46235/1028-7221-529-FAI

Относительное количество Th17 (CXCR5<sup>-</sup>CXCR3<sup>-</sup>CCR6<sup>+</sup>CCR4<sup>-</sup>), DP Th17(CXCR5<sup>-</sup>CXCR3<sup>+</sup>CCR6<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup>) среди CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T-клеток достоверно повышено ( $p < 0,05$ ) в сравнение с показателями в контрольной группе, с свою очередь субпопуляции Th1/Th17(CXCR5<sup>-</sup>CXCR3<sup>+</sup>CCR6<sup>+</sup>CCR4<sup>-</sup>) достоверно повышены ( $p < 0,05$ ) среди клеток EM и CM в сравнение с контрольной группой. Также выявлено достоверное снижение относительного количества Th1 (CXCR5<sup>-</sup>CXCR3<sup>+</sup>CCR6<sup>-</sup>CCR4<sup>-</sup>) среди CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, EM и CM T-лимфоцитов в сравнении с показателями условно здоровых доноров. Полученные на данный момент результаты позволяют рассматривать иммунные реакции в числе ключевых звеньев патогенеза ЧМТ в рамках сотрясения головного мозга и ее последствий.

Таким образом, сотрясение головного мозга оказывают воздействие на клеточный иммунный ответ, вызывая снижение или повышение определенных субпопуляций клеток в CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> лимфоцитов, T-хелперов центральной и эффекторной памяти.

Выявленные изменения у пациентов с сотрясением головного мозга в острый период возможно предопределяют течение заболевания и развития осложнений в отдаленном периоде, что требует усовершенствования лечебного и реабилитационного алгоритмов у данной категории больных.

*Ключевые слова: проточная цитометрия, черепно-мозговая травма (ЧМТ), сотрясение головного мозга, воспаление, клеточное звено системы иммунитета, субпопуляции CD4<sup>+</sup> лимфоцитов*

## FEATURES OF ALTERED IMMUNE STATUS IN ACUTE BRAIN CONCUSSION

Norka A.O.<sup>a,c</sup>, Vorobyev S.V.<sup>a,f</sup>, Kuznetsova R.N.<sup>c,d</sup>, Serebriakova M.K.<sup>b</sup>, Kudryavtsev I.V.<sup>b,c</sup>, Kovalenko S.N.<sup>e</sup>

<sup>a</sup> St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>b</sup> Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>c</sup> First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>d</sup> St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>e</sup> S. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>f</sup> V. Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** Traumatic brain injury (TBI) is one of the most common type of injuries, so that its mild form prevails in overall injury pattern. Currently, it is known that brain injury triggers immune system response, but its role in translating into clinical manifestations, potential complications and sequelae remains poorly understood. It necessitates assessment of cellular immunity in patients with acute TBI of varying severity followed by investigating relationship between identified changes. It is now believed that immune system plays a lead role in brain functioning. It may be accounted for by interplay between peripheral immune cells and the brain, which may become augmented during developing immune response.

Here we quantitatively assessed composition of major peripheral blood helper T cell subsets in TBI patients by flow cytometry measuring percentage of central (CM, CD45RA<sup>-</sup>CD62L<sup>+</sup>) and effector (EM, CD45RA<sup>+</sup>CD62L<sup>-</sup>) memory Th cells. It was found that percentage of Th17 (CXCR5<sup>-</sup>CXCR3<sup>-</sup>CCR6<sup>+</sup>CCR4<sup>-</sup>), DP Th17 (CXCR5<sup>-</sup>CXCR3<sup>+</sup>CCR6<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup>) within CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T cell population were significantly increased ( $p < 0.05$ ) compared to control group. Moreover, percentage of Th1/Th17 subset (CXCR5<sup>-</sup>CXCR3<sup>+</sup>CCR6<sup>+</sup>CCR4<sup>-</sup>) was significantly increased ( $p < 0.05$ ) within EM and CM T cell subsets compared to control group. In addition, percentage of Th1 (CXCR5<sup>-</sup>CXCR3<sup>+</sup>CCR6<sup>-</sup>CCR4<sup>-</sup>) was also significantly elevated in CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, EM and CM T cells compared to apparently healthy subjects. Hence, the data obtained allow to consider immune reactions among crucial arms in TBI pathogenesis related to concussion and its consequences. Thus, brain

concussion affects cellular immune response triggering distortion in CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T cell composition as well as percentage of helper central and effector memory T cells.

Hence, the changes revealed in patients with acute brain concussion may predetermine disease course and developing long-term complications, which requires advancing therapeutic and rehabilitation protocols in such patients.

*Keywords: flow cytometry, traumatic brain injury (TBI), concussion, inflammatory, cellular immune status, subpopulations of CD4<sup>+</sup> lymphocytes*

## Введение

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) является одной из наиболее распространенных патологий центральной нервной системы в мире. При этом ее удельный вес составляет 25-40% от всех видов травм [5]. Применение рутинных методов структурной нейровизуализации, таких как компьютерная и магнитно-резонансная томография (КТ и МРТ), зачастую не позволяет своевременно оценить тяжесть произошедшей травмы мозга. Это характерно, в первую очередь, для сотрясения головного мозга, при которой наблюдается субмикроскопический уровень повреждения [2, 3]. Данное положение предопределяет необходимость поиска новых методов диагностики ЧМТ и прогнозирования риска развития осложнений.

В настоящее время большое внимание уделяется поиску биологических маркеров, которые бы отражали протекающие в травмированном мозге патохимические и патофизиологические процессы. Одним из таких перспективных направлений является исследование иммунного статуса пациентов в остром периоде травмы. В настоящее время считается, что иммунная система играет ведущую роль в функции головного мозга [5, 11].

Основой для этого является то, что существует взаимосвязь между клетками иммунной системы на периферии и мозгом, и эта связь усиливается в ответ на иммунный ответ [7, 9].

Современные данные указывают, что Т-клетки играют роль как в формировании вторичных повреждений, так и в механизмах восстановления.

