

2021

Официальный журнал
Российского Научного Общества Иммунологов

25
лет

**РОССИЙСКИЙ
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ**



**RUSSIAN JOURNAL
OF IMMUNOLOGY**

Official Journal
of Russian Society of Immunology

Volume 24
Number 4

2021

РОССИЙСКОЕ НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО ИММУНОЛОГОВ
(РНОИ)

РОССИЙСКИЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

октябрь-декабрь

2021, том 24

№. 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. Шемякина 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, Чеве Чейз, США

Села Михаил – 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 иммунологии 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 №77-11525 от 04.01.2002 г.)

Хайдуков Сергей Валерьевич – доктор биологических наук, ФГБУН Институт биорганотической химии имени академиков М.М. Шемякина 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 медико-стоматологический университет 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 Здуард 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 23.09.2021 г. Формат 60 x 90 1/8. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 14,75. 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

2021, volume 24

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 Grigорова – 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. Khatov – 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. Khatov – 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. Shmigel – 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, Malyye ave., Vasilevsky Island, 26, office 3.

E-mail: mail@mirmed.ru

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

Passed for printing 23.09.2021. Print format 60 x 90 1/8. Offset printing. Printed sheets 14.75. Circulation 2000 copies. (1st 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

- Барило А.А., Смирнова С.В.
ПЕРСОНИФИЦИРОВАННЫЙ ПОДХОД К ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИЮ БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ 455
- Бурмистрова А.Л., Казо М.Е., Алексеева А.С., Филиппова Ю.Ю.
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕССЕДЖИ ПЕРИФЕРИИ – ЦИТОКИНЫ И ГОРМОНЫ СТРЕССА – В КОНТЕКСТЕ ФЕНОТИПОВ
КОГНИТИВНОГО СТАРЕНИЯ: ЗДОРОВАЯ СТАРОСТЬ/ДЕПРЕССИЯ/ДЕМЕНЦИЯ 461
- Валикова О.В., Здор В.В., Сарычев В.А.
ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ *IL6*, *DNCR7*, РЕЦЕПТОРА *VDR*, *CYP2R1*, *GC* ПРИ СИНДРОМЕ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ
И АУТОИММУННОМ ТИРЕОИДИТЕ 469
- Гончаров А.Г., Шуплецова В.В., Тодосенко Н.М., Гончарова Е.А., Литвинова Л.С.
ОЦЕНКА ПРОДУКЦИИ РОСТОВЫХ ФАКТОРОВ, ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ
ПОСТНАТАЛЬНЫМИ ММСК ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЕВЫХ ИСТОЧНИКОВ В УСЛОВИЯХ ИХ *IN VITRO* СОКУЛЬТИВИРОВАНИЯ
С ИММУНОИЗОЛИРОВАННЫМИ β -КЛЕТКАМИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ 477
- Долгушин И.И., Генкель В.В., Батурина И.Л., Савочкина А.Ю., Минасова А.А., Кузнецова А.С., Шапошник И.И.
ИНТЕНСИВНОСТЬ ЭКСПРЕССИИ CD36 НА РАЗЛИЧНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЯХ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ МОНОЦИТОВ
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ СУБКЛИНИЧЕСКОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА 483
- Кныш С.В., Скляр Л.Ф., Маркелова Е.В., Кузнецов А.С., Соловьева Н.П., Левенец М.А.
ОБ ОСОБЕННОСТЯХ СОДЕРЖАНИЯ ИНТЕРФЕРОНОВ-Лямбда В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ
С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ 489
- Комах Ю.А., Борзенко С.А., Петричук С.В., Купцова Д.Г., Радыгина Т.В.
МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ПРОГНОЗИРУЕМЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ИММУНОКОМПРОМЕНТИРОВАННЫХ
РЕЦИПИЕНТОВ ПЕРЕД ПОВТОРНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ РОГОВИЦЫ 495
- Лазанович В.А., Маркелова Е.В., Шуматов В.Б., Постнова В.Е.
АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ТКАНЕВОГО ФАКТОРА НА МОНОЦИТАХ У ПАЦИЕНТОВ С СЕПСИСОМ 501
- Маркелова Е.В., Зенина А.А., Силаев А.А., Чагина Е.А., Федянина Л.Н.
ДИСФУНКЦИЯ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ С ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫМИ КОГНИТИВНЫМИ
НАРУШЕНИЯМИ ПОСЛЕ АОРТОКОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ 507
- Мархайчук А.З., Горбунова А.Ю., Сидорова Д.А., Разина А.С., Гончарова Е.А.
АЛЛЕРГОПАТОЛОГИЯ У ДЕТЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ В РАЗНЫХ КЛИМАТОЭКОЛОГИЧЕСКИХ РАЙОНАХ
КАЛИНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ 513
- Невежжина Т.А., Костюшко А.В., Красников В.Е., Матюшкина Л.С., Бовдуй М.А.
ИЗМЕНЕНИЕ ЛОКАЛЬНОГО УРОВНЯ ИНТЕРФЕРОНОВ 3-ГО ТИПА У ЖЕНЩИН С ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ
ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ INOSINE PRANOVEX 519
- Норка А.О., Воробьев С.В., Кузнецова Р.Н., Серебрякова М.К., Кудрявцев И.В., Коваленко С.Н.
ОСОБЕННОСТИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ С СОТРЯСЕНИЕМ ГОЛОВНОГО МОЗГА В ОСТРОМ
ПЕРИОДЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ 525
- Радаева О.А., Симбирцев А.С., Костина Ю.А., Искандярова М.С., Машнина С.В., Негоднова Е.В., Бесшейнов Д.Д.
ДИНАМИКА УРОВНЯ МАКРОФАГАЛЬНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ
С ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА К SARS-CoV-2 531
- Самойликов Р.В., Кузнецова В.С., Намиот Е.Д., Краскевич Д.А., Леонова А.Ю., Греченко В.В.
ДИНАМИКА ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ ПРИ ИММУНИЗАЦИИ ПОЛИОМИЕЛИТНОЙ ВАКЦИНОЙ С АКДС *IN VIVO* 539
- Ситдикова Т.С., Кабиева А.А., Просекова Е.В.
ПОКАЗАТЕЛИ ВРОЖДЕННОГО И АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА ПАЦИЕНТОВ ПРИ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ,
ВЫЗВАННОЙ КОРОНАВИРУСОМ SARS-CoV-2 547
- Сташкевич Д.С., Хромова Е.Б., Девальд И.В., Ходус Е.А., Бурмистрова А.Л.
РАСШИРЕННЫЕ ГАПЛОТИПЫ НА ОСНОВЕ РЕДКИХ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ *TNFA* И *HLA DRB1*
В АССОЦИАЦИИ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ 555

Правила для авторов 563

Авторский указатель 566

Предметный указатель 566

CONTENTS

Short communications

<i>Barilo A.A., Smirnova S.V.</i> PERSONALIZED APPROACH TO DIAGNOSTICS AND THERAPY OF PATIENTS WITH PSORIASIS	455
<i>Burmistrova A.L., Cazaux M.E., Alekseeva A.S., Filippova Yu.Yu.</i> PERIPHERAL MOLECULAR MESSAGES – CYTOKINES AND STRESS HORMONES – IN THE CONTEXT OF COGNITIVE AGING PHENOTYPES: HEALTHY AGEING/DEPRESSION/ DEMENTIA	461
<i>Valikova O.V., Zdor V.V., Sarychev V.A.</i> GENE POLYMORPHISM OF <i>IL6</i>, <i>DHCR7</i>, <i>VDR</i>, <i>CYP2R1</i>, <i>GC</i> IN POLYCYSTIC OVARY SYNDROME AND AUTOIMMUNE THYROIDITIS	469
<i>Goncharov A.G., Shupletsova V.V., Todosenko N.M., Goncharova E.A.</i> PRODUCTION OF GROWTH FACTORS, PRO – AND ANTIINFLAMMATORY CYTOKINES BY POSTNATAL MMSCs FROM VARIOUS TISSUE SOURCES DURING <i>IN VITRO</i> COCULTIVATION WITH IMMUNO-ISOLATED PANCREATIC β-CELLS	477
<i>Dolgushin I.I., Genkel V.V., Baturina I.L., Savochkina A.Yu., Minasova A.A., Kuznetsova A.S., Shaposhnik I.I.</i> CD36 EXPRESSION INTENSITY ON DIFFERENT SUBPOPULATIONS OF CIRCULATING MONOCYTES DEPENDING ON THE EXTENT OF SUBCLINICAL ATHEROSCLEROSIS	483
<i>Knysch S.V., Sklyar L.F., Markelova E.V., Kuznetsov A.S., Solovyeva N.P., Levenets M.A.</i> SPECIAL FEATURES OF INTERFERON-LAMBDA CONTENTS IN BLOOD SERUM OF THE PATIENTS WITH HIV INFECTION	489
<i>Komakh Yu.A., Borzenok S.A., Petrichuk S.V., Kuptsova D.G., Radygina T.V.</i> METABOLIC THERAPY OF PREDICTED COMPLICATIONS IN IMMUNOCOMPROMISED RECIPIENTS BEFORE REPEATED CORNEAL TRANSPLANTATION	495
<i>Lazanovich V.A., Markelova E.V., Shumatov V.B., Postnova B.E.</i> EVALUATION OF TISSUE FACTOR EXPRESSION ON MONOCYTES IN THE PATIENTS WITH SEPSIS	501
<i>Markelova E.V., Zenina A.A., Silaev A.A., Chagina E.A., Fedyanina L.N.</i> CONGENITAL IMMUNITY DYSFUNCTION IN PATIENTS WITH POSTOPERATIVE COGNITIVE IMPAIRMENT AFTER CORONARY ARTERY BYPASS GRAFTING	507
<i>Markhaichuk A.Z., Gorbunova A.Yu., Sidorova D.A., Razina A.S., Goncharova E.A.</i> ALLERGIC DISORDERS IN CHILDREN LIVING IN DIFFERENT CLIMATIC AND ECOLOGICAL AREAS OF THE KALININGRAD REGION	513
<i>Nevezhkina T.A., Kostyushko A.V., Krasnikov V.E., Matyushkina L.S., Bovdvi M.A.</i> LOCAL CHANGES IN THE TYPE 3 INTERFERONS IN WOMEN WITH HUMAN PAPILLOMAVIRUS INFECTION BEFORE AND AFTER TREATMENT WITH INOSINE PRANOBEX	519
<i>Norka A.O., Vorobyev S.V., Kuznetsova R.N., Serebriakova M.K., Kudryavtsev I.V., Kovalenko S.N.</i> PARTICULAR FEATURES OF HUMORAL IMMUNITY IN PATIENTS WITH ACUTE BRAIN CONCUSSION	525
<i>Radaeva O.A., Simbirtsev A.S., Kostina Yu.A., Iskandiyarova M.S., Mashnina S.V., Negodnova E.V.a, Besheynov D.D.</i> SERUM MACROPHAGE COLONY-STIMULATING FACTOR LEVELS IN PATIENTS WITH ESSENTIAL HYPERTENSION AFTER VACCINATION AGAINST SARS-CoV-2	531
<i>Samoylikov R.V., Kuznetsova V.S., Namiot E.D., Kraskevich D.A., Leonova A.Yu., Grechenko V.V.c</i> DYNAMICS OF CYTOKINE PRODUCTION DURING IMMUNIZATION WITH POLIO VACCINE WITH DTP <i>IN VIVO</i>	539
<i>Sitdikova T.S., Kabieva A.A., Prosekova E.V.</i> INDEXES OF INNATE AND ADAPTIVE IMMUNITY IN THE PATIENTS WITH SARS-CoV-2 INFECTION	547
<i>Stashkevich D.S., Khromova E.B., Devald I.V., Khodus E.A., Burmistrova A.L.</i> EXTENDED HAPLOTYPES BASED ON RARE SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS OF <i>TNFA</i> AND <i>HLA DRB1</i> ASSOCIATED WITH RHEUMATOID ARTHRITIS	555

Instructions to Authors	563
--------------------------------------	-----

Author index	566
---------------------------	-----

Subject index	566
----------------------------	-----

ПЕРСониФИЦИРОВАННЫЙ ПОДХОД К ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИЮ БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ

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. Установление причинно-следственной взаимосвязи аллергии и псориаза с определением спектра сенсибилизации может ориентировать клиницистов в плане специфической аллергологической диагностики и персонифицированной терапии. Цель исследования: изучить частоту встречаемости пищевой аллергии и особенности спектра сенсибилизации к пищевым аллергенам больных псориазом с целью установления новых подходов к специфической диагностике и лечению патологии.

В исследовании принимали участие больные вульгарным псориазом ($n = 51$) в возрасте от 18 до 66 лет. В контрольную группу включены практически здоровые люди, сопоставимые по полу и возрасту ($n = 19$). Всем больным проводилось аллергологическое обследование: сбор аллергологического анамнеза, определение концентрации общего иммуноглобулина Е (IgE) и эозинофильного катионного протеина в сыворотке крови методом непрямого иммунофлуоресцентного анализа на полуавтоматическом анализаторе Thermo Scientific Multiskan FC. Проведено изучение спектра сенсибилизации к пищевым, пыльцевым аллергенам. Подсчет и анализ полученных данных проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 8.0.

Концентрация общего иммуноглобулина Е в сыворотке крови в группе больных псориазом составила 57,9 МЕ/мл (31,6-135,1), в контрольной группе — 45,1 МЕ/мл (23,4-144,0). Концентрация эозинофильного катионного протеина в сыворотке крови в группе больных псориазом составила 8,6 нг/мл (4,6-20,3), в контрольной группе — 7,9 нг/мл (4,6-27,1). При изучении спектра сенсибилизации к пищевым аллергенам больных псориазом выявлены некоторые особенности. Так, сенсибилизация к коровьему молоку была выявлена в 33,3% ($n = 17$), к говядине — 39,2% ($n = 20$), цельному куриному яйцу — 29,4% ($n = 15$), к курице — 39,2% ($n = 20$), пшеничной муке — 37,2% ($n = 19$), ржаной муке — 31,4% ($n = 16$), рису и гречке — 21,6% ($n = 11$), дрожжам — 23,5% ($n = 12$) случаев. На фоне соблюдения индивидуальной элиминационной диеты в течение 1 месяца в 68% случаев отмечено уменьшение или полный регресс зуда, уменьшение выраженности инфильтрации, гиперемии и шелушения в очагах псориазического поражения кожи. Нормальная концентрация общего иммуноглобулина Е и эозинофильного катионного протеина в сыворотке крови больных ПС в сочетании с положительными результатами кожного prick-тестирования и эффекта элиминации заставляет задуматься об участии неатопических иммунопатологических механизмов запуска аллергии при псориазической болезни.

Ключевые слова: псориаз, аллергия, атопия, сенсибилизация, эозинофильный катионный протеин

Адрес для переписки:

Барило Анна Александровна
Научно-исследовательский институт
медицинских проблем Севера
660022, Россия, г. Красноярск,
ул. Партизана Железняка, 3г.
Тел.: 8 (391) 228-06-83.
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 (391) 228-06-83.
E-mail: anntomsk@yandex.ru

Образец цитирования:

А.А. Барило, С.В. Смирнова «Персонифицированный подход к диагностике и лечению больных псориазом» // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 4. С. 455-460.
doi: 10.46235/1028-7221-1074-PAT
© Барило А.А., Смирнова С.В., 2021

For citation:

A.A. Barilo, S.V. Smirnova "Personalized approach to diagnostics and therapy of patients with psoriasis", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 4, pp. 455-460.
doi: 10.46235/1028-7221-1074-PAT
DOI: 10.46235/1028-7221-1074-PAT

PERSONALIZED APPROACH TO DIAGNOSTICS AND THERAPY OF PATIENTS WITH PSORIASIS

Barilo A.A., Smirnova S.V.

Research Institute of Medical Problems of the North, Federal Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

Abstract. Establishing causal relationship between allergy and psoriasis and determining appropriate sensitization profile may guide clinicians in terms of specific allergological diagnostics and personalized therapy. Our purpose was to study the occurrence of food allergy and certain sensitization profile to food allergens in patients with psoriasis, in order to establish new approaches to specific diagnosis and treatment of the disorder.

The study involved patients with psoriasis vulgaris ($n = 51$) aged 18 to 66 years. The control group included practically healthy people matched by sex and age ($n = 19$). All the patients underwent allergological examination: collection of allergic history, determination of total immunoglobulin E (IgE) and eosinophilic cationic protein concentration in blood serum by means of indirect immunofluorescence analysis using Thermo Scientific Multiskan FC semi-automatic analyzer. The sensitization profiles to food and pollen allergens were also studied. Calculation and analysis of these data was carried out using Statistica 8.0 software package.

Concentration of total immunoglobulin E in blood serum in the group of patients with psoriasis was 57.9 IU/ml (31.6-135.1) compared to control group, with 45.1 IU/ml (23.4-144.0). The levels of serum eosinophilic cationic protein was 8.6 ng/ml (4.6-20.3) in the patients with psoriasis, being 7.9 ng/ml (4.6-27.1) in controls. When studying the spectrum of sensitization to food allergens in patients with psoriasis, some specific features were revealed. E.g., sensitization to cow's milk was detected in 33.3% ($n = 17$); to beef, in 39.2% of cases ($n = 20$), to whole chicken egg – 29.4% ($n = 15$), to chicken, in 39.2% ($n = 20$); to wheat flour, 37.2% ($n = 19$); to rye flour, in 31.4% ($n = 16$); to rice and buckwheat, 21.6% ($n = 11$), to yeast, in 23.5% of the patients ($n = 12$). Upon administration of individual elimination diet for 1 month, we observed a decrease or complete regression of itching, decreased severity of infiltration, hyperemia and peeling in the foci of psoriatic skin lesions in 68% of the cases. Normal concentration of total immunoglobulin E and eosinophilic cationic protein in blood serum of patients with psoriasis combined with positive results of skin-prick tests and elimination effect presumes a participation of non-atopic immune pathologies when triggering allergy in psoriatic disease.

Keywords: psoriasis, food allergy, sensitization, laboratory markers

Исследование выполнено при поддержке Совета по грантам при президенте РФ (МК-396.2020.7).

Введение

Псориаз (ПС) является хроническим рецидивирующим системным заболеванием, которое характеризуется наличием воспалительного процесса в эпидермисе [3, 5, 6]. Псориаз остается важной медицинской проблемой в результате отсутствия эффективного этиотропного и патогенетического лечения [13]. Остается открытым вопрос об этиологии псориаза, поскольку существует множество триггеров запуска патологического процесса в коже [7, 8, 9, 10].

Согласно современным представлениям, повреждение эпидермального барьера в очагах патологически измененной кожи при псориа-

зе способствует снижению защитной функции эпидермиса, что повышает трансдермальное проникновение аллергенов [10]. Данные изменения могут приводить к развитию сенсibilизации с запуском иммунопатологических реакций и рассматриваться как дополнительный фактор повреждения кожи. Подтверждением данной гипотезы являются источники литературы, свидетельствующие об увеличении частоты встречаемости аллергии у больных псориазом [11, 14]. Вместе с тем остается открытым вопрос о влиянии пищевой аллергии на течение псориазической болезни, поскольку в литературе описаны примеры регресса кожных высыпаний у больных псориазом на фоне элиминационной диеты с исключением белков пшеницы [11]. Известно, что воздействие аллергенов на слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта способствует фор-

мированию воспалительного процесса в пищеводе, желудке, двенадцатиперстной кишке, тонком и толстом кишечнике, печени и поджелудочной железе, что приводит к развитию эндотоксемии [4]. Широко распространена теория о внеорганных проявлениях гастроинтестинальной аллергии, которая манифестирует разнообразными повреждениями кожи, в том числе в виде псориаза [10]. В связи с этим значительный интерес представляют работы по изучению частоты встречаемости пищевой аллергии у больных ПС и ее роли в развитии псориазического повреждения кожи [1]. В литературе данные относительно частоты встречаемости аллергии у больных псориазом крайне немногочисленны и содержат противоречивые результаты, что обуславливает актуальность проводимого исследования [2, 14, 15].

Установление причинно-следственной взаимосвязи аллергии и псориаза с определением спектра сенсibilизации может ориентировать клиницистов в плане специфической аллергологической диагностики и персонафицированной терапии.

Цель исследования – изучить частоту встречаемости пищевой аллергии и особенности спектра сенсibilизации к пищевым аллергенам больных псориазом с целью установления новых подходов к специфической диагностике и лечению патологии.

Материалы и методы

В исследовании принимали участие больные вульгарным псориазом ($n = 51$) в возрасте от 18 до 66 лет. Средний возраст больных составил $40,0 \pm 1,8$ лет. В исследуемой группе чаще встречались женщины – в 52,9% ($n = 27$) случаев. В контрольную группу включены практически здоровые люди, сопоставимые по полу и возрасту ($n = 19$). Право на участие в исследовании подтверждалось письменным информированным согласием. Протокол обследования был одобрен локальным этическим комитетом.

Тяжесть клинического течения псориаза определяли с помощью подсчета индекса PASI (Psoriasis area and severity index). Среднее значение индекса PASI в группе больных псориазом составило 10,0 (6,0-14,4).

Всем больным проводилось аллергологическое обследование: сбор аллергологического анамнеза, определение концентрации общего иммуноглобулина Е (IgE) и эозинофильного

катионного протеина в сыворотке крови методом непрямого иммунофлуоресцентного анализа на полуавтоматическом анализаторе Thermo Scientific Multiskan FC. С учетом наличия общих антигенных детерминант, проведено изучение спектра сенсibilизации к пищевым, пыльцевым аллергенам. В ходе выполнения кожного prick-тестирования результаты оценивали с учетом размеров волдырной реакции и величины гиперемии (от + до ++++). Были использованы следующие пищевые аллергены: коровье молоко (белок коровьего молока, казеин), мясо говядины, цельное куриное яйцо, мясо курицы, пищевые злаки (пшеничная и ржаная мука), рис, гречка; дрожжи, пыльцевые аллергены: смеси аллергенов пыльцы деревьев (береза, дуб, клен, лещина, ольха), злаковых трав (ежа, костра, лисохвост, мятлик, овсяница, пырей, райграсс, рожь), сорных трав (лебеда, полынь, подсолнечник).

Подсчет и анализ полученных данных проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 8.0.

Результаты и обсуждение

В ходе сбора аллергологического анамнеза установлено, что у 41,2% ($n = 21$) больных ПС отмечались эпизоды крапивницы и токсикодермии на пищевые продукты и медикаменты, укусы насекомых. Отягощенный наследственный аллергологический анамнез (наличие аллергических реакций и/или заболеваний у близких родственников) выявлен у 27,5% ($n = 14$), наличие сезонных проявлений аллергии – у 7,8% ($n = 4$) больных ПС. Отягощенный наследственный анамнез по псориазу отмечен у 39,2% ($n = 20$) больных.

Средний возраст дебюта псориаза составил $24,0 \pm 2,1$ лет, общая продолжительность заболевания – $11,0 \pm 1,6$ лет. В 76,5% ($n = 39$) случаев высыпания на коже сопровождались интенсивным кожным зудом.

Концентрация общего иммуноглобулина Е в сыворотке крови в группе больных псориазом составила 57,9 МЕ/мл (31,6-135,1), в контрольной группе – 45,1 МЕ/мл (23,4-144,0). Концентрация эозинофильного катионного протеина в сыворотке крови в группе больных псориазом составила 8,6 нг/мл (4,6-20,3), в контрольной группе – 7,9 нг/мл (4,6-27,1).

При изучении спектра сенсibilизации к пищевым аллергенам больных псориазом выявлены некоторые особенности. Так, сенсibilизация к коровьему молоку была выявлена в 33,3% ($n = 17$), к говядине – 39,2% ($n = 20$), цельному

куриному яйцу – 29,4% (n = 15), к курице – 39,2% (n = 20), пшеничной муке – 37,2% (n = 19), ржаной муке – 31,4% (n = 16), рису и гречке – 21,6% (n = 11), дрожжам – 23,5% (n = 12) случаев.

В литературе приводятся данные о развитии симптомов аллергических заболеваний при употреблении в пищу определенных продуктов питания растительного происхождения. Данный феномен развивается при поллинозе у сенсibilизированных к пыльцевым аллергенам больных в результате наличия общих антигенных детерминант пищевых продуктов и молекул пыльцы растений и носит название «перекрестная пищевая аллергия». В настоящем исследовании с целью исключения наличия возможной перекрестной пищевой аллергии в группе больных псориазом проведено кожное prick-тестирование с пыльцевыми аллергенами: смеси аллергенов пыльцы деревьев, злаковых трав, сорных трав. Анализ спектра сенсibilизации к пыльцевым аллергенам в исследуемой группе показал наибольшую частоту встречаемости сенсibilизации к пыльце луговых трав в 33,3% (n = 17) случаев. Сенсibilизация к пыльце деревьев определена в 17,6% (n = 9) случаев, к пыльце сорных трав – 15,7% (n = 8), злаковых трав – 11,8% (n = 6).

После проведения аллергологического обследования при установлении сенсibilизации к пищевым и/или пыльцевым аллергенам, больным псориазом назначалась индивидуальная элиминационная диета сроком на 1 месяц. На фоне соблюдения элиминационной диеты в 68% случаев отмечено уменьшение или полный регресс зуда, уменьшение выраженности инфильтрации, гиперемии и шелушения в очагах псориазического поражения кожи.

С позиции доказательной медицины приводим несколько клинических примеров.

Пример № 1. Больная Н., 59 лет. Жалобы на распространенные зудящие высыпания на коже, боли в коленных суставах. Диагноз: Псориаз распространенный. Псориазический артрит. Индекс PASI 46,4. Сенсibilизация к пищевым злакам (++)). Назначена элиминационная диета в течение 3 недель. Отмечен положительный эффект элиминации: уменьшение кожного зуда, снижение интенсивности болей в суставах, значительный регресс псориазических высыпаний на коже, индекс PASI 11,3 (рис. 1, см. 3-ю стр. обложки).

Пример № 2. Больной Н., 65 лет. Жалобы на распространенные зудящие высыпания на коже. Диагноз: Псориаз распространенный. Псориазический артрит. Индекс PASI 35,2. Сенсibilизация к пищевым аллергенам: куриное яйцо (+),

пищевые злаки (+), дрожжи (++)). Назначена элиминационная диета в течение 3 недель. Отмечен положительный эффект элиминации: уменьшение кожного зуда, гиперемии и инфильтрации в псориазических очагах, индекс PASI 14,8 (рис. 2, см. 3-ю стр. обложки).

Пример № 3. Больной Н., 45 лет. Жалобы на ограниченные зудящие высыпания на коже. Диагноз: Псориаз ограниченный. Индекс PASI 11,0. Сенсibilизация к пыльце деревьев (++++) и сорных трав (++++). Назначена элиминационная диета в течение 3 недель с исключением перекрестно-реагирующих пищевых аллергенов. Отмечен положительный эффект элиминации: уменьшение кожного зуда, гиперемии, инфильтрации и шелушения в псориазических очагах, индекс PASI 5,1 (рис. 3, см. 3-ю стр. обложки).

Заключение

Таким образом, в проведенном нами исследовании установлена частота встречаемости пищевой аллергии у больных псориазом и определены особенности спектра сенсibilизации к пищевым и пыльцевым аллергенам.

Данные литературы относительно частоты встречаемости и особенностях пищевой аллергии при псориазе крайне немногочисленны. Есть данные о воздействии аллергенов злаков на активацию лимфоцитов у больных ПС [14]. При этом не существует единого мнения о роли безглютеновой диеты на регресс кожного процесса при псориазе.

Существуют исследования, в которых описано повышение частоты встречаемости высокой концентрации специфических IgE к аллергенам картофеля и моркови, пыльце березы, артемизии, тимофеевке и ржи у больных ПС [15]. В другом исследовании у больных ПС не выявлено сенсibilизации к пыльцевым аллергенам (расторопша обыкновенная, пыльца деревьев, луговых и сорных трав) при кожном prick-тестировании [12].

Полученные нами данные свидетельствуют о наличии сенсibilизации к пищевым аллергенам у трети больных псориазом. Среди наиболее значимых пищевых аллергенов можно выделить белок коровьего молока и пищевые злаки, а также продукты, перекрестно-реагирующими с луговыми травами: мед, проростки пшеницы и изделия из пшеничной муки, пиво, виски, другие напитки на основе пшеницы, травяные чаи. Нормальная концентрация общего иммуноглобулина E и эозинофильного катионного протеина в сыворотке крови больных ПС в сочетании с положительными

ми результатами кожного рiск-тестирования и эффекта элиминации заставляет задуматься об участии неатопических иммунопатологических механизмов запуска аллергии при псориазической болезни. Полученные в ходе настоящего исследования результаты требуют дальнейшего изучения и проверки аллергической гипотезы развития псориаза.

Список литературы / References

1. 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.)]
2. Барило А.А., Смирнова С.В. Сравнительный анализ спектра сенсibilизации к пищевым, пыльцевым и грибковым аллергенам пациентов с псориазом и atopическим дерматитом // Вопросы питания, 2020. Т. 89, № 5. С. 28-34. [Barilo A.A., Smirnova S.V. The comparative analysis of the spectrum of sensitization to food, pollen and fungal allergens in patients with atopic dermatitis and psoriasis. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition*, 2020, Vol. 89, no. 5, pp. 28-34. (In Russ.)]
3. Барило А.А., Смирнова С.В. Теории развития псориаза и роль atopии среди общепринятых концепций // Клиническая дерматология и венерология, 2021. Т. 20, № 3. С. 18-26. [Barilo A.A., Smirnova S.V. Theories of the psoriasis development and the role of atopity among generally accepted concepts. *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya = Russian Journal of Clinical Dermatology and Venerology*, 2021, Vol. 20, no. 3, pp. 18-26. (In Russ.)]
4. Барило А.А., Смирнова С.В., Борисова И.В. Особенности спектра сенсibilизации 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 dermato-respiratory manifestations of allergy in children of Khakassia. *Yakutskiy meditsinskiy zhurnal = Yakut Medical Journal*, 2020, no. 2 (70), pp. 99-102. (In Russ.)]
5. 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.)]
6. Смирнова С.В., Смольникова М.В., Барило А.А. Клинико-анамнестические критерии прогрессирования псориаза // Клиническая дерматология и венерология, 2016. Т. 15, № 2. С. 9-15. [Smirnova S.V., Smolnikova M.V., Barilo A.A. Clinical and anamnestic criteria of the progression of psoriasis. *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya = Russian Journal of Clinical Dermatology and Venerology*, 2016, Vol. 15, no. 2, pp. 9-15. (In Russ.)]
7. 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.)]
8. Смирнова С.В., Смольникова М.В., Барило А.А. Концентрации IL-4, IL-6, IL-10, TNF α 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, TNF α 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.)]
9. 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.
10. Fiore M., Leone S., Maraolo A.E., Berti E., Damiani G. Liver illness and psoriatic patients. *Biomed Res. Int.*, 2018, 3140983. doi: 10.1155/2018/3140983.
11. 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.
12. Hosseini P., Khoshkhui M., Hosseini R.F., Ahanchian H., Ravanshad Y., Layegh P., Bakhshoudeh B., Ariaee N. Investigation of the relationship between atopity and psoriasis. *Postepy Dermatol Alergol.*, 2019. Vol. 36, no. 3, pp. 276-281.
13. Kim J., Krueger J.G. Highly Effective new treatments for psoriasis target the IL-23/Type 17 T Cell autoimmune axis. *Annu. Rev. Med.*, 2017, Vol. 68, pp. 255-269.

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, Federal Research Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

Smirnova S.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Research Direction, Research Institute of Medical Problems of the North, Federal Research Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

Поступила 01.08.2021
Принята к печати 20.08.2021

Received 01.08.2021
Accepted 20.08.2021

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕССЕДЖИ ПЕРИФЕРИИ – ЦИТОКИНЫ И ГОРМОНЫ СТРЕССА – В КОНТЕКСТЕ ФЕНОТИПОВ КОГНИТИВНОГО СТАРЕНИЯ: ЗДОРОВАЯ СТАРОСТЬ/ДЕПРЕССИЯ/ДЕМЕНЦИЯ

Бурмистрова А.Л., Казо М.Е., Алексеева А.С., Филиппова Ю.Ю.

ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Резюме. Данные последних лет свидетельствуют о быстром нарастании в мире стареющих популяций и увеличении среди них фенотипов когнитивной недостаточности – депрессий старости и деменций. Поиск подходов к сепарации таких фенотипов чрезвычайно актуален. Современные исследования презентуют убедительные доказательства ключевой роли иммунной системы (ее периферического компартмента) и системы гормонов стресса (гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси и симпато-адреномедуллярной системы) в физиологическом здоровье мозга. Поэтому одним из эффективных путей дифференциации депрессии и ранних стадий деменции в пожилом и старческом возрасте может стать оценка комплексных взаимодействий иммунной и нейроэндокринной систем. Цель – индикация молекулярных месседжей периферии – цитокинов и гормонов стресса, в контексте фенотипов когнитивной недостаточности: здоровая старость/депрессия старения/деменция. Обследовано 80 людей старческого возраста, включенных в группы: «Здоровая старость», «Деменция», «Депрессия». Уровень цитокинов: IL-6, IL-1 β , TNF α , IFN γ , IL-10, и гормонов стресса: кортизола, адренкортикотропного гормона, дофамина, норадреналина, адреналина, определяли в плазме крови методом твердофазного иммуноферментного анализа. Различия между группами определяли в тесте Краскела–Уоллиса с апостериорными попарными сравнениями по Коноверу–Инману. Для дифференциальной диагностики групп пожилых людей с разной степенью когнитивных нарушений использовали линейный канонический дискриминантный анализ, проведенный на рангах. В результате работы установлено, что фенотипы когнитивной недостаточности – депрессия старости и деменция – отличаются от фенотипа здоровая старость высокими периферическими уровнями цитокина TNF α и низкими – IL-1 β . Различия между депрессией лиц старческого возраста и деменцией включали: низкий уровень цитокина IL-10 при депрессии (ниже, чем в группе «Здоровая старость») и высокий – IL-6 при деменции (по сравнению с группой «Здоровая старость»). Оценка гормонов гипоталамо-гипофизарной и симпато-адреномедуллярной осей продемонстрировала гипотетическую гипоталамо-гипофизарной оси, независимо от фенотипов когнитивной недостаточности, при активации симпато-адреномедуллярной: высокий уровень дофамина при депрессии старости и деменции, и высокий уровень адреналина при деменции по сравнению с фенотипом депрессии старости и здоровым старением. Такие значимые отличия в уровнях молекулярных месседжей – цитокинов и гормонов стресса – среди групп персон старческого возраста позволили с помощью линейного ка-

Адрес для переписки:

Казо Марина Евгеньевна
ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет»
454001, Россия, г. Челябинск,
ул. Братьев Кашириных, 129.
Тел.: 8 (919) 402-11-20.
E-mail: kholodilina@yandex.ru

Address for correspondence:

Cazaux Marina E.
Chelyabinsk State University
454001, Russian Federation, Chelyabinsk,
Bratiev Kashirinykh str., 129.
Phone: 7 (919) 402-11-20.
E-mail: kholodilina@yandex.ru

Образец цитирования:

А.Л. Бурмистрова, М.Е. Казо, А.С. Алексеева, Ю.Ю. Филиппова «Молекулярные месседжи периферии – цитокины и гормоны стресса – в контексте фенотипов когнитивного старения: здоровая старость/депрессия/деменция» // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 4. С. 461-468. doi: 10.46235/1028-7221-1061-РММ
© Бурмистрова А.Л. и соавт., 2021

For citation:

A.L. Burmistrova, M.E. Cazaux, A.S. Alekseeva, Yu. Yu. Filippova “Peripheral molecular messages – cytokines and stress hormones – in the context of cognitive aging phenotypes: healthy ageing/depression/dementia”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 4, pp. 461-468. doi: 10.46235/1028-7221-1061-РММ
DOI: 10.46235/1028-7221-1061-РММ

нонического дискриминантного анализа с диагностической эффективностью 87,5% провести дифференциацию когнитивных фенотипов старения: здоровая старость, депрессия старости, деменция.

Ключевые слова: цитокины, гормоны стресса, здоровое старение, деменция, старческая депрессия, дифференциальная диагностика

PERIPHERAL MOLECULAR MESSAGES – CYTOKINES AND STRESS HORMONES – IN THE CONTEXT OF COGNITIVE AGING PHENOTYPES: HEALTHY AGEING/DEPRESSION/DEMENTIA

Burmistrova A.L., Cazaux M.E., Alekseeva A.S., Filippova Yu.Yu.

Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. Over last years, the world's aging populations are rising rapidly, and the phenotypes of cognitive insufficiency, such as old age, depression and dementia, are increasing. Search for approaches to discrimination between such phenotypes is extremely relevant. Current studies present compelling evidence of the key role of immune system (its peripheral compartment), and the stress response system in physiological brain health. Therefore, assessment of complex interactions between immune and neuroendocrine systems may be an effective way to differentiate between depression and early stages of dementia in elderly people. Our purpose was to reveal peripheral molecular messages, e.g., cytokines and stress hormones, in the context of cognitive impairment phenotypes: healthy old age/old age depression/dementia. Eighty elderly people were included into groups as follows: "Healthy ageing", "Dementia", "Depression". Levels of certain cytokines: IL-6, IL-1 β , TNF α , IFN γ , IL-10, and stress hormones (cortisol, ACTH, dopamine, noradrenaline, and adrenaline) were determined in blood plasma by ELISA. The intergroup differences were evaluated by the Kruskal-Wallis test with Conover-Inman post-hoc pairwise comparisons. For differential diagnostics between the groups of elderly people with varying grades of cognitive impairment, we used linear canonical discriminant analysis performed on the ranks. It has been shown that cognitive insufficiency phenotypes—old age depression and dementia—differ from the healthy ageing phenotype with their high peripheral levels of TNF α cytokine and low levels of IL-1 β . The differences between depression in elderly and dementia included lower level of IL-10 in depression (lower than in "Healthy ageing"), and high IL-6 in dementia (compared to "Healthy ageing"). Evaluation of the hypothalamic-pituitary and sympatho-adreno-medullary axes hormones showed hyporesponsiveness of hypothalamic-pituitary axis, regardless of cognitive insufficiency phenotypes, along with activation of sympatho-adreno-medullary axis, i.e., high dopamine level in old age depression with dementia, and high adrenaline level in dementia, than in depression of elderly phenotype and healthy ageing. Such significant differences in the levels of molecular messages, i.e., cytokines and stress hormones among the old age person groups, enabled diagnostic efficacy of 87.5% to differentiate cognitive phenotypes of aging: healthy ageing, old age depression, and dementia.

Keywords: cytokines, stress hormones, healthy aging, dementia, senile depression, differential diagnostics

Введение

Старение — это неизбежный пошаговый процесс, для которого характерно снижение/потеря физиологического резерва на молекулярном, клеточном, тканевом и организменном уровнях, в том числе когнитивных способностей, даже в отсутствие диагностируемых патологий [11, 13]. В свете данных о быстром нарастании стареющих популяций во всем мире и ускоренном превалировании депрессий старости и деменций, на фоне

увеличения персон, демонстрирующих здоровое долгожительство, понимание причин возраст-ассоциированной когнитивной недостаточности и факторов, сдерживающих ее развитие, выступают приоритетной задачей [5, 10].

В настоящее время широко обсуждается роль иммунной и нейроэндокринной систем (их периферических и центральных компартментов) в когнитивной функции старости — недостаточность/гомеостаз. Это неудивительно, т.к. им-

мунная и нейроэндокринная системы демонстрируют принцип коллегиальности на основе интеграции их клеточных и молекулярных механизмов, в частности сигнальных молекул общего пользования, что позволяет периферической иммунной системе активировать функции мозга, участвуя в его моделировании и скульптурировании, а мозгу – исполнять иммунорегуляторную роль [6, 15].

Совершенно очевидно, что жизнь есть стресс, и интеграция иммунной и нейроэндокринной систем включена в ответы на стрессоры, которыми наполнена наша жизнь. Даже при эмоциональном возбуждении или слабой стресс-реакции интеграция «иммунная система – мозг» проходит при участии активированных стресс-событиями посредников: гипоталамо-гипофизарной оси (ГГН-оси) и симпатно-адреномедулярной оси (САМ-оси) на периферии и моноаминергических нейротрансмиттерных систем в мозге, которые модулируют эффекты иммунных процессов на функцию памяти и нервной пластичности [12, 15]. Однако процесс старения вносит коррективы в гомеостаз обеих систем, что находит отражение в двух базовых феноменах.

Один – переключение способности организма от острого стресс-ответа к хронически активированному у человека, чаще психологическому специализированному (без участия стрессора), результатом которого является увеличенный риск возраст-ассоциированной когнитивной недостаточности. А стресс-ответ, путями схожими для старения, изменяет организм, что приводит к повышению старения и оба события (феномена) одновременно бросают вызов иммунной системе [12].

Второй – реконструкция врожденного и адаптивного иммунных ответов на двойной пресс – старение и хронический стресс-ответ:

1. Снижается функциональная активность клеток врожденной иммунной системы (нейтрофилов, макрофагов, естественных киллеров), что находит отражение в супрессии скавенджер машины и, в результате, приводит к нарастанию дедбриса в среде окружения всех тканей, в том числе мозга, на фоне расширения воспалительного потенциала стареющих клеток, презентующих старение-ассоциированный секреторный фенотип и секретирующих сотни факторов, включая провоспалительные цитокины [2, 3, 8].

2. Набирает темпы рекомбинация адаптивного иммунного ответа в условиях инволюции тимуса и старения мозга: снижение количества активированных аутоиммунных Т-клеток, нарушение их свойств хоминга к специфическим анатомическим нишам, куда они поступают для осуществления коммуникации: центральная нервная система/пе-

риферия и сети информационных цитокинов [3]. Кроме того, исключение Т-клеточного рецептора из специфического связывания с антигенами, на фоне конверсии Т-лимфоцитов ($CD8^+ \alpha\beta$) во врожденно-подобные Т-клетки, приобретающие и экспрессирующие множество различных клеточных рецепторов естественных киллеров [13]. В результате возникают ошибки (цитокиновых и Т-клеточных ансамблей) в бесконечных переговорах между иммунной и центральной нервной системами, направленных на создание нового биологического баланса в условиях старения.

Таким образом, процесс старения иммунной и нейроэндокринной систем приводит к дезинтеграции клеточных и молекулярных механизмов и дезорганизации принципов их коллегиальности, что находит отражение в снижении, деградации когнитивных способностей, даже в отсутствие диагностируемых возраст-ассоциированных патологий [5].

Цель – провести индикацию молекулярных месседжей периферии – цитокинов и гормонов стресса, в контексте фенотипов когнитивной недостаточности: здоровая старость / депрессия старения / деменция.

Материалы и методы

Обследовано 80 людей старческого возраста ($79,0 \pm 5,0$ лет). На основании различий в степени выраженности когнитивных нарушений все участники исследования были разделены на три группы. В группу «Деменция» вошли персоны с выраженной когнитивной недостаточностью (преимущественно проявляющейся сосудистой деменцией) – 23 человека. В группу «Депрессия» отобраны лица с симптомами старческой депрессии (плохое настроение; снижение интереса к жизни, энергии и концентрации, плохой сон и аппетит; озабоченность проблемами со здоровьем) – 17 человек. В группу «Здоровая старость» включены 40 человек с отсутствием выраженных клинических проявлений когнитивных нарушений. Обследованные были сопоставимы по полу, возрасту и возраст-ассоциированным заболеваниям. Критериями исключения из исследования были: онкологические заболевания, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, врожденные нарушения центральной нервной системы. Работа одобрена этическим комитетом Челябинского государственного университета (протокол № 1 от 16.05.2016).

Уровень IL-6, IL-1 β , TNF α , IFN γ , IL-10 (АО «Вектор Бест», г. Новосибирск) и кортизола (ООО «Хема», Москва), адренокортикотропного гормона (АКТГ, Biomerica, Германия), дофамина, норадреналина, адреналина (IBL International,

Германия), определяли в плазме крови методом ИФА.

Статистическую обработку данных проводили в пакете PAST (version 3.20). Для сравнения выборок применяли метод Краскела–Уоллиса с попарными сравнениями по Коноверу–Инману. Для дифференциальной диагностики персон старческого возраста использовали линейный канонический дискриминантный анализ, проведенный на рангах (получены преобразованием Бокса–Кокса) прямой пошаговой техникой. Во всех случаях статистически значимыми считали эффекты при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Данные последних 30 лет свидетельствуют о быстром нарастании во всем мире стареющих популяций и ускорении превалирования среди них фенотипов когнитивной недостаточности – депрессий старости и деменций, на фоне увеличения пожилых персон, демонстрирующих высоко гетерогенный фенотип здоровья, ранжируемый от слабости у одних к высоко функциональному и жизненно-независимому у других [13]. Такая дихотомия процессов биологического старения требует развернутых программ исследований, способных приблизить к пониманию целого ряда вопросов и путей их решения, в том числе идентификации когнитивных изменений, ассоциированных со старением, траекторий их развития и факторов, сдерживающих их.

Кроме того, широко дискутируется вопрос о таких фенотипах когнитивной недостаточности, как депрессия старости / деменция: является ли депрессия предстадией деменции либо самостоятельным заболеванием, увеличивающим риск деменции, либо депрессия, как коморбид деменции, и являются ли оба фенотипа ко-патологиями иммунной и нейроэндокринной систем. В плане данной дискуссии становится важным поиск путей сегрегации этих двух фенотипов [1, 10].

В данной работе проведена оценка возможности использования молекулярных месседжей периферии – цитокинов и гормонов стресса, для индикации фенотипов когнитивного старения – здоровая старость / депрессия старости / деменция (табл. 1, 2).

Показано: фенотипы когнитивной недостаточности – депрессия старости и деменция, отличаются от фенотипа здоровая старость по показателям цитокинов: TNF α – высокий уровень в циркуляции, IL-1 β – низкий (табл. 1). Оценка эффектов этих двух цитокинов на сознание несет много противоречий: в отношении TNF α – от негативного влияния на память, до влияния эффектов на нее [7, 14, 15], в то же время большинство авторов сходится во мнении, что TNF α

выступает строгим прогностическим маркером «синдрома слабости» у персон старческого возраста [7, 15]. Низкие физиологические уровни IL-1 β в гиппокампе играют важную роль в обучении и памяти, но его подъем приводит к негативным эффектам [15].

Основные различия между депрессией старых и деменцией включали: очень низкий уровень цитокина IL-10 при депрессии (ниже, чем у группы «Здоровая старость») и высокий уровень IL-6 – «цитокина для геронтологов» при деменции (по сравнению с группой «Здоровая старость») (табл. 1). Известно, что высокий уровень в циркуляции IL-6 выступает возраст-ассоциированным маркером недостаточности памяти, оказывающим негативные эффекты на обучение [7, 15]. Однако авторы подчеркивают дуалистическую роль в контексте подъема его уровня в циркуляции, т.к. он обладает про- и противовоспалительными эффектами. Интересно, что IL-6, а не TNF α увеличивается уже в среднем возрасте человека, тогда как оба цитокина демонстрируют высокие уровни у восьмидесятилетних [7], что не противоречит нашим данным.

Считаем, что наши результаты согласуются с данным мнением, а именно: повышенные в циркуляции уровни TNF α отражают степень выраженности воспаления, которая при депрессии поддержана чрезвычайно низким уровнем IL-10, а низкие уровни IL-1 β – снижение когнитивных свойств. Высокие уровни IL-6 (при деменции) выступают маркером старения, а высота подъема его в циркуляции презентует степень его негативного влияния на возраст-ассоциированные когнитивные способности.

Оценка гормонов ГН-оси и САМ-оси продемонстрировала гипотетическую ГН-оси, независимо от фенотипов когнитивной недостаточности, при активации САМ-оси, что определено двумя параметрами.

1. Высокий уровень дофамина при депрессии старости и деменции (табл. 1). Известно, что дофамин способен индуцировать селективную секрецию Т-лимфоцитами либо TNF α , либо IL-10, в зависимости от специфических дофаминовых рецепторов на клетках. Феномен двойного действия определяется уровнем активности Т-лимфоцитов – дофамин активирует отдыхающие клетки, но супрессирует преактивированные другими молекулами лимфоциты [6, 9].

2. Более высокий уровень адреналина при деменции по сравнению с фенотипом депрессия старости и здоровым старением (табл. 1). Высказано предположение, что адреналин может играть роль в регуляции врожденных провоспалительных цитокинов так же, как и в адаптивных Т-хелпер ответах, а возможно, способен выпол-

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ И ГОРМОНОВ СТРЕССА В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЛЮДЕЙ СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА С ДЕМЕНЦИЕЙ, ДЕПРЕССИЕЙ И ПРИ ЗДОРОВОМ СТАРЕНИИ

TABLE 1. LEVELS OF SOME CYTOKINES AND STRESS HORMONES IN THE PLASMA OF OLD AGE PERSONS WITH VARYING GRADES OF COGNITIVE IMPAIRMENT

Показатели Indicators	Здоровая старость Healthy ageing (n = 40)	Депрессия Depression (n = 17)	Деменция Dementia (n = 23)
IL-6, пг/мл IL-6, pg/ml	6,14 (4,29-10,17)	6,70 (4,05-10,61)	9,35 (5,25-13,32)*
IL-1β, пг/мл IL-1β, pg/ml	6,83 (4,35-10,74)	3,66 (2,91-4,63)*	4,14 (2,94-6,08)*
TNFα, пг/мл TNFα, pg/ml	2,0 (1,44-2,81)	3,75 (2,46-5,16)*	3,10 (1,79-5,28)*
IFNγ, пг/мл IFNγ, pg/ml	18,11 (16,56-19,59)	10,07 (8,98-20,08)	14,36 (10,78-19,64)
IL-10, пг/мл IL-10, pg/ml	5,68 (3,95-6,49)	0,32 (0,14-3,18)*	3,39 (1,23-6,53)**
Дофамин, пг/мл Dopamine, pg/ml	74,33 (57,44-129,60)	115,8 (107,0-129,5)*	137,5 (85,90-290,20)*
Адреналин, пг/мл Adrenaline, pg/ml	4,52 (1,94-8,45)	2,68 (2,17-8,09)	9,11 (6,16-14,52)* **
Норадреналин, пг/мл Noradrenaline, pg/ml	18,66 (6,33-34,35)	7,16 (4,74-21,59)*	6,29 (5,22-20,50)*
Кортизол, нмоль/л Cortisol, nMol/L	582,0 (436,0-710,0)	500,0 (328,0-620,0)	515,0 (410,0-775,0)
АКТГ, пг/мл ACTH, pg/ml	14,48 (5,38-58,04)	14,03 (9,32-61,07)	9,27 (4,34-15,50)

Примечание. Данные представлены в виде медианы и 25-75 квартилей. * – значимые различия между группами «Депрессия», «Деменция» и группой «Здоровая старость» ($p \leq 0,05$), ** – значимые различия между группами «Депрессия» и «Деменция» ($p \leq 0,05$).

Note. Data are presented as median values and interquartile range. *, statistically significant differences between groups of "Depression"/"Dementia" and "Healthy ageing" ($p \leq 0.05$); **, statistically significant differences between groups of "Depression" and "Dementia" ($p \leq 0.05$).

нять компенсаторную функцию в ходе стресса, модулируя активность цитокинов совместно с кортизолом [4].

Для выявления комплексов показателей, которые могли быть использованы в дифференциальной диагностике когнитивных нарушений у персон старческого возраста, был проведен канонический дискриминантный анализ (табл. 2).

В результате анализа выделено 2 статистически значимые ($p < 0,001$) канонические оси. В первую ось с положительной нагрузкой вошли показатели гормонов стресса: кортизол и дофамин, и отрицательной – IL-10 и адреналин. Во

вторую ось с положительной нагрузкой вошли показатели IL-1β, IL-10 и норадреналина, с отрицательной – IL-6, адреналина и дофамина. В целом полученная факторная структура позволила с высокой диагностической эффективностью провести дифференциацию трех исследуемых групп (число правильно классифицированных случаев – 87,5%). Характерной особенностью людей старческого возраста группы «Здоровая старость» стали высокие уровни IL-1β, IL-10 и норадреналина (вторая каноническая ось), для персон группы «Деменция» – высокие значения IL-6 и адреналина (вторая каноническая ось), а

ТАБЛИЦА 2. РЕЗУЛЬТАТЫ КАНОНИЧЕСКОГО ДИСКРИМИНАНТНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ РАЗДЕЛЕНИЯ ГРУПП ПЕРСОН СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА «ДЕМЕНЦИЯ», «ДЕПРЕССИЯ», «ЗДОРОВАЯ СТАРОСТЬ»

TABLE 2. RESULTS OF CANONICAL DISCRIMINANT ANALYSIS TO DIFFERENTIATE OLD AGE PERSON GROUPS WITH VARYING GRADES OF COGNITIVE INSUFFICIENCY IN PERIPHERAL CYTOKINES AND STRESS HORMONES INDICATORS

Показатели Indicators	Факторная структура Factor structure		Уровень значимости p p value
	Ось 1 Axis 1	Ось 2 Axis 2	
IL-6	-0,066	-0,182	< 0,001
IL-1 β	-0,062	0,251	0,013
TNF α	0,115	-0,297	0,099
IFN γ	0,006	0,105	0,423
IL-10	-0,602	0,394	0,008
Дофамин Dopamine	0,221	-0,246	< 0,001
Адреналин Adrenaline	-0,127	-0,188	< 0,001
Норадреналин Noradrenaline	-0,013	0,231	0,027
Кортизол Cortisol	0,304	0,089	< 0,001
АКТГ ACTH	0,329	0,224	0,211
Собственное число Total equipment	1,642	1,015	–
Доля объясняемой дисперсии, % Fraction of total dispersion, %	61,81	38,19	–
Каноническая корреляция Canonical correlation	0,922	0,747	–
Статистическая значимость оси Statistically significant differences of axis	$c^2_{(20)} = 121,2$ p < 0,001	$c^2_{(9)} = 50,8$ p < 0,001	–

Примечание. Выделены статистически значимые р-значения, показатели вносят вклад в разделение групп ($p \leq 0,05$).

Note. Statistically significant differences between groups are shown ($p \leq 0.05$).

лица группы «Депрессия» занимали промежуточное положение с преобладанием гормонов стресса: кортизола и дофамина (первая каноническая ось).

Заключение

Не вызывает сомнения, что поиски подходов к сепарации таких фенотипов когнитивной не-

достаточности, как депрессия/деменция, чрезвычайно актуальны, и, возможно, как мы предполагаем, одним из эффективных путей является оценка комплексных взаимодействий иммунной и нейроэндокринной систем, каждая из которых вступает на путь реконструкции своих фенотипических/функциональных свойств в процессе старения, что приводит к моделированию колаборации между ними.

Список литературы / References

1. Byers A.L., Yaffe K. Depression and risk of developing dementia. *Nat. Rev. Neurol.*, 2011, Vol. 7, no. 6, pp. 323-331.
2. Franceschi C., Garagnani P., Vitale G., Capri M., Salvioli S. Inflammaging and 'Garb-aging'. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2017, Vol. 28, no. 3, pp. 199-212.
3. Fulop T., Larbi A., Dupuis G., Le Page A., Frost E.H., Cohen A.A., Witkowski J.M., Franceschi C. Immunosenescence and inflamm-aging as two sides of the same coin: friends or foes? *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 8, 1960. doi: 10.3389/fimmu.2017.01960.
4. Gupta D., Morley J.E. Hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and aging. *Compr. Physiol.*, 2014, Vol. 4, no. 4, pp. 1495-1510.
5. Harada C.N., Natelson Love M.C., Triebel K.L. Normal cognitive aging. *Clin. Geriatr. Med.*, 2013, Vol. 29, no. 4, pp. 737-752.
6. Kipnis J., Gadani S., Derecki N.C. Pro-cognitive properties of T cells. *Nat. Rev. Immunol.*, 2012, Vol. 12, no. 9, pp. 663-669.
7. Krabbe K.S., Pedersen M., Bruunsgaard H. Inflammatory mediators in the elderly. *Exp. Gerontol.*, 2004, Vol. 39, no. 5, pp. 687-699.
8. McHugh D., Gil J. Senescence and aging: causes, consequences, and therapeutic avenues. *J. Cell Biol.*, 2018, Vol. 217, no. 1, pp. 65-77.
9. McKenna F., McLaughlin P.J., Lewis B.J., Sibbring G.C., Cummerson J.A., Bowen-Jones D., Moots R.J. Dopamine receptor expression on human T- and B-lymphocytes, monocytes, neutrophils, eosinophils and NK cells: a flow cytometric study. *J. Neuroimmunol.*, 2002, Vol. 132, no. 1-2, pp. 34-40.
10. Plassman B.L., Langa K.M., McCammon R.J., Fisher G.G., Potter G.G., Burke J.R., Steffens D.C., Foster N.L., Giordani B., Unverzagt F.W., Welsh-Bohmer K.A., Heeringa S.G., Weir D.R., Wallace R.B. Incidence of dementia and cognitive impairment, not dementia in the United States. *Ann. Neurol.*, 2011, Vol. 70, no. 3, pp. 418-426.
11. Ruan L., Zhang X., Li R. Recent insights into the cellular and molecular determinants of aging. *J. Cell Sci.*, 2018, Vol. 131, no. 3, jcs210831. doi: 10.1242/jcs.210831.
12. Sapolsky R.M. Doubled-edged swords in the biology of conflict. *Front. Psychol.*, 2018, Vol. 9, 2625. doi: 10.3389/fpsyg.2018.02625.
13. Vallejo A.N., Mueller R.G., Hamel D.L. Jr., Way A., Dvergsten J.A., Griffin P., Newman A.B. Expansions of NK-like $\alpha\beta$ T cells with chronologic aging: novel lymphocyte effectors that compensate for functional deficits of conventional NK cells and T cells. *Ageing Res. Rev.*, 2011, Vol. 10, no. 3, pp. 354-361.
14. Vitlic A., Lord J.M., Phillips A.C. Stress, ageing and their influence on functional, cellular and molecular aspects of the immune system. *Age (Dordr)*, 2014, Vol. 36, no. 3, 9631. doi: 10.1007/s11357-014-9631-6.
15. Yirmiya R., Goshen I. Immune modulation of learning, memory, neural plasticity and neurogenesis. *Brain Behav. Immun.*, 2011, Vol. 25, no. 2, pp. 181-213.

Авторы:

Бурмистрова А.Л. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Казо М.Е. — аспирант кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Authors:

Burmistrova A.L., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Cazaux M.E., Postgraduate Student, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation;

Алексеева А.С. — аспирант кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Филиппова Ю.Ю. — к.б.н., доцент, доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Alekseeva A.S., Postgraduate Student, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Filippova Yu. Yu., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Поступила 21.07.2021
Принята к печати 20.08.2021

Received 21.07.2021
Accepted 20.08.2021

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ *IL6*, *DHCR7*, РЕЦЕПТОРА *VDR*, *CYP2R1*, *GC* ПРИ СИНДРОМЕ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ И АУТОИММУННОМ ТИРЕОИДИТЕ

Валикова О.В.^{1,2}, Здор В.В.^{3,4}, Сарычев В.А.^{3,5}

¹ ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2», г. Владивосток, Россия

² Клиника «Пластэк хирургия», г. Владивосток, Россия

³ ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

⁴ Клиника диабета и эндокринных заболеваний, г. Владивосток, Россия

⁵ ЧУЗ «Клиническая больница “РЖД-Медицина”», г. Владивосток, Россия

Резюме. Синдромом поликистозных яичников – распространенная патология женщин репродуктивного возраста, приводящая к гиперандрогении, дислипидемии, сахарному диабету, нарушению овуляции и бесплодию. Этиопатогенез заболевания активно изучается, но многие механизмы его неясны. Целью являлось изучение частоты полиморфизма гена *IL6*, генов витамина D и его рецептора, особенностей содержания витамина D в крови при синдроме поликистозных яичников в сочетании с аутоиммунным тиреоидитом.

Всего было обследовано 192 женщины, средний возраст пациенток составил $25,5 \pm 3,1$ лет; из них 130 женщин имели синдром поликистозных яичников. Пациентки были разделены на 2 группы: с синдромом поликистозных яичников в сочетании с аутоиммунным тиреоидитом (I) и синдромом поликистозных яичников без аутоиммунной патологии щитовидной железы (II); 62 здоровые женщины составили группу контроля. Методом ИФА определяли тиреотропный гормон, тиреоидные гормоны, антитела к тиреоидной пероксидазе, витамин D, тестостерон, эстрадиол, прогестерон, 17-гидроксипрогестерон, лютеотропный гормон, фолликулостимулирующий гормон. Генетическое исследование – изучали ген *IL6* rs1800795, ген рецептора витамина D *VDR* rs1544410, гены *DHCR7* rs12785878, *GC* rs2282679, *CYP2R1* rs10741657, которое проводили методом ПЦР (буккальный тест).

Был выявлен полиморфизм гена *IL6*, гена рецептора витамина D *VDR*, генов *DHCR7*, *GC*, *CYP2R1* у пациенток с синдромом поликистозных яичников в сочетании и без сопутствующего аутоиммунного тиреоидита. Показатели 25 гидроксивитамина D в сыворотке крови были наиболее низкими у пациенток в группе с синдромом поликистозных яичников и аутоиммунным тиреоидитом. Заключение – полиморфизм генов *IL6*, рецептора витамина D, генов *DHCR7*, *GC*, *CYP2R1* может усугублять течение синдрома поликистозных яичников и требует более полномасштабного исследования. При сочетании синдрома поликистозных яичников с аутоиммунным тиреоидитом полиморфизм исследованных генов не существенно отличался от пациенток с синдромом поликистозных яичников без аутоиммунного тиреоидита, что свидетельствует о большей значимости данных генетических факто-

Адрес для переписки:

Валикова Ольга Владимировна
ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2»
690012, Россия, г. Владивосток,
ул. Фастовская, 14, кв. 184.
Тел.: 8 (902) 521-77-72.
E-mail: renalex.99@mail.ru

Address for correspondence:

Valikova Olga V.
Regional Clinical Hospital No. 2
690012, Russian Federation, Vladivostok,
Fastovskaya str., 14, apt 184.
Phone: 7 (902) 521-77-72.
E-mail: renalex.99@mail.ru

Образец цитирования:

О.В. Валикова, В.В. Здор, В.А. Сарычев «Полиморфизм генов *IL6*, *DHCR7*, рецептора *VDR*, *CYP2R1*, *GC* при синдроме поликистозных яичников и аутоиммунном тиреоидите» // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 4. С. 469-476.
doi: 10.46235/1028-7221-1056-GPO

© Валикова О.В. и соавт., 2021

For citation:

O.V. Valikova, V.V. Zdor, V.A. Sarychev “Gene polymorphism of *IL6*, *DHCR7*, *VDR*, *CYP2R1*, *GC* in polycystic ovary syndrome and autoimmune thyroiditis”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 4, pp. 469-476.
doi: 10.46235/1028-7221-1056-GPO

DOI: 10.46235/1028-7221-1056-GPO

ров в патогенезе синдрома поликистозных яичников. Однако более половины женщин с сочетанием двух эндокринопатий имели оба варианта патологического носительства гена *IL6* — гомозиготное и гетерозиготное и наиболее низкие значения витамина D, что может существенно влиять на иммунный ответ и определять развитие симптоматики обоих эндокринных заболеваний.

Ключевые слова: *IL6, VDR, CYP2R1, DHCR7, GC, синдром поликистозных яичников, 25(OH) витамин D, аутоиммунный тиреоидит*

GENE POLYMORPHISM OF *IL6*, *DHCR7*, *VDR*, *CYP2R1*, *GC* IN POLYCYSTIC OVARY SYNDROME AND AUTOIMMUNE THYROIDITIS

Valikova O.V.^{a,b}, Zdor V.V.^{c,d}, Sarychev V.A.^{c,e}

^a Regional Clinical Hospital No. 2, Vladivostok, Russian Federation

^b "Plastek Surgery" Clinic, Vladivostok, Russian Federation

^c Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

^d Clinic for Diabetes and Endocrine Diseases, Vladivostok, Russian Federation

^e Clinical Hospital "RZhD-Medicine", Vladivostok, Russian Federation

Abstract. Polycystic ovary syndrome is a common pathology in women of reproductive age, leading to hyperandrogenism, dyslipidemia, diabetes mellitus, ovulation disorder and infertility. Etiopathogenesis of the disease is actively studied, but many of its mechanisms are unclear. The aim was to study the frequency of *IL6* and vitamin D receptor gene polymorphisms, blood contents of vitamin D in polycystic ovary syndrome combined with autoimmune thyroiditis.

A total of 192 women were examined, the average age of the patients was 25.5 ± 3.1 years; of these, 130 women had polycystic ovary syndrome. The patients were divided into 2 groups: with polycystic ovary syndrome combined with autoimmune thyroiditis (1st group) and polycystic ovary syndrome without autoimmune thyroid pathology (2nd group); 62 healthy women made up the control sample. The ELISA method was used to determine thyroid stimulating hormone, thyroid hormones, antibodies to thyroid peroxidase, vitamin D, testosterone, estradiol, progesterone, 17-hydroxyprogesterone, luteotropic hormone, follicle-stimulating hormone. Material for genetic studies was isolated from buccal cells. The typing was performed by PCR, and the following polymorphisms were tested: *IL6* (rs1800795 SNP), vitamin D receptor (*VDR*) gene (rs1544410), *DHCR7* (rs12785878), *GC* (rs2282679), *CYP2R1* (rs10741657). The results were as follows: polymorphism of *IL6*, *VDR*, *DHCR7*, *GC*, *CYP2R1* genes was revealed in the patients with polycystic ovary syndrome in combination and without concomitant autoimmune thyroiditis. The lowest levels of 25-hydroxyvitamin D in serum were found in the patients with polycystic ovary syndrome and autoimmune thyroiditis.

Polymorphism of *IL6* genes, vitamin D receptor, *DHCR7*, *GC*, *CYP2R1* genes may aggravate the course of polycystic ovary syndrome and requires a more comprehensive study. When polycystic ovary syndrome was combined with autoimmune thyroiditis, the studied gene polymorphisms did not differ significantly from those in patients with polycystic ovary syndrome without autoimmune thyroiditis, thus suggesting greater significance of these genetic factors in pathogenesis of polycystic ovary syndrome. However, more than a half of women with combined endocrine disorders had both homozygous and heterozygous variants of pathological *IL6* gene carriage along with lowest vitamin D levels, which may significantly affect immune response and, hence, determine the development of both endocrine disorders.

Keywords: *IL6, VDR, CYP2R1, DHCR7, GC, polycystic ovary syndrome, 25(OH) vitamin D, autoimmune thyroiditis*

Введение

Роль провоспалительных цитокинов и полиморфизма их генов, а также генов витамина D и его рецептора в патогенезе синдрома полики-

стозных яичников (СПКЯ) активно изучается в последние годы, но данные весьма противоречивы, а проводимые изыскания ограничены регионарными исследованиями [6, 7, 13, 15]. Ген интерлейкина-6 (*IL6* rs1800795) кодирует белок

IL6, участвует в формировании иммунного ответа, запускает острую фазу воспаления [6, 15], полиморфизм его гена связывают с развитием гиперандрогении, остеопороза, дислипидемии, сахарного диабета и нарушением мозгового кровообращения [6, 15]. В последнее десятилетие активно исследуется взаимосвязь содержания витамина D в крови, полиморфизма генов его рецептора *VDR*, мутаций *CYP2R1*, *DHCR7*, *GC* с репродуктивными и метаболическими параметрами здоровья женщин при СПКЯ, но результаты исследований носят противоречивый характер [7, 13, 17]. *VDR*-ген кодирует рецептор, который связывает витамин D3 (кальцитриол) и активизирует гены, ответственные за обмен кальция и фосфора в организме женщины. Мутации в гене значительно повышают риск остеопороза [17]. *DHCR7*-фермент НАДФ-зависимая 7-дегидрохолестерин-редуктаза, кодируемая геном *DHCR7*, отвечает за синтез холестерина в различных клетках организма. В коже НАДФ-зависимая 7-дегидрохолестерин-редуктаза под воздействием ультрафиолета стимулирует синтез витамина D3 из 7-дегидрохолестерина [17]. *GC*-белок, кодируемый этим геном, относится к белкам-переносчикам. Белок взаимодействует с витамином D и его метаболитами в плазме и переносит их в клетки. Мутация в гене ассоциирована со снижением концентрации витамина D [17]. *CYP2R1*-ген кодирует одного из членов суперсемейства ферментов цитохрома – P450. Этот фермент является микросомальной гидроксилазой витамина D, которая преобразовывает витамин D в активный лиганд для рецептора витамина D [17]. Исследование мутаций в выше обозначенных генах весьма актуально для прогноза течения заболевания и фертильности женщин при СПКЯ.

Течение аутоиммунного тиреоидита (АИТ) зачастую длительное время носит бессимптомный характер, не имея специфических клинических проявлений, а субклинический гипотиреоз на фоне АИТ не всегда диагностируется вовремя, но в сочетании с СПКЯ может существенно снижать фертильность пациенток [2]. В проведенных исследованиях, получено подтверждение, что диагноз АИТ у женщин с СПКЯ выставляется достоверно чаще, чем в общей популяции 27% против 8% соответственно [9, 12]. Витамин D подавляет экспрессию TNF α в тучных клетках. Сочетание полиморфизмов генов витамина D (*VDR*, *GC*, *DHCR7*, *CYP2R1*) и *IL6* при СПКЯ и АИТ может снижать способность к зачатию, усугублять течение СПКЯ, что требует дальнейшего изучения [6, 7, 13, 15]. **Целью исследования** являлось изучение частоты полиморфизма гена *IL6*, генов витамина

D и его рецептора, особенностей содержания витамина D в крови при синдроме поликистозных яичников в сочетании с аутоиммунным тиреоидитом.

Материалы и методы

Исследование проводилось с 2017 по 2021 гг. на базе эндокринологического отделения Приморской краевой клинической больницы № 2 и клиники «Пластэк хирургия». Всего обследовано 192 женщины, их средний возраст составил (25,5 \pm 3,1 лет), из них – 130 пациенток с СПКЯ и/без АИТ; 62 здоровые женщины, которые составили контрольную группу. Все участницы исследования были сопоставимы по возрасту и полу, группа контроля имела нормальный уровень витамина D, ТТГ и антител к ТПО, без острых и хронических заболеваний, не курящие, не употребляющие каких-либо лекарственных препараты и алкоголь, не беременные. Критерии включения в основную группу: женщины в возрасте от 19 до 32 лет с верифицированными диагнозами СПКЯ и АИТ согласно Федеральным клиническим рекомендациям (2015, 2013 гг.). Все пациентки и здоровые из группы контроля дали письменное согласие на участие в исследовании. Исследование выполнялось с учетом требований Хельсинкской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Министерства РФ от 19.06.2003 г. № 266. Критерии исключения – больные с СПКЯ и АИТ, имевшие сопутствующие заболевания: сахарный диабет, острые инфекционные и хронические воспалительные заболевания в стадии обострения, психические заболевания, алкоголизм, онкологические заболевания, беременные и кормящие женщины. Принцип формирования групп – параллельный, открытый, стратифицированный.

Пациентки с СПКЯ были разделены на 2 группы. Первая группа (I) – женщины с СПКЯ в сочетании с аутоиммунным тиреоидитом, вторая группа (II) – пациентки с СПКЯ без АИТ, третья группа (III) – контрольная. В исследовании использовали метод ИФА с иммунохемилюминисцентной и электрохемилюминисцентной детекцией, им определяли уровень витамина D, тестостерона, 17-гидроксипрогестерона, прогестерона, эстрадиола, ЛГ, ФСГ, пролактина, иммунореактивного инсулина, глюкозы крови, липидного спектра и тиреоидных гормонов в крови, ТТГ (иммуноанализ на микрочастицах), антите-

ла к тиреоидной пероксидазе (иммунотест фирмы Roche diagnostics, Швейцария). Генетическое исследование проводилось методом ПЦР лаборатории ВGG, исследовался буккальный соскоб эпителия. Проводили ультразвуграфию щитовидной железы, трансвагинальное исследование органов малого таза, все выполнено на аппарате LOGIQ S8 датчиком 10 МГц.

Результаты и обсуждение

Показатели 25 гидроксивитамина D в сыворотке крови были значимо низкими у пациенток в группе с СПКЯ и АИТ ($21,73 \pm 1,26$ нг/мл против $35,87 \pm 1,89$ нг/мл, $p < 0,01$); у пациенток с СПКЯ без АИТ показатель был также значимо снижен в отличии от группы контроля ($24,23 \pm 1,29$ нг/мл и $35,87 \pm 1,89$ нг/мл, $p < 0,05$). Согласно российским клиническим рекомендациям [1], недостаточность витамина D диагностировалась при его значениях в крови от 20 до 29 нг/мл. При обследовании у большинства пациенток в группах с СПКЯ выявлен значимый полиморфизм генов

витамина D и гена *IL6* данные представлены в таблицах 1, 2, 3, 4 и 5.

Вариант гена *IL6* rs1800795 G/G – гомозиготное патологическое носительство, C/G – гетерозиготное патологическое носительство, C/C – гомозиготное протективное носительство. Протективное гомозиготное носительство выявлено одинаковое во всех группах (вариант C/C). Полиморфизм выявлен в большей степени у пациенток с СПКЯ: показатель в I группе составил 26% и II группе 26,5%, в контрольной группе мутация выявлена в 21,8% случаев.

Вариант G/G – гомозиготное протективное носительство, A/G – гетерозиготное патологическое носительство, A/A – гомозиготное патологическое носительство. Обращает на себя внимание отсутствие мутации у 46,3% – нормальный вариант G/G, полиморфизм гена рецептора *VDR* (A/G и A/A) выявлен у 53,7% всех обследованных женщин, значимых отличий от контроля не выявлено.

Вариант A/A – гомозиготное протективное носительство, A/C – гетерозиготное патологическое

ТАБЛИЦА 1. ЧАСТОТА ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *IL6* RS1800795 У ПАЦИЕНТОК С СПКЯ И АУТОИММУННЫМ ТИРЕОИДИТОМ

TABLE 1. FREQUENCY OF *IL6* RS1800795 GENE POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH PCOS AND AUTOIMMUNE THYROIDITIS

<i>IL6</i> rs1800795	I группа I group	II группа II group	Контроль Control	Значение p Value p
G/G	17 (8,8%)	22 (11,4%)	14 (7,3%)	$p_I > 0,05$; $p_{II} = 0,05$
C/G	35 (19,2%)	29 (15,1%)	28 (14,5%)	$p_I < 0,05$; $p_{II} > 0,05$
C/C	15 (7,73%)	16 (7,9%)	14 (7,2%)	$p_I > 0,05$; $p_{II} = 0,05$

Примечание: $p_{I, II}$ – статистическая значимость различий ($p < 0,05$ по t-критерию Стьюдента) между показателями у женщин при СПКЯ и у здоровых лиц.

Note. $p_{I, II}$, statistical significance of differences ($p < 0.05$ according to Student's t-test) between indicators in women with PCOS and in healthy individuals.

ТАБЛИЦА 2. ЧАСТОТА ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА РЕЦЕПТОРА *VDR* RS1544410, У ПАЦИЕНТОК С СПКЯ И АУТОИММУННЫМ ТИРЕОИДИТОМ

TABLE 2. FREQUENCY OF POLYMORPHISM OF THE *VDR* RS1544410 RECEPTOR GENE IN PATIENTS WITH PCOS AND AUTOIMMUNE THYROIDITIS

<i>VDR</i> rs1544410	I группа I group	II группа II group	Контроль Control	Значение p Value p
G/G	31 (16,2%)	30 (15,6%)	28 (14,5%)	$p_I > 0,05$; $p_{II} > 0,05$
A/G	26 (13,5%)	29 (15,1%)	28 (14,5%)	$p_I > 0,05$; $p_{II} > 0,05$
A/A	7 (3,56%)	7 (3,6%)	6 (3,1%)	$p_I > 0,05$; $p_{II} > 0,05$

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

ТАБЛИЦА 3. ЧАСТОТА ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА GC RS2282679 У ПАЦИЕНТОК С СПКЯ И АУТОИММУННЫМ ТИРЕОИДИТОМ

TABLE 3. FREQUENCY OF GC RS2282679 GENE POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH PCOS AND AUTOIMMUNE THYROIDITIS

GC rs2282679	I группа I group	II группа II group	Контроль Control	Значение p Value p
C/C	11 (7,7%)	9 (4,7%)	8 (4,2%)	$p_I < 0,05; p_{II} > 0,05$
A/C	25 (13,0%)	30 (15,6%)	25 (13%)	$p_I > 0,05; p_{II} < 0,05$
A/A	28 (14,6%)	27 (14%)	29 (15,1%)	$p_I > 0,05; p_{II} > 0,05$

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

ТАБЛИЦА 4. ЧАСТОТА ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА DHCR7 RS12785878 ПРИ СПКЯ И АУТОИММУННОМ ТИРЕОИДИТЕ

TABLE 4. FREQUENCY OF DHCR7 RS12785878 GENE POLYMORPHISM IN PCOS AND AUTOIMMUNE THYROIDITIS

DHCR7 rs12785878	I группа I group	II группа II group	Контроль Control	Значение p Value p
G/G	6 (3,1%)	10 (5,2%)	16 (8,3%)	$p_I < 0,05; p_{II} < 0,05$
G/T	30 (15,6%)	29 (15,1%)	26 (13,5%)	$p_I = 0,045; p_{II} > 0,05$
T/T	28 (14,6%)	27 (14%)	20 (10,4%)	$p_I < 0,05; p_{II} = 0,045$

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

ТАБЛИЦА 5. ЧАСТОТА ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА CYP2R1 RS10741657 ПРИ СПКЯ И АУТОИММУННОМ ТИРЕОИДИТЕ

TABLE 5. FREQUENCY OF POLYMORPHISM OF THE CYP2R1 RS10741657 GENE IN PCOS AND AUTOIMMUNE THYROIDITIS

CYP2R1 rs10741657	I группа I group	II группа II group	Контроль Control	Значение p Value p
G/G	28 (14,6%)	22 (11,4%)	18 (9,4%)	$p_I < 0,05; p_{II} = 0,05$
A/G	28 (14,6%)	31 (16,1%)	23 (12,5%)	$p_I < 0,05; p_{II} < 0,05$
A/A	8 (4,2%)	13 (6,8%)	20 (10,4%)	$p_I < 0,01; p_{II} = 0,04$

Примечание. $p_{I, II}$ – статистическая значимость различий ($p < 0,05; p < 0,01$ по t-критерию Стьюдента) между показателями у женщин при СПКЯ и у здоровых лиц.

Note. $p_{I, II}$, statistical significance of differences ($p < 0.05; p < 0.01$ according to Student's t-test) between indicators in women with PCOS and in healthy individuals.

ское носительство, C/C – гомозиготное патологическое носительство. При обработке данных, как видно из таблицы 3, обращает внимание выявление полиморфизма во II группе пациенток (пациентки с СПКЯ без АИТ) в 20,3%, в группе пациенток с СПКЯ и АИТ выявлено в 18,7% случаев, в контроле полиморфизм также выявлен в 17,2%.

Вариант G/G – гомозиготное протективное носительство, G/T – гетерозиготное патологическое носительство, T/T – гомозиготное патологическое носительство. В исследовании только у

16,6% из всех обследованных выявлено гомозиготное протективное носительство варианта аллели G/G, полиморфизм выявлен в 83,2% случаев. В I группе пациенток – с СПКЯ и АИТ выявлено большее количество случаев полиморфизма в 30,2%, в группе пациенток с СПКЯ без АИТ обнаружены мутации в гене DHCR7 в 29,1% случаев. Более того, в группе контроля также зафиксированы мутации гена в 23,9% случаев, что позволяет идентифицировать ген DHCR7 rs12785878 как общую генетическую детерминанту, влияющую

на концентрацию витамина D и риск недостаточности этого важнейшего прогормона.

Вариант А/А — гомозиготное протективное носительство, А/Г — гетерозиготное патологическое носительство, Г/Г — гомозиготное патологическое носительство. Полиморфизм гена *CYP2R1* rs10741657 выявлен в I группе пациенток в 29,2% случаев, во II группе в 27,5% случаев, в группе контроля также выявлен полиморфизм в 21,9% случаев.

Заключение

На основании полученных в исследовании данных подтверждено значение полиморфизма гена *IL6* в патогенезе синдрома поликистозных яичников и аутоиммунного тиреоидита. Исследование полиморфизма генетических детерминант метаболизма витамина D может существенно повлиять на прогноз заболевания, выбор тактики ведения пациенток и длительность терапии. Тем не менее необходимы дальнейшие генетические исследования для уточнения дополнительных факторов риска и прогностических маркеров, так как известна тесная связь дефицита витамина D с развитием аутоиммунных заболеваний щитовидной железы и неблагоприятными метаболическими фенотипами СПКЯ. Генетическое исследование изученных нами локусов позволит заранее идентифицировать женщин, у которых

значительно повышен риск недостаточности витамина D и гиперпродукции провоспалительного ИЛ6. Своевременная коррекция недостаточности витамина D позволит регулировать воспаление и ремоделирование тканей яичников. При сочетании СПКЯ с аутоиммунным тиреоидитом полиморфизм исследованных генов не существенно отличался от пациенток с СПКЯ без аутоиммунного тиреоидита, что свидетельствует о большей значимости данных генетических факторов в патогенезе синдрома поликистозных яичников. Однако более половины женщин с сочетанием двух эндокринопатий имели оба варианта патологического носительства гена *IL6* — гомозиготное и гетерозиготное и наиболее низкие значения витамина D, что может существенно влиять на иммунный ответ у этой когорты пациенток и определять развитие симптоматики обоих эндокринных заболеваний.

Благодарности

Благодарность авторы хотят выразить признательность Заботину М.В., руководителю отдела медицинского обучения, компании Basic Genomic Group, консультировавшим работу в процессе выполнения исследований, и клиники «Пластэк хирургия» за помощь в выполнении исследования, субсидировавшей проведение исследований.

Список литературы / References

1. Адамян Л.В., Андреева Е.Н., Абсаратова Ю.С., Гаспарян С.А., Геворкян М.А., Григорян О.Р., Гринева Е.Н., Густоварова Т.А., Дедов И.И., Демидова Т.Ю., Зайдиева Я.Д., Карахалис Л.Ю., Лизнева Л.В., Мельниченко Г.А., Соболева Е.Л., Спиридонова Н.В., Сутурина Л.В., Тарасова М.А., Уварова Е.В., Филиппов О.С., Хамошина М.Б., Чернуха Г.Е., Шереметьева Е.В., Ярмолинская М.И. Синдром поликистозных яичников в репродуктивном возрасте (современные подходы к диагностике и лечению): Клинические рекомендации (протокол лечения). М.: Минздрав России, 2016. 22 с. [Adamyan L.V. Andreeva E.N., Absatarova Yu.S., Gasparyan S.A., Gevorkyan M.A., Grigoryan O.R., Grineva E.N., Gustovarova T.A., Dedov I.I., Demidova T.Yu., Zaydieva Ya.D., Karacharis L.Yu., Lizneva L.V., Melnichenko G.A., Soboleva E.L., Spiridonova N.V., Suturina L.V., Tarasova M.A., Uvarova E.V., Filippov O.S., Khamoshina M.B., Chernukha G.E., Sheremetyeva E.V., Yarmolinskaya M.I. Polycystic ovary syndrome in the reproductive age (modern approaches to diagnosis and treatment): Clinical recommendations (treatment protocol)]. Moscow: Ministry of Health of Russia, 2016. 22 p.
2. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Герасимов Г.А., Фадеев В.В., Петунина Н.А., Александрова Г.Ф., Трошина Е.А., Кузнецов Н.С., Ванушко В.Э. Клинические рекомендации Российской Ассоциации Эндокринологов по диагностике и лечению аутоиммунного тиреоидита у взрослых. М.: Российская ассоциация эндокринологов; ФГБУ «Эндокринологический научный центр» МЗ РФ, 2013. 2 с. [Dedov I.I., Melnichenko G.A., Gerasimov G.A., Fadeev V.V., Petunina N.A., Alexandrova G.F., Troshina E.A., Kuznetsov N.S., Vanushko V.E. Clinical recommendations of the Russian Association of Endocrinologists for the diagnosis and treatment of autoimmune thyroiditis in adults]. Moscow: Russian Association of Endocrinologists; Federal State Budgetary Institution "Endocrinological Research Center" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2013. 2 p.
3. Пигарова Е.А., Рожинская Л.Я., Белая Ж.Е., Дзеранова Л.К., Каронова Т.Л., Ильин А.В., Мельниченко Г.А., Дедов И.И. Клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D у взрослых // Проблемы эндокринологии, 2016. Т. 62, № 4. С. 60-84. [Pigarova E.A., Rozhinskaya L.Ya., Belaya Zh.E., Dzeranova L.K., Karonova T.L., Ilyin A.V.,

Melnichenko G.A., Dedov I.I. Clinical recommendations of the Russian Association of Endocrinologists on the diagnosis, treatment and prevention of vitamin D deficiency in adults. *Problemy endokrinologii = Problems of Endocrinology*, 2016, Vol. 62, no. 4, pp. 60-84. (In Russ.)]

4. Сутурина Л.В. Синдром поликистозных яичников в XXI веке // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение, 2017. № 3. С. 86-90. [Suturina L.V. Polycystic ovarian syndrome in the 21st century. *Akusherstvo i ginekologiya: novosti, mneniya, obucheniye = Obstetrics and Gynecology: News, Opinions, Training*, 2017, no. 3, pp. 86-90. (In Russ.)]

5. Chen L., Zhang Z., Huang J., Jin M. Association between rs1800795 polymorphism in the interleukin-6 gene and the risk of polycystic ovary syndrome: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*, 2018, Vol. 97, no. 29, e11558. doi: 10.1097/MD.00000000000011558.

6. Haldar D., Agrawal N., Patel S., Kambale P.R., Arora K., Sharma A., Tripathi M., Batra A., Kabi B.C. Association of VDBP and CYP2R1 gene polymorphisms with vitamin D status in women with polycystic ovarian syndrome: a north Indian study. *Eur. J. Nutr.*, 2018, Vol. 57, no. 2, pp. 703-711.

7. He C., Lin Z., Wagner-Robb S., Ezeamama A.E. Serum vitamin D levels and polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients*, 2015, Vol. 7, no. 6, pp. 4555-4577.

8. Kowalczyk K., Franik G., Kowalczyk D., Pluta D., Blukacz L., P Madej P. Thyroid disorders in polycystic ovary syndrome. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, 2017, Vol. 21, no. 2, pp. 346-360.

9. Krul-Poel Y., Koenders P.P., Steegers-Theunissen R.P., TenBoekel E., Ter Wee M.M., Louwers Y., Lips P., Laven J.S.E., Simsek S. Vitamin D and metabolic disturbances in Polycystic ovary syndrome (PCOS): a cross-sectional study. *PLoS One*, 2018, Vol. 13, no. 12, e0204748. doi: 10.1371/journal.pone.0204748.

10. Lerchbaum E., Rabe Th. Vitamin D and female fertility. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.*, 2014, Vol. 26, no. 3, pp. 145-150.

11. Muscogiuri G., Palomba S., Caggiano M., Tafuri D., Colao A., Orzio F. Low 25(OH) Vitamin D Levels are associated with autoimmune thyroid disease in Polycystic Ovary Syndrome. *Endocrine*, 2016, Vol. 53, no. 2, pp. 538-542.

12. Siddamalla S., Reddy T.V., Govatati S., Erram N., Deenadayal M., Shivaji S., Bhanoori M. Vitamin D receptor gene polymorphisms and risk of polycystic ovary syndrome in South Indian women. *Gynecol. Endocrinol.*, 2018, Vol. 34, no. 2, pp. 161-165.

13. Trummer C., Schwetz V., Kollmann M., Wölfler M., Münzker J., Pieber T.R., Pilz S., Heijboer A.C., Obermayer-Pietsch B., Lerchbaum E. Effects of Vitamin D supplementation on metabolic and endocrine parameters in PCOS: a randomized-controlled trial. *Eur. J. Nutr.*, 2019, Vol. 58, no. 5, pp. 2019-2028.

14. Zhang Y., Che L., Zhang M., He J. Common cytokine polymorphisms and predisposition to polycystic ovary syndrome: a meta-analysis. *Endocr. J.*, 2020, Vol. 67, no. 5, pp. 561-567.

15. Zore T., Joshi N.V., Lizneva D., Azziz R. Polycystic ovarian syndrome: long-term Health consequences. *Semin. Reprod. Med.*, 2017, Vol. 35, no. 3, pp. 271-281.

16. Wang T.J., Zhang F., Richards J.B., Kestenbaum B., van Meurs J.B., Berry D., Kiel D.P., Streeten E.A., Ohlsson C., Koller D.L., Peltonen L., Cooper J.D., O'Reilly P.F., Houston D.K., Glazer N.L., Vandenput L., Peacock M., Shi J., Rivadeneira F., McCarthy M.I., Anneli P., de Boer I.H., Mangino M., Kato B., Smyth D.J., Booth S.L., Jacques P.F., Burke G.L., Goodarzi M., Cheung C.L., Wolf M., Rice K., Goltzman D., Hidiroglou N., Ladouceur M., Wareham N.J., Hocking L.J., Hart D., Arden N.K., Cooper C., Malik S., Fraser W.D., Hartikainen A.L., Zhai G., Macdonald H.M., Forouhi N.G., Loos R.J., Reid D.M., Hakim A., Dennison E., Liu Y., Power C., Stevens H.E., Jaana L., Vasani R.S., Soranzo N., Bojunga J., Psaty B.M., Lorentzon M., Foroufard T., Harris T.B., Hofman A., Jansson J.O., Cauley J.A., Uitterlinden A.G., Gibson Q., Jarvelin M.R., Karasik D., Siscovick D.S., Econs M.J., Kritchevsky S.B., Florez J.C., Todd J.A., Dupuis J., Hyppönen E., Spector T.D. Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. *Lancet*, 2010, Vol. 376, pp.180-188.

Авторы:

Валикова О.В. – врач-эндокринолог ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2»; Клиника «Пластэк хирургия», г. Владивосток, Россия

Authors:

Valikova O.V., Clinical Endocrinologist, Regional Clinical Hospital No. 2; "Plastek Surgery" Clinic, Vladivostok, Russian Federation

Здор В.В. — д.м.н., ведущий научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; врач-эндокринолог, Клиника диабета и эндокринных заболеваний, г. Владивосток, Россия

Zdor V.V., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Central Research Laboratory, Pacific State Medical University; Clinical Endocrinologist, Clinic for Diabetes and Endocrine Diseases, Vladivostok, Russian Federation

Сарычев В.А. — аспирант кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; врач-хирург ЧУЗ «Клиническая больница “РЖД-Медицина”», г. Владивосток, Россия

Sarychev V.A., Postgraduate Student, Department of Normal and Pathological Physiology, Pacific State Medical University; Surgeon, Clinical Hospital “RZD-Medicine”, Vladivostok, Russian Federation

Поступила 16.07.2021
Принята к печати 20.08.2021

Received 16.07.2021
Accepted 20.08.2021

ОЦЕНКА ПРОДУКЦИИ РОСТОВЫХ ФАКТОРОВ, ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ ПОСТНАТАЛЬНЫМИ ММСК ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЕВЫХ ИСТОЧНИКОВ В УСЛОВИЯХ ИХ *IN VITRO* СОКУЛЬТИВИРОВАНИЯ С ИММУНОИЗОЛИРОВАННЫМИ β -КЛЕТКАМИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Гончаров А.Г., Шуплецова В.В., Тодосенко Н.М., Гончарова Е.А.,
Литвинова Л.С.

ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Резюме. В статье приведены результаты оценки продукции культурами мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток ростовых факторов, про- и противовоспалительных цитокинов, в условиях сокультивирования с иммуноизолированными β -клетками поджелудочной железы. Трансплантация β -клеток является минимально инвазивным терапевтическим подходом (по сравнению с трансплантацией всей поджелудочной железы) и обеспечивает лучший метаболический контроль в отношении введения инсулина. Однако при пересадке β -клеток всегда существует риск иммунного отторжения трансплантата. Общеизвестно, что инкапсуляция является эффективным средством иммунологической защиты от иммунной системы реципиента при трансплантации. Решающее значение для лечения сахарного диабета первого типа имеет регуляция аутоиммунного ответа на трансплантируемые клетки. В последние годы, наряду с заменой островковых клеток, для коррекции сахарного диабета большое внимание уделяется использованию мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток, обладающих иммуномодулирующими и/или иммуносупрессивными свойствами. *In vitro* и *in vivo* они оказывают влияние не только на Т-лимфоциты, но также на В-лимфоциты, дендритные и НК-клетки. Мезенхимальные стволовые клетки способны ингибировать пролиферацию иммунных клеток и снижать их секрецию воспалительных цитокинов, они могут действовать как вспомогательные клетки для улучшения выживаемости островков на ранней посттрансплантационной фазе. Совместная трансплантация мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток с β -клетками поджелудочной железы является многообещающей перспективой лечения сахарного диабета первого типа, а более глубокое изучение механизмов, обуславливающих их цитопротективное действие на трансплантат, может помочь в реализации данного терапевтического подхода и улучшить его эффективность. В исследовании для создания иммуноизолирующих скаффолдов использовали 1%-ный раствор альгината натрия низкой вязкости с добавлением физиологического раствора (натрия хлорид 0,9%),

Адрес для переписки:

Гончаров Андрей Геннадьевич
ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет
имени Иммануила Канта»
236010, Россия, г. Калининград, пр. Победы, 189, кв. 15.
Тел.: 8 (911) 865-20-66.
E-mail: agoncharov59@mail.ru

Address for correspondence:

Goncharov Andrey G.
Immanuel Kant Baltic Federal University
236010, Russian Federation, Kaliningrad, Pobedy ave.,
189, apt 15.
Phone: 7 (911) 865-20-66.
E-mail: agoncharov59@mail.ru

Образец цитирования:

А.Г. Гончаров, В.В. Шуплецова, Н.М. Тодосенко,
Е.А. Гончарова, Л.С. Литвинова «Оценка продукции
ростовых факторов, про- и противовоспалительных
цитокинов постнатальными ММСК из различных
тканевых источников в условиях их *in vitro*
сокультивирования с иммуноизолированными
 β -клетками поджелудочной железы» // Российский
иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 4. С. 477-482.
doi: 10.46235/1028-7221-1058-POG

© Гончаров А.Г. и соавт., 2021

For citation:

A.G. Goncharov, V.V. Shupletsova, N.M. Todosenko,
E.A. Goncharova "Production of growth factors, pro – and
anti-inflammatory cytokines by postnatal MMSCs from various
tissue sources during *in vitro* co-cultivation with immuno-
isolated pancreatic β -cells", Russian Journal of Immunology/
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 4,
pp. 477-482.

doi: 10.46235/1028-7221-1058-POG

DOI: 10.46235/1028-7221-1058-POG

для полимеризации добавляли 2,2%-ный раствор $BaCl_2$. В системах сокультивирования β -клеток с стволовыми клетками костномозгового происхождения и полученных из подкожной жировой клетчатки регистрировалось снижение продукции провоспалительных цитокинов ($TNF\alpha$, IL-12, IL-5) и ростового фактора GM-CSF. Противовоспалительная активность была более ярко выражена у стволовых клеток адипозного происхождения и показаны их иммуномодулирующие эффекты путем изменения цитокин-продуцирующей активности. Показано, что мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки, полученные из жировой ткани и костного мозга, оказывают цитопротективное действие на β -клетки поджелудочной железы путем изменения цитокин-продуцирующей активности в сторону противовоспалительного профиля.

Ключевые слова: инсулин-продуцирующие клетки, мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки, сокультивирование, сахарный диабет 1-го типа, провоспалительные цитокины, противовоспалительные цитокины, ростовые факторы

PRODUCTION OF GROWTH FACTORS, PRO – AND ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES BY POSTNATAL MMSCs FROM VARIOUS TISSUE SOURCES DURING *IN VITRO* CO-CULTIVATION WITH IMMUNO-ISOLATED PANCREATIC β -CELLS

Goncharov A.G., Shupletsova V.V., Todosenko N.M., Goncharova E.A.

Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Abstract. The article presents the results of evaluating growth factors, pro – and anti-inflammatory cytokine production by multipotent mesenchymal stem cell cultures under the conditions of co-cultivation with immuno-isolated beta-cells of the pancreas. β -cell transplantation is a minimally invasive therapeutic approach (compared to transplantation of entire pancreas), and it provides better metabolic control with respect to insulin administration. However, when transplanting β -cells, there is always a risk of immune rejection of the grafted cells. It is generally recognized that encapsulation is an effective means of immunological protection against the recipient's immune system during transplantation. Regulation of the autoimmune response to transplanted cells is crucial for the treatment of type I diabetes mellitus. In recent years, along with replacement of islet cells, much attention has been paid to the use of multipotent mesenchymal stem cells with immunomodulatory and/or immunosuppressive properties, aimed for the correction of diabetes mellitus. Either *in vitro* and *in vivo*, they impact not only T-lymphocytes, but also B-lymphocytes, dendritic and NK-cells. Mesenchymal stem cells are able to inhibit proliferation of immune cells and reduce their secretion of inflammatory cytokines, acting as auxiliary cells to improve the survival of islets in the early post-transplant phase. Combined transplantation of multipotent mesenchymal stem cells and pancreatic β -cells is a promising approach to the treatment of type I diabetes mellitus. Deeper study of the mechanisms that cause their cytoprotective effect upon the transplant may be helpful for implementation of this therapeutic approach and improve its efficiency. In our study, a 1% solution of low-viscosity sodium alginate with addition of saline solution (0.9% sodium chloride) was used to create immuno-insulating scaffolds, and a 2.2% $BaCl_2$ solution was added for polymerization. Decreased production of proinflammatory cytokines ($TNF\alpha$, IL-12, IL-5) and growth factor (GM-CSF) was registered in co-cultures of β -cells with mesenchymal stem cells of bone marrow origin, and those obtained from subcutaneous adipose tissue. Anti-inflammatory activity was more pronounced in adipose stem cells and their immunomodulatory effects were shown via changes of their cytokine-producing activity. Hence, the multipotent mesenchymal stem cells obtained from adipose tissue and bone marrow have shown to exert cytoprotective effect upon pancreatic beta-cells by shifting the cytokine-producing activity towards an anti-inflammatory profile.

Keywords: insulin-producing cells, mesenchymal stem cells, co-culture, type I diabetes mellitus, proinflammatory cytokines, anti-inflammatory cytokines, growth factors

Введение

Трансплантация β -клеток является минимально инвазивным терапевтическим подходом (по сравнению с трансплантацией всей поджелудочной железы) и обеспечивает лучший метаболический контроль в отношении введения инсулина. Однако при пересадке β -клеток всегда существует риск иммунного отторжения трансплантата [4]. Общеизвестно, что инкапсуляция является эффективным средством иммунологической защиты от иммунной системы реципиента при трансплантации. Решающее значение для лечения сахарного диабета первого типа (СД1) имеет регуляция аутоиммунного ответа на трансплантируемые клетки. В последние годы, наряду с заменой островковых клеток, для коррекции сахарного диабета большое внимание уделяется использованию мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (ММСК), обладающих иммуномодулирующими и/или иммуносупрессивными свойствами [5]. *In vitro* и *in vivo* они оказывают влияние не только на Т-лимфоциты, но также на В-лимфоциты, дендритные (ДК) и НК-клетки [1, 5]. ММСК способны ингибировать пролиферацию иммунных клеток и снижать их секрецию воспалительных цитокинов [2]. Вышеупомянутые особенности ММСК предполагают, что они могут действовать как вспомогательные клетки для улучшения выживаемости островков на ранней посттрансплантационной фазе [3]. Совместная трансплантация ММСК с β -клетками поджелудочной железы является многообещающей перспективой лечения СД1, а более глубокое изучение механизмов, обуславливающих цитопротективное действие ММСК на трансплантат, может помочь в реализации данного терапевтического подхода и улучшить его эффективность.

Цель исследования — оценить продукцию культурами ММСК ростовых факторов, про- и противовоспалительных цитокинов в условиях сокультивирования с иммуноизолированными β -клетками.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили клеточные культуры ММСК костного мозга, жировой ткани и β -клеток поджелудочной железы, полученные из биоптатов тканей крыс стока Wistar, умерщвленных путем цервикальной дислокации спинного мозга под наркозом диэтилового эфира. Все работы проводились в соответствии с правилами работы с лабораторными животными и биоэтическими нормами. Для подтверждения принадлежности полученных ММСК костного

мозга (ММСК_{км}) и жировой ткани (ММСК_{жт}) крыс к данному фенотипу клеток проводили оценку их дифференцировочного потенциала в остео- и адипогенном направлении, с последующим окрашиванием ализариновым красным (остеобласты) и масляным красным (адипоциты). Для подтверждения принадлежности выделенных инсулин-продуцирующих (ИПК) β -клеток поджелудочной железы крысы к данному фенотипу клеток, наряду с морфологической оценкой, осуществлялась оценка экспрессии мРНК гена проинсулина (*Ins1*), маркера зрелых β -клеток поджелудочной железы. Жизнеспособность, а также количественные показатели состояния культур определяли при помощи автоматического счётчика Countess TM Automated Cell Counter (Invitrogen, США) с использованием красителя Trypan blue 0,4% (Invitrogen, США).

Первичные культуры ИПК, ММСК_{жт} и ММСК_{км} культивировали до 2-3 пассажей (10-14 дней). Затем клетки инкапсулировали в альгинатные капсулы. Для инкапсулирования использовали 1%-ный раствор альгината натрия низкой вязкости с добавлением физиологического раствора (натрия хлорид 0,9%), для полимеризации добавляли 2,2%-ный раствор CaCl_2 (Sigma, США). В исследовании были адаптированы следующие экспериментальные клеточные системы:

№ 1: инкапсулированные монокультуры ИПК;

№ 2: инкапсулированные монокультуры ММСК_{жт};

№ 3: инкапсулированные монокультуры ММСК_{км};

№ 4: инкапсулированные в альгинатных капсулах ИПК сокультивированные с адгезированными на пластике ММСК_{жт} (ИПК + ММСК_{жт}).

№ 5: инкапсулированные в альгинатных капсулах ИПК сокультивированные с адгезированными на пластике ММСК_{км} (ИПК + ММСК_{км}).

Системы сокультивирования № 1-3 использовали в качестве контрольных монокультур для оценки функциональных и молекулярно-генетических изменений в экспериментальных системах № 4 и № 5. Культивирование (в течение 48 часов) ММСК и ИПК в эксперименте осуществлялось в среде DMEM с L-глутамином, с высоким содержанием глюкозы 4,0 г/л (Sigma, США), все остальные добавки соответствовали стандартному протоколу.

Деполимеризация альгинатного покрытия осуществлялась обработкой раствором, содержащим 55Мм ЭДТА (Sigma, США) с добавлением 10 мМ HEPES с последующим центрифугированием (5 минут, 1000 об/мин). С помощью

метода проточной флюориметрии проводили количественное определение про- и противовоспалительных цитокинов (IL-13, IL-12, IL-5, IL-10, GM-CSF, TNF α) в супернатантах исследуемых клеточных систем на автоматизированном анализаторе (Bio-Plex[®] 200 Systems, Bio-Rad, США) с использованием коммерческих тест-систем (Bio-Plex Pro Rat Cytokine, Bio-Rad, США).

Результаты и обсуждение

При исследовании систем № 1,2,3 (ИПК ММСКжт, ММСКкм) в отношении продукции цитокинов было установлено, что инкапсуляция не подавляла функциональную активность данных культур. Количество ростового фактора GM-CSF в супернатантах системы сокультивирования 4 (ИПК + ММСКжт) уменьшалось примерно в 2 раза относительно монокультуры ММСКжт и достигало значения 15,58 пг/мл после 48 часов инкубирования. В системе сокультивирования 5 (ИПК с ММСКкм) после 48 часов инкубирования также происходило уменьшение количества GM-CSF в 1,5 раза (19,21 пг/мл) относительно монокультуры ММСКкм. Наиболее низкие уровни данного ростового фактора регистрировали в системе сокультивирования с ММСКкм после 48 часов. Также зарегистрировано снижение цитокинпродуцирующей активности ММСКжт и ММСКкм в отношении TNF α , при сокультивировании с инсулин-продуцирующими клетками. В супернатантах системы сокультивирования 4 (ИПК + ММСКжт) было выявлено снижение количества данного цитокина в 2,5 раза (0,32 пг/мл) относительно монокультуры ММСКжт после 48 часов инкубирования. Аналогично, количество TNF α в супернатантах системы сокультивирования 5 (ИПК с ММСКкм) также снижалось в 2,3 раза относительно аналогичных значений монокультуры ММСКкм. Выявлено повышение концентрации провоспалительного цитокина – IL-12 в системе сокультивирования 4 (ИПК + ММСКжт) после 48 часов инкубирования. Так, количество IL-12 в системе сокультивирования ИПК с ММСКжт возрастало в 1,7 раз (0,47 пг/мл) относительно монокультуры ММСКжт. Напротив, в супернатантах систем сокультивирования 5 (ИПК с ММСКкм) происходило уменьшение содержания данного цитокина в 2 раза относительно контрольной монокультуры 3 (ММСКкм).

В целом установлено, что в системе сокультивирования 4 уровень IL-12 был статистически значимо выше (в 2 раза) такого в системе со-

культивирования 5. Количество противовоспалительного цитокина IL-10 в супернатантах систем сокультивирования инсулин-продуцирующих клеток с ММСКжт увеличивалось в 1,5 раза по сравнению с монокультурой ММСКжт. Напротив, в системе сокультивирования 5 регистрировалось уменьшение концентрации IL-10 почти в 2 раза (1,88 пг/мл) относительно монокультуры ММСКкм. В целом при сравнении систем сокультивирования было зарегистрировано, что количество IL-10 в системе с ММСКжт статистически значимо превышало (в 2,3 раза) такое в системе сокультивирования 5. Содержание IL-5 значимо не различалось между монокультурами ИПК и системами сокультивирования ИПК с ММСК костного мозга и жировой ткани. Однако наблюдалось небольшое понижение концентрации в системах сокультивирования ИПК с ММСК относительно контрольных монокультур ММСК. Исследование супернатантов клеточных систем установило наличие следового содержания IL-13. Тем не менее зарегистрировано небольшое повышение концентрации в системе сокультивирования ИПК с ММСКжт относительно монокультуры ММСКжт. В остальных клеточных культурах количество IL-13 оставалось неизменным.

Как уже упоминалось ранее, ММСК обладают иммуномодулирующими и/или иммуносупрессивными свойствами. Эти особенности ММСК предполагают, что они могут действовать как вспомогательные клетки для улучшения выживаемости β -клеток поджелудочной железы на ранней посттрансплантационной фазе. В обеих системах сокультивирования ИПК с ММСКкм и ММСКжт регистрировалось снижение продукции провоспалительных цитокинов (TNF α , IL-12, IL-5) и ростового фактора GM-CSF. Противовоспалительная активность была более ярко выражена у ММСК жировой ткани. Таким образом, согласно нашим данным, ММСК жировой ткани и костного мозга оказывают цитопротективное действие на β -клетки поджелудочной железы путем изменения цитокин-продуцирующей активности, в сторону противовоспалительного профиля. Совместная трансплантация ММСК с β -клетками поджелудочной железы является многообещающей перспективой лечения СД 1-го типа, а более глубокое изучение механизмов, обуславливающих цитопротективное действие ММСК на трансплантат, может помочь в реализации данного терапевтического подхода и улучшить его эффективность.

Список литературы / References

1. Le Blanc K., Tammik C., Rosendahl K., Zetterberg E., Ringdén O. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells. *Exp. Hematol.*, 2003, no. 31, pp. 890-896.
2. Lee P.H., Kim J.W., Bang O.Y., Ahn Y.H., Joo I.S., Huh K. Autologous mesenchymal stem cell therapy delays the progression of neurological deficits in patients with multiple system atrophy. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2008, no. 83, pp. 723-730.
3. Rasmussen J.G., Frobert O., Holst-Hansen C., Kastrup J., Baandrup U., Zachar V., Fink T., Simonsen U. Comparison of human adipose-derived stem cells and bone marrow-derived stem cells in a myocardial infarction model. *Cell Transplant.*, 2014, no. 23, pp. 195-206.
4. Remuzzi A., Cornolti R., Bianchi R., Figliuzzi M., Porretta-Serapiglia C., Oggioni N., Carozzi V., Crippa L., Avezza F., Fiordaliso F., Salio M., Lauria G., Lombardi R., Cavaletti G. Regression of diabetic complications by islet transplantation in the rat. *Diabetologia*, 2009, no. 52, pp. 2653-2661.
5. Zappia E., Casazza S., Pedemonte E., Benvenuto F., Bonanni I., Gerdoni E., Giunti D., Ceravolo A., Cazzanti F., Frassoni F., Mancardi G., Uccelli A. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy. *Blood*, 2005, no. 106, pp. 1755-1761.

Авторы:

Гончаров А.Г. — к.м.н., старший научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия
Шуплецова В.В. — к.б.н., старший научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия
Тодосенко Н.М. — к.б.н., научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Authors:

Goncharov A.G., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Center for Immunology and Cell Biotechnologies, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation
Shupletsova V.V., PhD (Biology), Senior Research Associate, Center for Immunology and Cell Biotechnologies, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation
Todosenko N.M., PhD (Biology), Research Associate, Center for Immunology and Cell Biotechnologies, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Гончарова Е.А. — студентка медицинского института
ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет
имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Goncharova E.A., Student, Medical Institute, Immanuel Kant
Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Литвинова Л.С. — д.м.н., директор Центра
иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО
«Балтийский федеральный университет имени
Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Litvinova L.S., PhD, MD (Medicine), Head, Center for
Immunology and Cell Biotechnologies, Professor, Immanuel
Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian
Federation

Поступила 16.07.2021
Принята к печати 20.08.2021

Received 16.07.2021
Accepted 20.08.2021

ИНТЕНСИВНОСТЬ ЭКСПРЕССИИ CD36 НА РАЗЛИЧНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЯХ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ МОНОЦИТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ СУБКЛИНИЧЕСКОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА

Долгушин И.И., Генкель В.В., Батурина И.Л., Савочкина А.Ю., Минасова А.А., Кузнецова А.С., Шапошник И.И.

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Резюме. На сегодняшний день известно, что хроническая активация врожденного иммунитета и персистирующее низкоинтенсивное воспаление играют важнейшую роль в инициации и прогрессировании атеросклероза. Установлено, что атерогенные липопротеины могут выступать в качестве индукторов воспалительного ответа посредством лиганд-рецепторного взаимодействия с паттерн-распознающими рецепторами иммунокомпетентных клеток, такими как CD36 (SR-B2) и Toll-подобные рецепторы. Предполагается, что экспрессия CD36 на циркулирующих моноцитах может репрезентировать бремя системного атеросклероза и, следовательно, выступать его диагностическим маркером. Целью настоящего исследования являлась оценка интенсивности экспрессии CD36 на циркулирующих моноцитах различных субпопуляций у пациентов без установленных ССЗ в зависимости от распространенности субклинического атеросклероза периферических артерий. В исследование были включены 100 пациентов без установленных атеросклеротических ССЗ, 49 (49,0%) мужчин и 51 (51,0%) женщина. Для фенотипирования субпопуляций моноцитов использовали конъюгаты моноклональных антител. Экспрессию CD36 на CD14⁺CD16⁻-моноцитах (классические моноциты), CD14⁺CD16⁺-моноцитах (промежуточные моноциты), CD14⁺CD16⁺⁺-моноцитах (неклассические моноциты) определяли по средней интенсивности флуоресценции. Наблюдалось статистически значимое снижение интенсивности экспрессии CD36 на классических и неклассических моноцитах по мере увеличения числа пораженных атеросклерозом сосудистых бассейнов. При попарном сравнении было установлено статистически значимое снижение интенсивности экспрессии CD36 на классических и неклассических моноцитах у пациентов с поражением двух сосудистых бассейнов в сравнении с пациентами с поражением одного сосудистого бассейна.

Ключевые слова: моноциты, CD36, интенсивность экспрессии, атеросклероз, классические моноциты

Адрес для переписки:

Генкель Вадим Викторович
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
454092, Россия, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.
Тел.: 8 (951) 441-70-61.
E-mail: henkel-07@mail.ru

Address for correspondence:

Genkel Vadim V.
South Ural State Medical University
454092, Russian Federation, Chelyabinsk, Vorovsky str., 64.
Phone: 7 (951) 441-70-61.
E-mail: henkel-07@mail.ru

Образец цитирования:

И.И. Долгушин, В.В. Генкель, И.Л. Батурина, А.Ю. Савочкина, А.А. Минасова, А.С. Кузнецова, И.И. Шапошник «Интенсивность экспрессии CD36 на различных субпопуляциях циркулирующих моноцитов в зависимости от распространенности субклинического атеросклероза» // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 4. С. 483-488.
doi: 10.46235/1028-7221-1046-CEI

© Долгушин И.И. и соавт., 2021

For citation:

I.I. Dolgushin, V.V. Genkel, I.L. Baturina, A.Yu. Savochkina, A.A. Minasova, A.S. Kuznetsova, I.I. Shaposhnik "CD36 expression intensity on different subpopulations of circulating monocytes depending on the extent of subclinical atherosclerosis", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 4, pp. 483-488.
doi: 10.46235/1028-7221-1046-CEI

DOI: 10.46235/1028-7221-1046-CEI

CD36 EXPRESSION INTENSITY ON DIFFERENT SUBPOPULATIONS OF CIRCULATING MONOCYTES DEPENDING ON THE EXTENT OF SUBCLINICAL ATHEROSCLEROSIS

Dolgushin I.I., Genkel V.V., Baturina I.L., Savochkina A.Yu., Minasova A.A., Kuznetsova A.S., Shaposhnik I.I.

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. It is known that chronic activation of innate immunity and persistent low-intensity inflammation play a crucial role in the initiation and progression of atherosclerosis. It was found that atherogenic lipoproteins can act as inducers of the inflammatory response through ligand-receptor interaction with pattern-recognizing receptors of immunocompetent cells, such as CD36 (SR-B2) and Toll-like receptors. It is suggested that expression of CD36 on circulating monocytes may represent the burden of systemic atherosclerosis and, therefore, act as its diagnostic marker. The aim of the present study was to assess the intensity of CD36 expression on circulating monocytes of different subpopulations in patients without established cardiovascular disease (CVD) depending on the extent of subclinical atherosclerosis of peripheral arteries. One hundred patients without established atherosclerotic CVD, 49 (49.0%) men and 51 (51.0%) women, were included in the study. Monoclonal antibody conjugates were used to phenotype monocyte subpopulations. The expression of CD36 on CD14⁺⁺CD16⁻ monocytes (classical monocytes), CD14⁺CD16⁺ monocytes (intermediate monocytes), CD14⁺CD16⁺⁺ monocytes (non-classical monocytes) was determined by the average fluorescence intensity. There was a statistically significant decrease in CD36 expression intensity on classical and non-classical monocytes with increasing number of vascular basins affected by atherosclerosis. A statistically significant decrease in CD36 expression intensity on classical and non-classical monocytes was found in the patients with two vascular beds lesions in comparison with patients with a single vascular bed lesion upon pairwise comparisons.

Keywords: monocytes, CD36 expression, atherosclerosis

Введение

На сегодняшний день известно, что хроническая активация врожденного иммунитета и персистирующее низкоинтенсивное воспаление играют важнейшую роль в инициации и прогрессировании атеросклероза [4]. Установлено, что атерогенные липопротеины могут выступать в качестве индукторов воспалительного ответа посредством лиганд-рецепторного взаимодействия с паттерн-распознающими рецепторами иммунокомпетентных клеток, такими как CD36 (SR-B2) и Toll-подобные рецепторы [1, 10]. Предполагается, что экспрессия CD36 на циркулирующих моноцитах может репрезентировать бремя системного атеросклероза и, следовательно, выступать его диагностическим маркером [9]. Однако результаты исследований *in vitro* и *in vivo* крайне противоречивы, что диктует необходимость дальнейшего изучения [5]. **Целью настоящего исследования** являлась оценка интенсивности экспрессии CD36 на

циркулирующих моноцитах различных субпопуляций у пациентов без установленных ССЗ в зависимости от распространенности субклинического атеросклероза периферических артерий.

Материалы и методы

В исследование включали пациентов в возрасте 40-64 лет, без установленных атеросклеротических заболеваний. Всеми пациентами было подписано информированное согласие. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России (протокол № 10 от 27.10.2018). Критериями не-включения в исследование и/или исключения из исследования являлись следующие клинические состояния: установленные ранее атеросклеротические ССЗ; тяжелые нарушения функции печени и почек; злокачественные новообразования; установленные хронические воспалительные заболевания (ХВЗ); острые воспалительные или инфекционные заболевания в предшествующие

28 дней; вторичные нарушения липидного обмена.

Определяли показатели липидного обмена, глюкозу, гликированный гемоглобин, креатинин с последующим расчетом скорости клубочковой фильтрации (СКФ) по формуле СКД-ЕРІ. Фенотипирование субпопуляций циркулирующих моноцитов проводилось методом проточной цитометрии на аппарате Navios 6/2 (Beckman Coulter, USA). Забор крови осуществляли после как минимум 8 часов голодания в пробирки с антикоагулянтом К2 ЭДТА. Для фенотипирования субпопуляций моноцитов использовали конъюгаты моноклональных антител: антитела к антигену CD16, PE-Cy7 (eBioscience, США); антитела к антигену CD14, PerCP-Cy5.5 (eBioscience, США); антитела к антигену CD36, FITC (BD Biosciences, США).

Экспрессию CD36 на CD14⁺CD16⁻-моноцитах (классические моноциты), CD14⁺CD16⁺-моноцитах (промежуточные моноциты), CD14⁺CD16⁺⁺-моноцитах (неклассические моноциты) определяли по средней интенсивности флуоресценции. Анализ полученных данных проводили с использованием пакета статистического анализа данных IBM SPSS Statistics, версия 18. Качественные переменные описывали абсолютными

и относительными частотами (процентами). Количественные переменные описывали медианой (Me) с указанием интерквартильного интервала (Q_{0,25}-Q_{0,75}). Для оценки значимости различий между тремя группами использовали критерий Краскела–Уоллиса, с последующим попарным сравнением с применением критерия Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при критическом уровне значимости 0,05.

В исследование были включены 100 пациентов без установленных атеросклеротических ССЗ, 49 (49,0%) мужчин и 51 (51,0%) женщина. Клинико-лабораторная характеристика пациентов представлена в таблице 1.

Интенсивность экспрессии CD36 на моноцитах различных субпопуляций в зависимости от количества пораженных сосудистых бассейнов представлена в таблице 2.

Таким образом, наблюдалось статистически значимое снижение интенсивности экспрессии CD36 на классических и неклассических моноцитах по мере увеличения числа пораженных атеросклерозом сосудистых бассейнов. При попарном сравнении (см. рис. 1) было установлено статистически значимое снижение интенсивности экспрессии CD36 на классических и неклассических моноцитах у пациентов с поражением двух сосу-

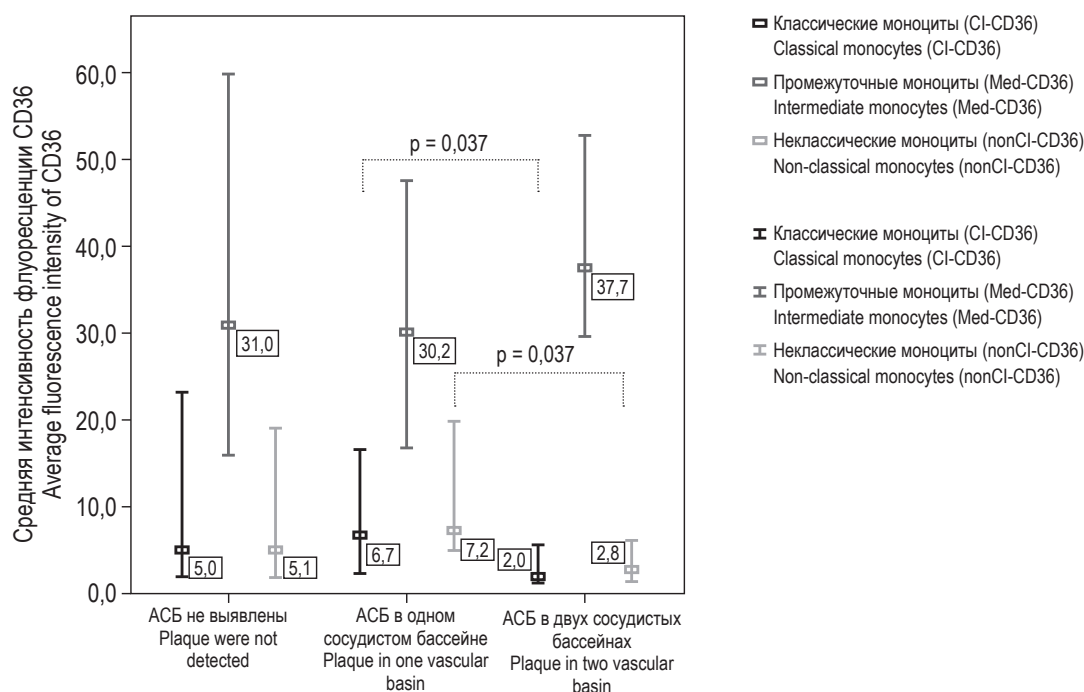


Рисунок 1. Интенсивность экспрессии CD36 на классических, промежуточных и неклассических циркулирующих моноцитах

Figure 1. CD36 expression intensity on classical, intermediate, and non-classical circulating monocytes

ТАБЛИЦА 1. КЛИНИЧЕСКАЯ И ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ
TABLE 1. CLINICAL AND LABORATORY CHARACTERISTICS OF PATIENTS

Показатели Indicators	Пациенты Patients (n = 100)
Возраст, лет, Ме (ИИ) Age, years, Me (IQR)	48,0 (43,0-56,5)
ИМТ, кг/м², Ме (ИИ) BMI, kg/m ² , Me (IQR)	26,8 (23,3-30,2)
Ожирение, n (%) Obesity, n (%)	25 (25,0)
Курение, n (%) Smoking, n (%)	17 (17,0)
Дислипидемия, n (%) Dyslipidemia, n (%)	81 (81,0)
Артериальная гипертензия (АГ), n (%) Hypertension, n (%)	55 (55,0)
АСБ не выявлены, n (%) No ASP detected, n (%)	22 (22,0)
АСБ в одном сосудистом бассейне, n (%) ASP in one vascular bed, n (%)	39 (39,0)
АСБ в двух сосудистых бассейнах, n (%) ASP in two vascular beds, n (%)	39 (39,0)
Бета-адреноблокаторы, n (%) Beta-blockers, n (%)	13 (13,0)
Ингибиторы РААС, n (%) RAAS inhibitors, n (%)	28 (28,0)
Диуретики, n (%) Diuretics, n (%)	7 (7,00)
Статины, n (%) Statins, n (%)	21 (21,0)
ОХС, ммоль/л, Ме (ИИ) Total cholesterol, mmol/l, Me (IQR)	5,78 (4,79-6,50)
ХС ЛНП, ммоль/л, Ме (ИИ) LDL cholesterol, mmol/l, Me (IQR)	3,50 (2,94-4,30)
ХС ЛВП, ммоль/л, Ме (ИИ) HDL cholesterol, mmol/l, Me (IQR)	1,35 (1,18-1,55)
ТГ, ммоль/л, Ме (ИИ) TG, mmol/l, Me (IQR)	1,20 (0,83-1,60)
ХС не-ЛВП, ммоль/л, Ме (ИИ) Non-HDL cholesterol, mmol/L, Me (IQR)	4,28 (3,53-5,29)
Глюкоза, ммоль/л, Ме (ИИ) Glucose, mmol/l, Me (IQR)	5,02 (4,65-5,50)
Гликированный гемоглобин, %, Ме (ИИ) Glycated hemoglobin, %, Me (IQR)	5,66 (5,26-6,01)
СКФ, мл/мин/1,73 м², Ме (ИИ) GFR, ml/min/1.73 m ² , Me (IQR)	69,0 (62,0-77,0)
вчСРБ, мг/л, Ме (ИИ) hsCRP – high-sensitivity C-reactive protein, mg/L, Me (IQR)	1,96 (1,20-3,01)

Примечание. АСБ – атеросклеротическая бляшка, ИМТ – индекс массы тела, СД – сахарный диабет, РААС – ренин-ангиотензин-альдостероновая система, ОХС – общий холестерин, ХС ЛНП – холестерин липопротеинов низкой плотности, ХС ЛВП – холестерин липопротеинов высокой плотности, ТГ – триглицериды, СКФ – скорость клубочковой фильтрации, вчСРБ – высокочувствительный С-реактивный белок, Ме – медиана, ИИ – интерквартильный интервал.
Note. ASP, atherosclerotic plaque; BMI, body mass index; DM, diabetes mellitus; RAAS, renin-angiotensin-aldosterone system; TSH, total cholesterol; LDL, low-density lipoprotein cholesterol; HDL, high-density lipoprotein cholesterol; TG, triglycerides; GFR, glomerular filtration rate; hsCRP, high-sensitivity C-reactive protein; Me, median; CI, interquartile range.

ТАБЛИЦА 2. ИНТЕНСИВНОСТЬ ЭКСПРЕССИИ CD36 НА КЛАССИЧЕСКИХ, ПРОМЕЖУТОЧНЫХ И НЕКЛАССИЧЕСКИХ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ МОНОЦИТАХ

TABLE 2. CD36 EXPRESSION INTENSITY ON CLASSICAL, INTERMEDIATE, AND NON-CLASSICAL CIRCULATING MONOCYTES

Средняя интенсивность флюоресценции Mean fluorescence intensity	АСБ не выявлены ASP were not detected (n = 22)	АСБ в одном сосудистом бассейне ASP in one vascular basin (n = 39)	АСБ в двух сосудистых бассейнах ASP in two vascular basins (n = 39)	p
CD14⁺CD16⁻CD36⁺	5,03 (1,77-23,50)	6,68 (1,81-18,30)	2,00 (1,20-6,78)	0,038
CD14⁺CD16⁺CD36⁺	31,0 (16,1-54,8)	30,1 (14,9-52,5)	37,6 (27,7-60,1)	0,698
CD14⁺CD16⁺CD36⁻	5,09 (1,74-21,60)	7,19 (2,34-20,20)	2,78 (1,28-8,41)	0,042

Примечание. АСБ – атеросклеротическая бляшка.

Note. ASP, atherosclerotic plaque.

дистых бассейнов в сравнении с пациентами с поражением одного сосудистого бассейна.

Результаты и обсуждение

Результаты клинических исследований, в которых изучались особенности экспрессии CD36 на циркулирующих моноцитах у пациентов с атеросклерозом неоднородны и противоречивы. В целом ряде работ было продемонстрировано увеличение экспрессии CD36 на циркулирующих моноцитах у пациентов с атеросклеротическими ССЗ [2, 6]. В других исследованиях, включавших

пациентов с бессимптомным атеросклерозом, напротив, было установлено снижение экспрессии CD36 на моноцитах в сравнении с группами контроля [3, 8].

Заключение

Таким образом, как увеличение, так и снижение экспрессии CD36 на циркулирующих моноцитах может иметь потенциальную диагностическую и прогностическую значимость при атеросклерозе, что требует дальнейшего изучения [7].

Список литературы / References

1. Гусев Е.Ю., Зотова Н.В., Журавлева Ю.А., Черешнев В.А. Физиологическая и патогенетическая роль рецепторов-мусорщиков у человека // Медицинская иммунология, 2020. Т. 22, № 1. С. 7-48. [Gusev E.Yu., Zotova N.V., Zhuravleva Yu.A., Chereshevnev V.A. Physiological and pathogenic role of scavenger receptors in humans. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2020, Vol. 22, no. 1, pp. 7-48. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-PAP-1893.
2. Chandran J., Wadhwa N., Madhu S.V., Kumar R., Sharma S. Monocyte CD36 expression associates with atherosclerotic burden in diabetes mellitus. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 2020, Vol. 163, 108156. doi:10.1016/j.diabres.2020.108156.
3. Gómez-Bañuelos E., Martín-Márquez B.T., Martínez-García E.A., Figueroa-Sanchez M., Nuñez-Atahualpa L., Rocha-Muñoz A.D., Sánchez-Hernández P.E., Navarro-Hernandez R.E., Madrigal-Ruiz P.M., Saldaña-Millan A.A., Duran-Barragan S., Gonzalez-Lopez L., Gamez-Nava J.I., Vázquez-Del Mercado M. Low levels of CD36 in peripheral blood monocytes in subclinical atherosclerosis in rheumatoid arthritis: a cross-sectional study in a Mexican population. *Biomed Res. Int.*, 2014, Vol. 2014, 736786. doi: 10.1155/2014/736786.
4. Liberale L., Montecucco F., Tardif J.C., Libby P., Camici G.G. Inflamm-aging: the role of inflammation in age-dependent cardiovascular disease. *Eur. Heart J.*, 2020, Vol. 41, no. 31, pp. 2974-2982.
5. Park Y.M. CD36, a scavenger receptor implicated in atherosclerosis. *Exp. Mol. Med.*, 2014, Vol., 46, no. 6, e99. doi: 10.1038/emm.2014.38.
6. Piechota M., Banaszewska A., Dudziak J., Slomczynski M., Plewa R. Highly upregulated expression of CD36 and MSR1 in circulating monocytes of patients with acute coronary syndromes. *Protein J.*, 2012, Vol. 31, no. 6, pp. 511-518.

7. Tian K., Xu Y., Sahebkar A., Xu S. CD36 in atherosclerosis: pathophysiological mechanisms and therapeutic implications. *Curr. Atheroscler. Rep.*, 2020, Vol. 22, no. 10, 59. doi: 10.1007/s11883-020-00870-8.
8. Yassin L.M., Londoño J., Montoya G., De Sanctis J.B., Rojas M., Ramírez L.A., García L.F., Vásquez G. Atherosclerosis development in SLE patients is not determined by monocytes ability to bind/endocytose Ox-LDL. *Autoimmunity*, 2011, Vol. 44, no. 3, pp. 201-210.
9. Yazgan B., Sozen E., Karademir B., Ustunsoy S., Ince U., Zarkovic N., Ozer N.K. CD36 expression in peripheral blood mononuclear cells reflects the onset of atherosclerosis. *Biofactors*, 2018, Vol. 44, no. 6, pp. 588-596.
10. Zhao L., Varghese Z., Moorhead J.F., Chen Y., Ruan X.Z. CD36 and lipid metabolism in the evolution of atherosclerosis. *Br. Med. Bull.*, 2018, Vol. 126, no. 1, pp. 101-112.

Авторы:

- Долгушин И.И.** — д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, академик РАН, президент ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики, директор НИИ иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия
- Генкель В.В.** — к.м.н., доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия
- Батурина И.Л.** — к.м.н., старший научный сотрудник НИИ иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия
- Савочкина А.Ю.** — д.м.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики, главный научный сотрудник НИИ иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия
- Минасова А.А.** — к.б.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия
- Кузнецова А.С.** — к.м.н., доцент кафедры госпитальной терапии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия
- Шапошник И.И.** — д.м.н., заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Authors:

- Dolgushin I.I.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, President of South-Ural State Medical University, Head, Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics, Director, Research Institute of Immunology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation
- Genkel V.V.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Department for Propaedeutics of Internal Diseases, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation
- Baturina I.L.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Research Institute of Immunology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation
- Savochkina A.Yu.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics, Chief Research Associate, Research Institute of Immunology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation
- Minasova A.A.**, PhD (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation
- Kuznetsova A.S.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Hospital Therapy, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation
- Shaposhnik I.I.**, MD, PhD (Medicine), Professor, Head, Department for Propaedeutics of Internal Diseases, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

ОБ ОСОБЕННОСТЯХ СОДЕРЖАНИЯ ИНТЕРФЕРОНОВ-ЛЯМБДА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

Кныш С.В.¹, Скляр Л.Ф.^{1,2}, Маркелова Е.В.¹, Кузнецов А.С.¹,
Соловьева Н.П.², Левенец М.А.¹

¹ ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

² ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2», г. Владивосток, Россия

Резюме. Важным вопросом для современной медицины остается исследование ВИЧ-инфекции, которая, благодаря повсеместному применению антиретровирусной терапии, приобретает контролируемый характер, но в то же время не поддается полному излечиванию и имеет ряд «белых пятен» в понимании иммунопатогенеза нарушений, сопутствующих данному заболеванию. Целесообразно глубокое изучение системы интерферонов, в частности из семейства лямбда, в связи с их противовирусной активностью у пациентов с ВИЧ-инфекцией. Цель исследования – провести оценку содержания представителей семейства интерферонов-лямбда – IFNλ1 (IL-29) и IFNλ3 (IL-28B) у пациентов с ВИЧ-инфекцией.

Был проведен анализ сыворотки крови 120 пациентов с ВИЧ-инфекцией (средний возраст 49,7±6,2 года), находящихся на амбулаторном лечении в Центре профилактики и борьбы со СПИД ГБУЗ ККБ № 2 г. Владивостока. Основной клинический диагноз всех пациентов: ВИЧ-инфекция 4 А. Стадия вторичных заболеваний. Фаза ремиссии на фоне приема АРВТ. У 52 пациентов было установлено сопутствующее заболевание: хронический вирусный гепатит С. Определение содержания IFNλ1 (IL-29) и IFNλ3 (IL-28B) в сыворотке венозной крови осуществлялось методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА), с использованием анализатора Multiscan. Для проведения ИФА использовались реактивы, произведенные R&D systems, каталожные номера DY5259; DY7246.

В группах пациентов с ВИЧ-инфекцией, как с вирусным гепатитом С, так и без него, значения IFNλ1 (IL-29) и IFNλ3 (IL-28B) были достоверно снижены в сравнении с группой контроля. При сравнении значений между группами, было выявлено более выраженное уменьшение уровня IFNλ1 (IL-29) в группе пациентов с вирусным гепатитом С. Анализируя уровень IFNλ3 (IL-28B) была выявлена противоположная картина, – значения в группе пациентов с ВИЧ-инфекцией и вирусным гепатитом С были выше, чем в группе без гепатита, однако не достигали значений контрольной группы. Основываясь на данных о противовирусном влиянии IFNλ3 (IL-28B) на макрофагальную передачу ВИЧ, можно предположить, что индукция и поддержание высокого уровня интерферонов третьего типа могут благоприятно сказаться на течении ВИЧ-инфекции. Зарегистрированные изменения в уровне IFNλ1 (IL-29) и IFNλ3 (IL-28B) у пациентов с ВИЧ и ВГС демонстрируют нам вирусное

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, Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, А.С. Кузнецов,
Н.П. Соловьева, М.А. Левенец «Об особенностях
содержания интерферонов-лямбда в сыворотке
крови у пациентов с ВИЧ-инфекцией» // Российский
иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 4. С. 489-494.
doi: 10.46235/1028-7221-1059-SFO

© Кныш С.В. и соавт., 2021

For citation:

S.V. Knysh, L.F. Sklyar, E.V. Markelova, A.S. Kuznetsov, N.P.
Solovyeva, M.A. Levenets “Special features of interferon-
lambda contents in blood serum of the patients with HIV
infection”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 4, pp. 489-494.
doi: 10.46235/1028-7221-1059-SFO

DOI: 10.46235/1028-7221-1059-SFO

влияние на врожденный иммунитет, характеризующееся разнонаправленным изменением при наличии или отсутствии вируса гепатита С. Изучение данных об изменениях врожденного иммунитета и роли интерферонов третьего типа может расширить понимание взаимодействия между организмом человека и ВИЧ и поспособствовать улучшению профилактических мероприятий и реабилитации у пациентов с ВИЧ-инфекцией.

Ключевые слова: ВИЧ, вирусный гепатит С, интерфероны, интерфероны-лямбда

SPECIAL FEATURES OF INTERFERON-LAMBDA CONTENTS IN BLOOD SERUM OF THE PATIENTS WITH HIV INFECTION

Knysh S.V.^a, Sklyar L.F.^{a, b}, Markelova E.V.^a, Kuznetsov A.S.^a, Solovyeva N.P.^b, Levenets M.A.^a

^a Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

^b Regional Clinical Hospital No. 2, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. Studies in HIV infection remain an important issue for modern medicine, which, becomes controlled due to widespread usage of antiretroviral therapy. At the same time, however, it cannot be cured completely, and there is a number of “white spots” in understanding immunopathogenesis of disorders complicating this disease. The in-depth studies of interferon system, in particular from the lambda family, are desirable, because of their antiviral activity in HIV-infected patients. The aim of our study was to evaluate the content of interferons-lambda: IFN λ 1 (IL-29) and IFN λ 3 (IL-28B) in patients with HIV infection.

Blood serum of 120 patients with HIV infection (average age 49.7 \pm 6.2 years) who were treated in the outpatient setting at the Center for AIDS Prevention and Control of Regional Clinical Hospital No. 2 in Vladivostok was subjected to laboratory testing. HIV infection 4A was the main clinical diagnosis in all the patients, i.e., the stage of secondary diseases, remission phase on the background of antiretroviral therapy (ARVT). In 52 patients, chronic viral hepatitis C was found as a concomitant disease. The content of IFN λ 1 (IL-29) and IFN λ 3 (IL-28B) in venous blood serum was determined by ELISA technique using a “Multiscan” analyzer. The ELISA reagents were from R&D systems, catalog numbers DY5259; DY7246.