Чтобы проанализировать характер изменений субпопуляций Т-клеток при ЧМТ, методом проточной цитофлуориметрии были исследованы субпопуляции Т-лимфоцитов у больных с сотрясением головного мозга.

Актуальность исследования предопределяется необходимостью поиска новых методов диагностики ЧМТ и прогнозирования риска развития осложнений.

## Материалы и методы

Объектом исследования служила венозная кровь условно здоровых доноров, полученная пу-

тем пункции периферической вены и собранная в вакуумные пробирки с содержанием К<sub>3</sub>ЭДТА. Все исследования проводились в день взятия крови. В рамках данного исследования было обследовано 52 практически здоровых человека (29 мужчин и 23 женщины) в возрасте 18-65 лет, не имеющих ЧМТ, а также любой патологии, способной приводить к изменению иммунологического статуса, и 22 пациента с диагнозом сотрясение головного мозга. Тяжесть ЧМТ устанавливалась в соответствии с установленными критериями. При этом наличие сопутствующей тяжелой повреждений иных органов и соматической патологии, а также сопутствующие интоксикации являются критерием исключения для набора в группу.

Подготовку образцов периферической крови и настройку проточного цитофлуориметра проводили в соответствии с рекомендациями, изложенными Байдун и соавт. [4]. Для выявления Th использовали антитела против CD3 (клон UCST1) и CD4 (клон 13B8.2), для разделения CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> лимфоцитов на отдельные субпопуляции использовали антитела против CD45RA (клон 2H4LDH11LDB9 (2H4)) и CD62L (клон DREG56) с использованием описанной ранее «тактики гейтирования» основных субпопуляций [6]. Субпопуляция «наивных» (N) Th обладала фенотипом CD45RA<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>, клетки с фенотипами CD45RA<sup>-</sup>CD62L<sup>+</sup> и CD45RA<sup>-</sup>CD62L<sup>-</sup> соответствовали Т-хелперам центральной (СМ) и эффекторной (ЕМ) памяти, а «терминально-дифференцированные» CD45RA<sup>+</sup> позитивные эффекторные Т-хелперы (ТЕМРА) определялись как CD45RA<sup>+</sup>CD62L<sup>-</sup>. На всех указанных выше субпопуляциях Th, находившихся на разных стадиях дифференцировки, при помощи моноклональных антител анализировали уровень экспрессии следующих хемокиновых рецепторов: CCR4 (CD194, клон L291H4), CCR6 (CD196, клон G034E3), CXCR3 (CD183, клон G025H7) и CXCR5 (CD185, клон J252D4). Окраску антителами производили в соответствии с рекомендациями производителей. Подбор оптимальных комбинаций антител и конъюгированных с ними флуорохромов производили на основании принципов, изложенных в литературе [1].

**ТАБЛИЦА 1. ОСНОВНЫЕ СУБПОПУЛЯЦИИ CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>Т-ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ, ПОЛУЧЕННЫЕ ПРИ ПОМОЩИ ПОЭТАПНОГО «ГЕЙТИРОВАНИЯ» НА ОСНОВАНИИ ПЕРВОНАЧАЛЬНОЙ ОЦЕНКИ ЭКСПРЕССИИ CD45RA И CD62L**

TABLE 1. MAIN SUBPOPULATIONS OF CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T LYMPHOCYTES OF PERIPHERAL BLOOD OF CONVENTIONALLY HEALTHY DONORS OBTAINED BY STEP-BY-STEP GATING ON THE BASIS OF INITIAL ASSESSMENT OF EXPRESSION CD45RA AND CD62L

Показатели Indicators	Контроль Control n = 52	Пациенты с сотрясением головного мозга Patients with brain concussion n = 22	
	M±SD	M±SD	p
	1	2	3
Th17 (CXCR5 <sup>+</sup> CXCR3 <sup>+</sup> CCR6 <sup>+</sup> CCR4 <sup>+</sup> ) abs	1,5460±0,6533	3,097±2,800	0,0019
Th17 CXCR5 <sup>+</sup> CXCR3 <sup>+</sup> CCR6 <sup>+</sup> CCR4 <sup>+</sup> ) %	13,190±4,456	10,23±3,25	0,0129
Th1 CXCR5 <sup>+</sup> CXCR3 <sup>+</sup> CCR6 <sup>+</sup> CCR4 <sup>+</sup> ) abs	13,190±4,456	10,23±3,25	0,0129
Th1/Th17 (CXCR5 <sup>+</sup> CXCR3 <sup>+</sup> CCR6 <sup>+</sup> CCR4 <sup>+</sup> ) abs	4,329±4,329	11,190±5,385	0,0358
Th1/Th17 (CXCR5 <sup>+</sup> CXCR3 <sup>+</sup> CCR6 <sup>+</sup> CCR4 <sup>+</sup> ) %	34,19±10,12	36,880±9,372	0,3802
DP Th17 (CXCR5 <sup>+</sup> CXCR3 <sup>+</sup> CCR6 <sup>+</sup> CCR4 <sup>+</sup> ) abs	6,263±2,331	6,720±2,621	0,4887
DP Th17 (CXCR5 <sup>+</sup> CXCR3 <sup>+</sup> CCR6 <sup>+</sup> CCR4 <sup>+</sup> ) %	6,263±2,331	23,22±5,928	0,0355

В рамках данной работы основное внимание было уделено Т-хелперам центральной (СМ, CD45RA<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>), которые способны к рециркуляции в пределах лимфоидной ткани, что позволяет охарактеризовать процессы дифференцировки и «поляризации» CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> лимфоцитов, и эффекторной (ЕМ, CD45RA<sup>+</sup>CD62L<sup>-</sup>) памяти.