In the groups of patients with HIV infection, both with and without viral hepatitis C, the levels of IFN λ 1 (IL-29) and IFN λ 3 (IL-28B) were significantly reduced in comparison with control group. When comparing the IFN values between the groups, a more pronounced decrease in IFN λ 1 (IL-29) was revealed among the patients with viral hepatitis C. When analyzing the level of IFN λ 3 (IL-28B), an opposite pattern was observed, i.e., its values in the patients with HIV infection and viral hepatitis C were higher than in the group without hepatitis, but still did not reach appropriate values of the control group. Based on the data on IFN λ 3 (IL-28B) antiviral effect upon HIV transmission *via* macrophages One may assume that induction and maintenance of higher type 3 interferon levels can favorably affect the course of HIV infection. The registered changes in IFN λ 1 (IL-29) and IFN λ 3 (IL-28B) levels in the patients with HIV and HCV suggest some viral effect upon innate immunity characterized by multidirectional changes, depending on presence or absence of hepatitis C virus. The studies of changes in innate immunity and role of type 3 interferons may extend our knowledge on the interaction between the human body and HIV, and will promote preventive measures and rehabilitation in the patients with HIV infection.

Keywords: HIV, HCV, interferons, interferons-lambda

Введение

ВИЧ-инфекция остается серьезным вопросом для специалистов различного профиля, ввиду сохранения большого количества «белых пятен» и малоизученных механизмов развития заболевания и его осложнений. Повсеместное применение антиретровирусной терапии у пациентов с

ВИЧ, безусловно, продемонстрировало успехи медицинского сообщества в контроле болезни и ее симптомов, обеспечивая большинству ВИЧ-инфицированных пациентов возможность полноценной здоровой жизни. Однако второй стороной данного прогресса стало то, что появился ряд вопросов, ранее не актуальных для исследователей, в том числе особенность иммунного ответа

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ ИНТЕРФЕРОНОВ-ЛЯМБДА У ОБСЛЕДУЕМОГО КОНТИНГЕНТА, Ме ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

TABLE 1. PARAMETERS OF INTERFERONS-LAMBDA IN THE EXAMINED CONTINGENT, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Показатели, пг/мл Parameters, pg/ml	Группа контроля Control group (n = 40)	Группа I ВИЧ Group I HIV (n = 42)	Группа II ВИЧ + ВГС Group II HIV + HCV (n = 45)	р-значение p-value
IFNλ1 (IL-29)	100,56 (42,15-180,60)	31,57 (17,290-97,238)	19,43 (5,95-35,49)	$p_1-p_2 = 0,03$ $p_c-p_1 = 0,008$ $p_c-p_2 = 0,006$
IFNλ3 (IL-28B)	210,2 (170,14-255,21)	7,16 (6,47-28,20)	123,53 (46,150-170,656)	$p_1-p_2 = 0,002$ $p_c-p_1 = 0,004$ $p_c-p_2 = 0,012$

у тех пациентов, болезнь которых не становится контролируемой и продолжает прогрессировать, несмотря на применяемые схемы терапии. Единого мнения о причинах рефрактерности к терапии нет, обсуждается как ведущая роль самого вируса ВИЧ, так и факторы организма человека, определяющие взаимодействие иммунной системы с вирусом [6]. В свете данных рассуждений, мы можем говорить о целесообразности изучения интерферонов, в частности из семейства лямбда, в связи с их противовирусной активностью и описанной ролью в патогенезе ряда вирусных заболеваний, в частности вирусного гепатита С (ВГС) [5, 9].

Цель исследования – провести оценку содержания представителей семейства интерферонов-лямбда – IFNλ1 (IL-29) и IFNλ3 (IL-28B) у пациентов с ВИЧ-инфекцией.

Материалы и методы

Был проведен анализ сыворотки крови 120 пациентов с ВИЧ-инфекцией (средний возраст 49,7±6,2 года), находящихся на амбулаторном лечении в Центре профилактики и борьбы со СПИД ГБУЗ ККБ № 2 г. Владивостока. Основной клинический диагноз всех пациентов: ВИЧ-инфекция 4 А. Стадия вторичных заболеваний. Фаза ремиссии на фоне приема АРВТ. У 52 пациентов было установлено сопутствующее заболевание: хронический вирусный гепатит С. Иных острых заболеваний или обострения хронических заболеваний у обследуемого контингента диагностировано не было. РНК ВИЧ в крови пациентов на момент исследования не определялась. РНК вируса гепатита С (HCV) определялась на уровне средней (3×10^4 до 8×10^5 МЕ/мл) или высокой (свыше 8×10^5 МЕ/мл) вирусемии. Группа контроля

была сформирована из 42 здоровых добровольцев, сопоставимых по возрасту и полу.

Определение содержания IFNλ1 (IL-29) и IFNλ3 (IL-28B) в сыворотке венозной крови осуществлялось методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА), с использованием анализатора Multiscan. Для проведения ИФА использовались реактивы, произведенные R&D systems, каталожные номера DY5259; DY7246. Достоверность различий между сравниваемыми группами оценивалась по методу Уилкоксона–Манна–Уитни.

Результаты и обсуждение

В группах пациентов с ВИЧ-инфекцией, как с вирусным гепатитом С, так и без него, значения IFNλ1 (IL-29) и IFNλ3 (IL-28B) были достоверно снижены в сравнении с группой контроля. При сравнении значений между группами было выявлено более выраженное уменьшение уровня IFNλ1 (IL-29) в группе пациентов с вирусным гепатитом С. Анализируя уровень IFNλ3 (IL-28B), была выявлена противоположная картина, – значения в группе пациентов с ВИЧ инфекцией и вирусным гепатитом С были выше, чем в группе без гепатита, однако не достигали значений контрольной группы. Значения показателей представлены в таблице 1.

Интерфероны 3-го типа, также известны как интерфероны-лямбда, включают в себя несколько представителей интерлейкинов, схожих по структурно-функциональным характеристикам: IFNλ1 (IL-29), IFNλ2 (IL-28A), IFNλ3 (IL-28B). Они реализуют свою функцию через систему Янус-киназа (JAK) и проявляют противовирусное воздействие путем индукции экспрессии ряда интерферон-стимулированных генов (ISG). В отличие от интерферонов первого типа, функции

интерферонов третьего типа ограничены в большей степени эпителиальными тканями, однако это утверждение не является абсолютным. В то же время рассматривается возможность не только прямого противовирусного действия данного семейства интерферонов, но и иммуномодулирующего влияния на интерферон-альфа-индуцированные сигнальные пути [11]. В отношении IFN λ 3 (IL-28B) и вируса гепатита С известно, что при наличии определенного генетического варианта в гене IL-28B наблюдается как спонтанное, так и индуцированное на фоне терапии подавление вирусной репликации, однако механизмы, лежащие в основе данного эффекта, остаются неясными [4].

В исследовании С.И. Малова и соавт. (2016) было зарегистрировано снижение уровня IFN λ 1 (IL-29) у пациентов с хроническим течением ВГС, что авторами связывается с вирусным подавлением синтеза провоспалительных цитокинов и противовирусных интерферонов. Интересным фактом является также то, что уровень данного интерферона не зависел от расовой принадлежности заболевшего человека [1]. Мы можем предполагать, что ВИЧ способен действовать на уровень IFN λ 1 (IL-29) схожим образом, что объясняет полученные нами данные. В отношении IFN λ 3 (IL-28B), в противовес данным о IFN λ 1 (IL-29), преобладает мнение о генетической детерминированности данного интерферон-зависимого ответа [3].

Однако нельзя отрицать и прогностически негативное значение повышенного содержания IFN λ 3 (IL-28B). Несмотря на индукцию его выработки в ответ на РНК вируса, существует мнение, что HCV может мутировать и адаптироваться к влиянию данного фактора врожденного иммунитета [7]. В то же время повышенное содержание IFN λ 3 (IL-28B) в клетках гепатоцитов, по мнению J. Friborg и соавт. (2015) может быть причиной негативной регуляции выработки других интерферонов, в том числе первого типа, как следствие низкой эффективности интерферонотерапии. Учитывая широкое распространение противовирусной терапии, данный вопрос стал менее актуальным, однако он может указывать на особенность патогенеза ряда вирусных инфекций [8].

Основываясь на полученных данных о более высоком содержании IFN λ 3 (IL-28B) в сыворотке крови пациентов с ВГС, мы предполагаем, что индукция экспрессии данного вида интерферонов связана как с вирус-ассоциированным подавлением экспрессии интерферонов первого типа, так и РНК-ассоциированной индукцией выработки IFN λ 3 (IL-28B). Основываясь на данных о противовирусном влиянии данного интерлей-

кина на макрофагальную передачу ВИЧ, можно предположить, что индукция и поддержание высокого уровня интерферонов третьего типа могут благоприятно сказаться на течении ВИЧ-инфекции, в том числе на рисках развития неврологических осложнений, связанных с переходом вируса через гематоэнцефалический барьер, что происходит, в том числе, с использованием механизма «троянского коня» через макрофаги [10].

Вопрос альтернативных и комплементарных методов терапии ВИЧ-инфекции остается актуальным и в эру антиретровирусной терапии, по причине наличия пациентов с прогрессирующим ВИЧ-инфекцией, несмотря на проводимую терапию. Не исключено, что иммунотерапия препаратами интерферонов, или же индукторов интерферонов, к которым можно отнести и препараты бактериальных лизатов, может благоприятно сказаться на прогнозах здоровья и жизни таких пациентов, однако это требует дальнейших исследований. Даже с учетом отсутствия вирусной нагрузки при проведении антиретровирусной терапии у пациентов с ВИЧ и элиминацией HCV, иммунопатологические последствия перенесенных заболеваний могут сохраняться годами, демонстрируя черты, сходные с теми, что отмечаются в нарушениях работы иммунной системы при старении [2].

Выводы

Таким образом, зарегистрированные изменения в уровне IFN λ 1 (IL-29) и IFN λ 3 (IL-28B) у пациентов с ВИЧ и ВГС демонстрируют нам вирусное влияние на врожденный иммунитет, характеризующееся разнонаправленным изменением при наличии или отсутствии вируса гепатита С. Изучение данных об изменениях врожденного иммунитета и роли интерферонов третьего типа может расширить понимание взаимодействия между организмом человека и ВИЧ и поспособствовать улучшению профилактических мероприятий и реабилитации у пациентов с ВИЧ-инфекцией.

Благодарности

Авторы выражают признательность ректору ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России Шуматову Валентину Борисовичу, первому проректору ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России Транковской Лидии Викторовне, проректору ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России Елисеевой Екатерине Валерьевне, а также научному отделу ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России в лице руководителя Поддубного Евгения Александровича, за поддержку исследования в рамках внутривузовского научного гранта и программы кадрового резерва.

Список литературы / References

1. Малов С.И., Малов И.В., Колбасеева О.В., Степаненко Л.А., Дулгуун Б., Хабудаев В.А., Ющук Н.Д. Динамика синтеза интерферона-лямбда-1 у больных острым вирусным гепатитом С // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение, 2016. № 2. С. 78-83. [Malov S.I., Malov I.V., Kolbaseeva O.V., Stepanenko L.A., Dulguun B., Khabudaev V.A., Yushchuk N.D. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie* = *Infectious Diseases News, Opinions, Training*, 2016, no. 2, pp. 78-83. (In Russ.)]
2. Angel C.J.L., Pham E.A., Du H., Vallania F., Fram B.J., Perez K., Nguyen T., Rosenberg-Hasson Y., Ahmed A., Dekker C.L., Grant P.M., Khatri P., Maecker H.T., Glenn J.S., Davis M.M., Furman D. Signatures of immune dysfunction in HIV and HCV infection share features with chronic inflammation in aging and persist after viral reduction or elimination. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2021, Vol. 118, no. 14, e2022928118. doi: 10.1073/pnas.2022928118.
3. Bellanti F., Vendemiale G., Altomare E., Serviddio G. The impact of interferon lambda 3 gene polymorphism on natural course and treatment of hepatitis C. *J. Immunol. Res.*, 2012, Vol. 2012, 849373. doi: 10.1155/2012/849373.
4. Boisvert M., Shoukry N.H., Type III interferons in hepatitis C virus infection. *Front. Immunol.*, 2016, Vol. 7, 628. doi: 10.3389/fimmu.2016.00628.
5. Bruening J., Weigei B., Gerold G. The role of type III interferons in hepatitis C virus infection and therapy. *J. Immunol. Res.*, 2017, Vol. 2017, 7232361. doi: 10.1155/2017/7232361.
6. Casado C., Galvez C., Pernas M., Tarancon-Diez L., Rodriguez C., Sanchez-Merino V., Vera M., Olivares I., Pablo-Bernal R., Merino-Mansilla A., Romero J.D., Lorenzo-Redondo R., Ruiz-Mateos E., Salgado M., Martinez-Picado J., Lopez-Galindez C. Permanent control of HIV-1 pathogenesis in exceptional elite controllers: a model of spontaneous cure. *Sci. Rep.*, 2020, no. 10, 1902. doi: 10.1038/s41598-020-58696-y.
7. Chaturvedi, N., Svarovskaia E.S., Mo H., Osinusi A.O., Brainard D.M., Subramanian G.M., McHutchinson J.G., Zeuzem S., Fellay J. Adaptation of hepatitis C virus to interferon lambda polymorphism across multiple viral genotypes. *eLife*, 2019, Vol. 8, e42542. doi: 10.7554/eLife.42542.
8. Friberg J., Ross-Macdonald P., Cao J., Willard R., Lin B., Eggers B., McPhee F. Impairment of type I but not type III IFN signaling by hepatitis C virus infection influences antiviral responses in primary human hepatocytes. *PLoS One*, 2015, Vol. 10, no. 3, 0121734. doi: 10.1371/journal.pone.0121734.
9. Goel R.R., Kotenko S.V., Kaplan M.J. Interferon lambda in inflammation and autoimmune rheumatic diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2021, Vol. 17, no. 6, pp. 349-362.
10. Liu M., Zhou D., Wang X., Zhou W., Ye L., Li J., Wang Y., Ho W. IFN- λ 3 Inhibits HIV infection of macrophages through the JAK-STAT Pathway. *PLoS One*, 2012, Vol. 7, no. 4, e35902. doi: 10.1371/journal.pone.0035902.
11. Syedbasha M., Egli A. Interferon lambda: modulating immunity in infectious diseases. *Front. Immunol.*, 2017, Vol. 8, 119. doi: 10.3389/fimmu.2017.00119.

Авторы:

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

Скляр Л.Ф. — д.м.н., профессор, заместитель главного врача по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2»; профессор кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Authors:

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

Sklyar L.F., PhD, MD (Medicine), Professor, Deputy Head for Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, Regional Clinical Hospital No. 2; Professor, Department of Infectious Diseases, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Маркелова Е.В. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Markelova E.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Normal and Pathological Physiology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Кузнецов А.С. — аспирант кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Kuznetsov A.S., Postgraduate Student, Department of Normal and Pathological Physiology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Соловьева Н.П. — к.м.н., врач-инфекционист ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2», г. Владивосток, Россия

Solovyeva N.P., PhD (Medicine), Clinical Infectologist, Regional Clinical Hospital No. 2, Vladivostok, Russian Federation

Левенец М.А. — студент военного-учебного центра ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Levenets M.A., Student, Military Training Center, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Поступила 19.07.2021
Принята к печати 20.08.2021

Received 19.07.2021
Accepted 20.08.2021

МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ПРОГНОЗИРУЕМЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ИММУНОКОМПРОМЕНТИРОВАННЫХ РЕЦИПИЕНТОВ ПЕРЕД ПОВТОРНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ РОГОВИЦЫ

Комах Ю.А.¹, Борзенко С.А.¹, Петричук С.В.², Купцова Д.Г.²,
Радыгина Т.В.²

¹ ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

² ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. Одной из актуальных проблем современной офтальмотрансплантологии является приживление трансплантата после повторных кератопластик. При проведении повторных трансплантаций роговицы частота возникновения отторжения трансплантата значительно возрастает. В исследовании был включен 121 пациент в возрасте от 19 до 89 лет с помутнением трансплантата роговицы, которым планировалась повторная трансплантация роговицы. Методом проточной цитометрии проводили иммунофенотипирование основных и малых популяций лимфоцитов периферической крови (CytoFlex BC, США). Интенсивность энергетического обмена в популяциях лимфоцитов определяли по активности сукцинатдегидрогеназы и НАДН-дегидрогеназы иммуноцитохимическим методом с использованием проточной цитометрии. Выявлено увеличение содержания В-лимфоцитов ($p = 0,004$) и снижение Th17-лимфоцитов ($p = 0,013$) после применения курса метаболической терапии. На фоне терапии достоверно повышается активность СДГ в популяции Т-лимфоцитов ($p = 0,034$). Кроме того, в исследуемых популяциях лимфоцитов в группе реципиентов на фоне метаболической терапии наблюдается нормализация активности СДГ: уменьшается количество реципиентов с низкой и с высокой активностью фермента. После курса метаболической терапии выявлено достоверное снижение активности НАДН-ДГ ($p = 0,034$). Показатели популяций лимфоцитов и активности митохондриальных ферментов у реципиентов после курса метаболической терапии свидетельствовали о более благоприятном прогнозе повторной трансплантации роговицы. Оценка результатов повторной кератопластики через год после операции показала, что у 59 реципиентов получено прозрачное приживление трансплантата, а у 62 пациентов трансплантат помутнел в сроки от 1 до 8 месяцев после операции. В группе пациентов с прозрачным приживлением трансплантата процент реципиентов, получавших метаболическую терапию, был достоверно выше, чем в группе реципиентов с помутнением трансплантата ($41 \pm 2,05\%$ против $21 \pm 2,91\%$, $p < 0,001$). Проведение метаболической терапии до операции

Адрес для переписки:

Комах Юрий Алексеевич
ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения РФ
127486, Россия, Москва, Бескудниковский бул., 59а.
Тел.: 8 (499) 488-89-39.
E-mail: komakh@yandex.ru

Address for correspondence:

Komakh Yury A.
S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Autonomous Institution
127486, Russian Federation, Moscow,
Beskudnikovskiy blvd, 59a.
Phone: 7 (499) 488-89-39.
E-mail: komakh@yandex.ru

Образец цитирования:

Ю.А. Комах, С.А. Борзенко, С.В. Петричук, Д.Г. Купцова, Т.В. Радыгина «Метаболическая терапия прогнозируемых осложнений у иммунокомпроментированных реципиентов перед повторной трансплантацией роговицы» // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 4. С. 495-500.
doi: 10.46235/1028-7221-1076-MTO

© Комах Ю.А. и соавт., 2021

For citation:

Yu.A. Komakh, S.A. Borzenok, S.V. Petrichuk, D.G. Kuptsova, T.V. Radygina "Metabolic therapy of predicted complications in immunocompromised recipients before repeated corneal transplantation", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 4, pp. 495-500.
doi: 10.46235/1028-7221-1076-MTO
DOI: 10.46235/1028-7221-1076-MTO

уменьшает число реализованных неблагоприятных прогнозов результата рекератопластики, а мониторинг активности дегидрогеназ и содержания популяций лимфоцитов позволяет оценить эффективность лечебно-профилактических мероприятий у иммунокомпроментированных реципиентов.

Ключевые слова: отторжение трансплантата роговицы, метаболизм лимфоцитов, иммуномодуляторы

METABOLIC THERAPY OF PREDICTED COMPLICATIONS IN IMMUNOCOMPROMISED RECIPIENTS BEFORE REPEATED CORNEAL TRANSPLANTATION

Komakh Yu.A.^a, Borzenok S.A.^a, Petrichuk S.V.^b, Kuptsova D.G.^b, Radygina T.V.^b

^a S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Autonomous Institution, Moscow, Russian Federation

^b National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

Abstract. One of the topical problems of modern ophthalmotransplantology is the graft engraftment after repeated keratoplasty. During repeated corneal transplantation, the frequency of graft rejection increases significantly. The study included 121 patients aged 19 to 89 years with corneal graft failure, who were scheduled for repeated corneal transplantation. Immunophenotyping of major and small populations of peripheral blood lymphocytes was performed by flow cytometry (CytoFlex BC, USA). The intensity of energy metabolism in lymphocyte populations was determined by the activity of succinate dehydrogenase and NADH dehydrogenase by immunocytochemical method using flow cytometry. An increase in the content of B lymphocytes ($p = 0.004$) and a decrease in Th17 lymphocytes ($p = 0.013$) were revealed after the use of a course of metabolic therapy. Against the background of therapy, the activity of SDH in the T lymphocyte population significantly increases ($p = 0.034$). In addition, in the studied populations of lymphocytes in the recipient group, against the background of metabolic therapy, the normalization of SDH activity is observed: the number of recipients with low and high enzyme activity decreases. After a course of metabolic therapy, a significant decrease in NADH-DH activity was revealed ($p = 0.034$). Indicators of lymphocyte populations and mitochondrial enzyme activity in recipients after a course of metabolic therapy indicated a more favorable prognosis for repeated corneal transplantation. Evaluation of the results of repeated keratoplasty a year after surgery showed that 59 recipients received transparent graft engraftment, and in 62 patients the graft became cloudy in the period from 1 to 8 months after surgery. In the group of patients with transparent graft engraftment, the percentage of recipients receiving metabolic therapy was significantly higher than in the group of recipients with graft opacity ($41\% \pm 2.05\%$ vs $21\% \pm 2.91\%$, $p < 0.001$). Conducting metabolic therapy before surgery reduces the number of realized unfavorable prognoses of the result of rekeratoplasty, and monitoring the activity of dehydrogenases and the content of lymphocyte populations allows us to evaluate the effectiveness of therapeutic and preventive measures in immunocompromised recipients.

Keywords: corneal transplant rejection, lymphocyte metabolism, immunomodulators

Введение

Трансплантация роговицы по количеству выполняемых операций в год занимает первое место среди всех трансплантаций органов и тканей, и в первый год после операции дает высокий процент успеха. К сожалению, в отдаленные сроки наблюдения, у реципиентов группы высокого риска отторжения трансплантата процент успеха снижается и через 10 лет составляет всего 35%. Возникает проблема проведения повтор-

ных трансплантаций роговицы. При повторной трансплантации роговицы прозрачное приживление наблюдается лишь у 33-75% реципиентов [5].

Ранее нами была показана высокая информативность оценки популяций лимфоцитов у реципиентов в прогнозе сроков возникновения послеоперационных осложнений [2]. У реципиентов с неблагоприятным биологическим результатом рекератопластики выявлено достоверное увеличение количества агрессивных Th17-лим-

фоцитов, повышение содержания НК-клеток и активированных Т-лимфоцитов на фоне снижения содержания В-лимфоцитов по сравнению с группой реципиентов с прозрачным приживлением трансплантата.

В последнее время большое внимание уделяется иммунометаболизму лимфоцитов и определению активности внутриклеточных ферментов в них при различных патологиях [4].

Для оценки процессов метаболизма в общей популяции лимфоцитов используется определение активности митохондриальных дегидрогеназ; сукцинатдегидрогеназы (СДГ), НАДН-дегидрогеназы (НАДН-ДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (ГФДГ) [2, 3]. СДГ отражает интенсивность цикла Кребса и II этапа окислительного фосфорилирования, активность НАДН-ДГ отражает интенсивность I этапа окислительного фосфорилирования, активность ГФДГ характеризует работу глицерофосфатного челночного механизма, отражающего интенсивность поступления электрон-эквивалентов с процесса гликолиза на окислительное фосфорилирование

При использовании проточной цитометрии нами было получено, что активность СДГ в основных популяциях лимфоцитов у пациентов с помутнением трансплантата была достоверно снижена по сравнению с пациентами с прозрачным приживлением трансплантата, причем снижение наблюдалось во всех основных популяциях. У пациентов с помутнением трансплантата достоверно увеличивается соотношение ГФДГ/СДГ во всех основных популяциях [2]. Ранее нами был предложен способ определения показаний к сквозной кератопластике, основанный на использовании коэффициента соотношения ГФДГ/СДГ, и повторную трансплантацию роговицы считают показанной при отношении менее 0,45 [2].

Показано также увеличение соотношения НАДН-ДГ/СДГ больше 1 в группе реципиентов с помутнением трансплантата по сравнению с группой с прозрачным приживлением за счет снижения активности СДГ и повышения активности НАДН-ДГ.

Основу консервативной терапии для профилактики и лечения отторжения трансплантата с целью повышения эффективности результата кератопластики составляют различные схемы применения иммуносупрессивной терапии, включающей кортикостероиды, антиметаболиты, ингибиторы кальцинейрина и малые иммуномодуляторы, к которым относят препараты метаболического действия, корректирующие метаболические сдвиги в иммунной системе при развитии реакций трансплантационного иммунитета.

Независимо от того, являются ли сдвиги в метаболизме иммунных клеток причиной или следствием реакции отторжения трансплантата, оптимизация энергетики приводит к улучшению функционального состояния клеток иммунной системы. Нами впервые в офтальмологии было показано значение предоперационной метаболической коррекции для предупреждения отторжения трансплантата роговицы при повторной трансплантации роговицы [1].

Материалы и методы

В нашей работе мы использовали два комплекса медикаментозных препаратов метаболического действия. Первый комплекс препаратов, улучшающий энергетику клеток и тканей при низкой активности митохондриальных дегидрогеназ составили субстраты и кофакторы цикла Кребса: цитофлавин, липоевая кислота и панангин. Второй комплекс препаратов метаболического действия составили препараты, необходимые для метаболической регуляции синтеза липидов, стабилизации клеточных мембран: ангиовит и элтацин.

Предоперационная медикаментозная метаболическая терапия состояла из трех курсов по 10 дней приема препаратов первого или второго комплексов, с интервалами между ними в 30 дней.

В исследование был включен 121 пациент с помутнением трансплантата роговицы, которым планировалась повторная трансплантация роговицы. Возраст пациентов варьировал от 19 до 89 лет. Всем пациентам до операции проводилось стандартное офтальмологическое обследование. Образцы крови подвергали первичной обработке согласно разработанному протоколу на проточном цитометре (CytoFlex BC, США), с исследованием субпопуляций лимфоцитов, описанных ранее [2]. Интенсивность энергетического обмена в популяциях лимфоцитов определяли по активности сукцинатдегидрогеназы – основного митохондриального фермента – иммуноцитохимическим методом с использованием проточной цитометрии [3]. Показатель активности в выделенных популяциях ЛФ определяли по приросту коэффициента бокового светорассеяния в процентах после проведения цитохимической реакции. Статистическая обработка была выполнена с помощью пакета Statistica 10.0. Использовали критерий Манна–Уитни, а также критерии Фишера (F) и хи-квадрат (χ^2) для достоверности различий распределений.

Результаты и обсуждение

На первом этапе работы оценивали сравнение содержания основных и малых популяций

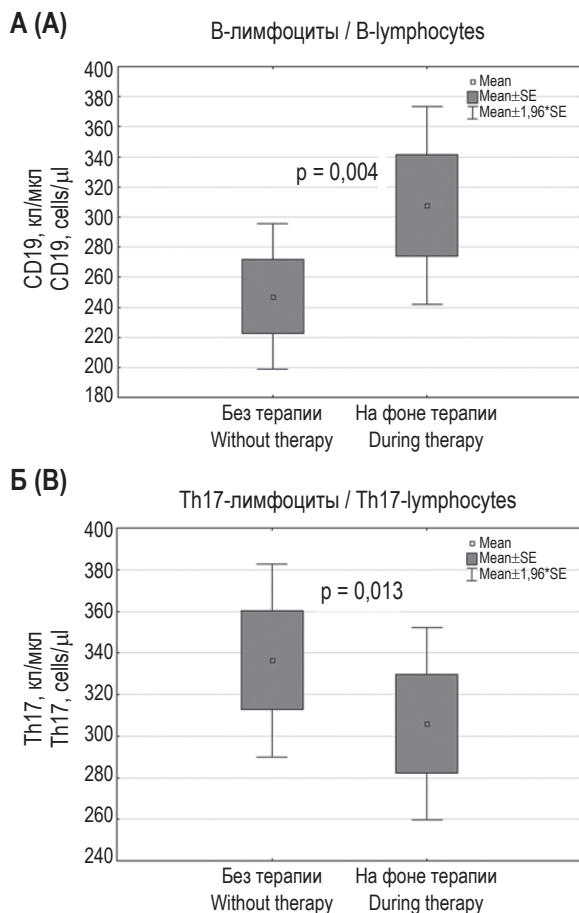


Рисунок 1. Абсолютное количество В-лимфоцитов (А) и Th17-лимфоцитов (Б) в группах реципиентов без терапии и на фоне терапии

Figure 1. Absolute number of B-lymphocytes (A) and Th17-lymphocytes (B) in recipient groups without therapy and during therapy

лимфоцитов у реципиентов без метаболической терапии и после курса метаболической терапии.

Выявлено, что в основных популяциях лимфоцитов изменения касаются В-клеток: у реципиентов после курса терапии достоверно увеличивается и приближается к норме абсолютное и относительное содержание клеток данной популяции (рис. 1А). Увеличение содержания В-лимфоцитов связано с увеличением популяции В2-лимфоцитов. Получено также, что после применения курса метаболической терапии достоверно снижается содержание Th17-лимфоцитов (рис. 1Б).

Оценка активности СДГ в основных и малых популяциях лимфоцитов показала, что во всех популяциях в группе реципиентов на фоне метаболической терапии существенно снижается разброс показателей (снижение коэффициента дисперсии): уменьшается количество реципиентов с низкой и с высокой активностью СДГ. Особо четко это проявляется в популяциях Т-лимфоцитов (рис. 2) и в активированных Т-лимфоцитах

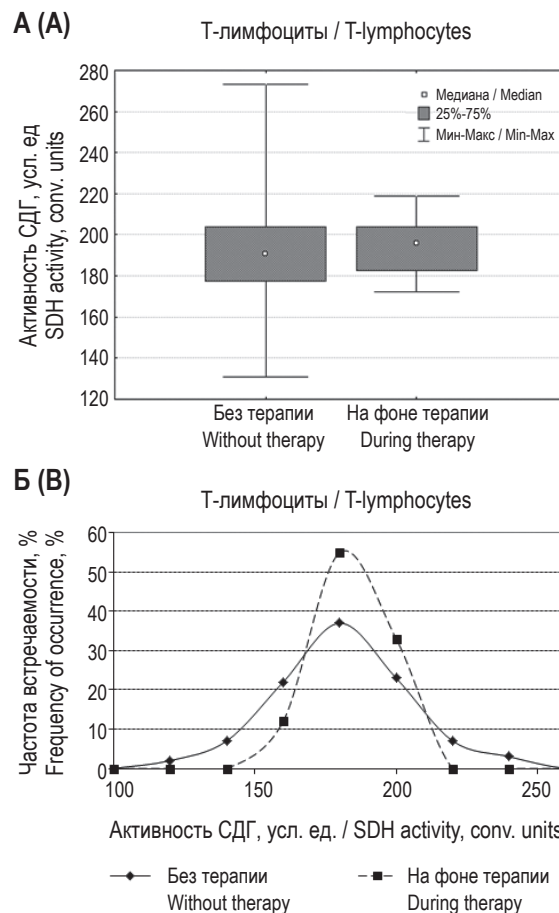


Рисунок 2. Активность СДГ в Т-лимфоцитах в группах реципиентов без терапии и на фоне терапии

Примечание. А – сравнение групп по критериям Манна–Уитни ($p = 0,034$) и Фишера ($p < 0,01$). Б – сравнение распределений по критерию χ^2 ($p < 0,01$).

Figure 2. SDH activity in T-lymphocytes in recipient groups without therapy and during therapy

Note. A, comparison of groups according to the Mann–Whitney ($p = 0.034$) and Fisher ($p < 0.01$) tests. B, comparison of distributions by the χ^2 test ($p < 0.01$).

($p < 0,01$). На фоне метаболической терапии достоверно повышается активность СДГ в популяции Т-лимфоцитов, причем это повышение связано с повышением активности в цитотоксических Т-лимфоцитах ($p = 0,025$).

Анализ активности НАДН-ДГ показал, что по активности этого фермента группы пациентов без терапии и после курса метаболической терапии различались между собой, в группе после терапии выявлено достоверное снижение общей активности фермента НАДН-ДГ (871 (744-1072) усл. ед. против 791 (625-930) усл. ед., $p = 0,034$). Повышение активности СДГ и снижение активности НАДН-ДГ приводит к снижению соотношения НАДН-ДГ/СДГ. Таким образом, показатели содержания популяций лимфоцитов и активности митохондриальных ферментов у реципиентов после курса метаболической терапии

свидетельствовали о более благоприятном прогнозе повторной трансплантации роговицы.

Биологический результат повторной кератопластики оценивали через год после операции: у 59 реципиентов получено прозрачное приживление трансплантата, а у 62 пациентов трансплантат помутнел в сроки от 1 до 8 месяцев после операции. Анализ результатов у группы реципиентов с помутнением трансплантата (n = 62) показал, что 79% реципиентов (n = 49) не проходили предоперационную метаболическую терапию, а 21% реципиентов (n = 14) получили 3 курса метаболической терапии до операции.

Анализ результатов у группы реципиентов с прозрачным приживлением (n = 59) показал, что

59% реципиентов (n = 35) не проходили предоперационную метаболическую терапию, а 41% реципиентов (n = 24) получили 3 курса метаболической терапии до операции ($41 \pm 2,05\%$ против $21 \pm 2,91\%$, $p < 0,001$).

Заключение

Таким образом, проведение метаболической терапии до операции уменьшает число реализованных неблагоприятных прогнозов результата рекератопластики, а иммуноцитохимический метод позволяет оценить эффективность лечебно-профилактических мероприятий у иммунокомпроментированных реципиентов.

Список литературы / References

1. Комах Ю.А., Борзенко С.А., Радыгина Т.В., Купцова Д.Г., Петричук С.В. Фактор транскрипции NF-κB в прогнозе результата рекератопластики // Офтальмологический журнал, 2021. Т. 2, № 499. С. 16-22. [Komakh Yu.A., Borzenok S.A., Radygina T.V., Kuptsova D.G., Petrichuk S.V. Transcription factor NF-κB in the prognosis of rekeratoplasty result. *Oftalmologicheskii zhurnal = Journal of Ophthalmology (Ukraine)*, 2021, Vol. 2, no. 499, pp. 16-22. (In Russ.)]
2. Комах Ю.А., Борзенко С.А., Радыгина Т.В., Петричук С.В., Герасимова Д.Г. Метаболизм популяций лимфоцитов в прогнозе результата повторной трансплантации роговицы // Российский иммунологический журнал, 2019. Т. 13 (22), № 4. С. 1485-1487. [Komakh Yu.A., Borzenok S.A., Radygina T.V., Petrichuk S.V., Gerasimova D.G. Metabolism of the lymphocyte populations in the outcome of repeat corneal transplantation. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2017, Vol. 13 (22), no. 4, pp. 1485-1487. (In Russ.)]
3. Патент 2302635 РФ, МПК G01 № 33/53, G01 № 33/50 Способ измерения митохондриальной активности лимфоцитов / С.В. Петричук, Т.Д. Измайлова, Т.В. Радыгина; заявитель и патентообладатель Государственное учреждение Научный центр здоровья детей РАМН. № 2005141145/15; заявл. 28.12.2005; опубл. 10.07.2007. [Patent 2302635 RF, МПК G01 № 33/53, G01 № 33/50 Method of measurement of mitochondrial activity of lymphocytes / S.V. Petrichuk, T.D. Izmailova, T.V. Radygina; applicant and patentee State institution Scientific center for children's health RAMS. No. 2005141145/15; declared. 28.12.2005; publ. 10.07.2007.]
4. Angajala A., Lim S., Phillips J.B., Kim J.-H., Yates C., You Z., Tan M. Diverse roles of mitochondria in immune responses: novel insights into immune-metabolism. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, 1805. doi: 10.3389/fimmu.2018.01605.
5. Kitazava K., Wakimasu K., Kayukawa K., Yokota I., Inatomi T., Hieda O., Sotozono C., Kinoshita S. Moderately long-term safety and efficacy of repeat penetrating keratoplasty. *Cornea*, 2018, Vol. 37, no. 10, pp. 1255-1259.

Авторы:

Комах Ю.А. — к.м.н., заведующий лабораторией трансплантологии и клеточной биологии Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Борзенко С.А. — д.м.н., профессор, заведующий Центром фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Komakh Yu.A., PhD (Medicine), Head, Laboratory of Transplantology and Cellular Biology, S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Autonomous Institution, Moscow, Russian Federation

Borzenok S.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Center of Fundamental and Applied Medical and Biological Problems, S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Autonomous Institution, Moscow, Russian Federation

Петричук С.В. — д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Купцова Д.Г. — младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Радыгина Т.В. — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Petrichuk S.V., PhD, MD (Biology), Professor, Main Research Associate, Laboratory of Experimental Immunology and Virology, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

Kuptsova D.G., Junior Research Associate, Laboratory of Experimental Immunology and Virology, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

Radygina T.V., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Experimental Immunology and Virology, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

Поступила 03.08.2021
Принята к печати 20.08.2021

Received 03.08.2021
Accepted 20.08.2021

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ТКАНЕВОГО ФАКТОРА НА МОНОЦИТАХ У ПАЦИЕНТОВ С СЕПСИСОМ

Лазанович В.А., Маркелова Е.В., Шуматов В.Б., Постнова В.Е.

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

Резюме. Сепсис практически всегда связан с теми или иными нарушениями гемостаза. Факторами, выполняющими основную причинно-значимую роль в патогенезе данных процессов являются провоспалительные цитокины, эндотелий сосудов, тромбоциты, лейкоциты и экспрессированный на данных клетках тканевой фактор (tissue factor – TF), находящийся всегда в активном состоянии. Учитывая потенциальную связь системы коагуляции с патофизиологией сепсиса, TF можно рассматривать в качестве биомаркера для ранней диагностики, стратификации риска и оценки прогноза исхода заболевания при сепсисе. Цель – исследовать количественное содержание (CD14⁺CD142⁺) и уровень экспрессии TF на моноцитах у пациентов с сепсисом, проанализировать зависимость данных показателей от степени выраженности полиорганной дисфункции по шкале SOFA, исходов заболевания.

Было обследовано 67 пациентов с сепсисом. Степень тяжести полиорганной дисфункции/недостаточности оценивали по шкале – SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessments Score Sequential Organ Failure Assessment). Все пациенты были распределены на 2 группы с учетом тяжести состояния и выраженности органной недостаточности. 1-я группа (n = 30) – пациенты с диагнозом «сепсис» со степенью тяжести органной дисфункции < 6 баллов по шкале SOFA, 2-я группа (n = 37) – пациенты с диагнозом «сепсис» со степенью тяжести органной дисфункции > 6 баллов по шкале SOFA. Забор крови у пациентов проводился в первые 48 ч после поступления и установки диагноза. Исследовали количественное содержание (CD14⁺CD142⁺) и уровень экспрессии тканевого фактора на моноцитах методом проточной цитометрии.

Выявили, что содержание (CD14⁺CD142⁺) было существенно выше у пациентов сепсисом, чем у здоровых лиц (6,03±1,05%, против 0,24±0,02%, p = 0,001), с более тяжелой степенью органной дисфункции (SOFA) по сравнению с менее тяжелой (SOFA) (6,50±0,98% против 4,42±0,36%, p = 0,05). Высокий уровень экспрессии тканевого фактора на моноцитах прямо коррелировал r > 0,71 (p = 0,05) с тяжестью органной дисфункции (SOFA) и был сопряжен (p = 0,004) с летальным исходом заболевания. Данные результаты позволяют предположить, что экспрессия тканевого фактора на моноцитах может служить биомаркером, отражающим степень системного воспаления при сепсисе, быть критерием в прогнозе тяжести течения и исхода заболевания у пациентов с сепсисом.

Ключевые слова: тканевой фактор, биомаркер, моноциты, гемокоагуляция, сепсис

Адрес для переписки:

Лазанович Владимир Анатольевич
ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ
690062, Россия, г. Владивосток, пр. 100 лет
Владивостоку, 14, кв. 49.
Тел.: 8 (914) 703-45-09.
E-mail: immuno2003@mail.ru

Address for correspondence:

Lazanovich Vladimir A.
Pacific State Medical University
690062, Russian Federation, Vladivostok,
100 let Vladivostoku ave., 14, apt 49.
Phone: 7 (914) 703-45-09.
E-mail: immuno2003@mail.ru

Образец цитирования:

В.А. Лазанович, Е.В. Маркелова, В.Б. Шуматов,
В.Е. Постнова «Анализ экспрессии тканевого фактора
на моноцитах у пациентов с сепсисом» // Российский
иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 4. С. 501-506.
doi: 10.46235/1028-7221-1071-EOT
© Лазанович В.А. и соавт., 2021

For citation:

V.A. Lazanovich, E.V. Markelova, V.B. Shumatov,
V.E. Postnova "Evaluation of tissue factor expression on
monocytes in the patients with sepsis", Russian Journal of
Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021,
Vol. 24, no. 4, pp. 501-506.
doi: 10.46235/1028-7221-1071-EOT
DOI: 10.46235/1028-7221-1071-EOT

EVALUATION OF TISSUE FACTOR EXPRESSION ON MONOCYTES IN THE PATIENTS WITH SEPSIS

Lazanovich V.A., Markelova E.V., Shumatov V.B., Postnova B.E.

Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. Sepsis is nearly always associated with some type of haemostatic disorder. The factors that play main causal role in pathogenesis of these processes are pro-inflammatory cytokines, vascular endothelium, platelets, leukocytes, and tissue factor (TF) expressed on these cells, which is always in an active state. Given a potential relationship between the blood clotting and pathophysiology of sepsis, TF may be considered a biomarker for early diagnosis, risk stratification, and prognosis of disease outcome in sepsis. Objective – to study quantitative content (CD14⁺CD142⁺) and the levels of TF expression on monocytes in the patients with sepsis, to analyze the dependence of these parameters on the severity of multiple organ dysfunction according to the SOFA scale, and disease outcomes.

67 patients with sepsis were examined. The severity of multiple organ dysfunction/failure was assessed by means of the SOFA score (Sepsis-related Organ Failure Assessments, Sequential Organ Failure Assessment). All the patients were divided in 2 groups based on the severity of their condition and extent of organ failure. Group 1 (n = 30) included the patients diagnosed with sepsis and severe organ dysfunction of < 6 points on the SOFA scale; Group 2 (n = 37) consisted of the patients with sepsis and organ dysfunction of > 6 points according to the SOFA scores. Blood sampling from patients was made within initial 48 hours after admission and diagnosis. Quantitative content (CD14⁺CD142⁺) and the level of expression of tissue factor on monocytes were investigated by flow cytometry. We have found that the content of (CD14⁺CD142⁺) cells was significantly higher in patients with sepsis than in healthy individuals ($6.03 \pm 1.05\%$ vs $0.24 \pm 0.02\%$, $p = 0.001$), being higher in more severe organ dysfunction (SOFA) vs less severe cases (SOFA) ($6.50 \pm 0.98\%$ versus $4.42 \pm 0.36\%$, $p = 0.05$). High level of TF expression on monocytes showed a direct correlation ($r > 0.71$; $p = 0.05$) with severity of organ dysfunction (SOFA), and it was associated ($p = 0.004$) with lethal outcome of the disorder. These results suggest that expression of tissue factor on monocytes can serve as a biomarker reflecting the degree of systemic inflammation in sepsis, thus being a criterion for predicting clinical severity and outcome of the disease in patients with sepsis.

Keywords: tissue factor, biomarker, monocytes, hemocoagulation, sepsis

Введение

В настоящее время концептуально сепсис определен как жизнеугрожающая органная дисфункция, вызванная неадекватной или дисрегулируемой реакцией хозяина на инфекцию [10]. В последние годы появляется все больше данных, подтверждающих, что чрезмерное системное воспаление и коагуляционная реакция на инфекционные патогены приводят к микрососудистому тромбозу, который и является основной причиной развития синдрома полиорганной дисфункции (MODS – multiple organ dysfunction syndrome) при сепсисе. Сепсис практически всегда связан с теми или иными нарушениями гемостаза и характеризуются тромбоэмболическими осложнениями, клиникой ДВС-синдрома, сочетанием тромбозов и кровотечений одновременно, на фоне потребления и истощения фак-

торов свертывания крови и тромбоцитов [6]. Клинически значимые нарушения гемокоагуляции наблюдаются от 50 до 70% пациентов с хирургическим сепсисом, у 35% диагностируется ДВС-синдром [8]. Активация каскада свертывания и тромбообразования при сепсисе обычно рассматривают как неблагоприятный процесс. Установлена не только связь между воспалением и нарушениями гемокоагуляции при сепсисе, но растет понимание того, что эти события оказывают взаимное влияние друг на друга. Воспаление индуцирует активацию свертывания крови, а коагуляции заметно влияет на противовоспалительную активность [7]. Факторами, выполняющими основную причинно-значимую роль в патогенезе данных процессов, являются провоспалительные цитокины, эндотелий сосудов, тромбоциты, лейкоциты и экспрессированный на данных клетках

тканевой фактор (tissue factor – TF), находящийся всегда в активном состоянии [2].

Провоспалительные цитокины, в частности IL-1 β , TNF α активно продуцируются в области первичного внедрения патогенов, что влечет развитие воспалительной реакции, синтез белков острой фазы воспаления, взаимодействие белков системы комплемента, активируя различные типы клеток, в том числе эндотелиальные. Данная функция реализуется через продукцию эндотелиальными клетками провоспалительных хемокинов, главным образом IL-8, повышая их адгезивные свойства, за счет экспрессии на поверхности P- и E-селектинов, интегринов ICAM-1 и ICAM-2, MCP-1 (macrophage chemotactic protein-1) [4]. Все это приводит к привлечению лейкоцитов в очаг воспаления, последние, продуцируя в большом количестве протеазы (трипсин, эластазу, коллагеназу, катепсин) и активные формы кислорода, повреждают эндотелиоциты и межклеточный матрикс, что влечет за собой освобождение TF и запуск коагуляционного каскада. По мнению de Jong и соавт. (2010), при тяжелых септических состояниях именно данный механизм запуска ДВС синдрома является ключевым [3]. Установлено, что избыточная экспрессия TF или дисбаланс между ним и еще одним из наиболее важных регуляторных белков в системе свертывания, ингибитором пути тканевого фактора (TFPI Tissue factor pathway inhibitor) тесно связаны с механизмом, приводящим к патологическому расстройству гемокоагуляции у пациентов с сепсисом [9].

Учитывая потенциальную связь системы коагуляции с патофизиологией сепсиса, роль TF как важного инициатора системы свертывания, который экспрессируется в частности активированными моноцитами, позволяет рассматривать его в качестве потенциального биомаркера для ранней диагностики, стратификации риска и оценки прогноза исхода заболевания при сепсисе.