В работе использовали антитела против CD3, CD4, CD45RA и CD62L, конъюгированные с APC-AF750, Pacific Blue, FITC и PE соответственно (Beckman Coulter, США), а антитела против CCR4, CCR6, CXCR3 и CXCR5 были конъюгированы с PerCP/Cy5.5, PE/Cy7, APC и Brilliant Violet 510<sup>TM</sup> соответственно (Biolegend, США). Анализ образцов проводили на проточном цитофлуориметре Navios<sup>TM</sup> (Beckman Coulter, США), оснащенный тремя диодными лазерами 405, 488 и 638 нм. Обработку цитофлуориметри-

ческих данных проводили при помощи программ Navios Software v. 1.2 и Kaluza<sup>TM</sup> v.1.2 (Beckman Coulter, США). Статистическую обработку проводили при помощи программного обеспечения Statistica 8.0 (StatSoft, США) и GraphPad Prism 6.00 for MAC (GraphPad Prism Software Inc., США).

## Результаты и обсуждение

Т-хелперы (Th) с фенотипом CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> играют ведущую роль в регуляции реакций врожденного и приобретенного иммунитета человека как на локальном, так и на системном уровнях, что выражается в высокой гетерогенности данной популяции. Их клиническая значимость показана при весьма широком круге заболеваний, когда их содержание может являться значимым маркером для определения тяжести патоло-

**ТАБЛИЦА 2. ОСНОВНЫЕ СУБПОПУЛЯЦИИ СМ Т-ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ, ПОЛУЧЕННЫЕ ПРИ ПОМОЩИ ПОЭТАПНОГО «ГЕЙТИРОВАНИЯ» НА ОСНОВАНИИ ПЕРВОНАЧАЛЬНОЙ ОЦЕНКИ ЭКСПРЕССИИ CD45RA И CD62L**

TABLE 2. MAIN SUBPOPULATIONS OF CM T-LYMPHOCYTES IN PERIPHERAL BLOOD OF CONDITIONALLY HEALTHY DONORS OBTAINED BY STEP-BY-STEP GATE BASED ON INITIAL ASSESSMENT OF EXPRESSION CD45RA AND CD62L

Показатели Indicators	Контроль Control n = 52	Пациенты с сотрясением головного мозга Patients with brain concussion n = 22	
	M±SD	M±SD	p
	1	2	3
Th17 (CXCR5-CXCR3-CCR6 <sup>+</sup> CCR4 <sup>-</sup> ) abs	2,3960±0,9754	3,275±1,341	0,0209
Th17 CXCR5-CXCR3-CCR6 <sup>+</sup> CCR4 <sup>-</sup> ) %	35,880±9,298	34,210±8,550	0,6168
Th1 CXCR5-CXCR3 <sup>+</sup> CCR6 <sup>-</sup> CCR4 <sup>-</sup> ) abs	13,190±4,456	10,23±3,25	0,0129
Th1/Th17 (CXCR5-CXCR3 <sup>+</sup> CCR6 <sup>-</sup> CCR4 <sup>-</sup> ) abs	10,510±4,357	14,370±4,591	0,002
Th1/Th17 (CXCR5-CXCR3 <sup>+</sup> CCR6 <sup>-</sup> CCR4 <sup>-</sup> ) %	28,640±9,143	32,490±8,008	0,2556
DP Th17 (CXCR5-CXCR3 <sup>+</sup> CCR6 <sup>+</sup> CCR4 <sup>+</sup> ) abs	10,47±2,21	36,880±9,372	0,8637
DP Th17 (CXCR5-CXCR3 <sup>+</sup> CCR6 <sup>+</sup> CCR4 <sup>+</sup> ) %	28,840±5,489	25,460±5,889	0,0454

гических состояний и оценки эффективности применяемой терапии. Так, нами были выявлены изменения субпопуляционного состава Т-клеток среди CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, EM- и CM-клеток у больных сотрясением головного мозга, что позволили поставить вопрос о значимости определения этих клеточных субпопуляций в клинической практике.

Относительное количество Th17 (CXCR5-CXCR3-CCR6<sup>+</sup>CCR4<sup>-</sup>), DP Th17 (CXCR5-CXCR3<sup>+</sup>CCR6<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup>) среди CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>Т-клеток (табл. 1), среди EM-клеток (табл. 2) и CM-клеток (табл. 3) достоверно повышено (p < 0,05) в сравнение с показателями в контрольной группе. В случае субпопуляции Th1/Th17 (CXCR5-CXCR3<sup>+</sup>CCR6<sup>-</sup>CCR4<sup>-</sup>) среди клеток EM и CM выявлено достоверное повышение (p < 0,05) в сравнении с контрольной группой. Известно,

что Th17 способны к секреции широкого спектра цитокинов (IL-17A, IL-17F IL-21, IL-22, IL-25, IL-26, TNFα) и хемокинов. Следует отметить, что именно под действием IL-17 и IL-22, рецепторы для которых представлены на эндотелиальных клетках, входящих в состав гемато-энцефалического барьера, нарушается структура плотных контактов. Кроме того, большая часть цитокинов, секретируемая Th17, имеет провоспалительную активность. Отмечена их роль в патогенезе различных аутоиммунных заболеваний [10]. Учитывая, что миелинизация нервных волокон играет важную роль в обеспечении двигательной активности и нейропластичности, аутоиммунное повреждение миелина может негативно влиять на восстановление после ЧМТ, обуславливая развитие когнитивных расстройств и церебральной атрофии. Ряд авторов склоняются к мнению, что

**ТАБЛИЦА 3. ОСНОВНЫЕ СУБПОПУЛЯЦИИ EM Т-ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ, ПОЛУЧЕННЫЕ ПРИ ПОМОЩИ ПОЭТАПНОГО «ГЕЙТИРОВАНИЯ» НА ОСНОВАНИИ ПЕРВОНАЧАЛЬНОЙ ОЦЕНКИ ЭКСПРЕССИИ CD45RA И CD62L**

**TABLE 3. MAIN SUBPOPULATIONS OF EM T LYMPHOCYTES OF PERIPHERAL BLOOD OF CONDITIONALLY HEALTHY DONORS OBTAINED BY STEP-BY-STEP GATING BASED ON INITIAL ASSESSMENT OF EXPRESSION CD45RA AND CD62L**

Показатели Indicators	Контроль Control n = 52	Пациенты с сотрясением головного мозга Patients with brain concussion n = 22	
	M±SD	M±SD	p
	1	2	3
Th17 (CXCR5-CXCR3-CCR6 <sup>+</sup> CCR4 <sup>-</sup> ) abs	2,3960±0,9754	3,275±1,341	0,0209
Th17 (CXCR5-CXCR3-CCR6 <sup>+</sup> CCR4 <sup>-</sup> ) %	35,880±9,298	34,210±8,550	0,6168
Th1 (CXCR5-CXCR3 <sup>+</sup> CCR6-CCR4 <sup>-</sup> ) abs	13,190±4,456	10,23±3,25	0,0129
Th1/Th17 (CXCR5-CXCR3 <sup>+</sup> CCR6 <sup>+</sup> CCR4 <sup>-</sup> ) abs	10,510±4,357	14,370±4,591	0,002
Th1/Th17 (CXCR5-CXCR3 <sup>+</sup> CCR6 <sup>+</sup> CCR4 <sup>-</sup> ) %	28,640±9,143	32,490±8,008	0,2556
DP Th17 (CXCR5-CXCR3 <sup>+</sup> CCR6 <sup>+</sup> CCR4 <sup>+</sup> ) abs	10,47±2,21	36,880±9,372	0,8637
DP Th17 (CXCR5-CXCR3 <sup>+</sup> CCR6 <sup>+</sup> CCR4 <sup>+</sup> ) %	28,840±5,489	25,460±5,889	0,0454

клетки Th17-типа являются не столько провоспалительными, сколько выступают в роли модуляторов иммунного ответа [12]. Относительное количество Th1 (CXCR5-CXCR3<sup>+</sup>CCR6-CCR4) среди CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, EM и CM Т-лимфоцитов достоверно снижено в сравнении с показателями условно здоровых доноров. Следует отметить, что Th1 отвечают за хроническое воспаление, обеспечивая тем самым помощь тканевым макрофагам и цитотоксическим Т-клеткам, и синтезируют

ряд цитокинов (IFN $\gamma$ , IL-2, TNF $\alpha$ , TNF $\beta$ ), имеющих провоспалительный характер.

Таким образом, сотрясение головного мозга оказывает воздействие на клеточный иммунный ответ и, возможно, эти изменения могут быть предиктором формирования клинической картины посттравматической энцефалопатии в отдаленном периоде, что требует усовершенствования лечебного и реабилитационного алгоритмов у данной категории больных.

## Список литературы / References

1. Елезов Д.С., Кудрявцев И.В., Арсентьев Н.А., Басин В.В., Эсауленко Е.В., Семенов А.В., Тотолян А.А. Анализ популяций Т-хелперных клеток памяти, экспрессирующих хемокиновые рецепторы CXCR3 и CCR6, в периферической крови больных хроническим вирусным гепатитом С // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2015. Т. 160, № 8. С. 204-208. [Elezov D.S., Kudryavtsev I.V., Arsentyev N.A., Basin V.V., Esaulenko E.V., Semenov A.V., Totolyan A.A. Analysis of populations of memory T-helper cells expressing CXCR3 and CCR6 chemokine receptors in peripheral blood of patients with chronic viral hepatitis C.

*Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2015, Vol. 60, no. 2, pp. 238-242.

2. Зурочка А.В., Хайдуков С.В., Кудрявцев И.В., Черешнев В.А. Проточная цитометрия в медицине и биологии. Екатеринбург: РИО УрО РАН, 2013. 552 с. [Zurochka A.V., Khaidukov S.V., Kudryavtsev I.V., Chereshev V.A. Flow cytometry in medicine and biology]. Yekaterinburg: RIO UrB RAS, 2013. 552 p.

3. Лихтерман Л.Б. Черепно-мозговая травма. Диагностика и лечение. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 488 с. [Likhterman L.B. Traumatic brain injury. Diagnostics and treatment]. Moscow: GEOTAR- Media, 2014. 488 p.

4. Потапов А.А., Лихтерман Л.Б., Кравчук А.Д., Корниенко В.Н., Захарова Н.Е., Ошоров А.В., Филатов М.М. Современные подходы к изучению и лечению черепно-мозговой травмы // *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*, 2010. Т. 4, № 1. С. 4-12. [Potapov A.A., Likhterman L.B., Kravchuk A.D., Kornienko V.N., Zakharova N.E., Oshorov A.V., Filatova M.M. Modern approaches to the management of traumatic brain injury. *Annaly klinicheskoy i eksperimentalnoy nevrologii = Annals of Clinical and Experimental Neurology*, 2010, Vol. 4, no. 1, pp. 4-12. (In Russ.)]

5. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян Арег А. Стандартизованная технология «исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» (проект) // *Медицинская иммунология*, 2012. Т. 14, № 3. С. 255-268. [Khaidukov S.V., Baydun L.A., Zurochka A.V., Totolian Areg A. Standardized technology "study of the subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes using flow cytofluorimeters-analyzers" (project). *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, Vol. 14, no. 3, pp. 255-268. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2012-3-255-268.

6. Щеголева Л.С., Поповская Е.В., Пашкова Е.Ю. Иммунологическая реактивность в первые сутки после черепно-мозговой травмы // *Экология человека*, 2017. № 5. С. 47-53. [Shchegoleva L.S., Popovskaya E.V., Shashkova E.Yu. Immunologic reactivity in the first days after the craniocerebral trauma. *Ekologiya cheloveka = Human Ecology*, 2017, no. 5, pp. 47-53. (In Russ.)]

7. Annunziato F., Cosmi L., Santarlasci V., Phenotypic and functional features of human Th17 cells. *J. Exp. Med.*, 2007, Vol. 204, pp. 1849-1861.

8. Afzali B., Lombardi G., Lecher R.I., Lord G.M. The role of T helper 17 (Th17) and regulatory T cells (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease. *J. Clin. Exp. Immunol.*, 2007, Vol. 148, pp. 32-46.

9. Dantzer R., O'Connor J.C., Freund, G.G., Johnson R.W., Kelley K.W. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2008, Vol. 9, no. 1, pp. 46-56.