Цель – исследовать количественное содержание (CD14⁺CD142⁺) и уровень экспрессии TF на моноцитах у пациентов с сепсисом, проанализировать зависимость данных показателей от степени выраженности полиорганной дисфункции по шкале SOFA, исходов заболевания.

Материалы и методы

В рамках данного проспективного исследования нами на базе ГБУЗ Приморской краевой клинической больницы № 1 г. Владивостока, были включены 67 пациентов хирургического профиля, от 19 до 72 лет, с диагнозом сепсис (инфекция + органная недостаточность SOFA на ≥ 2

балла). Данный диагноз был установлен в первые 48 часов после поступления в отделение. Степень тяжести полиорганной дисфункции/недостаточности оценивали по шкале – SOFA (Sepsis-related organ failure assessment). Критериями исключения являлись терминальное состояние (прогнозируемая гибель в течение 48 часов), риск летального исхода, не связанного с сепсисом (тромбоэмболия, инфаркт миокарда, нарушения мозгового кровообращения), онкологические, ВИЧ-инфицированные, пациенты, получавшие иммуносупрессивную терапию, пациенты с тяжелыми и декомпенсированными заболеваниями. Все пациенты были распределены на 2 группы с учетом тяжести состояния и выраженности органной недостаточности. 1-я группа (n = 30) – пациенты с диагнозом «сепсис» со степенью тяжести органной дисфункции < 6 баллов по шкале SOFA, 2-я группа (n = 37) – пациенты с диагнозом «сепсис» со степенью тяжести органной дисфункции > 6 баллов по шкале SOFA. Забор крови у пациентов проводился в первые 48 ч после поступления и установки диагноза «сепсис». В контрольную группу вошли 24 клинически здоровых добровольца, сопоставимых по полу, возрасту и расовой принадлежности. Исследования выполнены с информированного согласия всех включенных в исследование. Цитофлюориметрический анализ популяции моноцитов, экспрессии активационных маркеров выполняли в течение 2 часов после забора крови из периферической вены, в пробирки с добавлением K₃ЭДТА, на проточном цитометре FACS Calibur BD, по стандартному протоколу в программе CellQuestPro. Для количественного анализа и уровня экспрессии TF на моноцитах использовали моноклональные антитела к молекулам CD142-APC (производства BioLegend, Inc., США). Оценка уровня экспрессии исследуемого поверхностного рецептора проводили по средней интенсивности флуоресценции (MFI – mean fluorescence intensity).

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программы StatPlus 2018. Для сравнения непараметрических показателей в сравниваемых группах использовали U-критерий Манна–Уитни, для оценки взаимосвязей – метод ранговой корреляции Спирмена, сопряженность уровня экспрессии тканевого фактора и исходом заболевания, учитывая 28 дневную летальность оценивали с использованием критерия χ^2 .

Результаты и обсуждение

В ходе исследования было выявлено, что количество клеток (CD14⁺CD142⁺) у пациентов

ТАБЛИЦА 1. СРЕДНИЕ ЗНАЧЕНИЯ ИССЛЕДУЕМЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С СЕПСИСОМ, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЫРАЖЕННОСТИ ОРГАННОЙ ДИСФУНКЦИИ И ГРУППЫ КОНТРОЛЯ, М±Σ

TABLE 1. AVERAGE VALUES OF THE STUDIED PARAMETERS IN PATIENTS WITH SEPSIS, DEPENDING ON THE SEVERITY OF ORGAN DYSFUNCTION AND THE CONTROL GROUP, M±Σ

Показатель Indicator	1-я группа (SOFA < 6 баллов) Group 1 (SOFA < 6 points) n = 30	2-я группа (SOFA > 6 баллов) Group 2 (SOFA > 6 points) n = 37	Группа контроля Control group n = 24	Уровень значимости (p) p-value
CD14⁺CD142⁺, %	4,42±0,36	6,50±0,98	0,24±0,02	p ₁ – p ₂ = 0,05 p ₁ – p ₃ = 0,009 p ₂ – p ₃ = 0,001
CD14⁺CD142⁺, × 10⁹/л	0,015±0,003	0,021±0,003	0,002±0,001	p ₁ – p ₂ = 0,04 p ₁ – p ₃ = 0,02 p ₂ – p ₃ = 0,01
MFI CD14⁺CD142⁺	42,92±5,39	77,75±4,77	3,80±0,12	p ₁ – p ₂ = 0,05 p ₁ – p ₃ = 0,02 p ₂ – p ₃ = 0,002

с сепсисом было значительно выше в 25 раз, по сравнению со здоровыми добровольцами (6,03±1,05%, против 0,24±0,02%, p = 0,001).

Далее был проведен анализ показателей, количественная оценка, уровень экспрессии тканевого фактора (MFI) на моноцитах пациентов, в зависимости от выраженности органной дисфункции и группы контроля, полученные данные в ходе исследования представлены в таблице 1.

У пациентов с сепсисом удельный вес клеток (CD14⁺CD142⁺) в зависимости от степени выраженности органной дисфункции имел существенные, достоверные отличия как между собой, так и с контрольной группой. В группе с менее выраженной органной дисфункцией (SOFA < 6 баллов) их количество превышало в 18,4 раза, а в группе (SOFA < 6 баллов) в 27 раз по сравнению с контролем.

Оценку степени экспрессии TF непосредственно на моноцитах проводили по средней интенсивности флуоресценции (MFI). Так же как количественное соотношение субпопуляций моноцитов (CD14⁺CD142⁺), так и уровень экспрессии на данных клетках тканевого фактора существенно был выше у пациентов с сепсисом. В группе с менее выраженной органной дисфункцией (SOFA < 6 баллов) уровень экспрессии (MFI) тканевого фактора на моноцитах составил 42,92±5,39%, в группе (SOFA < 6 баллов) – 77,75±4,77% и, соответственно, превышал в 11,3 раза и 20,4 раза по сравнению с контролем.

При оценке взаимосвязей экспрессии тканевого фактора (CD142⁺) на моноцитах и степени выраженности полиорганной дисфункции по шкале SOFA (в баллах) была выявлена сильная (по шкале Чеддока) положительная корреляционная связь $r > 0,71$ (p = 0,05), чем выше уровень экспрессии тканевого фактора, тем более тяжелое течение септического процесса.

Далее был проведен анализ, сопряженности уровня содержания моноцитов (CD14⁺CD142⁺) с исходом заболевания, используя критерий χ^2 . Проведенный анализ установил, что высокий уровень моноцитов (CD14⁺CD142⁺) более 4% сопряжен (p = 0,004) с летальным исходом заболевания.

Тканевой фактор (CD142⁺) представляет собой 263-аминокислотный трансмембранный гликопротеин (46 кДа), член семейства рецепторов цитокинов II класса, в котором различают 3 домена. Основной расположен на поверхности клеточной мембраны, трансмембранный и цитоплазматический. В присутствии ионов Ca⁺⁺, тканевой фактор образует стехиометрический комплекс с фактором VII, вызывая его конформационные изменения и превращая последний в сериновую протеиназу VIIa. Комплекс тканевой фактор-фактор VIIa способен активировать как фактор X, так и фактор IX, что в конечном итоге способствует генерации тромбина [1].

Бактериальные компоненты активируют TLRs (Toll-like receptor), на миелоидных клетках, вызывая высвобождение провоспалительных цито-

кинов TNF α и IL-1, IL-6, компонентов системы комплимента (C5a и др.), которые обладают прокоагулянтной активностью. Кроме того, DAMPs (Damage-associated molecular-pattern) распознаются рецепторами PRRs (Pathogen associated molecular patterns) имеют сходные эффекты, часто усиливая коагуляционные нарушения, повышая экспрессию TF и высвобождения цитокинов моноцитами, нейтрофилами и эндотелиальными клетками [5].

Учитывая потенциальную связь системы коагуляции с патофизиологией сепсиса, в частности роль тканевого фактора как важного инициатора системы свертывания, который экспрессируется, в частности, активированными моноцитами, позволяет рассматривать его в качестве биомаркера для ранней диагностики генерализованного воспаления и прогноза исхода заболевания при сепсисе. Выявленные нами значительные изменения содержания позитивных моноцитов (CD14⁺CD142⁺) и высокий уровень экспрессии тканевого фактора на данных клетках у пациентов с сепсисом, в отличие от здоровых доброволь-

цев, подтверждают патогенетический механизм развития органной дисфункции при сепсисе.

Заключение

Полученные данные о наличии взаимосвязей экспрессии тканевого фактора (CD142⁺) на моноцитах и степени выраженностью полиорганной дисфункции по шкале SOFA (в баллах), сопряженности данных показателей с исходом заболевания, позволяет его использовать в качестве биомаркера для ранней диагностики, стратификации риска и оценки прогноза исхода заболевания при сепсисе.

Представленные данные, конечно, не отражают сложный единый патофизиологический процесс генерализованного воспаления и расстройства гемокоагуляции при сепсисе. Тем не менее они подчеркивают важность дальнейшего изучения не только с целью фундаментальных аспектов патогенеза при данной патологии, но и могут быть уже сегодня рекомендованы к применению в практическом здравоохранении, безусловно с учетом дальнейшего продолжения исследований в данной области.

Список литературы / References

1. Butenas S.T., Mann K.G. Tissue factor activity and function in blood coagulation. *Thromb. Res.*, 2008, Vol. 122, Suppl. 1, pp. S42-S46.
2. Butenas S.T., Mann K.G. Active tissue factor in blood? *Nat. Med.*, 2004, Vol. 10, no. 11, pp. 1155-1156.
3. de Jong H.K., van der Poll T., Wiersinga W.J. The systemic pro-inflammatory response in sepsis. *J. Innate Immun.*, 2010, Vol. 2, no. 5, pp. 422-430.
4. Ekdahl K.N., Teramura Y., Hamad O.A., Asif S., Duehrkop C., Fromell K. Dangerous liaisons: complement, coagulation, and kallikrein/kinin cross-talk act as a linchpin in the events leading to thromboinflammation. *Immunol. Rev.*, 2016, Vol. 274, no. 1, pp. 245-269.
5. Esmon C.T. The impact of the inflammatory response on coagulation. *Thromb. Res.*, 2004, Vol. 114, no. 5-6, pp. 321-327.
6. Gando S., Shiraishi A., Yamakawa K. Role of disseminated intravascular coagulation in severe sepsis. *Thromb. Res.*, 2019, Vol. 178, pp. 182-188.
7. Han P., Hanlon D., Arshad N., Lee J.S. Platelet P-selectin initiates cross-presentation and dendritic cell differentiation in blood monocytes. *Sci. Adv.*, 2020, Vol. 11, no. 6, 1580. doi: 0.1126/sciadv.aaz1580.
8. Levi M. Disseminated intravascular coagulation. *Crit. Med.*, 2007, Vol. 35, pp. 2191-2195.
9. Levi M., van der Poll T. Thrombomodulin in sepsis. *Minerva Anesthesiol.*, 2013, Vol. 79, pp. 294-298.
10. Singer M., Deutschman S., Seymour C.W. The Third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *JAMA*, 2016, Vol. 315, no. 8, pp. 801-810.

Авторы:

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

Маркелова Е.В. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Authors:

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

Markelova E.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Normal and Pathological Physiology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Шуматов В.Б. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой реанимации, анестезиологии, интенсивной терапии и скорой медицинской помощи ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Shumatov V.B., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Resuscitation, Anesthesiology, Intensive Care and Emergency Medicine, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Постнова В.Е. — студентка лечебного факультета ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Postnova V.E., Student, Faculty of General Medicine, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Поступила 28.07.2021
Принята к печати 20.08.2021

Received 28.07.2021
Accepted 20.08.2021

ДИСФУНКЦИЯ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ С ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫМИ КОГНИТИВНЫМИ НАРУШЕНИЯМИ ПОСЛЕ АОРТОКОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ

**Маркелова Е.В.¹, Зенина А.А.^{1,2}, Силаев А.А.², Чагина Е.А.¹,
Федянина Л.Н.²**

¹ ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

² ФГАУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», г. Владивосток, Россия

Резюме. Учитывая значимость послеоперационных когнитивных нарушений, в настоящее время активно ведется поиск биологических маркеров этих неврологических осложнений. Проведен сравнительный анализ NSE, IL-6, TGF- β_1 , MMP9 и TIMP1 в сыворотке крови исследуемых пациентов.

В исследовании участвовали 110 человек после аортокоронарного шунтирования с использованием искусственного кровообращения. Разделение на группы выполнено на основании разницы данных тестирования по Монреальской шкале нейропсихологического обследования до операции и на 7-е сутки после операции. В I группу отнесены пациенты без осложнений с изменениями менее 3 баллов, во II – пациенты с послеоперационными когнитивными осложнениями и отклонением при тестировании более 3 баллов. Также для сравнения использовалась III группа – 35 относительно здоровых человек. Исследование уровня NSE, IL-6, TGF- β_1 , MMP9 и TIMP1 в сыворотке крови проводилось методом твердофазного иммуноферментного анализа (R&D Systems, США). Результаты выражали в пг/мл и нг/мл. Проводилось четыре этапа исследования: до операции, сразу после операции, через 24 часа и на 7-е сутки после операции.

Обнаружен более высокий уровень NSE у пациентов II группы, за исключением на 7-е сутки после операции, где его концентрация выравнивается между группами. Было выявлено более повышенное содержание IL-6 у пациентов II группы во все периоды после операции. Отмечена более низкая концентрация TGF- β_1 во II группе в периоды до операции, через 24 часа и на 7-е сутки после операции. Тогда как в период после операции зарегистрировано его повышение и значение мало отличается от I и III группы. По данным исследования MMP9, значимые различия между I и II группами были выявлены только на 7-е сутки после операции. Однако обращает внимание более низкое содержание этого показателя у пациентов I и II групп до операции по сравнению с III группой. Значения TIMP1 в течении всех периодов исследования плавно повышалось, но существенно не отличались между I и II группами.

Адрес для переписки:

Зенина Александра Александровна
ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
690105, Россия, г. Владивосток, ул. Невельского, 1, кв. 208.
Тел.: 8 (914) 707-26-52.
E-mail: Zenina.aa@dyfu.ru

Address for correspondence:

Zenina Alexandra A.
Pacific State Medical University
690105, Russian Federation, Vladivostok,
Nevelsky str., 1, apt 208.
Phone: 7 (914) 707-26-52.
E-mail: Zenina.aa@dyfu.ru

Образец цитирования:

Е.В. Маркелова, А.А. Зенина, А.А. Силаев, Е.А. Чагина,
Л.Н. Федянина «Дисфункция врожденного иммунитета
у пациентов с послеоперационными когнитивными
нарушениями после аортокоронарного шунтирования»
// Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24,
№ 4. С. 507-512. doi: 10.46235/1028-7221-1043-CID
© Маркелова Е.В. и соавт., 2021

For citation:

E.V. Markelova, A.A. Zenina, A.A. Silaev, E.A. Chagina,
L.N. Fedyanina "Congenital immunity dysfunction in patients
with postoperative cognitive impairment after coronary artery
bypass grafting", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 4, pp. 507-512.
doi: 10.46235/1028-7221-1043-CID
DOI: 10.46235/1028-7221-1043-CID

У пациентов II группы установлено увеличение NSE и IL-6, низкий уровень TGF- β_1 и снижение соотношения MMP9/TIMP1 в раннем послеоперационном периоде, что свидетельствует о вовлеченности дисфункции врожденного иммунитета в патогенез ПОКД.

Ключевые слова: нейровоспаление, NSE, MMP9, TIMP1, АКШ, когнитивная дисфункция

CONGENITAL IMMUNITY DYSFUNCTION IN PATIENTS WITH POSTOPERATIVE COGNITIVE IMPAIRMENT AFTER CORONARY ARTERY BYPASS GRAFTING

Markelova E.V.^a, Zenina A.A.^{a, b}, Silaev A.A.^b, Chagina E.A.^a, Fedyanina L.N.^b

^a Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

^b Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. With regard to post-surgical cognitive disturbances, an active search for biological markers of these neurological complications is performed. We have studied the contents of NSE, IL-6, TGF- β_1 , MMP9 and TIMP1 in blood serum of these patients. The study included 110 patients after aortal-coronary bypass surgery using extracorporeal blood circulation. Splitting into separate groups was based on the test scores, according to Montreal Cognitive Assessment Scale prior to surgery and on day +7 after the intervention: (I) patients without complications (< 3 points); (II) patients with post-surgical cognitive impairment (> 3 points). The comparison group (III) included 35 healthy subjects. Evaluation of NSE, IL-6, TGF- β_1 , MMP9 and TIMP1 in blood serum was performed by means of ELISA technique (R&D Systems, USA). The data were expressed as pg/ml, or ng/ml. Blood sampling was made at 4 terms: before surgery, just after intervention, 24 h later, and on day 7 after the surgery.

The patients from group II showed higher NSE levels, except of 7 days after surgery when it became similar to other groups. Increased IL-6 levels were found in the patients from group II at all terms after surgery. Decreased concentration of TGF- β_1 was found in the II group prior to operation, 24 h and 7 days after the surgery. However, just after surgery, this index was increased, and its values barely differed from results of groups I and III. Studies of MMP9 showed significant differences between groups I and II only on day +7 after. However, lower MMP9 content was detected in the patients from I and II groups before surgery compared to group III. TIMP1 values showed gradual increase over the observation period, but did not differ between groups I and II. In the patients from group II, an increased content of NSE and IL-6 was revealed, along with low TGF- β_1 levels and decreased MMP9/TIMP1 ratio over early postsurgical period, thus suggesting possible role of innate immunity dysfunction in pathogenesis of postsurgical cognitive impairment.

Keywords: neuroinflammation, NSE, MMP9, TIMP1, cognitive dysfunction

Введение

С совершенствованием медицинских методик анестезии и операций клинические жалобы побуждали к изучению когнитивных изменений после хирургического вмешательства [4]. Развитие реабилитационной медицины предъявляет все более высокие требования к точной диагностике и системе безопасного лечения послеоперационной когнитивной дисфункции (ПОКД). Хотя исследования этого осложнения идут полным ходом, лежащий в основе патогенез все еще остается неубедительным из-за противоречивых резуль-

татов и данных. Исследователи выдвинули различные гипотезы, чтобы объяснить механизмы ПОКД, включая нейровоспаление, окислительный стресс, расстройство аутофагии, нарушение синаптической функции, отсутствие нейротрофической поддержки и т.д. [6]. Учитывая значимость послеоперационных когнитивных нарушений в настоящее время активно ведется поиск биологических маркеров этих неврологических осложнений. В нашем исследовании проведен сравнительный анализ нейрон-специфической енолазы (NSE), цитокинов (IL-6, TGF- β_1), систем металлопротеиназ (MMP9 и TIMP1) в сыво-

ротке крови пациентов с ПОКД и без нее после операции.

Материалы и методы

В исследовании участвовали 110 человек, которым было выполнено аортокоронарное шунтирование с использованием искусственного кровообращения. Разделение на группы выполнено на основании разницы данных тестирования по Монреальской шкале нейропсихологического обследования до операции и на 7-е сутки после операции. В I группу отнесены пациенты без осложнений с изменениями менее 3 баллов, во II – пациенты с послеоперационными когнитивными осложнениями и отклонением при тестировании более 3 баллов. Также для сравнения использовалась III группа – это 35 относительно здоровых человек.

Уровень NSE, IL-6, TGF- β_1 , MMP9 и TIMP1 в сыворотке крови определялся методом твердофазного иммуноферментного анализа (R&D Systems, США). Результаты выражали в пг/мл и нг/мл. Проводилось четыре этапа исследования: до операции, сразу после операции, через 24 часа и 7-е сутки после операции. Статистический анализ осуществлен с помощью непараметрических критериев. Результаты представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей. Сравнение средних значений в выборках осуществляли с помощью критерия Уилкоксона–Манна–Уитни. $p < 0,05$ считалось статистически значимым.

Результаты и обсуждение

Значения NSE до операции во II группе 5,41 (4,3-6,05) нг/мл было выше, чем в I 4,19 (2,67-5,15) нг/мл ($p_{I \text{ и } II} = 0,046$) и III группах 4,0 (2,3-4,6) нг/мл ($p_{II \text{ и } III} = 0,045$). В дальнейшем после АКШ его концентрация существенно возрастала в исследуемых группах ($p < 0,05$). Однако во II группе она была выше 6,25 (5,76-6,84) нг/мл, чем в I группе 5,61 (4,64-6,16) нг/мл ($p_{I \text{ и } II} = 0,047$). Через 24 часа после операции концентрация этого нейрпептида снижалась в обеих основных группах ($p < 0,05$), но его уровень был значимо выше во II группе 5,25 (4,28-5,97) нг/мл, чем в I группе 4,01 (3,44-4,7) нг/мл ($p_{I \text{ и } II} = 0,044$). На 7-е сутки после операции содержание NSE продолжало снижаться. При этом в I группе его концентрация 4,55 (3,65-5,28) нг/мл была примерно сопоставима с II группой – 4,52 (2,95-6,28) нг/мл, $p_{I \text{ и } II} = 0,054$.

Данные мониторинга содержания цитокинов, MMP9 и TIMP1 в сыворотке крови представлены в таблице 1.

Уровень интерлейкина 6 до операции значимо не отличался между I и II группой, а также группой контроля (1,22 (1,13-1,51) пг/мл). В пе-

риод после операции отмечался выраженный рост этого цитокина в обеих группах ($p < 0,01$), но его содержание было значимо выше во II, чем в I ($p_{I \text{ и } II} = 0,037$). Через 24 часа после операции определено снижение этого показателя в обеих группах ($p < 0,01$), но его уровень оставался выше во второй группе ($p_{I \text{ и } II} = 0,048$). На 7-е сутки после операции продолжалось снижение уровня IL-6 в 2 группах $p_1 = 0,042$, $p_2 = 0,04$, $p_{I \text{ и } II} = 0,048$. Однако значения IL-6 оставались все же выше группы контроля.

Концентрация TGF- β_1 в I и III группах (28,7 (21,3-37,16) нг/мл) существенно не отличалась. Однако при сравнении со II группа разница оказалась очевидна $p_{I \text{ и } II} = 0,041$ и $p_{II \text{ и } III} = 0,048$. В период после операции TGF- β_1 не существенно снижался в I группе, однако во II группе его уровень увеличивался ($p_{II} = 0,049$) и достиг дооперационных значений в I группе. Через 24 часа после операции установлено снижение содержания этого цитокина в обеих группах, но достоверное снижение зарегистрировано только во II группе $p_{II} = 0,049$. На 7-е сутки после операции выявлено выраженное повышение в I ($p_1 = 0,046$) и II ($p_{II} = 0,048$) группах с достоверным различием между ними $p_{I \text{ и } II} = 0,048$.

По данным исследования металлопротеиназы 9 значимые различия между I и II группами были выявлены только на 7-е сутки после операции $p_{I \text{ и } II} = 0,048$. Однако обращает внимание более низкое содержание этого показателя у пациентов этих групп до операции по сравнению с группой контроля 251,1 (216,56-325,75) нг/мл ($p_{I \text{ и } III} = 0,041$ и $p_{I \text{ и } II} = 0,042$). В период после операции отмечено повышение в обеих группах ($p_1 = 0,040$ и $p_{II} = 0,039$), что сравнило их значения с группой контроля. В остальные периоды наблюдения значимое повышение MMP9 наблюдалось только в сравнении с периодом до операции.

Значения TIMP1 в течении всех периодов исследования существенно не отличались между I и II группами. Однако его уровень до операции был значимо выше группы контроля 216,67 (202,45-224,6) нг/мл, $p_{I \text{ и } III} = 0,049$ и $p_{II \text{ и } III} = 0,047$. В дальнейшем происходит плавное повышение TIMP1, которое достигло достоверных различий с дооперационным уровнем через 24 часа после операции $p_1 = 0,049$ и $p_{II} = 0,048$ и на 7-е сутки после операции $p_1 = 0,045$ и $p_{II} = 0,043$.

Также нами выполнен расчет коэффициента MMP9/TIMP1. Данные представлены в таблице 2.

После АКШ развиваются нейровоспаление и нейрогуморальные изменения, которые приводят к выраженной активации глии и повреждению гематоэнцефалического барьера. Это способствует появлению в крови нейроспецифических

ТАБЛИЦА 1. ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ЦИТОКИНОВ, MMP9 И TIMP1

TABLE 1. DYNAMICS OF THE CONTENT OF CYTOKINES, MMP9 AND TIMP1

Показатели, единицы измерения Indicators, units	Группа Group	До операции Before surgery	После операции After operation	24 часа после операции 24 hours after surgery	7-е сутки после операции 7 th day after surgery
IL-6, пг/мл IL-6, pg/ml	I	1,2 (1,08-1,56)	40,77 (20,98-78,52)*	5,84 (2,76-11,15)**	2,3 (1,36-4,56)***
		$p_{I,II} > 0,05$	$p_{I,II} = 0,037$	$p_{I,II} = 0,048$	$p_{I,II} = 0,049$
	II	1,34 (1,09-1,58)	58,47 (30,07-106,64)*	8,1 (6,17-15,72)**	3,75 (2,37-9,23)***
TGF- β_1 , нг/мл TGF- β_1 , ng/ml	I	32,54 (26,38-37,37)	31,09 (18,14-37,65)	28,74 (11,91-37,26)	38,48 (24,87-48,09)***
		$p_{I,II} = 0,041$	$p_{I,II} > 0,05$	$p_{I,II} > 0,05$	$p_{I,II} = 0,048$
	II	21,25 (15,55-28,14)	29,03 (22,17-37,17)*	24,17 (13,5-33,8)**	33,71 (20,85-43,55)***
MMP9, нг/мл MMP9, ng/ml	I	147,88 (61,48-245,22)	248,08 (188,03-302,52)*	267,17 (187,99-338,40)	305,3 (210,06-372,61)
		$p_{I,II} > 0,05$	$p_{I,II} > 0,05$	$p_{I,II} > 0,05$	$p_{I,II} = 0,049$
	II	137,52 (78,52-223,05)	239,7 (203,53-305,43)*	247,83 (177,43-322,52)	279,4 (193,28-334,19)
TIMP1, нг/мл TIMP1, ng/ml	I	240,21 (210,18-270,35)	256,29 (219,56-279,39)	278,35 (254,69-304,81)	295,33 (272,15-333,53)***
		$p_{I,II} > 0,05$	$p_{I,II} > 0,05$	$p_{I,II} > 0,05$	$p_{I,II} > 0,05$
	II	253,83 (220,15-262,19)	254,65 (231,02-290,24)	283,22 (258,85-325,15)	296,19 (280,28-334,19)

Примечание. Статистическая достоверность различий $p < 0,05$ в динамике в группах: * – до операции и после операции, ** – после операции и через 24 часа после операции, *** – через 24 часа после операции и на 7-е сутки после операции.

Note. The statistical significance of the differences $p < 0.05$ in the dynamics in the groups: *, before and after surgery; **, after surgery and 24 hours after surgery; ***, 24 hours after surgery and on the 7th day after surgery.

ТАБЛИЦА 2. РАСЧЕТ КОЭФФИЦИЕНТА MMP9/TIMP1

TABLE 2. CALCULATION OF THE COEFFICIENT MMP9/TIMP1

MMP9/TIMP1	I группа Group I	II группа Group II	III группа Group III
До операции Before surgery	0,65 (0,29-1,02)	0,58 (0,36-0,80)	1,25 (0,99-1,46)
После операции After operation	0,93 (0,78-1,45)	0,93 (0,81-1,31)	
Через 24 часа после операции 24 hours after surgery	0,89 (0,63-1,12)	0,91 (0,60-1,03)	
7-е сутки после операции 7 th day after surgery	0,96 (0,72-1,18)	0,84 (0,66-0,97)	

белков, в частности NSE [9]. Этим обусловлено значительное повышение в сыворотке крови этого белка у пациентов с ПОКД после АКШ.

IL-6 играет решающую роль в патогенезе воспалительных заболеваний и в физиологическом гомеостазе нервной ткани. Глубокие нейрпатологические изменения, такие как рассеянный склероз, болезнь Паркинсона и болезнь Альцгеймера, связаны с повышенной экспрессией IL-6 [8]. В нашем исследовании у пациентов с послеоперационными когнитивными нарушениями так же зарегистрировано выраженное повышение этого интерлейкина в периоды после операции, что связано с выраженным избыточным провоспалительным ответом.

Согласно современным литературным данным, известно, что TGF- β оказывает нейропротекторную и нейротрофическую функцию в мозге, активно участвуя в противовоспалительном пути нейровоспаления [1]. В нашей работе установлены более низкие значения TGF- β_1 до операции и на 7-е сутки после операции у обследуемых II группы, что свидетельствует о снижении противовоспалительной реакции у этой категории пациентов и способности мозга к восстановлению.

Показано, что при повреждении головного мозга происходит активация MMP9, что приводит к нарушению функции гематоэнцефалического барьера [7]. Так, некоторые исследования, например при черепно-мозговой травме, указывают на увеличение этого показателя через 72 часа и выявляют корреляцию повышенного уровня MMP9 с летальностью [2]. Однако исследователи все же затрудняются определиться в ее роли в нейровоспалении как нейропротектора или повреждающего агента [5]. Аналогичные противоречивые сведения выявлены в публикациях и

по поводу TIMP1 [3]. В нашем исследовании до операции определено более низкое содержание MMP9 и повышение TIMP1 в сыворотке крови по сравнению с группой контроля. Это, возможно, связано с наличием у пациентов, планируемых на АКШ, сопутствующих церебро-васкулярных нарушений, или же вовлеченностью их в патогенез ишемической болезни сердца. Однако в дальнейшем происходит увеличение MMP9, но к 7-м суткам отмечен дефицит этого показателя у пациентов с когнитивными нарушениями. Одновременно происходит увеличение TIMP1, но его значение существенно не отличается между группами. Однако следует отметить, о нарушении соотношения MMP9 и TIMP1, которое ниже у пациентов II группы. Складывается впечатление, что недостаток MMP9 или нарушение соотношения между MMP9 и TIMP1 способствуют развитию ПОКД. Это, вероятно, связано с недостатком провоспалительной реакции или, напротив, с избытком противовоспалительной реакции у пациентов с ПОКД. Сложно точно определить, какой из этих двух показателей играет провоспалительную, а какой противовоспалительную роль. На наш взгляд, вполне возможно, что MMP9 проявляет нейропротективные свойства, а TIMP1 выступает в роли повреждающего фактора. Однако все это требует дальнейших исследований.

Заключение

У пациентов с ПОКД установлено увеличение нейрпептида NSE и IL-6, низкий уровень TGF- β_1 и снижение соотношения MMP9/TIMP1 в раннем послеоперационном периоде, что свидетельствует о вовлеченности в дисфункцию врожденного иммунитета в патогенез ПОКД.

Список литературы / References

1. Левин С.Г., Годухин О.В. Модулирующее действие цитокинов на механизмы синаптической пластичности в мозге // Биохимия, 2017. Т. 82, № 3. С. 397-409. [Levin S.G., Godukhin O.V. The modulating effect of cytokines on the mechanisms of synaptic plasticity in the brain. *Biokhimiya = Biochemistry*, 2017, Vol. 82, no. 3, pp. 397-409. (In Russ.)]
2. Bogoslovsky T., Gill J., Jeromin A., Davis C., Diaz-Arrastia R. Fluid biomarkers of traumatic brain injury and intended context of use. *Diagnostics (Basel)*, 2016, Vol. 6, no. 4, 37. doi: 10.3390/diagnostics6040037.
3. Casault C., Al Sultan A.S., Banoei M., Couillard P., Kramer A., Winston B.W. Cytokine responses in severe traumatic brain injury: where there is smoke, is there fire? *Neurocrit. Care*, 2019, Vol. 30, no. 1, pp. 22-32.
4. Evered L., Silbert B., Knopman D.S., Scott D.A., DeKosky S.T., Rasmussen L.S., Oh E.S., Crosby G., Berger M., Eckenhoff R.G. The Nomenclature Consensus Working Group Recommendations for the nomenclature of cognitive change associated with anaesthesia and surgery. *Br. J. Anaesth.*, 2018, Vol. 121, no. 5, pp. 1005-1012.
5. Jassam Y.N., Izzy S., Whalen M., McGavern D.B., El Khoury J. Neuroimmunology of traumatic brain injury: time for a paradigm shift. *Neuron*, 2017. Vol. 95, no. 6, pp. 1246-1265.

6. Lin X., Chen Y., Zhang P., Chen G., Zhou Y., Yu X. The potential mechanism of postoperative cognitive dysfunction in older people. *Exp. Gerontol.*, 2020, Vol. 130, 110791. doi: 10.1016/j.exger.2019.110791.
7. Rempe R.G., Hartz A.M., Bauer B. Matrix metalloproteinases in the brain and blood–brain barrier: versatile breakers and makers. *J. Cereb. Blood Flow Metabol.*, 2016, Vol. 36, no. 9, pp. 1481-1507.
8. Rothaug M., Becker-Pauly C., Rose-John S. The role of interleukin-6 signaling in nervous tissue. *Biochim. Biophys. Acta*, 2016, Vol. 1863, no. 6, Pt A, pp. 1218-1227.
9. Silva F.P., Schmidt A.P., Valentin L.S., Pinto K.O., Zeferino S.P., Osés J.P. S100B protein and neuron-specific enolase as predictors of cognitive dysfunction after coronary artery bypass graft surgery. *Eur. J. Anaesthesiol.*, 2016, Vol. 33, pp. 681-689.

Авторы:

Маркелова Е.В. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Зенина А.А. — аспирант кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; врач анестезиолог-реаниматолог ФГАУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», г. Владивосток, Россия

Силаев А.А. — к.м.н., заведующий отделением анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии ФГАУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», г. Владивосток, Россия

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

Федянина Л.Н. — д.м.н., профессор, профессор департамента фундаментальной медицины Школы биомедицины ФГАУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», г. Владивосток, Россия

Authors:

Markelova E.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Normal and Pathological Physiology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Zenina A.A., Postgraduate Student, Department of Normal and Pathological Physiology, Pacific State Medical University; Anesthesiologist-Resuscitator, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

Silaev A.A., PhD (Medicine), Head, ICU Department, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

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

Fedyanina L.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Fundamental Medicine, School of Biomedicine, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

Поступила 08.07.2021
Принята к печати 20.08.2021

Received 08.07.2021
Accepted 20.08.2021

АЛЛЕРГОПАТОЛОГИЯ У ДЕТЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ В РАЗНЫХ КЛИМАТОЭКОЛОГИЧЕСКИХ РАЙОНАХ КАЛИНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

**Мархайчук А.З., Горбунова А.Ю., Сидорова Д.А., Разина А.С.,
Гончарова Е.А.**

ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Резюме. Иммунная система, отвечающая за генетическое постоянство внутренней среды организма в силу своей исключительной чувствительности может выступать в роли показателя воздействия на организм различных экологических (как биотических, так и абиотических) факторов, т.е. служить индикаторной системой в зонах экологического благополучия и неблагополучия. В серии работ по изучению влияния на иммунную реактивность климатических и экологических факторов показано, что иммунная система также высокочувствительна к воздействию природных факторов, как к воздействию производственных факторов химической и физической природы. По-видимому, это связано с формированием иммунологической реактивности на популяционном уровне, адекватном конкретным средовым условиям, однако закономерности распределения вариантов иммунограмм по географическим зонам пока остаются неясными. В статье анализируется распространенность и структура аллергопатологии у детей в возрасте 1-3 года – «раннее детство» и 4-7 лет – «первое детство», родившихся и проживающих в разных климатоэкологических районах Калининградской области (приморская и континентальная зоны, а также условно «чистые» и «грязные» города, распределенные по уровню антропогенной нагрузки и напряженности экологической ситуации). Контрольными точками стали города: Светлогорск, Светлый, Калининград, Советск, Гусев и Неман. Контингент обследованных составил 3321 ребенок. В ходе работы анализировались: «История развития ребенка» (Учетная форма № 112/у), «Медицинская карта пациента, получающего медицинскую помощь в амбулаторных условиях» (Учетная форма № 025/у) и «Карта диагностики иммунологической недостаточности у детей», разработанная в ФБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБФ России (включала в себя в паспортные данные ребенка, сезонность повышенной заболеваемости, прививочный анамнез, перенесенные острые инфекции). Все заболевания и реакции, входящие в аллергический синдром, были разбиты на три группы: аллергические заболевания кожи, аллергические заболевания дыхательной системы, аллергические реакции на антигены различной природы. Выявленные различия демонстрируют высокую чувствительность иммунной системы к влиянию климатоэкологических факторов, действующих не на экстремальном, а на подпороговом уровне. Мы полагаем, что иммунная система ребенка реагирует даже на незначительные факторы среды обитания, которые,

Адрес для переписки:

*Горбунова Аlesia Юрьевна
ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет
имени Иммануила Канта»
54000, Украина, г. Николаев, ул. Серебрыча, 23.
Тел.: +380 994 38-03-23.
E-mail: alesja.gorbynova@gmail.com*

Address for correspondence:

*Gorbnova Alesia Yu.
Immanuel Kant Baltic Federal University
54000, Ukraine, Nikolaev, Serebrych str., 23.
Phone: +380 994 38-03-23.
E-mail: alesja.gorbynova@gmail.com*

Образец цитирования:

*А.З. Мархайчук, А.Ю. Горбунова, Д.А. Сидорова,
А.С. Разина, Е.А. Гончарова «Аллергопатология у
детей, проживающих в разных климатоэкологических
районах Калининградской области» // Российский
иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 4. С. 513-518.
doi: 10.46235/1028-7221-1047-ADI
© Мархайчук А.З. и соавт., 2021*

For citation:

*A.Z. Markhaichuk, A.Yu. Gorbunova, D.A. Sidorova,
A.S. Razina, E.A. Goncharova "Allergic disorders in
children living in different climatic and oecological areas of
the Kaliningrad region", Russian Journal of Immunology/
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 4,
pp. 513-518. doi: 10.46235/1028-7221-1047-ADI
DOI: 10.46235/1028-7221-1047-ADI*

действуя комплексно, приводят к изменениям в ее работе. Что, в свою очередь, отражается на уровне иммунобиологической реактивности и, соответственно, на уровне и структуре аллергопатологии.

Ключевые слова: дети, экология, аллергопатология, иммунный статус, иммунобиологическая реактивность, иммунограмма

ALLERGIC DISORDERS IN CHILDREN LIVING IN DIFFERENT CLIMATIC AND OECOLOGICAL AREAS OF THE KALININGRAD REGION

Markhaichuk A.Z., Gorbunova A.Yu., Sidorova D.A., Razina A.S.,
Goncharova E.A.

Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Abstract. The immune system responsible for genetic stability of internal environment, with its exceptional sensitivity, may provide biological indexes which reflect impact of various environmental (biotic and abiotic) factors, i.e., serve as an indicator system in the areas of environmental well-being and distress. A series of studies on the influence of climatic and environmental factors on immune reactivity states demonstrated that the immune system is also sensitive to both natural and industrial factors (chemical and physical). Apparently, this is due to formation of a population-based immunological reactivity adapted for specific environmental conditions. However, the distribution patterns of immunogram variability by geographical zones are still unclear. The article analyzes prevalence and structure of allergic disorders in children of 1-3 and 4-7 y.o. (early and first childhood) living in different climatic and ecological areas of Kaliningrad region (coastal and continental zones, “clean” and “dirty” cities, different for anthropogenic burden and environmental situation). The following cities were involved into the study: Svetlogorsk, Svetly, Kaliningrad, Sovetsk, Gusev and Neman. There were 3,321 children examined. Clinical and demographic data were taken from the following sources: “History of the child’s development” (Form No. 112/y), “Outpatient medical record card” (Form No. 025/y) and “Diagnostic card of immunological deficiency in children”, developed at the Institute of Immunology (Federal Medical & Biological Agency of Russia) which contained the patient’s data, seasonality of increased morbidity, vaccination history, acute infections). Disorders and reactions attributable to allergic syndrome were divided into three groups: skin diseases, respiratory system diseases, adverse response to various antigens. The revealed differences demonstrate high sensitivity of immune system to climatic and environmental factors acting at the sub-threshold level. We believe that the child’s immune system responds even to minor environmental factors, which, acting in combined manner, cause its functional shifts. In turn, these changes manifest at the level of immunobiological reactivity and, accordingly, influence clinical course and symptoms of the allergic disorders.

Keywords: children, ecology, allergopathology, immune status, immunobiological reactivity, immunogram

Введение

В наше время высокую распространенность приобрели патологии, в основе этиопатогенеза которых лежит повышенная чувствительность к антигенам экзогенной природы. По данным Института иммунологии ФМБА России, аллергическими заболеваниями в разных регионах нашей страны страдают от 17,5 до 30% населения [5]. Среди причин, обуславливающих высокий уровень аллергопатологий, выделяют: наследственно-генетические, природно-климатические и экологические

факторы [10]. В серии работ по изучению влияния на иммунную реактивность климатических и экологических факторов показано, что иммунная система также высокочувствительна к воздействию природных факторов, как к воздействию производственных факторов химической и физической природы. По-видимому, это связано с формированием иммунологической реактивности на популяционном уровне, адекватном конкретным средовым условиям, однако закономерности распределения вариантов иммунограмм по

географическим зонам пока остаются неясными [2, 4, 6, 9].

Проведенные ранее в Калининградской области исследования состояния иммунного статуса населения показали, что у части обследованных присутствует дисфункция ферментных систем моноцитарно-макрофагальных клеток, которые служат маркерами предрасположенности к возникновению разнообразных синдромов иммунологической недостаточности. Для жителей региона характерен супрессивный тип иммунного статуса, проявляющийся относительно сниженным содержанием CD3⁺, CD4, CD8⁺ в периферической крови. Полученные данные позволили сформулировать положение о регионарном синдроме иммунологической гипорезистентности, который возможно детерминирован экологическими факторами [7]. Однако само по себе наличие сниженных лабораторных показателей, или их дисбаланс далеко не всегда сопровождается клиническими признаками иммунодефицита. Считается, что это связано с вариабельностью иммунологических показателей, обусловленных высокой лабильностью самой системы иммунитета и наличием субпопуляций лимфоидных клеток и цитокинов с дублирующими функциями [8]. Поэтому нам представляется актуальным изучение распространенности и структуры иммунологической недостаточности, проявляющейся аллергопатологией у детей Калининградской области, поскольку с одной стороны — это позволит выяснить соответствие между лабораторными показателями и клиническими проявлениями аллергического синдрома на популяционном уровне, а с другой — установить связь между климатоэкологическими факторами и иммунобиологической реактивностью организма.

Цель работы — изучить влияние климатоэкологических факторов на распространенность и структуру аллергопатологии у детей Калининградской области.

Материалы и методы

Районирование Калининградской области

Климат Калининградской области является переходным от морского к умеренно континентальному. Для него характерна мягкая зима, умеренно теплое лето и дождливая осень. В целом, оценивая пространственное распределение метеорологических факторов на территории области можно выделить две зоны: приморскую — с районами, прилегающими к Балтийскому морю и заливам и континентальную, охватывающую территории Неманского, Черняховского, Краснознаменского, Гусевского, Озерского и Несте-

ровского районов. С одной стороны, разница по отдельным характеристикам может быть невеликой, но учитывая комплексное влияние на организм факторов внешней среды, по интегральной характеристике, климат этих зон существенно различается [3].

Поэтому для обследования были выделены две условные зоны: приморская с двумя контрольными точками: г. Светлогорск и г. Светлый, и континентальная, где контрольными точками явились города Калининград, Советск, Гусев, Неман. Кроме того, по уровню антропогенной нагрузки и напряженности экологической ситуации в исследовании, были выделены зоны, условно «чистые» (г. Светлогорск и г. Гусев) и «грязные» (г. Калининград, г. Советск, г. Светлый, г. Неман) [1].

Контингент обследованных лиц

Исследование проводилось в детских поликлиниках Калининградской области в день здорового ребенка. Контингент обследованных составил 3321 ребенок в возрасте от 1 до 7 лет, родившихся и постоянно проживающих в различных районах Калининградской области. Изучались две возрастные группы: первая группа — это дети в возрасте от 1 до 3 лет, что соответствует периоду «раннее детство». Вторая возрастная группа — дети от 4 до 7 лет, соответствующее периоду «первое детство» (дошкольный возраст). Количество детей в возрасте 1-3 лет составило 1703, а в возрасте 4-7 лет — 1618. Все обследованные дети состоят на учете в детских поликлиниках городов области. Практически все дети из обследованных групп были привиты в срок.

В нашей работе анализировались: «История развития ребенка» (Учетная форма № 112/у), «Медицинская карта пациента, получающего медицинскую помощь в амбулаторных условиях» (Учетная форма № 025/у) и «Карта диагностики иммунологической недостаточности у детей», разработанная в ФБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБФ России. (<https://nrcii.ru/>) «Карта диагностики иммунологической недостаточности у детей» включала в себя в себя паспортные данные ребенка, сезонность повышенной заболеваемости, прививочный анамнез, перенесенные острые инфекции.

Основу диагностической карты составляют клинические признаки иммунологической недостаточности, которые расположены по синдромно (инфекционный, аллергический, аутоиммунный) в наиболее типичном сочетании клинических проявлений иммунной недостаточности у детей. Все заболевания и реакции, входящие в аллергический синдром, были разбиты

на три группы. В первую группу, обозначенную как аллергические заболевания кожи, вошли: атопические дерматиты, экссудативный диатез, нейродермиты. Ко второй группе отнесены аллергические заболевания дыхательной системы, а именно: бронхиальная астма, реакции гиперчувствительности дыхательных путей. В третью группу вошли аллергические реакции на антигены различной природы: на пищевые продукты, лекарственные препараты, химические вещества, домашнюю пыль и другие. Под распространенностью мы понимали встречаемость нозологической единицы (в процентах) по отношению к общему количеству обследуемых. Под структурой – удельный вес нозологической единицы (клинического признака) в рассмотренной группе патологии. Проведен выборочный анализ иммунограмм первого уровня 18 здоровых детей в возрасте 5-7 лет, родившихся и проживающих в Калининградской области. Статистическую обработку проводили с использованием пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics 21.