10. Melikyan Z.A., Mikadze Yu.V., Potapov A.A. Neurovisualization and neuropsychological studies in the clinic of traumatic and brain injuries of mild to medium severity. *J. Nevrol. and Psychiatrist*, 2010., Vol. 110, no. 12, pp. 100-111.

11. Nizamutdinov D., Shapiro L.A. Overview of traumatic brain injury: An immunological context. *Brain Sci.*, 2017, Vol. 7, no. 1, 11. doi: 10.3390/brainsci7010011.

12. Schwartz M., Shechter R. Protective autoimmunity functions by intracranial immunosurveillance to support the mind: the missing link between health and disease. *Mol. Psychiatry*, 2010, Vol. 15, pp. 342-354.

---

#### Авторы:

**Норка А.О.** — старший лаборант кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»; ординатор кафедры неонатологии с курсами неврологии и акушерства-гинекологии ФП и ДПО ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет», Санкт-Петербург, Россия

**Воробьев С.В.** — д.м.н., главный научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории неврологии и нейрореабилитации ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения РФ; профессор кафедры клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

#### Authors:

**Norka A.O.**, Senior Laboratory Assistant, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University; Resident, Department of Neonatology with courses of neurology and obstetrics-gynecology at FP and DPO, St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

**Vorobyev S.V.**, PhD, MD (Medicine), Chief Research Associate, Research Laboratory of Neurology and Neurorehabilitation, V. Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russian Federation; Professor, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

**Кузнецова Р.Н.** — к.м.н., доцент кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»; врач аллерголог-иммунолог Медицинского центра ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

**Серебрякова М.К.** — аспирант, научный сотрудник, отдел иммунологии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

**Кудрявцев И.В.** — к.б.н., старший научный сотрудник отдела иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; доцент кафедры иммунологии ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Коваленко С.Н.** — преподаватель кафедры нейрохирургии ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Kuznetsova R.N.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University; Allergist-Immunologist, Medical Centre, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

**Serebriakova M.K.**, Graduate Student, Research Associate, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

**Kudryavtsev I.V.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine; Associate Professor, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

**Kovalenko S.N.**, Lecturer, Department of Neurosurgery S. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation

---

Поступила 14.09.2020  
Принята к печати 16.09.2020

Received 14.09.2020  
Accepted 16.09.2020

# ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Статьи представляются в редакцию через систему электронного издательства (<http://rusimmun.ru>) в соответствии с требованиями журнала «Российский иммунологический журнал» и «Инструкцией по подготовке и отправке статьи», представленной на сайте.

В журнал принимаются следующие виды публикаций:

## Оригинальная статья

Статья должна описывать результаты законченного исследования. Допускается объем статьи до 20 машинописных страниц, включая рисунки, таблицы. Статья должна содержать: 1) введение; 2) материалы и методы; 3) результаты исследований; 4) обсуждение результатов; 5) благодарности.

- **Введение** содержит обоснование цели и задач проведенного исследования.
- **Материалы и методы** могут излагаться в виде отдельных фрагментов с короткими подзаголовками.
- Все нетрадиционные модификации методов должны быть описаны с достаточной степенью подробности. Для всех используемых в работе реактивов, животных, клеточных культур и т.д. необходимо точно указывать производителей и/или источники получения (с названиями страны, фирмы, института).
- **Результаты** описываются в логической последовательности в виде отдельных фрагментов, разделенных подзаголовками, без элементов обсуждения, без повторения методических подробностей, без дублирования цифровых данных, приведенных в таблицах и рисунках.
- В **обсуждении** проводится детальный анализ полученных данных в сопоставлении с данными литературы, что служит обоснованием выводов и заключений авторов.
- Раздел «**Благодарности**» не является обязательным, но крайне желателен. В этом разделе авторы могут выразить признательность организации, субсидировавшей проведение исследований, коллегам, консультировавшим работу в процессе ее выполнения и/или написания, а также техническому персоналу за помощь в выполнении исследований. Благодарности за предоставление специфических реактивов или оборудования, как правило, помещаются в разделе «Материалы и методы».

## Краткие сообщения

Журнал публикует небольшие по объему статьи, которые имеют безусловную новизну и значимость. Эти статьи проходят ускоренное рецензирование и публикуются в короткие сроки. Общий объем краткого сообщения ограничен 8 машинописными страницами, количество рисунков и/или таблиц не может быть более 3, а список использованных литературных источников не должен превышать 15. Титульный лист оформляется, как описано выше. Разделы краткого сообщения аналогичны вышеописанным разделам оригинальной статьи, но не выделяются заголовками и подзаголовками, результаты могут быть изложены вместе с обсуждением.

## Обзорные статьи и лекции

Обзорные статьи и лекции в основном заказываются редакцией или могут быть рекомендованы одним из членов редколлегии. Более подробную

информацию о правилах оформления этих статей можно узнать в редакции

## Библиографические стандарты описания цитируемых публикаций

### Описание статьи из журнала:

Варюшина Е.А., Александров Г.В., Сазонова Т.А., Симбирцев А.С. Изучение влияния местного применения рекомбинантного человеческого интерлейкина-1 $\beta$  на репарацию язвенных повреждений слизистой оболочки желудка // Цитокины и воспаление, 2012. Т. 11, № 1. С. 64-69. [Varyushina E.A., Alexandrov G.V., Sazonova T.A., Simbirtsev A.S. Study of the effect of local application of recombinant human interleukin-1 $\beta$  in the repair of ulcerative lesions of gastric mucosa. Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation, 2012, Vol. 11, no. 1, pp. 64-69. (In Russ.)]

### Описание статьи из книги (монографии):

Соколова Г.Н., Потапова В.Б. Клинико-патогенетические аспекты язвенной болезни желудка. М.: Анахарсис, 2009. 328 с. [Sokolova G.N., Potapova V.B. Clinical and pathogenetic aspects of gastric ulcer. Moscow: Anacharsis, 2009. 328 p.]

### Примеры правильного оформления англоязычных ссылок:

Wells S.M., Kantor A.B., Stall A.M. CD43(S7) expression identifies peripheral B-cell subsets. *J. Immunol.*, 1994, Vol. 153, no. 12, pp. 5503-5515.

Goodman J.W., Parslow T.G. Immunoglobulin proteins. Basic and Clinical Immunology. Ed. Stites D.P., Terr A.I., Parslow T.G., Appleton & Lange, 1994, pp. 66-79.

Ссылки на литературные источники в тексте статьи, в рисунках и таблицах обозначаются арабскими цифрами в квадратных скобках [1, 2, 3,...]. не допускаются ссылки на диссертации, авторефераты диссертаций, публикации в сборниках, методические документы местного уровня. Количество источников не ограничено. В каждой ссылке приводятся все авторы работы. Неопубликованные статьи в список не включаются.

## Обозначения, сокращения и единицы измерения

Для сложных терминов или названий, наиболее часто используемых в тексте статьи, можно ввести (в круглых скобках после первого упоминания полного названия термина) не более 3–5 нетрадиционных сокращений. Узаконенные международными номенклатурами сокращения используются в соответствующей транскрипции. Например, для термина «интерлейкин» используется сокращение «IL», а не русскоязычный вариант «ИЛ»; аналогично этому используются сокращения: «TNF», а не «ТНФ» или «ФНО»; «CD», а не «СД». Названия микроорганизмов приводятся в оригинальной транскрипции с использованием курсива (*E. coli*, *Streptococcus pyogenes*). Единицы измерения приводятся без точки после их сокращенного обозначения (с, ч, см, мл, мг, kDa и т.д.), регламентированного международными правилами.

## Оформление иллюстративного материала

Иллюстративный материал должен быть оригинальным, то есть ранее нигде не опубликованным. Общее количество иллюстраций (таблиц и рисунков) не должно превышать восьми. При большем

количестве иллюстраций их публикация оплачивается автором. Публикация цветных иллюстраций (независимо от их количества) также оплачивается автором. Весь иллюстративный материал присылается в двух экземплярах и на диске в виде отдельных файлов.

#### Размеры иллюстраций:

- максимальная высота – 210 мм
- максимальная ширина для 1 столбца – 82 мм, для 2 столбцов – 170 мм

**Таблицы.** Каждая таблица печатается на отдельном листе (в отдельном файле на диске) через 2 интервала. Нумерация таблиц дается арабскими цифрами отдельно от нумерации рисунков (графиков и фотографий). Название печатается над таблицей. Весь текст на русском языке, содержащийся в таблице, включая единицы измерения, должен быть переведен на английский язык; при этом перевод следует помещать в ячейку с соответствующим русским текстом отдельной строкой. Название таблицы и текст примечания к ней также должны быть переведены на английский язык и приведены под русским текстом с новой строки. Для пометок в таблицах следует использовать одну или несколько (\*). Пояснения печатаются после соответствующего количества (\*) под таблицей. Единицы измерения, при необходимости, включаются в заголовки строк или столбцов.

**Рисунки (графики и фотографии).** В тексте статьи названия рисунков (графиков, фотографий) и таблиц размещаются сразу после абзаца, где на них дается первая ссылка. Все рисунки нумеруются последовательно арабскими цифрами по мере их использования в тексте статьи. Названия рисунков и подписи к ним выносятся в виде списка на отдельную страницу. В списке указываются: номер рисунка, название (с большой буквы), текст примечаний (для микрофотографий должно быть указано увеличение). Подписи к рисункам даются краткие, но достаточно информативные. Названия рисунков и примечаний к ним, нарицательные подписи, текст легенды должны быть переведены на английский язык и размещены под соответствующим текстом с новой строки. Рисунки могут быть представлены в графических форматах с расширением .tiff (разрешение не менее 300 dpi при 100% масштабе), .eps или .ai. Изображения, встроенные в документы Word, не принимаются. Графики и диаграммы предоставляются вместе с таблицами, на основе которых они были созданы, или с численными обозначениями показателей, отображаемых соответствующими графическими элементами (столбиками, секторами и т.п.) в виде файлов с расширениями .doc или, предпочтительнее, .xls.

#### Плата за публикацию статей

При соблюдении правил публикация статей в журнале «Российский иммунологический журнал» является бесплатной для авторов и учреждений, в которых они работают. Редакция может потребовать оплату в следующих случаях: 1) за публикацию цветных иллюстраций; 2) при большом количестве иллюстративного материала (свыше 8 иллюстраций).

#### Подготовка статей

Для представления статьи авторы должны подтвердить нижеследующие пункты. Рукопись может быть возвращена авторам, если она им не соответствует.

1. Направляя статью в журнал, авторы гарантируют, что поданные материалы не были ранее опубликованы полностью или по частям, в любой форме, в любом месте или на любом языке. Так же авторы гарантируют, что статья не представлена для рассмотрения и публикации в другом журнале. С момента принятия статьи к печати в журнале «Российский иммунологический журнал» приведенный в ней материал не может быть опубликован авторами полностью или по частям в любой форме, в любом месте и на любом языке без согласования с руководством журнала. Исключением может являться: 1) предварительная или последующая публикация материалов статьи в виде тезисов или короткого резюме; 2) использование материалов статьи как части лекции или обзора; 3) использование автором представленных в журнал материалов при написании диссертации, книги или монографии.

Воспроизведение всего издания или части любым способом запрещается без письменного разрешения издателей. Нарушение закона будет преследоваться в судебном порядке. Охраняется Законом РФ № 5351-1 «Об авторском праве и смежных правах» от 09.07.93 г.

2. Файл отправляемой статьи представлен в формате .doc, .docx, .rtf.

3. Помимо файла со статьей, предоставлены следующие файлы:

1) Файл с метаданными (при загрузке в систему ему присваивается имя «Метаданные»):

- Фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность автора, ответственного за дальнейшую переписку с редакцией (на русском и английском языках).

- Название учреждения, где работает ответственный автор (в русском и официально принятом английском вариантах).

- Почтовый адрес для переписки с указанием почтового индекса (на русском и английском языках).

- Телефон, факс (с указанием кода страны и города), e-mail.