Результаты и обсуждение

Показатели иммунного статуса у здоровых детей Калининградской области не выходили за пределы референсных значений для данной возрастной группы. Сравнительный анализ распространенности аллергического синдрома у детей, проживающих в приморской и континентальной зонах Калининградской области, показал одинаковые результаты в младшей возрастной группе: 40,14% (приморская зона) и 40,43% (континентальная зона). Однако в старшей возрастной группе установлены достоверные ($p < 0,05$) различия по встречаемости клинических проявлений аллергопатологии у детей в разных климатических районах. В приморской зоне этот показатель составил 31,03%, а в континентальной 50,93%. Изучение распространенности аллергического синдрома у детей, проживающих в условно «чистых» и «грязных» зонах области, достоверных различий не выявило. Уровень этого показателя колебался в пределах 37,88-43,63%. При сравнительном изучении структуры аллергопатологии у детей, проживающих в приморской или континентальной зоне Калининградской области, было установлено следующее: ведущее место в приморской зоне в обеих возрастных группах принадлежит аллергическим заболеваниям кожи, второе место занимают аллергические реакции на различные антигены и на третьем месте – аллергические заболевания дыхательной системы. В континентальной зоне, в отличие от приморской, ведущее место в аллергопатологии

занимают аллергические реакции на различные антигены, затем следуют аллергические заболевания кожи и заболевания дыхательной системы. Причем соотношение удельного веса различных аллергопатологий у детей континентальной зоны Калининградской области существенно отличалось от показателей, полученных у детей, проживающих у моря. При этом можно отметить, что, с увеличением возраста, наблюдается значительное (от 5,78 до 11,16% ($p < 0,05$)) увеличение доли аллергических заболеваний дыхательной системы. Важно отметить, что с увеличением возраста у детей из обеих зон, почти в два раза увеличивается встречаемость аллергических болезней, ассоциированных с дыхательной системой. Нами были продолжены исследования в направлении изучения структуры аллергического синдрома у детей Калининградской области, проживающих в зонах с высокой и низкой антропогенной нагрузкой. Можно отметить, что у детей в возрасте 1-3 лет, в условно «чистых» и «грязных» районах, структура аллергопатологии была практически идентична. Однако в старшей возрастной группе отличия были существенными. У детей, проживающих в г. Светлогорск и г. Гусев, ведущее место занимали аллергические заболевания кожи, в то время как у детей из городов Калининград, Светлый, Советск и Неман первое рейтинговое место занимали аллергические реакции к различным антигенам. Второе место в экологически благополучных городах занимают аллергические реакции на антигены различной природы. В то же время, в экологически неблагополучных городах у детей старшей возрастной группы второе место принадлежит аллергическим заболеваниям кожи. В обеих возрастных группах на третьем месте находятся аллергические заболевания дыхательной системы. Необходимо подчеркнуть, что результаты, полученные в старшей возрастной группе, достоверно ($p < 0,05$) отличались друг от друга.

Выявленные нами различия в распространенности и структуре аллергопатологии детей, проживающих в разных климатоэкологических районах Калининградской области, по-видимому, связаны с одной стороны с климатической характеристикой районов проживания, с другой с экологическим благополучием. Мы полагаем, что иммунная система ребенка реагирует даже на незначительные факторы среды обитания, которые, действуя комплексно, приводят к изменениям в ее работе. Что, в свою очередь, отражается на уровне иммунобиологической реактивности и, соответственно, на уровне и структуре аллергопатологии.

Список литературы / References

1. Государственный доклад «Об экологической обстановке в Калининградской области за 2019 год». Министерство природных ресурсов и экологии Калининградской области, 2020. 199 с. [State report "On the environmental situation in the Kaliningrad region for 2019". Ministry of Natural Resources and Ecology of the Kaliningrad Region, 2020. 199 p.]
2. Григорьев А.И. Экология человека: учебник для вузов. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 240 с. [Grigoryev A.I. Human ecology: a textbook for universities]. Moscow: GEOTAR-Media, 2016. 240 p.
3. Двоеглазова Н.В. Современное состояние климатической системы Калининградской области на фоне глобального потепления 2019 // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. Серия: Естественные и медицинские науки, 2019. № 1. С. 35-45. [Dvoeglazova N. In the current state of the climate system of the Kaliningrad region against the background of global warming 2019. *Vestnik Baltiyskogo federalnogo universiteta im. I. Kanta. Seriya: Estestvennye i meditsinskie nauki* = *Bulletin of the Immanuel Kant Baltic Federal University. Series: Natural and Medical Sciences*, 2019, no. 1, pp. 35-45. (In Russ.)]
4. Корженевский А.А. Интерпретация иммунограммы при воспалительных процессах: учеб. пособие. Уфа: ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, 2017. 115 с. [Korzhenevskiy A.A. Interpretation of the immunogram in inflammatory processes: textbook]. Ufa: Bashkir State Medical University, 2017. 115 p.
5. Российская ассоциация аллергологов и клинических иммунологов (РААКИ). Федеральные клинические рекомендации по диагностике аллергических заболеваний. 2015 [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://nrcii.ru/docs/Klinicheskie_rekomendacii_po_diagnostike_AZ.pdf. [Russian Association of Allergologists and Clinical Immunologists (RAACI). Federal clinical guidelines for the diagnosis of allergic diseases. 2015 [Electronic resource]. Access mode: https://nrcii.ru/docs/Klinicheskie_rekomendacii_po_diagnostike_AZ.pdf.
6. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Экологическая иммунология. М.: Изд-во ВНИРО, 1995. 219 с. [Khaitov R.M., Pinegin B.V., Istamov H.I. Ecological immunology]. Moscow: All-Russian Research Institute of Fisheries and Oceanography, 1995. 219 p.
7. Царевский Л.П., Гончаров А.Г., Алалыкина Н.Н., Кротова М.Л. Медико-экологическое и иммуногенетическое изучение нарушений иммунорезистентности // Вестник Калининградского государственного университета. Вып. 1. Серия: Экология региона Балтийского моря. Калининград: КГУ, 2003. С.121-126. [Tsarevskiy L.P., Goncharov A.G., Alalykina N.N., Krotova M.L. Medico-ecological and immunogenetic study of immunoresistance disorders. *Vestnik Kaliningradskogo gosudarstvennogo universiteta. Vyp.1 Seriya: Ekologiya regiona Baltiyskogo morya* = *Bulletin of the Kaliningrad State University. Issue 1 of Series: Ecology of the Baltic Sea region. Kaliningrad: Kaliningrad State University, 2003, pp. 121-126.* (In Russ.)]
8. Ярец Ю.И. Интерпретация результатов иммунограммы. Гомель: ГУ «РНПЦ РМиЭЧ», 2020. 38 с. [Yarets Yu.I. Interpretation of the results of the immunogram]. Gomel: Republican Scientific and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology, 2020. 38 p.
9. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 752 с. [Yarilin A.A. Immunology]. Moscow: GEOTAR-Media, 2010. 752 p.
10. Chatkin J., Correa L., Santos U. External Environmental Pollution as a Risk Factor for Asthma. *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, 2021, pp. 1-18.

Авторы:

Мархайчук А.З. – аспирант медицинского института ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Горбунова А.Ю. – клинический ординатор медицинского института ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Сидорова Д.А. – клинический ординатор медицинского института ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Authors:

Markhaichuk A.Z., Postgraduate Student, Institute of Medicine, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Gorbunova A.Yu., Clinical Resident, Institute of Medicine, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Sidorova D.A., Clinical Resident, Institute of Medicine, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Разина А.С. — клинический ординатор медицинского института ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Гончарова Е.А. — студентка медицинского института ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Razina A.S., Clinical Resident, Institute of Medicine, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Goncharova E.A., Student, Institute of Medicine, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Поступила 14.07.2021
Принята к печати 20.08.2021

Received 14.07.2021
Accepted 20.08.2021

ИЗМЕНЕНИЕ ЛОКАЛЬНОГО УРОВНЯ ИНТЕРФЕРОНОВ 3-ГО ТИПА У ЖЕНЩИН С ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ INOSINE PRANOBEX

Невежкина Т.А.¹, Костюшко А.В.¹, Красников В.Е.¹,
Матюшкина Л.С.¹, Бовдуй М.А.²

¹ ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

² КГБУЗ «Надеждинская центральная районная больница», г. Владивосток, Россия

Резюме. Папилломавирусная инфекция остается одной из главных причин развития патологических состояний репродуктивного тракта женщин. Одним из первых механизмов защиты от данной инфекции является врожденный иммунитет, одним из элементов которого является система интерферонов. Учитывая способность вируса к иммунной эвазии и отсутствие единых клинических рекомендаций и протоколов по ведению и лечению женщин с папилломавирусной инфекцией, изучение возможности применения иммуномодулирующих препаратов является актуальным вопросом, как для фундаментальной, так и клинической медицины. В настоящее время существует множество противовирусных и иммуномодулирующих препаратов, применяющихся при лечении вирус-ассоциированных заболеваний урогенитального тракта с дисбалансом Th1/Th2-типа, однако наиболее эффективным и безопасным при ПВИ являются препараты с действующим веществом Inosine pranobex. Цель исследования – определение интерферонов 3-го типа у женщин в цервикальной слизи до и после терапии Inosine pranobex.

Проведено обследование 42 пациенток с папилломавирусной инфекцией, получавших терапию препаратами с действующим веществом Inosine pranobex. Средний возраст женщин составил 31±4,1 лет. Определение уровней IL-29 (IFNλ1) и IL-28 (IFNλ3) в цервикальной слизи проводили с помощью специфических реактивов фирмы R&D Diagnostics Inc. (США).

Уровень IL-29 (IFNλ1) был увеличен во всех группах в сравнении с группой контроля. В группе после лечения показатели были достоверно выше, в сравнении с группой до применения терапии. IL-28 (IFNλ3) имел противоположные IL29 (IFNλ1) результаты. Так, в группах до и после терапии, показатели были снижены в сравнении с референсными величинами. В группе после терапии показатель повышался в сравнении с группой до лечения, демонстрируя динамику к восстановлению до референсных значений. Особенность динамики исследуемых показателей может быть связана как с ранним периодом оценки, ввиду большей длительности иммунологических изменений, ведущих к индукции экспрессии генов промоторов, так и недостаточной стимуляцией данных генов. Применение Inosine pranobex статистически значимо повлияло на повышение уровня IL-29 (IFNλ1) уже через

Адрес для переписки:

Невежкина Татьяна Андреевна
ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
690033, Россия, г. Владивосток, пр. 100 лет
Владивостоку, 62, кв. 20.
Тел.: 8 (914) 672-89-45.
E-mail: www.tanya.ru9292@mail.ru

Address for correspondence:

Nevezhkina Tatyana A.
Pacific State Medical University
690033, Russian Federation, Vladivostok, 100 let Vladivostoku
ave., 62, apt. 20.
Phone: 7 (914) 672-89-45.
E-mail: www.tanya.ru9292@mail.ru

Образец цитирования:

Т.А. Невежкина, А.В. Костюшко, В.Е. Красников, Л.С. Матюшкина, М.А. Бовдуй «Изменение локального уровня интерферонов 3-го типа у женщин с папилломавирусной инфекцией до и после лечения Inosine pranobex» // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 4. С. 519-524.
doi: 10.46235/1028-7221-1064-LCI
© Невежкина Т.А. и соавт., 2021

For citation:

T.A. Nevezhkina, A.V. Kostyushko, V.E. Krasnikov, L.S. Matyushkina, M.A. Bovdуй "Local changes in the type 3 interferons in women with human papillomavirus infection before and after treatment with Inosine pranobex", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 4, pp. 519-524.
doi: 10.46235/1028-7221-1064-LCI
DOI: 10.46235/1028-7221-1064-LCI

месяц после терапии. Учитывая генетическое сродство интерферонов 3-го типа, мы можем предполагать, что применение препаратов Inosine pranobex у пациентов с папилломавирусной инфекцией оправдано и способно положительно повлиять на прогноз заболевания за счет индукции неспецифического иммунного ответа.

Ключевые слова: вирус папилломы человека, *IFNλ1*, *IFNλ3*, цервикальная слизь, мукозальный иммунитет, *Inosine pranobex*

LOCAL CHANGES IN THE TYPE 3 INTERFERONS IN WOMEN WITH HUMAN PAPILLOMAVIRUS INFECTION BEFORE AND AFTER TREATMENT WITH INOSINE PRANOBEX

Nevezhkina T.A.^a, Kostyushko A.V.^a, Krasnikov V.E.^a,
Matyushkina L.S.^a, Bovdui M.A.^b

^a Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

^b Nadezhdinsky Central District Hospital, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. Papillomavirus infection remains one of the main causes of pathological conditions of the female reproductive tract. Innate immunity is one of the first protective mechanisms against this infection, with interferon system being one of its elements. Due to ability of HPV for immune evasion, and lack of uniform clinical recommendations and protocols for management and treatment of women with papillomavirus infection, further studies on probable usage of immunomodulatory drugs are an urgent issue for both fundamental and clinical medicine. Currently, a lot of antiviral and immunomodulatory drugs is used in the treatment of virus-associated diseases of urogenital tract associated with a Th1/Th2 type imbalance. However, the drugs with Inosine pranobex as active substance seem to be the most effective and safe drugs for PVI. The aim of our study was to determine type 3 interferons in the cervical mucus of the women before and after Inosine pranobex therapy.

We have examined 42 patients with papillomavirus infection treated with drugs with the active substance Inosine pranobex. The average age of women was 31 ± 4.1 years. The levels of IL-29 (IFNλ1) and IL-28 (IFNλ3) in cervical mucosa were determined using specific reagents from R&D Diagnostics Inc. (USA). The levels of IL-29 (IFNλ1) were increased in all the groups compared to controls. After treatment, these indexes were significantly higher, compared with the group before treatment. IL-28 (IFNλ3) had opposite results to IL-29 (IFNλ1). Thus, in the groups of samples taken before and after therapy, the indexes increased in comparison with the group before treatment, demonstrating the course of recovery towards reference values. The dynamics of studied indexes may be associated with early evaluation period, due to longer duration of immunological changes leading to induction of promoter gene expression, as well as due to insufficient stimulation of these genes. Usage of Inosine pranobex was associated with significantly increased levels of IL-29 (IFNλ1) as soon as a month after therapy. Taking into account genetic homology of type 3 interferons, we may assume that the use of Inosine pranobex drugs in the patients with papillomavirus infection is substantiated, and it may positively affect prognosis of the disease, due to induction of the non-specific immune response.

Keywords: human papillomavirus, *IFNλ1*, *IFNλ3*, cervical mucosa, mucosal immunity, *Inosine pranobex*

Введение

На сегодняшний день папилломавирусная инфекция (ПВИ), вызванная вирусом папилломы человека (ВПЧ), является одной из глобальных проблем во всем мире. ПВИ остается одной из главных причин развития патологических состояний, начиная от репродуктивных нарушений, внутриутробной инфекции и заканчивая онкогенезом. Особенностью вируса является то,

что, находясь внутриэпителиально, он не распознается антигенпрезентирующими клетками. Интеграция и репликация вируса происходит в клетках, которые будут вскоре отторгнуты. В связи с этим при попадании в организм человека нет специфических признаков вирусемии, цитолиза и воспаления. Одним из первых механизмов защиты репродуктивного тракта женщины является врожденный мукозальный иммунитет, который,

в свою очередь, включает патогенетические механизмы против ВПЧ, усиливая выработку одних из важных цитокинов, вырабатываемых, в первую очередь, интерферонов [3].

Отсутствуют единые клинические рекомендации по ведению и лечению женщин с ПВИ.

В настоящее время существует множество противовирусных и иммуномодулирующих препаратов, применяющихся при лечении вирус-ассоциированных заболеваний урогенитального тракта с дисбалансом Th1/Th2-типа, однако наиболее эффективным и безопасным при ПВИ являются препараты с действующим веществом Inosine pranobex [5].

Inosine pranobex обладает способностью восстанавливать функции лимфоцитов при иммуносупрессии, стимулирует мембранные рецепторы на поверхности Th и предупреждает снижение активности лимфоцитарных клеток, нормализуется включение в них тимидина. Иммуномодулирующая способность препарата проявляется активацией врожденного иммунитета, с увеличением продукции интерлейкинов, а также хемотаксической и фагоцитарной активности моноцитов, макрофагов и полиморфно-ядерных клеток. Препарат обладает тимозиноподобным действием и стимулирует клеточный иммунитет, он особенно эффективен при клеточном иммунодефиците, который характерен для рецидивирующей ВПЧ-инфекции [1]. Остается малоизученным влияние ВПЧ на изменение интерфероновой регуляции мукозального иммунитета (в цервикальной слизи) женщин.

Цель исследования – определение интерферонов 3-го типа у женщин в цервикальной слизи до и после терапии Inosine pranobex.

Материалы и методы

Проведено обследование 42 пациенток с папилломавирусной инфекцией, получавших противовирусную и иммуномодулирующую терапию препаратами с действующим веществом Inosine pranobex – основная группа, которые распределены на подгруппы: I – до лечения, II – после лечения. Средний возраст женщин составил $31 \pm 4,1$ лет. Контрольную группу составили 15 женщин без инфекционных процессов урогенитального тракта, в том числе и ПВИ. Средний возраст женщин составил $28 \pm 2,2$ лет. Обследование на ВПЧ проводили согласно общепринятым стандартам, методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени и методом гибридного захвата (Digene-тест). Биологический материал забирался два раза: 1-й раз – после обследования женщин и постановки диагноза, 2-й раз – через месяц после лечения. Назначение препаратов, с действующим веще-

ством Inosine pranobex, проводилось согласно инструкции к применению препарата по 2 табл. (1000 мг) 3 раза в день, 28 дней.

Определение уровня IL-29 (IFN λ 1) и IL-28 (IFN λ 3) в цервикальной слизи проводили с помощью специфических реактивов фирмы R&D Diagnostics Inc. (США) методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. Учет результатов производили с помощью иммуноферментного анализатора Multiscan (Финляндия). Расчеты количества цитокина проводили путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы. Количество выражали в пг/мл. Анализ полученных результатов проводился при помощи программы SPSS v. 16. методом вариационной статистики с использованием двухвыборочного t-критерия Стьюдента и критерия Манна–Уитни (mu). Количественные признаки, не имеющие нормального распределения, оценивались с помощью непараметрических методов и представлены в виде медианы (Me), 25% и 75% квартилей (Q_{0,25}-Q_{0,75}). Статистически достоверным считали уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Уровень IL-29 (IFN λ 1) был увеличен во всех группах в сравнении с группой контроля ($p < 0,05$). Группы до и после применения терапии также имели достоверные различия. Так, в группе после лечения показатели были достоверно выше, в сравнении с группой до применения терапии ($p_{1,2} < 0,05$) (табл. 1).

IL-28 (IFN λ 3) имел противоположные IL-29 результаты. Так, в группах до и после терапии показатели были снижены в сравнении с референсными величинами ($p < 0,001$). В группе после терапии показатель повышался в сравнении с группой до лечения ($p_{1,2} < 0,06$), демонстрируя динамику к восстановлению до референсных значений (табл. 1).

Увеличение уровня IFN λ 1 во всех основных группах свидетельствует о его основной биологической функции, которая напрямую связана с защитой эпителиальных клеток от чужеродного агента, а именно на месте контакта во внутренних половых органов. Однако показатели до терапии были несколько ниже, что говорит о недостаточной локальной выработке интерферона для удаления вируса из эпителиальных клеток. Повышение уровня IFN λ 1 в группе после лечения свидетельствует о противовирусном и иммуномодулирующем эффекте Inosine pranobex, за счет индукции выработки эндогенного интерферона, а также усиления работы мукозального противовирусного иммунного ответа, активации цитотоксичности NK-клеток, усиление презен-

ТАБЛИЦА 1. ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ IL-29 И IL-28B ТИПА У ЖЕНЩИН ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. CHANGES IN THE LEVEL OF IL-29 AND IL-28B TYPE IN WOMEN BEFORE AND AFTER TREATMENT, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели, пг/мл Indicators, pg/ml	p-значение p-value	Основная группа Main group (n = 42)		Группа контроля Control group (n = 15)
		До терапии Группа 1 Before therapy Group 1 (n = 42)	Через 1 месяц после лечения Группа 2 1 month after treatment Group 2 (n = 42)	
IL-29 (IFNλ1)	p ₁₋₂ < 0,05	93,38* (10,09-152,49)	105,22* (50,48-170,83)#	78,7 (66,91-95,54)
IL-28B (IFNλ3)	p ₁₋₂ < 0,06	48,02** (19,88-82,54)	57,78** (26,31-95,01)	116,19 (100,5-128,1)

Примечание. Статистически значимая достоверность различий между группами с группой контроля: * – p < 0,05 ; ** – p < 0,001; статистическая достоверность межгрупповых различий: # – p < 0,05, где 1-2 – исследуемые группы.

Note. Statistically significant significance of differences between groups with the control group: *, p < 0.05 ; **, p < 0.001; statistical significance of intergroup differences: #, p < 0.05, where 1-2 study groups.

тации вирусных антигенов Т-лимфоцитам и стимуляции функции ряда других клеток, участвующих в защите от вирусов [1, 4, 8].

IFNλ3 был снижен как в группе до лечения, так и после в сравнении с контрольными значениями, однако следует отметить, что последовательность нуклеотидов в гене IFNλ1 имеет высокое сродство к регуляторным факторам интерферонов 3 (IRF3), тогда как промотор IFNλ3 имеет высокое сродство к IRF7. Следовательно, ответ IFNλ3 представляет собой замедленную кинетику по сравнению с IFNλ1 [11].

Репликация вируса индуцирует экспрессию генов IFN 1-го (IFNα, IFNβ) и 3-го (IL-28B и IL-29) типов через TLR-зависимые и независимые пути. IFN 3-го типа генетически отличаются от 1-го типа, однако их сходные биологические противовирусные функции предполагают, что их экспрессия регулируется одинаковым образом [2, 9, 11]. Ряд исследователей показали, что структурная и функциональная характеристика последовательности нуклеотидов генов IFNλ1 и IFNλ3 схожи с генами IFNβ и IFNα. Связывание фактора регуляции IFN (IRF) с промоторным участком IFNλ является одним из наиболее важных событий для экспрессии генов интерферонов. Эктопическая экспрессия компонентов TLR7 (MyD88 и IRF7), TLR3 (область содержащий индуцируемый адаптерный фактор Toll/IL-1R) или путей передачи сигналов, индуцируемых ретиноевой кислотой (RIG-I), вызывала активацию промотора IFNλ1, тогда как промотор IFNλ3 эффективно активировался только за счет сверхэкспрессии MyD88 и IRF7. Нарушение экспрессии Pin1, недавно идентифицированного

супрессора IRF3-зависимого противовирусного ответа, снижает активацию промотора IFN, индуцированную любым из этих трех путей передачи сигнала, включая MyD88-зависимый. Данные исследователей предполагают, что ген IFNλ1 регулируется активируемыми вирусом IRF3 и IRF7, что напоминает экспрессию гена IFNβ, тогда как экспрессия гена IFNλ3 в основном контролируется IRF7, таким образом напоминая экспрессию гена IFNα [6, 9, 10, 11].

Заключение

Таким образом, семейство интерферонов 3-го типа может являться одним из основных факторов, определяющих активность мукозального иммунитета у женщин с ПВИ. Особенность динамики исследуемых показателей, характеризующаяся положительным трендом повышения содержания IFNλ1 и тенденцией к увеличению IFNλ3, может быть связана как с ранним периодом оценки, ввиду большей длительности иммунологических изменений, ведущих к индукции экспрессии генов промоторов, так и недостаточной стимуляцией данных генов. Применение Inosine pranobex статистически значимо повлияло на повышение уровня IL-29 уже через месяц после терапии. Аналогичное влияние на IL-28B в рамках нашей работы зарегистрировано не было, что требует дальнейших исследований, в том числе с пролонгацией периода наблюдения. Однако, учитывая генетическое сродство данных интерферонов, мы можем предполагать, что применение препаратов Inosine pranobex у пациентов с ПВИ оправдано и способно положительно повлиять на прогноз заболевания.

Список литературы / References

1. Дикке Г.Б., Остроменский В.В. Применение иммуномодуляторов в комплексной терапии инфекций нижнего отдела урогенитального тракта у женщин // Гинекология, 2019. Т. 21, № 1. С. 69-74. [Dikke G.B., Ostromensky V.V. Immunomodulators use in a treatment of lower urogenital tract infections in women. *Ginekologiya = Gynecology*, 2019, Vol. 21, no. 1, pp. 69-74. (In Russ.)]
2. Кныш С.В., Малков В.А., Просекова Е.В., Ковальчук В.К. Особенности интерферонового статуса у пациентов с опоясывающим герпесом // Тихоокеанский медицинский журнал, 2018. №4 (74). С. 34-36. [Knysh S.V., Malkov V.A., Prosekova E.V., Kovalchuk V.K. Features of interferon system in patients with herpes zoster. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal* 2018, no. 4 (74), pp. 34-36. (In Russ.)]
3. Макацария А.Д., Бицадзе В.О., Хизроева Д.Х., Викулов Г.Х., Гомберг М.А., Хрянин А.А. Эффективность и безопасность глюкозаминилмурамилдипептида в лечении заболеваний, ассоциированных с вирусом папилломы человека: систематический обзор // Акушерство, гинекология и репродукция, 2019. Т. 13, № 2. С. 132-154. [Makatsariya A.D., Bitsadze V.O., Khizroeva J.Kh., Vikulov G.Kh., Gomberg M.A., Khryanin A.A. Efficacy and safety of glucosaminylmuramyl dipeptide in treatment of human papillomavirus-associated diseases: a systematic review. *Akusherstvo, ginekologiya i reproduksiya = Obstetrics, Gynecology and Reproduction*, 2019, Vol. 13, no. 2, pp. 132-154.
4. Симбирцев А.С. Иммунопатогенез и перспективы иммунотерапии коронавирусной инфекции. ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии, 2020. Т. 12, № 4. С. 7-22. [Simbirtsev A.S. Immunopathogenesis and perspectives for immunotherapy of coronavirus infection. *VICH-infektsiya i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2020, Vol. 12, no. 4, pp. 7-22. (In Russ.)]
5. Хрянин А.А., Кнорринг Г.Ю. Остроконечные кондиломы: современные возможности терапии и проблема комплаенса пациентов // РМЖ. Мать и дитя, 2019. Т. 2, № 2. С. 96-101. [Khryanin A.A., Knorrning G.Yu. Pointed warts: current treatment modalities and treatment compliance. *RMZh. Mat i ditya = Russian Journal of Woman and Child Health*, 2019, Vol. 13, no. 2, pp. 96-101. (In Russ.)]
6. Davidson S., McCabe T.M., Crotta S., Gad H.H., Hessel E.M., Beinke S., Hartmann R., Wack A. IFNlambda is a potent anti-influenza therapeutic without the inflammatory side effects of IFNalpha treatment. *EMBO Mol. Med.*, 2016, Vol. 8, pp. 1099-1112.
7. Lee S., Baldridge M.T. Interferon-lambda: a potent regulator of intestinal viral infections. *Front. Immunol.*, 2017, Vol. 8, 749. doi: 10.3389/fimmu.2017.00749.
8. Nelson M., Rubio R., Lazzarin A., Romanova S., Luetkemeyer A., Conway B., Molina J., Xu D., Srinivasan S., Portsmouth S. Safety and efficacy of pegylated interferon lambda, ribavirin, and daclatasvir in HCV and HIV-coinfected patients. *J. Interferon Cytokine Res.*, 2017, Vol. 37, no. 3, pp. 103-111.
9. Österlund P.I., Pietilä T.E., Veckman V., Kotenko S.V., Julkunen I. IFN regulatory factor family members differentially regulate the expression of type III IFN (IFN-λ) Genes. *J. Immunol.*, 2007, Vol. 179, no. 6, pp. 3434-3442.
10. Zheng Y., Li H., Yu J., Zhao H., Wang S.E., Ren X. Interferon-λs: Special immunomodulatory agents and potential therapeutic targets. *J. Innate Immun.*, 2013, Vol. 5, pp. 209-218.
11. Zhou J., Wang Y., Chang Q., Ma P., Hu Y., Cao X. Type III interferons in viral infection and antiviral immunity. *Cell. Physiol. Biochem.*, 2018, Vol. 51, no. 1, pp. 173-185.

Авторы:

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

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

Authors:

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

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

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

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

Матюшкина Л.С. — к.м.н., доцент, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Matyushkina L.S., PhD (Medicine), Associate Professor, Head, Department of Obstetrics and Gynecology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Бовдуй М.А. — врач — акушер-гинеколог, онколог, заведующий гинекологическим отделением КГБУЗ «Надеждинская центральная районная больница», г. Владивосток, Россия

Bovdui M.A., Clinical Obstetrician-gynecologist, Clinical Oncologist, Head, Department of Gynecology, Nadezhdinsky Central District Hospital, Vladivostok, Russian Federation

Поступила 19.07.2021
Принята к печати 20.08.2021

Received 19.07.2021
Accepted 20.08.2021

ОСОБЕННОСТИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ С СОТряСЕНИЕМ ГОЛОВНОГО МОЗГА В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Норка А.О.^{1,3}, Воробьев С.В.^{1,6}, Кузнецова Р.Н.^{3,4}, Серебрякова М.К.²,
Кудрявцев И.В.^{2,3}, Коваленко С.Н.⁵

¹ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет»
Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика
И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени
Пастера», Санкт-Петербург, Россия

⁵ ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны РФ, Санкт-
Петербург, Россия

⁶ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства
здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Черепно-мозговая травма (ЧМТ) – одна из наиболее часто встречаемых патологий нервной системы в мире, при этом применение методов нейровизуализации не позволяет оценить тяжесть и прогноз течения заболевания. Это предопределяет необходимость поиска новых методов дифференциальной диагностики степени тяжести и прогнозирования риска последствий. В настоящее время многими авторами показана связь нарушений иммунной системы, которая проявляется снижением общего иммунного статуса и развитием клеточно-гуморальной нейросенсибилизации с прогредиентным исходом травмы мозга. Данное положение предопределяет необходимость поиска новых приемов дифференциальной диагностики тяжести ЧМТ и прогнозирования риска развития последствий. При этом роль гуморальных механизмов в патогенезе черепно-мозговой травмы, в частности сотрясения головного мозга, является менее изученной по сравнению с клеточно-опосредованными механизмами. Это предопределяет необходимость изучения роли активации или, напротив, анергии гуморального звена иммунитета при легкой черепно-мозговой травме. Целью данного исследования является изучение особенностей субпопуляций В-лимфоцитов в периферической крови больных с сотрясением головного мозга (n = 22). Контролем служили образцы периферической крови, полученные от 52 условно здоровых добровольцев. Диагноз устанавливался в соответствии с установленными международными критериями. При этом критерием исключения для набора в группу являлись тяжелые сопутствующие повреждения органов или соматические патологии, а также наличие интоксикации. В свою очередь, обследование включало сбор жалоб, анамнеза заболевания, оценку

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 I. Pavlov State 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 гуморального иммунитета у пациентов
с сотрясением головного мозга в остром периоде
заболевания» // Российский иммунологический журнал,
2021. Т. 24, № 4. С. 525-530.
doi: 10.46235/1028-7221-1049-PFO

© Норка А.О. и соавт., 2021

For citation:

A.O. Norka, S.V. Vorobyev, R.N. Kuznetsova,
M.K. Serebriakova, I.V. Kudryavtsev, S.N. Kovalenko
“Particular features of humoral immunity in patients with acute
brain concussion”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 4, pp. 525-530.
doi: 10.46235/1028-7221-1049-PFO
DOI: 10.46235/1028-7221-1049-PFO

соматического и неврологического статуса. С использованием многоцветной проточной цитометрии определялись В-лимфоциты на основе двух подходов: экспрессии IgD/CD38 (“Bm1-Bm5” классификация) и IgD/CD27. Было выявлено, что у пациентов с сотрясением головного мозга было достоверно выше относительное число наивных Bm1 (IgD⁺CD38⁻), чем у условно здоровых лиц ($p < 0,001$). Относительное содержание активированных наивных Bm2-клеток (IgD⁺CD38⁺) было достоверно ниже в группе пациентов с сотрясением головного мозга относительно группы контроля ($p < 0,05$). Число наивных клеток В-лимфоцитов IgD⁺CD27⁻ было также достоверно снижено в группе пациентов с сотрясением головного мозга в сравнении с группой контроля. Полученные данные свидетельствуют о возможной важной роли В-клеточного иммунного ответа в патогенезе течения сотрясения головного мозга и что дает оценить возможность особенностей гуморального ответа.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, сотрясение головного мозга, В-лимфоциты, гуморальное звено системы иммунитета, воспаление, проточная цитометрия, многоцветный анализ

PARTICULAR FEATURES OF HUMORAL IMMUNITY IN PATIENTS WITH ACUTE BRAIN CONCUSSION

Norka A.O.^{a, c}, Vorobyev S.V.^{a, f}, Kuznetsova R.N.^{c, d}, Serebriakova M.K.^b, Kudryavtsev I.V.^{b, c}, Kovalenko S.N.^e

^a St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

^b Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

^c First St. Petersburg I. Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

^d St. Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation

^e S. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation

^f V. Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Traumatic brain injury (TBI) is one of the most common neurological disorders in the world. Meanwhile, usage of neuroimaging methods does not allow precise assessment of its severity and clinical prognosis. This predetermines for searching new techniques of differential diagnosis of the TBI severity and predicting the risk of consequences. Currently, many authors have shown an association between disorders of the immune system manifesting as a decrease in general immune status, and development of cellular/humoral neurosensitization with progredient outcome of the brain injury. At the same time, the role of humoral mechanisms in pathogenesis of TBI, in particular, brain commotion, is less studied in comparison with cell-mediated mechanisms, thus suggesting a need to studying the role of activation or, vice versa, anergy of the humoral immunity in mild traumatic brain injury. The aim of this work was to study characteristics of B-lymphocyte subpopulations in peripheral blood of the patients with brain concussion ($n = 22$). Peripheral blood samples obtained from 52 apparently healthy volunteers served as controls. The diagnosis was made in accordance with established international criteria. In this case, the exclusion criterion were as follows: severe concomitant organ damage or somatic pathologies, as well as presence of intoxication. General examination included the collection of complaints, medical history, assessment of the somatic and neurological status. B-lymphocytes were determined using multicolor flow cytometry based on two approaches: IgD/CD38 expression (“Bm1-Bm5” classification), and IgD/CD27. We have found that the relative number of naive Bm1 (IgD⁺CD38⁻) was significantly higher in patients with brain concussion than in conventionally healthy individuals ($p < 0.001$). The relative content of activated naive Bm2-cells (IgD⁺CD38⁺) was significantly lower in the group of TBI patients than in controls ($p < 0.05$). The number of naive cells (IgD⁺CD27⁻) was also significantly reduced in the brain concussion group compared to the control group. The data obtained indicate a possible significant role of B-cell immune response in pathogenesis of clinical course following the brain concussion, thus enabling assessment of possible features of humoral immune response.

Keywords: traumatic brain injury, concussion, B-cells, humoral immune status, inflammatory, flow cytometry, multicolor immunophenotyping

Введение

Черепно-мозговая травма является одной из главных причин инвалидности и смерти в настоящее время, тем самым представляя значимую

проблему для общественного здравоохранения. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) предполагает, что к 2025 году травма головы станет ведущей по значимости причиной смерти и инвалидности [7].

Несмотря на то, что черепно-мозговая травма (ЧМТ) обычно рассматривается как единый клинический синдром, она представляет собой сложную и разнородную патологию с различными патогенетическими путями. При этом необходимо учитывать, что степень повреждения головного мозга также различна и зависит от механизма травмы [8]. Всестороннее изучение клеточных и молекулярных событий, развивающихся после травмы, является целью клинических исследований с надеждой, что эти знания будут стимулировать создание новых терапевтических методов для лечения как острой травмы, так и ранних осложнений.

Этиологическая и патофизиологическая гетерогенность ЧМТ — два основных фактора, которые приводят к противоречивым результатам различных исследований, поэтому важно определить точные механизмы первичных и вторичных повреждений. После травмы головы запускается клеточно-опосредованный и гуморальный каскад воспаления, который может иметь положительные эффекты [6]. Однако если воспаление слишком интенсивное, продолжительное и непрекращающееся, оно оказывает негативное воздействие на дальнейшее течение процесса. Вторичное повреждение прогрессирует медленнее, может занимать от минут до нескольких лет после механического повреждения и вызвано несколькими путями, которая включают активацию как клеток иммунной системы, так и клеток центральной нервной системы (ЦНС) [10]. Было высказано предположение, что активация клеток иммунной системы может значительно изменить клиническое и функциональное течение ЧМТ [5]. Травма запускает последовательность реакций, приводящих к высвобождению молекулярных паттернов, связанных с повреждением клеток, называемых DAMP (damage-associated molecular patterns). DAMP в свою очередь стимулируют окружающие клетки к высвобождению медиаторов воспаления, таких как цитокины и хемокины. Эти медиаторы привлекают миелоидные клетки, в частности нейтрофилы, которые фагоцитируют поврежденные клетки, способствуя ограничению места повреждения. Когда количество нейтрофилов начинает снижаться, моноциты и глиальные клетки активируются и накапливаются вокруг места повреждения, чтобы выполнять дальнейшие фагоцитарные или восстановительные функции. В зависимости от тяжести травмы головного мозга, миелоидные клетки могут рекрутировать в очаг повреждения Т- и В-клетки, сохраняясь от недель до месяцев [9].

Основные методы диагностики нередко не могут одновременно дать оценить прогноз травмы мозга и тяжесть, так микроскопический уровень повреждения свойственен для травмы легкой степени тяжести, и при этом может вовлекаться мозолистое тело, ретикулярная формация, ствол головного мозга, т.е. жизненно важные

структуры головного мозга. Так при использовании магнитно-резонансной томографии (МРТ) у пациентов с тяжелой травмой головы структурные изменения могут быть не выявлены и, наоборот, при обширных признаках повреждения мозга может наблюдаться полное восстановление функций [2, 3].

Целью настоящего исследования явилось оценка гуморального иммунитета и специфика распределения субпопуляций В-лимфоцитов у пациентов с сотрясением головного мозга в остром периоде заболевания в периферической крови.

Материалы и методы

Для изучения гуморального иммунитета в контексте нашего исследования нами обследовано 22 пациента, проходивших стационарное лечение и которым был поставлен диагноз сотрясение головного мозга, при этом в анамнезе не было травмы головы или любого другого заболевания, которое могло бы привести к изменению показателей иммунного статуса. Диагноз устанавливался в соответствии с установленными международными критериями. Также критерием исключения для набора в группу являлись тяжелые сопутствующие повреждения органов или любая другая соматическая патология. Контрольную группу при этом составили 52 относительно здоровых добровольца (29 мужчин и 23 женщины).

При поступлении пациента обследование состояло из сбора жалоб и анамнеза заболевания, проведения неврологического и соматического осмотра с последующей оценкой по описанной стандартной методике. Для исключения структурного поражения головного мозга применялись компьютерная томография или магнитно-резонансная томография.

В соответствии с рекомендациями, которые изложены Хайдуковым С.В. и соавт. [4], был произведен сбор периферической крови и настраивание проточного цитофлуориметра.

Поверхностные моноклональные антитела IgD, CD38 и CD27, которые соответствующе связаны с FITS, PE и PC7, были нами использованы для оценки распределения В-клеток. Используемые антитела были получены от Beckman Coulter Inc. (США). Антитела окрашивали согласно рекомендациям производителя. Разрушение эритроцитов лизирующим раствором VersaLyse (Beckman Coulter, США) проводили путем инкубации 25 мкл фиксирующего раствора ЮТест 3 с 975 мкл этого раствора. После разрушения эритроцитов образец один раз промывали физиологическим раствором для того, чтобы удалить несвязавшиеся антитела, а с полученным осадком клеток был повторно проведено суспендирование с 200 мкл забуференного фосфатами физио-

логическим раствором (PBS), содержащем 2% параформальдегида.

Основные этапы дифференцировки В-лимфоцитов были основаны на анализе экспрессии IgD и CD38, IgD и CD27 [1]. Окрашивание антителами против CD38 и IgD позволило идентифицировать следующие популяции: Vm1 IgD⁺CD38⁻ наивные клетки с фенотипом; наивные активированные клетки Vm2 (IgD⁺CD38⁺); Vm3+Vm4-клетки (IgD⁻CD38⁺⁺): представляют собой общую популяцию, включая центробласты и centrocyты, клетки ранней памяти eVm5 (IgD⁻CD38⁺) и покоящиеся клетки памяти Vm5 (IgD⁻CD38⁻). Кроме того, на основе комбинированной экспрессии IgD и CD27 были идентифицированы следующие популяции: наивные В-клетки с фенотипом IgD⁺CD27 (“naive”), клетки памяти с непрерывным классом синтезируемых антител (“unswitched memory”, IgD⁺CD27⁺) и клетки памяти дважды негативные (“double negative memory”, IgD⁻CD27⁻).

Далее на проточном цитофлуориметре (Beckman Coulter Navios, США) образцы анализировали. Он оборудован тремя диодными лазерами с длиной волны 405, 488 и 638 нм. Дан-

ные цитофлуориметра обрабатывали с помощью программ Navios v. 1.2 и Kaluza™ v. 1.2 (Beckman Coulter, США). В каждом образце тестировали не менее 5000 CD19⁺В-клеток периферической крови. Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения для MAC GraphPad Prism 8.00 (GraphPad Prism Software, США). Разницу считали статистически значимой при $p < 0,05$. Результаты выражали как процент (%) положительных клеток в целевой популяции с их средними значениями и средними ошибками ($M \pm m$).

Результаты и обсуждение

Было показано, что у пациентов с сотрясением головного мозга достоверно выше относительное содержание наивных Vm1-клеток (IgD⁺CD38⁻), по отношению к результатам группы контроля ($p < 0,001$). Относительное количество активированных наивных Vm2-клеток (IgD⁺CD38⁺) было достоверно ниже в группе пациентов с сотрясением головного мозга относительно группы контроля. ($p < 0,05$). Что касается популяций Vm3+Vm4-клетки (IgD⁻CD38⁺⁺), клеток ранней памяти eVm5 (IgD⁻CD38⁺) и покоящихся клеток

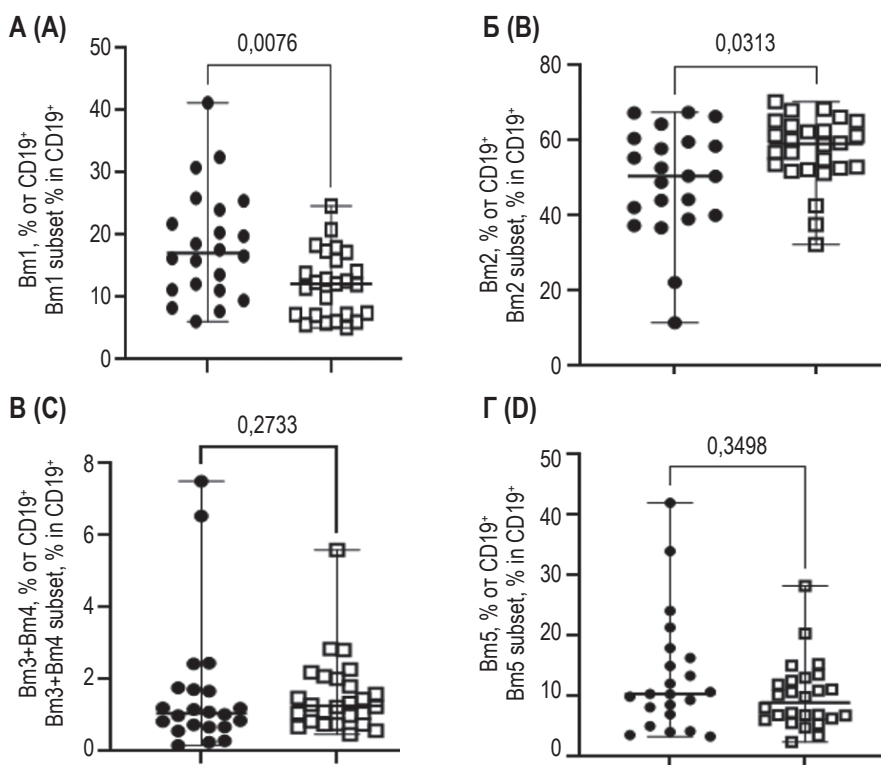


Рисунок 1. Распределение относительного содержания различных субпопуляций В-клеток на основе экспрессии IgD и CD38 (“Vm1-Vm5” классификация)

Примечание. Черный круг – пациенты с сотрясением головного мозга, белый квадрат – условно здоровые добровольцы. Статистический анализ проводился с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Figure 1. Distribution of the relative abundance of different B-cell subpopulations based on IgD and CD38 expression (“Vm1-Vm5” classification)

Note. Black circle, patients with brain concussion; white square, conditionally healthy volunteers. Statistical analysis was performed using the Mann–Whitney U test.

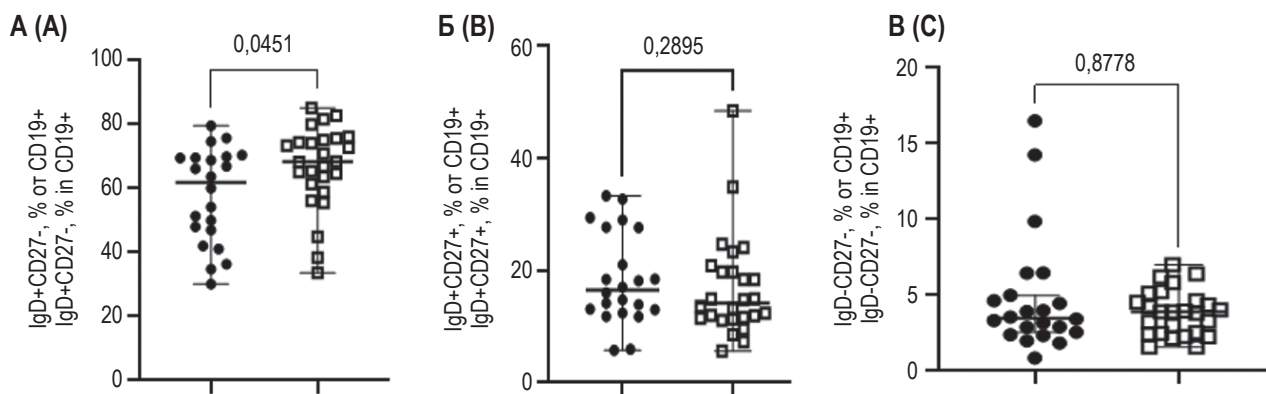


Рисунок 2. Распределение относительного содержания разных субпопуляций В-лимфоцитов, выделяемых на основании экспрессии IgD и CD27

Примечание. См. примечание к рисунку 1.

Figure 2. Distribution of relative content of different subpopulations of B lymphocytes isolated on the basis of IgD and CD27 expression

Note. As for Figure 1.

памяти Vm5 (IgD⁻CD38⁻) статистически достоверных изменений в сравнении с группой контроля обнаружено не было (рис. 1). Число наивных В-клеток (“naive” IgD⁺CD27⁻) было также достоверно снижено в группе пациентов с сотрясением головного мозга. При этом относительное содержание клеток памяти с непереключенным классом синтезируемых антител (“unswitched memory”, IgD⁺CD27⁺) и дважды негативных клеток памяти (“double negative memory”, IgD⁻CD27⁻) достоверно не изменено (рис. 2).

Заключение

Результаты исследований свидетельствуют о важном значении гуморального звена иммунной системы в патогенезе течения сотрясения головного мозга. Стоит обратить внимание на то, что наблюдается достоверное снижение относитель-

ного содержания наивных В-лимфоцитов с фенотипом IgD⁺CD27⁻ и активированных наивных Vm2-клеток (IgD⁺CD38⁺), что дает непосредственно отметить то, что есть перераспределение клеток гуморального звена из периферической крови в место повреждения и при этом показывает важную роль В-клеточного иммунитета в патогенезе травмы. Данные о повышении наивных Vm1 (“naive” IgD⁺CD38⁻) косвенно указывают на выраженную активацию гуморального иммунитета.

В результате можно отметить, что исследование особенностей активации гуморального звена иммунитета может способствовать более полному пониманию механизмов иммунопатогенеза сотрясения головного мозга, возможной причины развития осложнений, но определения и роли гуморального звена иммунитета.

Список литературы / References

- Будкова А.И., Лапин С.В., Серебрякова М.К., Кудрявцев И.В., Тришина И.Н., Маслянский А.Л., Тотолян А.А. Субпопуляционный состав В-клеток периферической крови у больных системной красной волчанкой // Медицинская иммунология, 2017. Т. 19, № 2. С. 175-184. [Budkova A.I., Lapin S.V., Serebriakova M.K., Kudryavtsev I.V., Trishina I.N., Maslyansky A.L., Totolian A.A. B-cell subpopulations of peripheral blood in systemic lupus erythematosus. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2017, Vol. 19, no. 2, pp. 175-184. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2017-2-175-184.
- 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.
- Потапов А.А., Лихтерман Л.Б., Кравчук А.Д., Корниенко В.Н., Захарова Н.Е., Ошоров А.В., Филатова 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.)]
- 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). *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, Vol. 14, no. 3, pp. 255-268. (In Russ.)] doi:10.15789/1563-0625-2012-3-255-268.

5. Bergold P.J. Treatment of traumatic brain injury with anti-inflammatory drugs. *Exp. Neurol.*, 2016, Vol. 275, Pt. 3, pp. 367-380.
6. Burda J.E., Sofroniew M.V. Reactive gliosis and the multicellular response to CNS damage and disease. *Neuron*, 2014, Vol. 81, no. 2, pp. 229-248.
7. Dewan M.C., Rattani A., Gupta S., Baticulon R.E., Hung Y.C., Punchak M., Agrawal A., Adeleye A.O., Shrima M.G., Rubiano A.M., Rosenfeld J.V., Park K.B. Estimating the global incidence of traumatic brain injury. *J. Neurosurg.*, 2018, pp. 1-18.
8. Fehily B., Fitzgerald M. Repeated mild traumatic brain injury: potential mechanisms of damage. *Cell Transplant.*, 2017, Vol. 26, no. 7, pp. 1131-1155.
9. Jarrahi A., Braun M., Ahluwalia M., Gupta R.V., Wilson M., Munie S. Revisiting traumatic brain injury: from molecular mechanisms to therapeutic interventions. *Biomedicines*, 2020, Vol. 8, 389. doi: 10.3390/biomedicines8100389.
10. Simon D.W., McGeachy M.J., Bayir H., Clark R.S., Loane D.J., Kochanek P.M. The far-reaching scope of neuroinflammation after traumatic brain injury. *Nat. Rev. Neurol.*, 2017, Vol. 13, no. 3, pp. 171-191.
11. Schwartz M., Raposo C. Protective autoimmunity: a unifying model for the immune network involved in CNS repair. *Neuroscientist*, 2014, Vol. 20, no. 4, pp. 343-358.

Авторы:

Норка А.О. – старший лаборант кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ; ординатор кафедры неонатологии с курсами неврологии и акушерства- гинекологии ФП и ДПО ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, 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

Кузнецова Р.Н. – к.м.н., доцент кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ; 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 отдела 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 ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Коваленко С.Н. – преподаватель кафедры нейрохирургии ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны 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, 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; Professor, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, 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 Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation

Serebriakova M.K., Postgraduate 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

ДИНАМИКА УРОВНЯ МАКРОФАГАЛЬНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА К SARS-CoV-2

Радаева О.А.¹, Симбирцев А.С.², Костина Ю.А.¹, Искандярова М.С.¹, Машнина С.В.¹, Негоднова Е.В.¹, Бешейнов Д.Д.¹

¹ ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева», г. Саранск, Россия

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

Резюме. Формирование иммунитета у населения к различным вариантам возбудителя COVID-19 является одной из наиболее важных проблем для мирового сообщества. Цель исследования – сопоставить динамику изменения содержания М-CSF и VEGF-A, IL-34 в сыворотке крови больных ЭАГ II стадии, в зависимости от вида сформированного иммунитета (постинфекционный, поствакцинальный, «гибридный») для анализа изменения М-CSF-опосредованных механизмов развития гипертензии. В ходе работы сформированы 2 группы пациентов: 1-я группа – больные с ЭАГ II стадии и инфицирование SARS CoV-2 без пневмонии в анамнезе, вакцинация через 6 месяцев после лабораторного выздоровления, 2-я группа – пациенты с ЭАГ II стадии без COVID-19 в анамнезе, вакцинация в период наблюдения. Определение М-CSF, IL-34, VEGF-A, уровня IgG к SARS-CoV-2 проводили методом ИФА. Формирование постинфекционного иммунитета у пациентов с ЭАГ II стадии, несмотря на легкое течение COVID-19, сопровождается длительным (до 6 месяцев) патофизиологически значимым повышением в сыворотке крови уровня М-CSF ($p < 0,001$) со снижением IL-34 ($p < 0,001$). Анализ динамики изменения содержания М-CSF, IL-34, VEGF-A в поствакцинальном периоде в сыворотки крови больных ЭАГ II стадии с COVID-19 в анамнезе («гибридный» иммунитет) определил отсутствие ($p < 0,05$) изменения содержания М-CSF, VEGF-A после введения первого компонента «Гам-Ковид-Вак» на фоне повышения уровня IgG к SARS-CoV-2, что позволяет говорить об иммуногенности первого компонента без запуска М-CSF-зависимого пути потенциального прогрессирования ЭАГ. Через 21 день после введения второго компонента вакцины выявлен рост М-CSF при сравнении как с предвакцинальными показателями, так и данными 21-го дня после введения первого компонента

Адрес для переписки:

Радаева Ольга Александровна
ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева»
430000, Россия, г. Саранск, ул. Ульянова, 26а.
Тел.: 8 (8342) 3-21-98.
E-mail: radaevamed@mail.ru

Address for correspondence:

Radaeva Olga A.
N. Ogarev National Research Mordovia State University
430000, Russian Federation, Saransk, Ulyanov str., 26a.
Phone: 7 (8342) 3-21-98.
E-mail: radaevamed@mail.ru

Образец цитирования:

О.А. Радаева, А.С. Симбирцев, Ю.А. Костина, М.С. Искандярова, С.В. Машнина, Е.В. Негоднова, Д.Д. Бешейнов «Динамика уровня макрофагального колониестимулирующего фактора в сыворотке крови пациентов с эссенциальной гипертензией при формировании поствакцинального иммунитета к SARS-CoV-2» // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 4. С. 531-538.
doi: 10.46235/1028-7221-1060-SMC

© Радаева О.А. и соавт., 2021

For citation:

O.A. Radaeva, A.S. Simbirtsev, Yu.A. Kostina, M.S. Iskandiyarova, S.V. Mashnina, E.V. Negodnova, D.D. Besheynov "Serum macrophage colony-stimulating factor levels in patients with essential hypertension after vaccination against SARS-CoV-2", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 4, pp. 531-538.
doi: 10.46235/1028-7221-1060-SMC
DOI: 10.46235/1028-7221-1060-SMC

вакцины ($p < 0,001$). При сопоставлении динамики содержания М-CSF, IL-34 и VEGF-A у больных ЭАГ II стадии без COVID-19 в анамнезе в поствакцинальном периоде, с данными при формировании «гибридного» иммунитета, регистрируется повышение М-CSF через 21 день после введения первого и второго компонента на фоне снижения IL-34, но с восстановлением довакцинальных концентраций у 100% пациентов к 180-му дню с сопоставимой иммуногенностью через 180 дней. У пациентов с ЭАГ II имеет значение патогенетическая «суммация» доинфекционного дисбаланса цитокинового регулирования и постковидных изменений, что у ряда пациентов может быть причиной пролонгации стабилизации баланса системы М-CSF-IL-34-VEGF-A в поствакцинальном периоде при формировании «гибридного» иммунитета.

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

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

Radaeva O.A.^a, Simbirtsev A.S.^b, Kostina Yu.A.^a, Iskandyarova M.S.^a, Mashnina S.V.^a, Negodnova E.V.^a, Besheynov D.D.^a

^a N. Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Russian Federation

^b State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, Federal Medical-Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The formation of immunity in the population to various variants of the COVID-19 pathogen is one of the most important problems for the world community. The aim of the study was to compare the dynamics of M-CSF and VEGF-A, IL-34 in the blood serum of patients with essential hypertension (EH) stage II, depending on the type of immunity formed (post-infectious, post-vaccination, “hybrid”) to analyze changes of M-CSF-mediated mechanisms of hypertension development. During the work, 2 groups of patients were formed: group 1-patients with stage II EH and SARS CoV-2 infection without pneumonia in the anamnesis, vaccination 6 months after laboratory recovery, group 2 – patients with stage II EH without COVID-19 in the anamnesis, vaccination during the follow-up period. Determination of M-CSF, IL-34, VEGF-A, IgG level to SARS-CoV-2 was determined using an enzyme-linked immunosorbent assay. The formation of post-infectious immunity in patients with stage II EH, despite the mild course of COVID-19, is accompanied by a long-term (up to 6 months) pathophysiologically significant increase in the serum level of M-CSF ($p < 0.001$) with a decrease in IL-34 ($p < 0.001$). Analysis of the dynamics of changes in M-CSF, IL-34, VEGF-A in the post-vaccination period in the blood serum of patients with stage II EH with COVID-19 in the anamnesis (“hybrid” immunity), determined the absence ($p < 0.05$) of changes in the levels of M-CSF, VEGF-A after the first component of “SPUTNIK V” against the background of an increase of the level of IgG to SARS-CoV-2. 21 days after the second component of the vaccine, an increase of M-CSF was detected when compared with both pre-vaccination indicators and data 21 days after the introduction of the first component of the vaccine ($p < 0.001$). Comparing the dynamics of the of M-CSF, IL-34 and VEGF-A in patients with stage II EH without COVID-19 in the post-vaccination period with the data on the formation of “hybrid” immunity, an increase in M-CSF was recorded 21 days after the introduction of the first and second components against the background of a decrease in IL-34, but with the restoration of pre-vaccination concentrations in 100% of patients by day 180 with comparable immunogenicity after 180 days. In patients with EH II, the pathogenetic “summation” of the pre-infectious imbalance of cytokine regulation and postcovid changes is important, which in a number of patients may be the reason for the prolongation of the stabilization of the balance of the M-CSF-IL-34-VEGF-A system in the post-vaccination period during the formation of “hybrid” immunity.

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

Введение

Формирование иммунитета у населения к различным вариантам возбудителя COVID-19 является одной из наиболее важных проблем для мирового сообщества. Научный интерес представляет не только анализ эффективности/длительности специфической иммунной защиты после перенесенного SARS-CoV-2 инфицирования или в поствакцинальном периоде, но и изучение комплекса иммуноопосредованных реакций с потенциальным вовлечением органов и систем (изменением иммунопатогенеза сопутствующих хронических заболеваний) после контакта с вирусом [4, 7] или на фоне вакцинации. Отдельное место занимает вопрос об особенностях системного иммунного реагирования при формировании «гибридного» иммунитета (поствакцинального на фоне постинфекционного иммунитета). По данным ряда публикаций [5, 6] сочетание естественного иммунитета к SARS-CoV-2 с поствакцинальным ответом определяет более выраженный защитный потенциал, в том числе и в отношении различных вариантов SARS-CoV-2 (B.1.1.7, B.1.351, P.1 и B.1.617). Данная информация во многом обосновывает корректность вакцинации лиц с COVID-19 в анамнезе, регламентированной в России временными методическими рекомендациями «Порядок проведения вакцинации взрослого населения против COVID-19» (Москва, 2021). При этом остается вопрос о кратности вакцинации переболевших пациентов, обоснованности использования двухкомпонентных вакцин и отличии иммунного реагирования у больных с сопутствующей патологией, а также выраженности системного провоспалительного ответа у данной категории прививаемых.

Цитокины являются иммунорегуляторными пептидами, которые значимы при развитии как постинфекционного, так и поствакцинального иммунитета, при этом являясь важным компонентом в патогенезе пролонгированного COVID-19 и прогрессировании неинфекционных хронических заболеваний (эссенциальная артериальная гипертензия (ЭАГ), сахарный диабет и др.) у пациентов с SARS-CoV-2 инфицированием в анамнезе [2]. По собственным данным, опубликованным ранее [11], значимое увеличение М-CSF в крови больных ЭАГ II стадии через 1 месяц после клинического и лабораторного выздоровления выступает фактором, определяющим прогрессирование гипертензии в последующем. Ряд исследований продемонстрировали, что данный цитокин в комплексе с IL-34 может способствовать повреждению гладкомышечных клеток сосудистой стенки с нарушением продукции матриксных металлопротеиназ 3-го типа и вторичному ремоделированию сосуда [3], изменяя баланс выживаемости морфологических

компонентов артерий разного калибра, и, по результатам собственного 10-летнего наблюдения, дисрегуляция в системе М-CSF-VEGF-A-IL-34, выступает независимым критерием, отражающим риск повреждения органов-мишеней (сердце, головной мозг и др.) [11]. Важно отметить, что период «восстановления» баланса системы М-CSF-VEGF-A-IL-34 до преинфекционных количественных характеристик у пациентов с ЭАГ в постковидном периоде варьирует и может определять индивидуальные особенности при проведении вакцинации.

Цель исследования – сопоставить динамику изменения содержания М-CSF и VEGF-A, IL-34 в сыворотке крови больных ЭАГ II стадии, в зависимости от вида сформированного иммунитета (постинфекционный, поствакцинальный, «гибридный»), для анализа изменения М-CSF-опосредованных механизмов развития гипертензии.

Материалы и методы

В ходе работы сформированы 2 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 и инфицирование SARS CoV-2 без пневмонии, вакцинация через 6 месяцев после лабораторного выздоровления, 2-я группа – пациенты с ЭАГ II стадии без COVID-19 в анамнезе, вакцинация в период наблюдения. 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, данные об уровне IgG к SARS-CoV-2 перед началом вакцинации. 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 компонентом дизайна являются данные об уровнях М-CSF, IL-34, VEGF-A у пациентов в период до инфицирования SARS-CoV-2 (январь-февраль 2020 года) и до вакцинации.

Диагноз «COVID-19» был выставлен в соответствии с актуальными клиническими рекомендациями по профилактике, диагностике и лечению COVID-19, с учетом данных ПЦР на наличие РНК SARS-CoV-2 и определении IgM/IgA и IgG к SARS-CoV-2 в динамике. Через 10, 30, 180 дней после лабораторного выздоровления пациентов (два отрицательных результата ПЦР на нали-

чие РНК SARS-CoV-2), а также через 21 день после введения 1-го компонента «Гам-Ковид-Вак», через 21 день после введения 2-го компонента и через 180 дней после начала вакцинации проводился забор крови до 9:00 натошак. Кровь центрифугировали при 1500-2000 об/мин (15 минут), сыворотку хранили в пробирках при температуре -30 °С. Определение М-CSF, IL-34, VEGF-A проводили методом ИФА на базе кафедры иммунологии, микробиологии, вирусологии (лаборатория иммуноферментного анализа – лицензия № 13.01.04. 0001. Л.000005.06.11, бессрочная), с использованием иммуноферментном анализаторе «Personal Lab TM» (Adaltis, Италия). Определение уровня IgG к SARS-CoV-2: для оценки постинфекционного иммунитета – качественная тест-система «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» (Новосибирск); для изучения поствакцинальных антител – тест-система Abbott ARCHITECT SARS-CoV-2 IgG II Quant.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью StatSoft Statistica 13.5. Данные представлены в виде медианы (Me) и перцентилей ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$). Распределение данных отличалось от распределения Гаусса–Лапласа, что обосновало при сравнении зависимых выборок использовать критерий Вилкоксона, несвязанных выборок – критерий Манна–Уитни.

Результаты и обсуждение

Анализ уровней М-CSF в сыворотке периферической крови пациентов с ЭАГ II стадии в постинфекционном периоде (на фоне формирования естественного постинфекционного иммунитета к SARS-CoV-2) определил его увеличение ($p < 0,001$) при сравнении с доинфекционным периодом и с сохранением тенденции в течение 6 месяцев после лабораторного выздоровления (два отрицательных теста ПЦР для детекции РНК SARS-CoV-2) (табл. 1). Рост М-CSF в крови пациентов с ЭАГ II стадии и COVID-19 в анамнезе в первый месяц был без увеличения концентрации VEGF-A крови. В период до SARS-CoV-2 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 выраженности коллатералей коронарной сети; отрицательная корреляция между М-CSF и IL-34, при содержании М-CSF выше 392 пг/мл ($r = 0,83$, $p < 0,001$). Эффекты носили дозозависимый характер. После перенесенного COVID-19 у больных ЭАГ II стадии: количественные характеристики VEGF-A до и через 1 месяц после COVID-19 без динамики ($p > 0,05$) (табл. 1), а прямая зависимость между М-CSF при уровне более 458 пг/мл и VEGF-A, которая была выявлено ранее, отменяется ($r = 0,44$, $p > 0,05$); при этом отрицательные корреляционные линии между М-CSF и IL-34 незначительно усилились

($r = 0,89$, $p < 0,001$). К 6-му месяцу наблюдение зарегистрировано восстановление компенсаторного роста VEGF-A на фоне увеличения М-CSF только у 8 пациентов из 32, уровень IL-34 – увеличился и соответствует «доинфекционному» периоду. Характеристики IgG к SARS-CoV-2 в данной группе пациентов составили: КП 10 дней после лабораторного выздоровления – 13,2, 75% ДИ (9,8-14,2), IgG к SARS-CoV-2 обнаружены у 100% пациентов, 30 дней – 15,1, 75% ДИ (12,3-16), IgG к SARS-CoV-2 обнаружены у 100% пациентов, 180 дней – 13,2, 75% ДИ (9,8-14,2), IgG к SARS-CoV-2 обнаружены у 17 пациентов (53,1%). Корреляционных связей между содержанием М-CSF в сыворотке периферической крови пациентов с ЭАГ и коэффициентом позитивности для IgG выявлено не было ($r = 0,27$, $p > 0,05$). В ходе исследования был проведен анализ динамики цитокинов системы М-CSF-VEGF-A-IL-34 у данной группы пациентов в поствакцинальном периоде. Вакцинацию проводили через 8-9 месяцев после лабораторного выздоровления (два отрицательных теста ПЦР для детекции РНК SARS-CoV-2) при подписании пациентом информированного согласия. Определено, что 28 пациентов (87,5%) к 7-8 месяцу после COVID-19 (соответствовало забору крови перед вакцинацией) характеризовались содержанием в сыворотке периферической крови М-CSF, VEGF-A сопоставимым с «доинфекционным» периодом ($p > 0,05$), уровень IL-34 был достоверно ниже ($p < 0,001$). 19 пациентов (59,4%) имели отрицательные результаты при определении IgG к SARS-CoV-2. Через 21 день после введения первого компонента «Гам-Ковид-Вак» у больных ЭАГ II и COVID-19 (без пневмонии) в анамнезе антитела к SARS-CoV-2 обнаружены в 100% случаев (IgG составил 4540 AU/mL (75% ДИ (3500-5790) AU/mL), выявлен рост IL-34 при сопоставлении с предвакцинальным уровнем ($p < 0,001$), без динамики содержания в сыворотке крови М-CSF и VEGF-A ($p > 0,05$) (табл. 2). Через 21 день после введения второго компонента «Гам-Ковид-Вак» у больных ЭАГ II и COVID-19 (без пневмонии) в анамнезе антитела к SARS-CoV-2 обнаружены у 100% обследуемых (уровень IgG составил 8540 AU/mL (75% ДИ (4100-12300) AU/mL), но выявлен рост М-CSF при сравнении как с предвакцинальными показателями, так и данными 21 дня после введения первого компонента вакцины ($p < 0,001$). Уровни М-CSF были сопоставимы с 30-м днем после лабораторного выздоровления пациентов после COVID-19. Через 180 дней после начала вакцинации содержание М-CSF в сыворотке крови пациентов с ЭАГ II стадии и COVID-19 в анамнезе снижалось до показателей предвакцинального периода у 18 пациентов (56,3%), что отличалось от динамики постинфекционного периода, но сохранялось повышенным у 14 больных (у 10 больных из этой группы тест на IgG к SARS-

CoV-2 перед вакцинацией был положительным), что и определило отклонения среднего уровня М-СФС в анализируемой группе от данных предвакцинального периода (табл. 2). Важно отметить, что через 6 месяцев повышенный уровень М-СФС ассоциирован с компенсаторным увеличением VEGF-A только у 4 человек из 14. Количество IgG к SARS-CoV-2 на 180-й день после вакцинации составило – 4800 AU/mL (75% ДИ (1600-18900) AU/mL) (тест на IgG к SARS-CoV-2 положительный у 100% пациентов). Клинически, 12 из 14 пациентов с сохранением повышенного уровня М-СФС до 180-го дня после вакцинации отмечали более высокие цифры систолического АД в период с 30-го по 180-й дни поствакцинального периода, 8 пациентам была изменена схема антигипертензивной терапии, у двух пациентов были зарегистрированы серии гипертонических кризов (4 и 3 подъема АД).

У больных ЭАГ II стадии без COVID-19 в анамнезе регистрируется иная динамика изменения М-СФС, VEGF-A и IL-34: 21 день после введения первого компонента «Гам-Ковид-Вак» – рост М-СФС ($p < 0,001$) без протективного увеличения VEGF-A ($p > 0,05$), но на фоне снижения IL-34 ($p < 0,001$), 21 день после введения второго компонента – сохраняются сопоставимые уровни цитокинов с данными 21-го дня после введения 1-го компонента и достоверны выше, чем в предвакцинальном периоде, но с нормализацией к 180-му дню у 100% больных (табл. 3). Уровни IgG к SARS-CoV-2 в данной группе были ниже, чем при формировании гибридного иммунитета (поствакцинальный на фоне постинфекционного) через 21 день после введения первого компонента – 1200 AU/mL (75% ДИ (640-1500) AU/mL)

и через 21 день после введения второго компонента вакцины – 7120 AU/mL (75% ДИ (3700-9200) AU/mL), но были сопоставимы на 180 день после начала вакцинации – 4540 AU/mL (75% ДИ (1800-17500) AU/mL), хотя тест на определение IgG к SARS-CoV-2 в этой группе положительным был у 25 человек (75%). У одного пациента (3,16%) с ЭАГ II стадии и без COVID-19 в анамнезе антител после вакцинации зарегистрировано не было, но вектор изменения содержания М-СФС-VEGF-A-IL-34 совпадал с группой с сформированным гуморальным адаптивным иммунитетом к SARS-CoV-2. Изменения уровня АД, изменения антигипертензивной терапии в группе пациентов с ЭАГ II стадии в поствакцинальном периоде зарегистрировано не было.

Учитывая ранее опубликованные данные о значимости дисбаланса компонентов системы М-СФС-IL-34-VEGF-A при прогрессировании ЭАГ [11], представленные в данном исследовании результаты об увеличении М-СФС со снижением уровней IL-34, без компенсаторного роста VEGF-A у больных с гипертензией после COVID-19, т.е. при формировании естественного адаптивного иммунитета, а также в поствакцинальном периоде при формировании «гибридного» иммунитета, доказывают актуальность изучения данного вопроса.

Формирование постинфекционного иммунитета у пациентов с ЭАГ II стадии, несмотря на легкое течение COVID-19, сопровождается длительным (до 6 месяцев) патофизиологически значимым повышением в сыворотке крови уровня М-СФС со снижением IL-34. Взаимодействие между М-СФС и IL-34 (известны как «двойные» цитокины) является частью системы сдержива-

ТАБЛИЦА 1. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УРОВНЕЙ М-СФС, VEGF-A И IL-34 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ЭАГ II СТАДИИ ПОСЛЕ 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 AFTER COVID-19, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

	Пациенты с ЭАГ II стадии и COVID-19 (без пневмонии) Patients with EH and COVID-19 (without pneumonia) (n = 32)			
	до before	через 10 дней 10 days after	через 30 дней 30 days after	через 180 дней 180 days after
	1	2	3	4
М-СФС, пг/мл M-CSF, pg/ml	320 (297-351)	399 (296-468)* ¹	478 (321-650)* ^{1,2}	463 (303-634)* ^{1,2}
VEGF-A, пг/мл VEGF-A, pg/ml	230 (171-319)	222 (168-269)	227 (165-298)	251 (145-307)
IL-34, пг/мл IL-34, pg/ml	147 (121-169)	93 (88,6-102,0)* ¹	66 (57-94)* ^{1,2}	156 (109-178)* ^{2,3}

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

Note. *, the 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 М-CSF, VEGF-A И IL-34 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ЭАГ II СТАДИИ И COVID-19 В АНАМНЕЗЕ ПОСЛЕ ВАКЦИНАЦИИ, Ме (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 2. COMPARATIVE CHARACTERISTICS SERUM M-CSF, VEGF-A AND IL-34 LEVELS OF PATIENTS WITH STAGE II EH AND COVID-19 IN THE ANAMNESIS AFTER THE VACCINATION, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

	Пациенты с ЭАГ II стадии и COVID-19 в анамнезе Patients with EH and COVID-19 in the anamnesis (n = 32)			
	до вакцинации before vaccination	через 21 день после 1-го компонента 21 days after 1 st component	через 21 день после 2-го компонента 21 days after 2 nd component	через 180 дней после 1-го компонента 180 days after 1 st component
	1	2	3	4
M-CSF, пг/мл M-CSF, pg/ml	347 (176-379)	358 (201-375)	520 (397-673)*1, 2	439 (268-460)*1, 2, 3
VEGF-A, пг/мл VEGF-A, pg/ml	270 (210-357)	298 (201-348)	281 (197-322)*2	304 (209-342)
IL-34, пг/мл IL-34, pg/ml	87,3 (51-117)	124 (93,6-147,0)*1	92,8 (58,8-121,0)	97 (86,5-125,0)

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

ТАБЛИЦА 3. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УРОВНЕЙ М-CSF, VEGF-A И IL-34 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ЭАГ II СТАДИИ И БЕЗ COVID-19 В АНАМНЕЗЕ ПОСЛЕ ВАКЦИНАЦИИ, Ме (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 3. COMPARATIVE CHARACTERISTICS SERUM M-CSF, VEGF-A AND IL-34 LEVELS OF PATIENTS WITH STAGE II EH WITHOUT COVID-19 IN THE ANAMNESIS AFTER THE VACCINATION, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

	Пациенты с ЭАГ II стадии и без COVID-19 в анамнезе Patients with EH and without COVID-19 in the anamnesis (n = 27)			
	до вакцинации before vaccination	через 21 день после 1-го компонента 21 days after 1 st component	через 21 день после 2-го компонента 21 days after 2 nd component	через 180 дней после 1-го компонента 180 days after 1 st component
	1	2	3	4
M-CSF, пг/мл M-CSF, pg/ml	271 (165-384)	408 (215-471)*1	402 (373-507)*1, 2	255 (120-374)*2, 3
VEGF-A, пг/мл VEGF-A, pg/ml	328 (262-428)	306 (227-401)	348 (250-423)	315 (285-470)
IL-34, пг/мл IL-34, pg/ml	124 (97-152)	96 (54,2-113,0)*1	64,3 (44,0-71,4)*1, 2	103 (91,5-132,0)*3

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

ния избыточной иммунной реакции при вирусных заболеваниях [8], в том числе через поддержание дифференцировки макрофагов в сторону M2-фенотипа, патогенетически определяя профилактику постинфекционного ускорения прогрессирования атеросклероза, эндотелиальной дисфункции, что значимо при гипертензии и нарушено в постковидном периоде в обследованной группе больных. Есть ряд публикаций, описывающих несколько M-CSF-потенцируемых

сигнальных путей клетки, которые приводят к производству VEGF-A [12]: M-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 [9], что могло позволить выявленный длительно сохраняющейся высокий уровень M-CSF оценить как защитный фактор, но у больных ЭАГ II стадии через 6 месяц после

перенесенного COVID-19 в 75% случаев сохраняется отмена данного протективного дозозависимого эффекта, который мог бы определять формирование более выраженной коронарной коллатеральной сети, защищая миокард. В результате можно говорить о «побочных эффектах» в виде пролонгированного дисбаланса в системе М-CSF, IL-34, VEGF-A (ассоциировано с повышением риска отдаленных сердечно-сосудистых осложнений) при формировании постинфекционного иммунного ответа у пациентов с ЭАГ II стадии, даже при легком течении COVID-19.

Учитывая данные о риске вторичного инфицирования при контакте с другими вариантами коронавируса стал актуальным вопрос о вакцинации переболевших и формировании «гибридного» иммунитета [5, 6]. Анализ динамики изменения содержания М-CSF, IL-34, VEGF-A в поствакцинальном периоде в сыворотке крови больных ЭАГ II стадии с COVID-19 в анамнезе, определил отсутствие изменения содержания М-CSF, VEGF-A после введения первого компонента «Гам-Ковид-Вак» на фоне повышения уровня IgG к SARS-CoV-2, что позволяет говорить об иммуногенности первого компонента без запуска М-CSF-зависимого пути потенциального прогрессирования ЭАГ, при этом важно отметить кратковременное (в течение 21 дня) повышение IL-34, что носит протективный характер и позитивно отличает данный процесс от формирования постинфекционного иммунитета. Введения второго компонента «Гам-Ковид-Вак» характеризуется повышением М-CSF, сопоставимое с постинфекционной динамикой и у 14 пациентов сохраняется через 180 дней от начала вакцинации, но с компенсаторным ростом VEGF-A. Эти пациенты имели специфические IgG к SARS-CoV-2 перед вакцинацией. Данная тенденция, учитывая клиническую нестабильность АД в этот период в указанной группе больных, носит спорный характер и позволяет предположить, учитывая достаточную иммуногенность первого компонента «Гам-Ковид-Вак», актуальность вакцинации больных ЭАГ II стадии с COVID-19 в анамнезе (при формировании «ги-

бридного» иммунитета) однократно, что и предполагается при доступности однокомпонентных вакцин (возможно, имеет значение сохранность постинфекционного иммунитета в предвакцинальном периоде). Полученные в ходе исследования данные об значимости особенностей цитокинового компонента иммунного ответа у ранее инфицированных SARS-CoV-2 больных на введение вакцины находят подтверждение по данным Petrone L. и соавт. [10].

При сопоставлении динамики содержания М-CSF, IL-34 и VEGF-A у больных ЭАГ II стадии без COVID-19 в анамнезе в поствакцинальном периоде с данными при формировании «гибридного» иммунитета регистрируется повышение М-CSF через 21 день после введения первого и второго компонента на фоне снижения IL-34, но с восстановлением довакцинальных концентраций у 100% пациентов к 180-му дню (без клинических признаков нестабильности АД), при этом регистрируется сопоставимая иммуногенность при анализе уровней IgG к SARS-CoV-2 через 180 дней.

Заключение

В отношении пациентов с ЭАГ II имеет значение патогенетическая «суммация» доинфекционного дисбаланса цитокинового регулирования и постковидных изменений, что у ряда пациентов может быть причиной пролонгации стабилизации баланса системы М-CSF-IL-34-VEGF-A в поствакцинальном периоде при формировании «гибридного» иммунитета. Вакцинация больных ЭАГ до инфицирования имеет патогенетически обоснованные преимущества при сопоставлении с механизмами постинфекционного и гибридного иммунитета, что актуализирует значимость повышения процента вакцинации среди пациентов с гипертензией, ранее не инфицированных SARS-CoV-2. Необходимо продолжение исследования с расширением числа наблюдений для определения предикторов поствакцинальных М-CSF-опосредованных особенностей у пациентов с ЭАГ II при формировании «гибридного иммунитета».

Список литературы / References

1. Радаева О.А., Симбирцев А.С., Селезнева Н.М., Искандярова М.С. 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. [Radaeva O.A., Simbirtsev A.S. Serum macrophage colony-stimulating factor levels in patients with essential hypertension after SARS-CoV-2 infection. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2020, Vol. 23, no. 4, pp. 429-436. (In Russ.)]
2. Babapoor-Farrokhran S., Gill D., Walker J., Rasekhi R.T., Bozorgnia B., Amanullah A. Myocardial injury and COVID-19: Possible mechanisms. *Life Sci.*, 2020, Vol. 15, no. 253, 117723. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117723.
3. Berg K.E., Ljungcrantz I., Andersson L., Bryngelsson C., Hedblad B., Fredrikson G.N., Nilsson J., Björkbacka H. Elevated CD14⁺CD16⁻ monocytes predict cardiovascular events. *Circ. Cardiovasc. Genet.*, 2012, Vol. 5, pp. 122-131.
4. Carod-Artal F.J. Neurological complications of coronavirus and COVID-19. *Rev. Neurol.*, 2020, Vol. 70, no. 9, pp. 311-322.

5. Crotty S. Hybrid immunity. *Science*, 2021, Vol. 372, no. 6549, pp. 1392-1393.
6. Frieman M., Harris A.D., Herati R.S., Krammer F., Mantovani A., Rescigno M., Sajadi M.M., Simon V. SARS-CoV-2 vaccines for all but a single dose for COVID-19 survivors. *EBioMedicine*, 2021, Vol. 68, 103401. doi: 10.1016/j.ebiom.2021.103401.
7. 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.
8. Muñoz-García J., Cochoneau D., Télétchéa S., Moranton E., Lanoe D., Brion R., Lézot F., Heymann M.F., Heymann D. The twin cytokines interleukin-34 and CSF-1: masterful conductors of macrophage homeostasis. *Theranostics*, 2021, Vol. 11, no. 4, pp. 1568-1593.
9. Okazaki T., Ebihara S., Asada M., Yamanda S., Saijo Y., Shiraishi 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.
10. Petrone L., Petruccioli E., Vanini V., Cuzzi G., Najafi Fard S., Alonzi T., Castilletti C., Palmieri F., Gualano G., Vittozzi P., Nicastrì E., Lepore L., Antinori A., Vergori A., Caccamo N., Cantini F., Girardi E., Ippolito G., Grifoni A., Goletti D. A whole blood test to measure SARS-CoV-2-specific response in COVID-19 patients. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2021, Vol. 27, no. 2, pp. 286.e7-286.e13.
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.

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, 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

Костина Ю.А. — к.м.н., доцент кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева», г. Саранск, Россия

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

Машнина С.В. — аспирант кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева», г. Саранск, Россия

Негоднова Е.В. — ассистент кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева», г. Саранск, Россия

Бесшейпов Д.Д. — аспирант кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева», г. Саранск, Россия

Authors:

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

Kostina Yu.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Immunology, Microbiology and Virology, N. Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Russian Federation

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

Mashnina S.V., Postgraduate Student, Department of Immunology, Microbiology and Virology, N. Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Russian Federation

Negodnova E.V., Assistant Professor, Department of Immunology, Microbiology and Virology, N. Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Russian Federation

Besheyonov D.D., Postgraduate Student, Department of Immunology, Microbiology and Virology, N. Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Russian Federation

ДИНАМИКА ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ ПРИ ИММУНИЗАЦИИ ПОЛИОМИЕЛИТНОЙ ВАКЦИНОЙ С АКДС *IN VIVO*

Самойликов Р.В.¹, Кузнецова В.С.², Намиот Е.Д.², Краскевич Д.А.¹,
Леонова А.Ю.¹, Греченко В.В.³

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

³ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. Иммунизация цельноклеточной адсорбированной коклюшно-дифтерийно-столбнячной вакциной (АКДС) в редких случаях способна вызывать различные нежелательные эффекты (фебрильные судороги, нейромиегический синдром и др.). Во многих работах указывается, что развитие данных патологических процессов часто связывают с активностью цитокинов. Существуют специфические про- и противовоспалительные цитокины, высокий уровень которых связывают с развитием неврологических осложнений после АКДС. Например, IL-6 и IL-1 часто связывают с развитием фебрильных судорог и энцефалопатий. С другой стороны, существуют клинические данные, указывающие на снижение частоты осложнений после сочетанного введения вакцинных препаратов. Таким образом, представляет особый интерес исследование цитокинового профиля при комбинированном введении АКДС с другой вакциной, что в ряде случаев приводит к снижению количества осложнений и лучшей переносимости вакцины. Вакцина от полиомиелитной инфекции в настоящее время является одной из самых безопасных. Более того, в связи с тем, что данные препараты используются уже достаточно давно и интерес к ним не такой высокий, как раньше, количество новых экспериментальных работ конкретно по цитокиновым профилям многих вакцин ограничено. В основном все существующие работы направлены на изучение различных патологических процессов, связанных с введением вакцинного препарата. Это приводит к тому, что механизм формирования иммунного ответа остается не до конца изученным. Целью данной работы стало изучение воздействия сочетанного введения вакцин на цитокиновый профиль *in vitro*. Были получены результаты для следующих цитокинов: IL-2, RANTES, Eotaxin, MIP-1 β , IL-12p40, IL-4, IL-6, IL-1 α и G-CSF в сыворотке экспериментальных животных после комбинированного введения АКДС и полиомиелитной вакцины и отдельно полиомиелитной вакцины. Цитокиновый профиль определяли с помощью флуоресцентного

Адрес для переписки:

Самойликов Роман Владимирович
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин
и сывороток имени И.И. Мечникова»
141241, Россия, Московская обл, г. Пушкино,
ул. Солнечная, 3, кв. 5.
Тел.: 8 (926) 594-83-97.
E-mail: Roma_sam78@mail.ru

Address for correspondence:

Samoylikov Roman V.
I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera
141241, Russian Federation, Moscow Region, Pushkino,
Solnechnaya str., 3, apt 5.
Phone: 7 (926) 594-83-97.
E-mail: Roma_sam78@mail.ru

Образец цитирования:

Р.В. Самойликов, В.С. Кузнецова, Е.Д. Намиот,
Д.А. Краскевич, А.Ю. Леонова, В.В. Греченко
«Динамика продукции цитокинов при иммунизации
полиомиелитной вакциной с АКДС *in vivo*»
// Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24,
№ 4. С. 539-546.
doi: 10.46235/1028-7221-1075-DOC

© Самойликов Р.В. и соавт., 2021

For citation:

R.V. Samoylikov, V.S. Kuznetsova, E.D. Namiot,
D.A. Kraskevich, A.Yu. Leonova, V.V. Grechenko
“Dynamics of cytokine production during immunization with polio vaccine
with DTP *in vivo*”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 4, pp. 539-546.
doi: 10.46235/1028-7221-1075-DOC
DOI: 10.46235/1028-7221-1075-DOC

ридера MAGPIX компании Bio-Rad. В работе выявлены и описаны закономерности изменения цитокинового профиля как при самостоятельном введении полиомиелитной вакцины, так и в комплексе с АКДС-вакциной. Полученные в ходе работы результаты могут быть в дальнейшем использованы для более подробного изучения механизма формирования иммунного ответа на комбинированное введение вакцин и дальнейшего усовершенствования существующих препаратов.

Ключевые слова: IL-2, IL-4, IL-6, G-CSF, IL-1 α , IL-12p40, Eotaxin, MIP-1 β , мыши, АКДС, Полимикс, интерлейкины

DYNAMICS OF CYTOKINE PRODUCTION DURING IMMUNIZATION WITH POLIO VACCINE WITH DTP *IN VIVO*

Samoylikov R.V.^a, Kuznetsova V.S.^b, Namiot E.D.^b, Kraskevich D.A.^a, Leonova A.Yu.^a, Grechenko V.V.^c

^a I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

^b I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

^c N. Pirogov Russian National Research Medical University (Pirogov Medical University), Moscow, Russian Federation

Abstract. Immunization with whole-cell adsorbed diphtheria-tetanus-pertussis vaccine (DTP) can cause various undesirable effects. The most common complications are febrile seizures, neuromyalgic syndrome and, in more severe cases, various encephalopathies. The listed complications are quite dangerous, especially in childhood, when primary DTP immunization is carried out. Many studies indicate that the development of these pathological processes is often associated with the action of various cytokines produced in response to vaccination. There are specific pro- and anti-inflammatory cytokines, the high levels of which are associated with the development of neurological complications after DTP vaccination. For example, IL-6 and IL-1 are often associated with the development of febrile seizures and encephalopathies. On the other hand, there are clinical data indicating a decrease in the incidence of complications after concomitant administration of vaccines. Thus, it is of particular interest to study the cytokine profile after the combined administration of DTP with another vaccine, which in some cases leads to a decrease in the number of complications and better tolerance of the vaccine. The vaccine against polio infection is currently one of the safest, but its effect on the level of cytokines is extremely poorly understood. Moreover, due to the fact that these drugs have been used for a long time and the interest in them is not as high as before, the number of new experimental works specifically on the cytokine profiles of many vaccines is limited. Basically, all existing work is aimed at studying various pathological processes associated with the introduction of a vaccine preparation. This leads to the fact that the mechanism of the formation of the immune response remains not fully understood. The aim of this work was to study the effect of combined vaccine administration on the cytokine profile. Results were obtained for the following cytokines: IL-2, RANTES, Eotaxin, MIP-1 β , IL-12p40, IL-4, IL-6, IL-1 α , and G-CSF determined in murine serum samples after combined administration of DTP and polio vaccine to the experimental animals. The cytokine profile was determined using Bio-Rad MAGPIX fluorescence reader. The study revealed and described the patterns of changes in the cytokine profile, both with the administration of the poliomyelitis vaccine alone, or in combination with the DTP vaccine. The results obtained in this work may be further used for more detailed studies on the mechanism of the immune response formation upon combined administration of vaccines and further improvement of existing drugs.

Keywords: IL-2, IL-4, IL-6, G-CSF, IL-1 α , IL-12p40, Eotaxin, MIP-1 β , mice, DPT, Polymilx, interleukins

Введение

Одним из важных направлений медицины в профилактике инфекционных заболеваний является применение вакцин. Среди большого разнообразия иммунобиологических препаратов, вак-

цина против дифтерии столбняка и коклюша (АКДС) прочно занимает свое место практически во всех национальных прививочных календарях. Из-за значительных побочных эффектов, таких как повышение температуры, местные реакции и более серьезных, но редких побочных эффектов,

во многих странах были введены субъединичные бесклеточные вакцины. С одной стороны, эти вакцины решили проблему реактогенности, но в то же время бесклеточные вакцины оказались менее эффективны, чем классические, что способствовало возрождению коклюша в странах, перешедших к бесклеточным вакцинам [2, 3]. Таким образом, в настоящее время улучшение вакцины АКДС идет по двум направлениям. Для бесклеточных вакцин – повышение концентрации или введение дополнительных антигенов, а также подбор новых адъювантов для увеличения эффективности [7]. Для цельноклеточной вакцины АКДС исследования идут в направлении снижения нежелательных эффектов путем комбинирования с другими вакцинами [5].

Введение вакцин вызывает иммунную реакцию как в месте введения, так и на системном уровне, что проявляется изменением цитокинового профиля как в месте введения, так и в кровотоке [6, 9]. Исследования цитокинового профиля при воздействии вакцин необходимы для изучения механизма формирования иммунитета с целью создания более совершенных вакцин.

В настоящей работе исследуется цитокиновый профиль (IL-2, RANTES, Eotaxin, MIP-1 β и IL-12p40, IL-4, IL-6, IL-1 α , G-CSF) в сыворотке экспериментальных животных после комплексной вакцинацией полиомиелитной и АКДС вакциной по сравнению с полиомиелитной вакциной.

Материалы и методы

В работе использовались мышлинейные BALB/c самки с весом 16–18 г, полученные из питомника «Стезар» (Россия). Животные содержались в условиях вивария НИИВС им. И.И. Мечникова. Мыши были разделены на 3 группы.

1-я группа состояла из 16 мышей и получала вакцину АКДС производства ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России» (Россия) и вакцину от полиомиелита («Полимилекс» производства Bilthoven Biologicals, В.В. (Нидерланды) и вакцина полиомиелитная пероральная, двухвалентная живая аттенуированная 1-го, 3-го типов «БиВак полио» производства ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Россия)). Вакцину АКДС на 1-й день и повторно на 14-й день от начала эксперимента, а также вместе с ней на 1-й день использовалась инактивированная вакцина от полиомиелита «Полимилекс», на 14-й день использовалась вакцина «БиВак».