- Фамилия и инициалы остальных соавторов, их ученые степени, ученые звания, должности.

- Полное название статьи, направляемой в редакцию.

- Количество страниц текста, количество рисунков, количество таблиц.

- Указать, для какого раздела журнала предназначена работа: оригинальные статьи, лекции, обзоры, «точка зрения», краткие сообщения, новые иммунологические методы, случаи из практики, дневник иммунолога, книжное обозрение.

- Дата отправления работы.

2) Отсканированная копия файла с метаданными подписанная всеми авторами (при загрузке в систему ему присваивается имя «Подписи авторов»)

3) Титульный лист (при загрузке в систему ему присваивается имя «Титульный лист»), по форме:

- название статьи (без использования каких-либо сокращений, на русском и английском языках);

- Фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность каждого из соавторов статьи (полностью, на русском и английском языках);

- подразделение и учреждение, в котором выполнялась работа (В случае, если авторами статьи являются сотрудники разных учреждений, то последние нумеруются по порядку, начиная с единицы, и соответствующая цифра размещается после фамилии автора, представляющего данное

учреждение. Для маркировки авторов в англоязычной части статьи вместо цифр используются латинские буквы (a, b, c, d и т.д.);

- сокращенное название статьи для верхнего колонтитула (не более 35 символов, включая пробелы и знаки препинания, на русском и английском языках);

- не менее 6 ключевых слов на русском и английском языках (на русском и английском языках);

- адрес для переписки с указанием телефона, номера факса и адреса e-mail.

4) Резюме (при загрузке в систему ему присваивается имя «Резюме»). Предоставляется в виде одного абзаца без ссылок и специфических сокращений. Объем — не менее 300 слов. Резюме в полном объеме представляется также в переводе на английский язык. В отдельных случаях, по решению редакционной коллегии, может быть затребован развернутый вариант резюме на английском языке.

5) Рисунки, если они есть — каждый отдельным файлом (при загрузке в систему каждому рисунку присваивается имя «Рисунок\_Порядковый номер рисунка. Название рисунка»).

6) Файл в формате .doc, .docx, .tiff, с названиями рисунков

7) Таблицы, если они есть — каждая отдельным файлом (Название каждой таблицы должно быть приведено заголовком в файле с самой таблицей)

8) Файл с цитируемой литературой (при загрузке в систему ему присваивается имя «Литература»), по следующей форме: таблица из четырех столбцов (альбомная ориентация), где:

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи
Размещаются в таблице в алфавитном порядке, в начале русскоязычные, затем на языках с латинской графикой	Указывать по библиографическому стандарту, представленному выше	Официальное англоязычное название публикации и источника, где она опубликована — для русскоязычных статей. В редких случаях, когда не существует официальных англоязычных названий (это возможно для таких типов публикаций, как тезисы, книги и др.) — редакция просит предоставить их перевод, используя красный цвет шрифта. Для англоязычных публикаций и источников в этом столбце ставится прочерк	В том случае, если информация о статье не размещена на официальном сайте издания, допустимо использовать URL статьи со сторонних сайтов, в том числе системы www.e-library.ru

4. Текст набран с одинарным межстрочным интервалом; используется кегль шрифта в 14 пунктов; для выделения используется курсив, а не подчеркивание; все ссылки на иллюстрации, графики и таблицы расположены в соответствующих местах в тексте, а не в конце документа.

5. Текст соответствует стилистическим и библиографическим требованиям, описанным в Правилах для авторов, расположенных на странице «О Журнале».

6. Если вы отправляете статью в рецензируемый раздел журнала, то вы согласны с требованиями слепого рецензирования, подробнее о котором можно узнать из раздела Рецензирование, на странице «О Журнале».

## Авторские права

Авторы, публикующие в данном журнале, соглашаются со следующим:

1. Авторы сохраняют за собой авторские права на работу и предоставляют журналу право первой публикации работы на условиях лицензии Creative Commons Attribution License, которая позволяет другим распространять данную работу с обязательным сохранением ссылок на авторов оригинальной работы и оригинальную публикацию в этом журнале.

2. Авторы сохраняют право заключать отдельные контрактные договоренности, касающиеся неэксклюзивного распространения версии работы в опубликованном здесь виде (например, размещение ее в институтском хранилище, публикацию в книге), со ссылкой на ее оригинальную публикацию в этом журнале.

3. Авторы имеют право размещать их работу в сети Интернет (например, в институтском хранилище или персональном сайте) до и во время процесса рассмотрения ее данным журналом, так как это может привести к продуктивному обсуждению и большему количеству ссылок на данную работу (См. The Effect of Open Access).

## Приватность

Имена и адреса электронной почты, введенные на сайте этого журнала, будут использованы исключительно для целей, обозначенных этим журналом, и не будут использованы для каких-либо других целей или предоставлены другим лицам и организациям.

**Вы можете оформить подписку на журнал «Российский иммунологический журнал» через отделения связи:**

**Каталог «Пресса России» — индекс 15590.**

**Подписка на электронную версию журнала на сайте [www.elibrary.ru](http://www.elibrary.ru)**

## АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Ахмедов Ж.Х. ....	449, 493	Дустбабаева Н.Д. ....	443, 449, 493	Кузнецова А.А. ....	499	Савченко А.А. ....	419
Айдарова Н.П. ....	443	Жукова Н.Н. ....	473	Кузнецова Р.Н. ....	499, 529	Селезнев А.В. ....	461, 473
Алексеев А.А. ....	523	Захар Е.В. ....	487	Кукина Г.Н. ....	479	Селезнева Н.М. ....	429
Арсенина В.Ю. ....	515	Земсков В.М. ....	523	Лабунский Д.А. ....	479	Серебрякова М.К. ....	529
Асеева Е.В. ....	461	Зиядуллаев Ш.Х. ....	449	Ленева И.А. ....	383, 389	Симбирцев А.С. ....	429
Асильбекова М.А. ....	493	Зурочка А.В. ....	403	Мазоха К.С. ....	461	Смирнова С.В. ....	467
Ахмедов Х.С. ....	443	Зурочка В.А. ....	403	Манжос М.В. ....	461, 473	Степанян И.А. ....	487
Байбекова В.Ф. ....	443	Ильина П.С. ....	437	Маркелова Е.В. ....	515	Тараканов В.А. ....	411
Барило А.А. ....	467	Ирсалиева Ф.Х. ....	443, 449, 493	Маценко М.В. ....	419	Тотоян Арег А. ....	499
Барова Н.К. ....	411	Искандярова М.С. ....	429	Мирсалихова Н.Х. ....	493	Тузянкина И.А. ....	505
Барсуков А.А. ....	523	Камалов З.С. ....	449	Невежжина Т.А. ....	437	Фальнскова И.Н. ....	383, 389
Болков М.А. ....	505	Карташова Н.П. ....	383	Нестерова И.В. ....	395, 411	Фокин В.А. ....	419
Борисов А.Г. ....	419	Каспаров Э.В. ....	419	Норка А.О. ....	529	Фомина О.И. ....	515
Борисов С.А. ....	419	Кирюхина С.В. ....	479	Нурматова Н.Ф. ....	449, 443, 493	Хабибулина Л.Р. ....	461
Бояркин Е.В. ....	479	Кныш С.В. ....	437	Павленко В.Н. ....	395, 411	Черемохин Д.А. ....	505
Воробьев С.В. ....	529	Ковалева С.В. ....	395, 411	Перепелица С.А. ....	487	Чудилова Г.А. ....	395, 411
Глубокова Е.А. ....	389	Коваленко С.Н. ....	529	Перминова Л.А. ....	487	Шинвари Х. ....	505
Гриценко В.А. ....	403	Козлова М.Н. ....	523	Поддубиков А.В. ....	383, 389	Шишкина Н.С. ....	523
Демидова В.С. ....	523	Колмыков В.А. ....	479	Радаева О.А. ....	429	Юрасова Е.Ю. ....	479
Дерябина С.С. ....	505	Костюшко А.В. ....	437	Русинова Т.В. ....	395		
Добрынина М.А. ....	403	Кудрявцев И.В. ....	419, 529	Савин Т.В. ....	499		

## ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

агонист NOD1 .....	412	ишемическая болезнь сердца .....	515	сенсibilизация .....	468, 473
аллергенспецифическая иммунотерапия .....	450	клеточное звено системы иммунитета ..	530	сепсис .....	524
аллергены .....	468	клинический случай .....	500	синтетический пептид	
аллергический ринит .....	443, 450, 461	коинфекция .....	396	ГМ-КСФ – ZP2 .....	403
аллергия .....	461	коэффициент массы селезенки .....	488	система комплемента .....	480
амброзия трифida .....	473	лихорадка .....	488	сотрясение головного мозга .....	530
антигенсвязывающие лимфоциты .....	494	лямблиоз .....	494	специфические антитела .....	383
антигипоксанты .....	480	макрофагальный		степень тяжести .....	420
аортокоронарное шунтирование .....	515	колониестимулирующий фактор .....	430	сублетальная гриппозная пневмония ..	383
аргинил-альфа-аспартил- лизил-валил-тирозил-аргинин .....	396	мексидол .....	480	субпопуляции .....	396, 412
атопический дерматит .....	468	метаболический синдром .....	480	субпопуляции CD4 <sup>+</sup> лимфоцитов .....	530
бактерицидная активность .....	403	молекулярная диагностика .....	473	ультразвуковое исследование .....	488
белок NS1 .....	383	молекулярно-генетическая		условно здоровые взрослые .....	396
биомаркеры .....	515	диагностика .....	506	фенотип .....	420
бронхиальная астма .....	461	нейраминидаза вируса гриппа .....	390	хронический гепатит В .....	494
В-лимфоциты .....	420	нейтрофильные гранулоциты .....	396, 412	цитокины .....	430, 443, 450, 515
вакциноассоциированный		ожирение .....	480	черепно-мозговая травма (ЧМТ) .....	530
паралитический полиомиелит .....	500	ожоги .....	524	эксперимент <i>in vitro</i> .....	396
вирус гриппа .....	383, 390	ожоговая болезнь .....	524	эссенциальная гипертензия .....	430
вирусоподобные частицы .....	390	опоясывающий герпес .....	437	Alternaria .....	461
внутривенные иммуноглобулины .....	524	острое повреждение почки .....	515	COVID-19 .....	430
воспаление .....	530	патогенез .....	443	<i>Escherichia coli</i> .....	403
врожденные пороки сердца (ВПС) .....	506	первичные иммунодефициты (ПИД) ..	506	<i>G. lamblia</i> и ткани кишечника .....	494
вторичная бактериальная		первичный иммунодефицит .....	500	HBsAg .....	494
пневмония .....	383, 390	плесневые грибы .....	461	IgE-профиль .....	473
глюкозаминилмурамилдипептид .....	412	площадь поражения .....	420	IL-17 .....	443
грибковая сенсibilизация .....	461	подростки .....	480	IL-34 .....	430
дети .....	494	полиморфизм генов .....	443	<i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	403
иммунитет .....	488	полимурамил .....	412	M-CSF .....	430
иммунодиагностика .....	524	поллиноз .....	473	NOD2 .....	412
иммунокоррекция .....	524	постгерпетическая невралгия .....	437	prick-тест .....	468, 473
иммунопатогенез .....	468	пролежни .....	420	S100B .....	437
интерлейкины .....	450	проточная цитометрия .....	530	SARS-CoV-2 .....	430
инфекционный мононуклеоз .....	488	псориаз .....	468	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	390
исследование генетической		резистентность к вторичной		<i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	383
ассоциации .....	450	бактериальной пневмонии .....	390	TNF $\alpha$ .....	437
исход заболевания .....	420	ретроспективный анализ .....	506	VEGF-A .....	430
		селезенка .....	488		



**ПОДПИСНОЙ ИНДЕКС:  
ПРЕССА РОССИИ – 15590**

ISSN 1028-7221



9 771234 567898