2-я группа состояла из 16 мышей и получала инактивированную вакцину от полиомиелита на 1-й день и вакцину полиомиелитную пероральную на 14-й день от начала эксперимента.

3-я группа была контрольной, состояла из 6 мышей.

Вакцину АКДС вводили всем мышам внутривенно. Вакцину «Полимилекс» вводили подкожно. Вакцину АКДС и «Полимилекс» вводили в количестве 1/320 дозы человека, разведенных стерильно в 100 мкл физиологического раствора производства ООО «Гротекс» (Россия) на одну мышь. Дозу для введения рассчитывали пересчетом однократной дозы для введения человеку на вес мышши. Вакцину «БиВак полио» вводили мышам перорально при помощи микропипетки. Вакцину «БиВак полио» вводили в количестве 1/320 дозы человека, разведенных стерильно в 40 мкл физиологического раствора на одну мышь. Дозу для введения рассчитывали так же пересчетом однократной дозы для введения человеку на вес мышши.

Через один день после первой и второй вакцинации, а также через 45 и 75 дней после начала эксперимента, у 4 мышей в каждой группе из хвостовой вены отбирали кровь в капиллярные пробирки Microvette Sarstedt (Германия), отделяли плазму. Определение цитокинового профиля проводили с использованием флуоресцентного ридера MAGPIX компании Bio-Rad. Для измерения использовался набор реактивов Bio-PlexPro Mouse Cytokine 23-plex компании Bio-Rad. Работа выполнена с использованием оборудования центра коллективного пользования НИИВС им. И.И. Мечникова.

Статистическую обработку проводили с применением пакета программ Excel (Microsoft, США) с использованием U-критерия Манна–Уитни. Нормальные значения представлены на диаграммах в виде поля ограниченного первым и третьим квартилем массива контрольных проб. Уровни цитокинов представлены в виде медианы с отклонениями представленными в виде максимального и минимального значения выборки. Статистические оценки считались значимыми при значении $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования цитокина IL-6 при введении мышам вакцин через день после первой вакцинации показали достоверные различия. Уровень IL-6 в группе получавшей вакцину АКДС и «Полимилекс» был выше, чем в группе получавшей только вакцину «Полимилекс» в 2 раза. Через день после второй вакцинации, уровень IL-6 в группе получавшей АКДС был выше в полтора раза по сравнению с группой, получавшей полиомиелитную вакцину. На 45-й день уровень IL-6 в группе получавшей вакцину АКДС снизился и оставался таким до окончания эксперимента. По результатам мы видим, что группа,

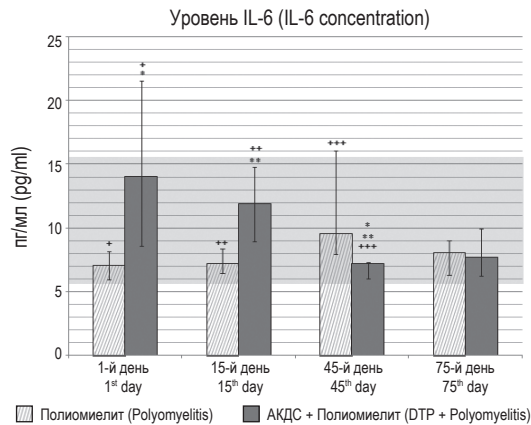


Рисунок 1. Концентрация IL-6 в сыворотке крови мышей
Примечание. По оси ординат концентрация в пг/мл, область контрольных значений на графике представлена как серое поле; *, ** – $p \leq 0,05$ при сравнении внутри группы получившей одну и ту же вакцину; +, ++, +++ – $p \leq 0,05$ при сравнении между группами получавшими разные вакцины.

Figure 1. IL-6 concentration in mice blood serum

Note. On the ordinate axis, concentration in pg/ml, the area of control values on the graph is presented as a gray field; *, **, $p \leq 0.05$ when compared within the group that received the same vaccine; +, ++, +++, $p \leq 0.05$ when compared between groups receiving different vaccines.

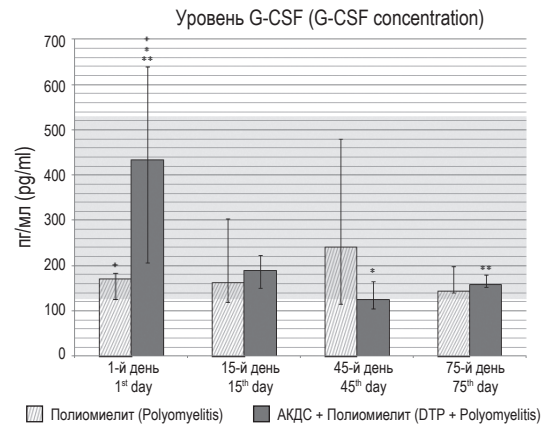


Рисунок 3. Концентрация G-CSF в сыворотке крови мышей

Примечание. По оси ординат концентрация в пг/мл, область контрольных значений на графике представлена как серое поле; *, ** – $p \leq 0,05$ при сравнении внутри группы получившей одну и ту же вакцину; + – $p \leq 0,05$ при сравнении между группами получавшими разные вакцины.

Figure 3. G-CSF concentration in mice blood serum

Note. On the ordinate axis, concentration in pg/ml, the area of control values on the graph is presented as a gray field; *, **, $p \leq 0.05$ when compared within the group that received the same vaccine; +, $p \leq 0.05$ when compared between groups receiving different vaccines.

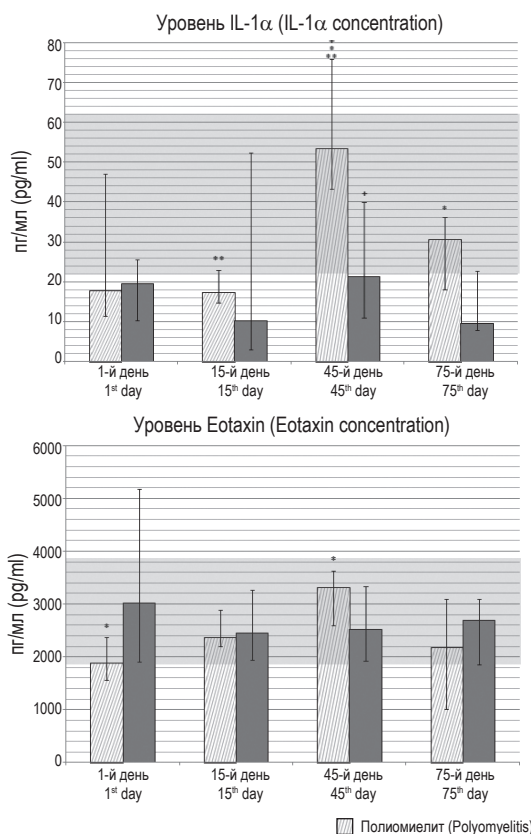
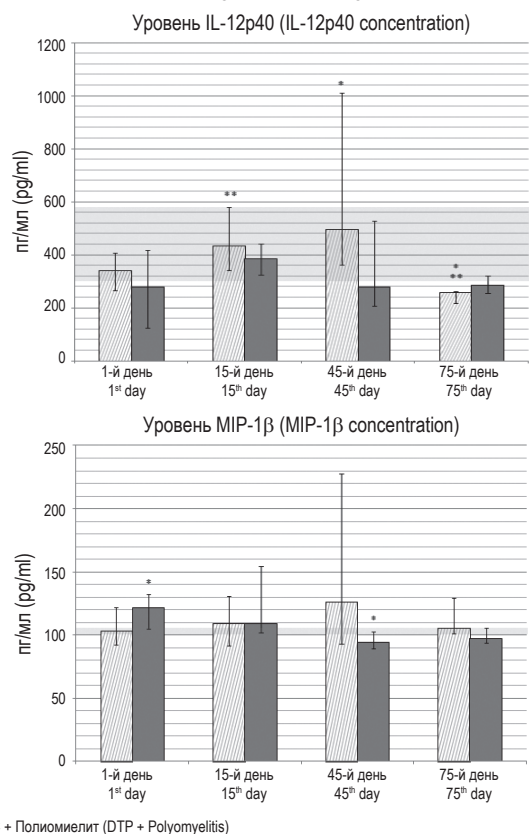


Рисунок 2. Концентрации IL-1α, Eotaxin, IL-12p40, MIP-1β в сыворотке крови мышей

Примечание. По оси ординат концентрация в пг/мл, область контрольных значений на графике представлена как серое поле; *, ** – $p \leq 0,05$ при сравнении внутри группы получившей одну и ту же вакцину; + – $p \leq 0,05$ при сравнении между группами получавшими разные вакцины.

Figure 2. Concentrations of IL-1α, Eotaxin, IL-12p40, MIP-1β in mice blood serum

Note. On the ordinate axis, concentration in pg/ml, the area of control values on the graph is presented as a gray field; *, **, $p \leq 0.05$ when compared within the group that received the same vaccine; +, $p \leq 0.05$ when compared between groups receiving different vaccines.



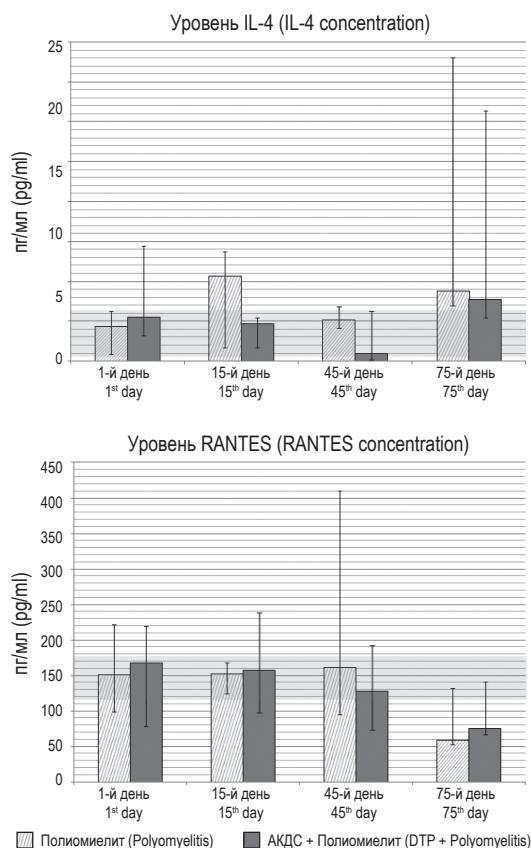


Рисунок 4. Концентрации IL-4 и RANTES в сыворотке крови мышей

Примечание. По оси ординат концентрация в пг/мл, область контрольных значений на графике представлена как серое поле.

Figure 4. IL-4 and RANTES concentration in mice blood serum
Note. On the ordinate axis, concentration in pg/ml, the area of control values on the graph is represented as a gray field.

получавшая АКДС-вакцину, отвечала подъемом IL-6 на введение вакцины, в то время как в группе, получавшей полиомиелитную вакцину, изменение уровня IL-6 в ответ на введение препарата не фиксировалось (рис. 1).

По результатам исследования уровней IL-1 α , Eotaxin, IL-12p40 для полиомиелитной вакцины выявлен ряд закономерностей. Для IL-1 α показано наличие достоверных различий между группами на 45 день эксперимента, где уровень IL-1 α был выше в группе получавшей только полиомиелитную вакцину. Внутри этой группы уровень IL-1 α на 45-й день был в 3 раза выше чем уровень этих интерлейкинов после вакцинации. Следует отметить что введение комплексной вакцины на уровень IL-1 α практически не влияло. В группе получавшей полиомиелитную вакцину, уровень Eotaxin на 45 день эксперимента был выше, чем в первый день эксперимента. В этой же группе уровень IL-12p40 был максимальным, так же на 45-й день эксперимента и достоверно снижился

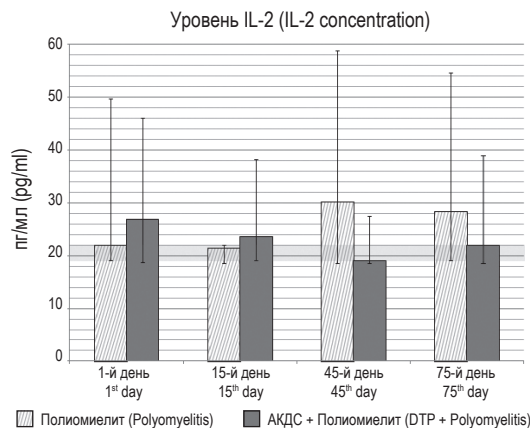


Рисунок 5. Концентрация IL-2 в сыворотке крови мышей
Примечание. По оси ординат концентрация в пг/мл, область контрольных значений на графике представлена как серое поле.

Figure 5. IL-2 concentration in mice blood serum
Note. On the ordinate axis, concentration in pg/ml, the area of control values on the graph is represented as a gray field.

к 75 дню. Следует отметить что уровень IL-12p40 на 75-й день эксперимента опустился ниже контрольных значений. Обобщая результаты по этим графикам, в группе получившей полиомиелитную вакцину следует отметить, что максимальных уровней эти цитокины достигали к 45 дню эксперимента, значительно позже после проведения последней вакцинации. На графике, где отражены уровни MIP-1 β , в группе, получавшей вакцину от полиомиелита в комплексе с АКДС, показано увеличение уровня MIP-1 β через день после вакцинации и его снижение к 45-му дню (рис. 2).

Исследование G-CSF показало увеличение уровня данного цитокина после первой вакцинации, в группе вакцинированной двумя вакцинами, более чем в 2 раза по отношению к группе, вакцинированной только полиомиелитной вакциной. Уровень G-CSF в этой группе был максимальный в первый день, при второй вакцинации его уровень практически не изменялся и затем последовательно снижился к 45-му и 75-му дню эксперимента (рис. 3).

В представленных результатах по изменению уровня цитокинов IL-2, RANTES, IL-4 достоверных различий между группами и по отношению к контрольным значениям выявлено не было (рис. 4, 5).

При анализе уровня сывороточного IL-2 изменений и отклонений от нормальных значений в обеих группах выявлено не было. Имеются данные по схожему эксперименту с применением вакцины АКДС с бесклеточным коклюшным компонентом, в котором было выявлено повышение уровня IL-2 через 2 часа после вакцинации

с его последующим снижением до нормальных значений [9]. Но в связи с различием во времени забора крови, использованием цельноклеточной АКДС в комплексе с полиомиелитной вакциной в нашем эксперименте, объяснение данного расхождения после введения вакцин очевидно и многовариантно.

При анализе уровня ИЛ-4 в нашем исследовании статистических отклонений от контрольных значений, как и в эксперименте с вакциной АКДС с бесклеточным коклюшным компонентом, выявлено не было [9]. Следует отметить, что при изучении течения заболевания коклюшем у детей уровень ИЛ-4 в сыворотке повышался в среднем у 40% пациентов, а у остальных находился в пределах нормальных значений, что может подтверждать полученные результаты [4].

Измерение уровня ИЛ-6 выявило различия между группами. Показано, что уровень ИЛ-6 в группе получавшей АКДС был достоверно выше после вакцинации по сравнению с группой получавшей только полиомиелитную вакцину. Данные результаты совпадают с клиническими данными по ИЛ-6 при применении прививок у детей [8]. И хотя пиковых значений ИЛ-6 достигает через 12 часов после введения вакцины, через 24 часа его уровень остается достаточно высоким для достоверных отличий между группами и для регистрации падения этого уровня на 30-й день после вакцинации в нашем эксперименте.

При анализе изменений уровня G-CSF было выявлено, что группа получавшая вакцину АКДС после первого введения препарата имела более высокий уровень этого цитокина, чем группа, которой вводили только полиомиелитную вакцину и снижался на 45-й и 75-й день исследования. G-CSF — это цитокин, продуцируемый многими видами клеток, такими как эндотелиальные клетки, лимфоциты и макрофаги. Показано, что его введение после применения вакцин способствует более быстрому образованию антител, а в некоторых случаях его исследуют как адъювант [1]. Вместе с тем следует учитывать возможность адъювантов на основе солей алюминия, которые использовались в вакцине АКДС, в эксперименте

оказывать некоторую роль в повышении уровня G-CSF [10]. Относительно наших результатов, мы полагаем, что повышение уровня G-CSF в основном вызвано антигенными компонентами вакцины АКДС, так как при повторном введении вакцины уровень G-CSF повышался слабо по отношению к первому введению и был сходным с уровнем вызванным введением полиомиелитной вакцины, где отсутствовал адъювант.

Анализ поведения интерлейкинов при применении вакцины от полиомиелита выявил ряд закономерностей. При исследовании уровня ИЛ-1 α , Eotaxin, ИЛ12p40, везде на 45-й день эксперимента (через 30 дней после применения живой вакцины) значения этих цитокинов достигали максимального уровня с достоверными отличиями как внутри групп, так и между ними. Такая же картина наблюдалась у ИЛ-2, G-CSF, MIP-1 β , ИЛ-6, но повышение их уровня на 45-й день эксперимента было менее выражено. В группе, получавшей полиомиелитную вакцину в комплексе с АКДС, подобные закономерности отмечены не были, и на передний план выходили изменения, связанные с уровнем G-CSF и ИЛ-6.

Заключение

Проанализировав и обобщив изменения цитокинового профиля, можно сделать заключение, что цитокиновый профиль при применении полиомиелитной вакцины создает свой уникальный цитокиновый «отпечаток», который кардинально изменяется, если вместе с полиомиелитной вакциной применяется АКДС-вакцина. Описанный эффект может объяснять ряд клинических наблюдений, связанных со снижением побочных эффектов при комбинированном применении вакцин. Вместе с тем накопление данных по влиянию вакцин на выработку цитокинов, что является отражением функционирования иммунной системы, может привести к созданию более эффективных вакцинных комбинаций как в плане безопасности, так и в повышении иммуногенности.

Список литературы / References

1. Бабаченко И.В., Ярв Н.Э., Калинина Н.М., Давыдова Н.И. Особенности иммунной реактивности детей первого года жизни, больных коклюшем // Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Сперанского, 2008. Т. 87. № 3. С. 62-67. [Babachenko I.V., Yarv N.E., Kalinina N.M., Davidova N.I. Peculiarities of immune reactivity in infants with whooping cough. *Pediatrics. Zhurnal imeni G.N. Speranskogo = Pediatrics. G. Speransky Journal*, 2008, Vol. 87, no. 3, pp. 62-67. (In Russ.)]

2. Зайцев Е. М., Поддубиков А.В., Брицина М.В., Озерецковская М.Н., Мерцалова Н.У., Бажанова И.Г. Профили цитокинов у мышей при иммунизации АКДС-вакциной с бесклеточным коклюшным компонентом //Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2016. № 6. С. 49-53. [Zaitsev E.M., Poddubikov A.V., Britsina M.V., Ozeretskovskaya M.N., Mertsalova N.U., Bazhanova I.G. Profiles of cytokines in mice during immunization with ADTP-vaccine with acellular pertussis component. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2016, no. 6, pp. 49-53. (In Russ.)]
3. Aaby P., Andersen A., Ravn H., Zaman K. Co-administration of BCG and diphtheria-tetanus-pertussis (DTP) vaccinations may reduce infant mortality more than the WHO-schedule of BCG first and then DTP. A re-analysis of demographic surveillance data from rural Bangladesh. *EBioMedicine*, 2017, Vol. 22, pp. 173-180.
4. Burdin N., Handy L.K., Plotkin S.A. What is wrong with pertussis vaccine immunity? The problem of waning effectiveness of pertussis vaccines. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2017, Vol. 9, no. 12, a029454. doi: 10.1101/cshperspect.a029454.
5. Choi Y.H., Campbell H., Amirthalingam G., van Hoek A.J., Miller E. Investigating the pertussis resurgence in England and Wales, and options for future control. *BMC Med.*, 2016, Vol. 14, no. 1, pp. 1-11.
6. Kashiwagi Y., Miyata A., Kumagai T., Maehara K., Suzuki E., Nagai T., Nakayama T. Production of inflammatory cytokines in response to diphtheria-pertussis-tetanus (DPT), haemophilus influenzae type b (Hib), and 7-valent pneumococcal (PCV7) vaccines. *Hum. Vaccin. Immunother.*, 2014, Vol. 10, no. 3, pp. 677-685.
7. Lankarani K.B., Talebzadeh M., Eshraghian A., Malek-Hosseini S.A. Granulocyte colony stimulating factor adjuvant role on the immunological response to hepatitis B vaccine in patients with cirrhosis: a double blind randomized placebo controlled trial. *Hep. Mon.*, 2014, Vol. 14, no. 5, e15447. doi: 10.5812/hepatmon.15447.
8. Nakayama T. An inflammatory response is essential for the development of adaptive immunity-immunogenicity and immunotoxicity. *Vaccine*, 2016, Vol. 34, no. 47, pp. 5815-5818.
9. Plotkin S.A. Pertussis: pertussis control strategies and the options for improving current vaccines. *Expert Rev. Vaccines*, 2014, Vol. 13, no. 9, pp. 1071-1072.
10. Pourcyrous M., Korones S.B., Crouse D., Bada H.S. Interleukin-6, C-reactive protein, and abnormal cardiorespiratory responses to immunization in premature infants. *Pediatrics*, 1998, Vol. 101, no. 3, e3. doi: 10.1542/peds.101.3.e3.

Авторы:

Самойликов Р.В. — научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Кузнецова В.С. — студент ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

Намиот Е.Д. — студент ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

Authors:

Samoylikov R.V., Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Kuznetsova V.S., Student, First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Namiot E.D., Student, First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Краскевич Д.А. — лаборант-исследователь лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Леонова А.Ю. — младший научный сотрудник лаборатории микробиологии условно-патогенных бактерий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Греченко В.В. — к.м.н., доцент кафедры иммунологии МБФ, заведующий учебной частью ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Kraskevich D.A., Clinical Laboratory Assistant, Laboratory of Molecular Immunology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Leonova A.Yu., Junior Research Associate, Laboratory of Microbiology of Opportunistic Bacteria, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Grechenko V.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Immunology, N. Pirogov Russian National Research Medical University (Pirogov Medical University), Moscow, Russian Federation

Поступила 02.08.2021
Принята к печати 20.08.2021

Received 02.08.2021
Accepted 20.08.2021

ПОКАЗАТЕЛИ ВРОЖДЕННОГО И АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА ПАЦИЕНТОВ ПРИ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ КОРОНАВИРУСОМ SARS-CoV-2

Ситдикова Т.С.^{1, 2}, Кабиева А.А.², Просекова Е.В.¹

¹ ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

² КГБУЗ «Владивостокская поликлиника № 3», г. Владивосток, Россия

Резюме. В реализации заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2, ведущими патогенетическими механизмами являются дисбаланс иммунного ответа и нарушение цитокиновой регуляции с недостаточным синтезом интерферонов при инициации болезни и последующей гиперпродукцией провоспалительных цитокинов, приводящие к выраженному воспалению с повреждением легочной паренхимы.

Цель — мониторинг содержания цитокинов, антител и иммунокомпетентных клеток, биомаркеров воспаления у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, вызванную COVID-19, в течение заболевания и периода реконвалесценции.

В исследование включено 60 пациентов старше 18 лет с тяжелым и среднетяжелым течением болезни, вызванной COVID-19. Верификацию диагноза проводили согласно с временными методическими рекомендациями Министерства здравоохранения Российской Федерации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» версия 11 (17.05.2021). Анализировали медицинские документы, проводили оценку лейкоцитограммы, субпопуляций Т-лимфоцитов, определяли уровень СРБ, интерлейкина-6 (IL-6), интерферона гамма (IFN γ), фактора некроза опухоли альфа (TNF α) и антител классов IgM и IgG к SARS-CoV-2.

Статистическая обработка данных проводилась при использовании программы Statistica 13 с критическим уровнем значимости $p < 0,05$, исследование связей коэффициентом ранговой корреляции Спирмена, многомерный корреляционный анализ с построением плеяд по В.П. Терентьеву (1959) и проверка нормальности распределения значений признака (Shapiro–Wilk). Объем выполненных исследований позволил оценить результаты с достоверностью 95-99%. Проведенные исследования выявили особенности динамики биомаркеров воспаления в различные периоды болезни, стойкие изменения количественных и качественных характеристик иммунокомпетентных клеток и показателей цитокинов, корреляции иммунологических показателей и тяжести клинического течения и степени поражения легочной паренхимы. У пациентов с тяжелым течением заболевания в период выраженных клинических проявлений отмечена лейкопения с низким удельным весом лимфоцитов и длительное сохранение высоких показателей СРБ и СОЭ, включая раннюю реконвалесценцию. Уровень и динамика антител класса IgG и IgM к SARS-CoV-2 различались в зависимости от тяжести клинического течения и длительности периода реконвалесценции. В период реконвалесценции отмечен

Адрес для переписки:

Ситдикова Татьяна Сергеевна
ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
690014, Россия, г. Владивосток, пр. Красного знамени,
117д, кв. 191.
Тел.: 8 (924) 234-09-18.
E-mail: sestrichka_1985@mail.ru

Address for correspondence:

Sitdikova Tatiana S.
Pacific State Medical University
690014, Russian Federation, Vladivostok,
Krasnogo Znameni ave., 117d, apt 191.
Phone: 7 (924) 234-09-18.
E-mail: sestrichka_1985@mail.ru

Образец цитирования:

Т.С. Ситдикова, А.А. Кабиева, Е.В. Просекова
«Показатели врожденного и адаптивного
иммунитета пациентов при вирусной инфекции,
вызванной коронавирусом SARS-CoV-2» // Российский
иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 4. С. 547-554.
doi: 10.46235/1028-7221-1051-IOI
© Ситдикова Т.С. и соавт., 2021

For citation:

T.S. Sitdikova, A.A. Kabieva, E.V. Prosekova
“Indexes of innate and adaptive immunity in the patients with
SARS-CoV-2 infection”, Russian Journal of Immunology/
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 4,
pp. 547-554.
doi: 10.46235/1028-7221-1051-IOI
DOI: 10.46235/1028-7221-1051-IOI

дисбаланс регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов и низкий уровень $IFN\gamma$. Стойкие нарушения структурно-функциональных показателей иммунокомпетентных клеток и aberrантная продукция цитокинов при болезни, вызванной вирусом SARS-CoV-2, могут служить обоснованием актуальности мониторинга иммунологических показателей для поиска персонализированной иммунотропной терапии.

Ключевые слова: цитокины, иммунокомпетентные клетки, биомаркеры воспаления, коронавирусная инфекция, SARS-CoV-2

INDEXES OF INNATE AND ADAPTIVE IMMUNITY IN THE PATIENTS WITH SARS-CoV-2 INFECTION

Sitdikova T.S.^{a, b}, Kabieva A.A.^b, Prosekova E.V.^a

*Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation
City Polyclinic No.3, Vladivostok, Russian Federation*

Abstract. The main pathogenetic mechanisms of the SARS-CoV-2 infection include imbalance of immune response and impaired cytokine regulation involving insufficient interferon synthesis at the onset of the disease, and subsequent hyperproduction of proinflammatory cytokines resulting in marked inflammation and damage of pulmonary parenchyma. Our objective was to perform monitoring of cytokine content, determination of antibodies, immune cells, and inflammatory biomarkers in the patients who had coronavirus infection caused by COVID-19, during the disease and over the convalescence period. The study included sixty patients at the age of 18 y.o. and older with severe and moderate course of disease caused by COVID-19. The diagnosis was verified in accordance with provisional instructional guidelines of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation "Prevention, diagnosis and treatment of novel coronavirus infection (COVID-19)" version 11 (17.05.2021). The study involved analysis of medical documents, evaluation of differential white blood cell count, T cell subpopulations, C-reactive protein (CRP) levels, interleukin-6 (IL-6), interferon gamma ($IFN\gamma$), tumor necrosis factor-alpha ($TNF\alpha$), as well as IgM and IgG antibodies against SARS-CoV-2.

Statistical processing of data was performed by Statistica 13 program with critical significance level $p < 0.05$, correlations were analyzed using Spearman rank correlation coefficient, multidimensional correlation analysis with creation of pleiads, according to V.P. Terentyev's method (1959), and Shapiro–Wilk testing for normality of data distributions. The sample size made it possible to evaluate the results at a significance of 95–99%. These studies have yielded the results concerning specific changes of the inflammatory biomarkers at different stages of disease, persistent changes in quantitative and qualitative characteristics of immune cells and cytokine levels, correlations between immunological indicators and severity of clinical course, and degree of damage to pulmonary parenchyma. During the period of significant clinical presentations, the patients with severe course of disease exhibited leukopenia with low proportion of lymphocytes, and maintenance of CRP and ESR at high levels for longer terms, including early recovery. Levels and changes in amounts of IgG and IgM antibodies to SARS-CoV-2 varied in accordance with clinical severity and duration of convalescence period. During the recovery period, an imbalance of regulatory T cell subpopulations and low levels of $IFN\gamma$ were observed. The stable impairment of structural and functional characteristics of immune cells and aberrant production of cytokines during the disease caused by SARS-CoV-2 may serve as a pre-requisite for monitoring immunological indices in search for personalized immunotropic therapy.

Keywords: cytokines, immunocompetent cells, inflammatory biomarkers, coronavirus infection, SARS-CoV-2

Введение

В настоящее время широко изучаются особенности патогенетических иммунных механизмов реализации новой коронавирусной инфекции, вызванной COVID-19 [2, 3, 7, 8]. В процессе реализации данной инфекции зафиксированы системная гипервоспалительная реакция и дисбаланс иммунного ответа с нарушением цитокиновой регуляции и преобладанием синтеза про-

воспалительных цитокинов [8, 13]. Нарушения в регуляции цитокинового ответа являются одними из ведущих механизмов прогрессирования COVID-19 и развития органной недостаточности [4, 12, 15]. По мнению D.E. Leisman и соавт. (2020), роль увеличения содержания цитокинов дискуссионна и возникла необходимость сместить акцент с концепции «цитокиновой бури» на поиск альтернативных патогенетических механизмов развития органной дисфункции [13] и

концепции «иммунологического коллапса» [4, 13]. К.Е. Remy и соавт. (2020) зафиксировали у пациентов с коронавирусной инфекцией значимые нарушения механизмов иммунной защиты, которые характеризуются низким числом эффекторных иммунных клеток и структурно-функциональными изменениями моноцитов и Т-лимфоцитов [4, 15]. При коронавирусной инфекции выявлены нарушения в системе врожденного и адаптивного противовирусного иммунитета, интерфероногенеза, нарушения в клеточном звене иммунной системы с дисбалансом регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов. Последние сохраняются длительно и требуют иммунотропной фармакокоррекции и реабилитации [12, 15].

Исследователи отмечают, что в ряде случаев выраженность иммунных нарушений не позволяет объяснить развитие тяжелых осложнений, и указывают на актуальность поиска альтернативных клинико-лабораторных маркеров патогенетических механизмов и программ терапии не только с эффектом коррекции избыточного цитокинового ответа, но и восстановления структурных и функциональных свойств Т-лимфоцитов [4, 7, 15].

Патогенетическая значимость aberrантного функционирования врожденного и адаптивного иммунитета, особенностей динамики биомаркеров воспаления при коронавирусной инфекции COVID-19 и в период реабилитации определяют информативность и актуальность мониторингирования иммунологических показателей и поиска индивидуальных показаний для применения иммуномодулирующей терапии.

Цель – мониторинг содержания цитокинов, антител и иммунокомпетентных клеток, биомаркеров воспаления у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, вызванную COVID-19, в течение заболевания и периода реконвалесценции.

Задачи исследования включали анализ клеточного спектра лейкоцитограммы и динамики биомаркеров воспаления у пациентов с разной тяжестью клинического течения коронавирусной инфекции, вызванной COVID-19, в различные периоды болезни и оценку содержания регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов, IFN γ , TNF α , IL-6 и антител к SARS-CoV-2 классов IgM и IgG

Исследование выполнено в ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России (ректор В.Б. Шуматов), комплексное клинико-иммунологическое обследование проводили в учебно-научной лаборатории кафедры клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии (заведующая кафедрой, д.м.н., профессор Просекова Е.В.). В период реабилитации пациенты

исследуемой группы находились под наблюдением в отделении дневного стационара Городского аллерго-респираторного центра краевого государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Владивостокская поликлиника № 3» (главный врач Кабиева А.А.).

Материалы и методы

В исследование включено 60 пациентов старше 18 лет с тяжелым и средней тяжести клиническим течением коронавирусной инфекции, вызванной COVID-19. Верификацию диагноза проводили в соответствии с временными методическими рекомендациями Министерства Здравоохранения Российской Федерации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» версия 11 (17.05.2021) [5]. Критериями включения в исследование являлись: коронавирусная инфекция, вызванная COVID-19, среднетяжелого или тяжелого течения и осложненная пневмонией разной степени поражения легочной ткани. Критерии исключения включали: ОРВИ, обострения хронических заболеваний дыхательной системы; бессимптомное или легкое течение коронавирусной инфекции, вызванной COVID-19; применение иммуномодулирующих препаратов, в течение предшествующих исследованию 6 месяцев. В группу сравнения взяты 20 здоровых добровольцев, проживающих в Приморском крае. Проводили ретроспективный анализ медицинских документов (амбулаторные карты, выписки из медицинских карт и историй болезни) и гематологические и иммунологические исследования характеристик лейкоцитограммы, Т-лимфоцитов и их субпопуляций. Подготовка образцов периферической крови и настройка проточного цитофлуориметра проведены в соответствии с национальными рекомендациями [9]. Субпопуляции лимфоцитов определяли методом мультицветной проточной цитометрии, используя автоматический цитофлуориметр MACSQuant TM Analyzer 10 (Miltenyi Biotec GmbH, Германия), оснащенном тремя диодными лазерами 405, 488 и 638 нм. Результаты представлены в виде абсолютного количества каждой субпопуляции клеток в единице объема и относительного количества позитивных клеток (%). Определение уровня СРБ в сыворотке крови осуществляли методом латекс-агглютинации с использованием реагентов «СРБ-ОЛЬВЕКС» (Санкт-Петербург) и выражали в г/л. Содержание в сыворотке крови интерлейкина-6 (IL-6), интерферона гамма (IFN γ) и фактора некроза опухоли альфа (TNF α) учитывали методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов АО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) и выражали

в пикограммах в миллилитре. Оценку антител к SARS-CoV-2 в сыворотке крови проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов «SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ» и «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» АО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск).

Материалом для исследования иммунологических показателей и биомаркеров воспаления являлись цельная кровь и сыворотка крови.

Комплексное клиничко-иммунологическое обследование проведено на кафедре клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России (заведующая кафедрой, д.м.н., профессор Просекова Е.В.).

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программного обеспечения STATISTICA 13 (StatSoft, Inc., США) и Excel (Microsoft Office 2010). Для проверки различных показателей (выборки) на наличие нормального распределения использовали тест Колмогорова–Смирнова и критерий согласия Пирсона χ^2 . При значении $p < 0,05$ считали существенным отклонение от нормального распределения. При обработке данных использовались методы параметрической статистики при коэффициенте вариации меньше 30% и непараметрической статистики при коэффициенте вариации больше 30%. Deskриптивные статистики представлены при нормальном распределении массива данных как $M \pm SD$; $M \pm m$, где M – среднее, SD – стандартное отклонение, m – стандартная ошибка средней величины и при распределении, не соответствующем нормальному, как $Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$, где Me – медиана, $Q_{0,25}$ – нижний и $Q_{0,75}$ – верхний квартили.

Сравнение средних значений количественных признаков в нескольких группах проводили с помощью параметрического t-критерия Стьюдента. Оценку различий средних значений в попарно несвязанных выборках проводили с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Критическое значение уровня статистической значимости (p) при проверке нулевых гипотез принималось равным 0,05. Для выявления наличия зависимости проведены корреляционный анализ с использованием коэффициента корреляции Спирмена и многомерный корреляционный анализ с построением плеяд по В.П. Терентьеву (1959) Проверка нормальности распределения значений признака (Shapiro–Wilk). Объем выполненных исследований позволил оценить результаты с достоверностью 95-99%.

Результаты и обсуждение

В группе наблюдения среди пациентов с вирусной инфекции, вызванной коронавирусом

SARS-CoV-2 ($n = 60$), преобладали женщины –63,34% ($n = 38$) в возрасте 45-59 лет. Средний возраст пациентов в наблюдаемой группе составил $53,08 \pm 5,17$ лет. У 70% ($n = 42$) пациентов течение заболевания было средней тяжести, при этом у мужчин чаще отмечалось тяжелое течение заболевания. Среди 22 мужчин с вирусной инфекцией, вызванной коронавирусом SARS-CoV-2, у 12 (54,55%) диагностировано тяжелое течение заболевания. В исследуемой группе у женщин среднетяжелое течение коронавирусной инфекции диагностировано в 86,84% случаев. Данные компьютерной томографии (КТ) зафиксировали у трети пациентов объем поражения легочной паренхимы в диапазоне от 51% до 75% и в половине случаев объем поражения легких определялся в диапазоне от 26% до 50%. У 6 человек (1 женщина и 5 мужчин) объем поражения легких превышал 75% легочной паренхимы. У пациентов с объемом поражения легочной ткани 75% и более зафиксирован высокий уровень антител IgM к SARS-CoV-2. При тяжелом течении коронавирусной инфекции содержание IgM антител к SARS-CoV-2 в сыворотке крови было значительно выше данных показателей у пациентов со среднетяжелым течением заболевания на протяжении всех периодов болезни и реконвалесценции ($p < 0,05$).

Исследование лейкоцитограммы пациентов в динамике заболевания коронавирусной инфекцией, вызванной COVID-19, зафиксировали различия структуры и количественных показателей клеточного спектра в зависимости от периода болезни (табл. 1). В период выраженных клинических проявлений выявлено в преобладающем большинстве случаев при средней тяжести течения заболевания увеличение абсолютного числа лейкоцитов ($12,47 \pm 1,68 \times 10^9/\text{л}$). У 15 пациентов увеличение общего числа лейкоцитов сопровождалось ростом числа нейтрофилов, у 8 пациентов – увеличением роста числа моноцитов. При тяжелом клиническом течении болезни в большинстве случаев определялись явления лейкопении ($2,77 \pm 0,52 \times 10^9/\text{л}$). У 24 пациентов число лейкоцитов в периферической крови было сопоставимо с данными группы контроля ($5,95 \pm 0,32 \times 10^9/\text{л}$).

При коронавирусной инфекции, вызванной COVID-19, в период выраженных клинических проявлений болезни у 31 пациента зафиксирована лимфопения и средние показатели числа лимфоцитов составляли $0,85 \pm 0,04 \times 10^9/\text{л}$. В данный период число лимфоцитов в периферической крови в исследуемой группе было достоверно ниже, чем в группе здоровых доноров, и составляло $1,31 \pm 0,09 \times 10^9/\text{л}$ против $2,60 \pm 0,10 \times 10^9/\text{л}$ соответственно ($t = 9,59$; при $p < 0,001$). Значи-

мое нарастание абсолютного числа лимфоцитов в периферической крови, сопоставимое с показателями здоровых, у пациентов с коронавирусной инфекцией, вызванной COVID-19, зафиксировано в ранний период реконвалесценции при среднетяжелом течении болезни ($2,24 \pm 0,15 \times 10^9/\text{л}$) (табл. 1).

В проведенном исследовании у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, вызванную COVID-19, в период выраженных клинических проявлений было отмечено увеличение абсолютного числа нейтрофилов и моноцитов при снижении абсолютного числа лимфоцитов. В период разрешения заболевания сохранялись данные проявления в большинстве случаев и только в период реконвалесценции при среднетяжелом течении болезни показатели лейкоцитограммы были сопоставимы с показателями здоровых доноров.

У 52 пациентов (86,67%) с коронавирусной инфекцией, вызванной COVID-19, в период выраженных клинических проявлений выявлены высокие показатели содержания СРБ с медианой равной 39,45 мг/л и квантилями – 21,1 мг/л и 3-92,83 мг/л), достоверно превышающие показатели здоровых доноров (1,0 мг/л и (0,8-1,5) мг/л соответственно при $p < 0,01$) (табл. 2).

Полученные результаты особенностей лейкоцитограммы и биомаркеров воспаления в динамике заболевания зафиксировали достоверные изменения.

В литературных источниках представлена информация о том, что при заболевании, вызванном COVID-19, происходят изменения клинико-иммунологических показателей, степень которых коррелирует с тяжестью течения инфекции.

В исследованиях Р.Ю. Абдуллаева и соавт. (2020) и W. Guan и соавт. (2020) у 1099 пациентов с инфекцией, вызванной COVID-19, зафиксировали лейкоцитоз у 4,8% больных с легким течением болезни и у 11,4% – с тяжелым, а лейкопению в 28,1% и 61,1% случаев соответственно при лимфопении в обеих группах в 80,4 и 96,1% случаев соответственно [1, 11].

Y. Liu и соавт. (2020), при обследовании взрослых и детей с инфекцией COVID-19, выявляли лимфопению в 75% случаев, в зависимости от течения болезни [14].

W. Guan и соавт. (2020) обнаружили, что уровень С-реактивного белка повышался > 10 мг/л у 56,4% пациентов при легком течении и у 81,5 – при тяжелом течении процесса [5, 11].

По данным Y. Liu и соавт. (2020), было обнаружено, что при инфекции COVID-19 ускорение скорости оседания эритроцитов встречалась в

ТАБЛИЦА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕЙКОЦИТОГРАММЫ ПАЦИЕНТОВ С КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ, ВЫЗВАННОЙ COVID-19, В РАЗЛИЧНЫЕ ПЕРИОДЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ (АБСОЛЮТНОЕ ЧИСЛО КЛЕТОК В $M \pm m \times 10^9/\text{л}$)

TABLE 1. CHARACTERISTICS OF THE LEUKOCYTOGRAM OF PATIENTS WITH CORONAVIRUS INFECTION CAUSED BY COVID-19 IN DIFFERENT PERIODS OF THE DISEASE (ABSOLUTE NUMBER OF CELLS IN $M \pm m \times 10^9/\text{l}$)

Клеточный спектр лейкоцитограммы Cell spectrum of the leukocytogram	Период заболевания Period of the disease			
	Период выраженных клинических проявлений Period of pronounced clinical manifestations	Период угасания клинических проявлений Period of extinction of clinical manifestations	Период реконвалесценции Period of convalescence	Группа сравнения (здоровые доноры) Comparison group (healthy donors)
Лейкоциты White blood cells	6,95±0,77	8,21±0,62	6,35±0,35	6,35±0,10
Нейтрофилы Neutrophils	5,44±0,86	5,17±0,66	3,30±0,25	3,50±0,40
Лимфоциты Lymphocytes	1,31±0,09	1,84±0,18	2,40±0,15	2,60±0,10
Моноциты Monocytes	0,50±0,08	0,55±0,09	0,51±0,05	0,35±0,02
Эозинофилы Eosinophils	0,07±0,02	0,09±0,02	0,19±0,04	0,20±0,02
Базофилы Basophils	0,010±0,001	0,020±0,001	0,130±0,020	0,014±0,001

ТАБЛИЦА 2. УРОВНИ БИОМАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ (СОЭ, СРБ) У ПАЦИЕНТОВ С КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ, ВЫЗВАННОЙ COVID-19, В РАЗЛИЧНЫЕ ПЕРИОДЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 2. LEVELS OF INFLAMMATORY BIOMARKERS (ESR, CRP) IN PATIENTS WITH COVID-19 CORONAVIRUS INFECTION DURING VARIOUS PERIODS OF THE DISEASE, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели, единицы Indicators, units	Период заболевания Period of the disease			Группа сравнения (здоровые доноры) Comparison group (healthy donors)
	Период выраженных клинических проявлений Period of pronounced clinical manifestations	Период разрешения клинических проявлений Period of resolution of clinical manifestations	Период реконвалесценции Period of reconvalescence	
СРБ (мг/л) CRP (mg/l)	30,90 (17,75-86,50)	10,55 (6,85-25,13)	3,00 (2,00-5,00)	1,00 (0,80-1,50)
СОЭ (мм/ч) ESR (mm/h)	6,00 (4,00-8,25)	35,50 (23,25-42,00)	36,00 (20,50-45,00)	6,00 (4,00-8,25)

85% случаев. Из биохимических анализов крови частота повышения значения СРБ наблюдалась в 93% случаев [1, 4, 14].

Достоверная разница отмечена между показателями СРБ у пациентов в период угасания клинических проявлений и показателями СРБ у пациентов в период реконвалесценции 10,55 мг/л (6,85-25,13) мг/л и 3 мг/л (2,0-5,0) мг/л соответственно ($p < 0,01$) (табл. 2).

Продукция цитокинов, генерируемая антигенпрезентирующими клетками обуславливает общую адаптивную реакцию, а активация цитотоксических Т-клеток приводит к элиминации вируса из организма [10, 11, 15].

В исследуемой группе показатель медианы $IFN\gamma$ составил 0,19 пг/мл, с границами нижнего квартиля 0,18 пг/мл, верхнего квартиля 0,36 пг/мл, что достоверно ниже показателей здоровых добровольцев, проживающих в Приморском крае. Дефицит содержания $IFN\gamma$ в сыворотке крови ($p < 0,05$) выявлен у всех пациентов с коронавирусной инфекцией COVID-19 в не зависимости от степени поражения легочной паренхимы и тяжести клинического течения болезни. Медиана содержания $TNF\alpha$ в сыворотке крови пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, фиксировалась на уровне 0,79 пг/мл, с границами нижнего квартиля 0,34 пг/мл, верхнего квартиля 1,85 пг/мл, при отсутствии значимых различий от степени тяжести и периода болезни.

В период реконвалесценции содержание IL-6 в сыворотке крови у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, вызванную COVID-19, было в пределах значений здоровых добровольцев.

Корреляционный анализ клинико-иммунологических показателей с объемом поражения

легочной паренхимы у пациентов с коронавирусной инфекцией, вызванной COVID-19, выявил разнонаправленные по структуре, силе и направленности взаимосвязи: прямая средней силы с СРБ ($r = 0,53$; $p < 0,01$); обратная средней силы с абсолютным числом лимфоцитов ($r = -0,63$; $p < 0,001$); прямая умеренной силы с абсолютным числом нейтрофилов ($r = -0,35$; $p < 0,05$). Комплекс клинико-лабораторных исследований является определяющим в оценке тяжести течения заболевания, персонализации терапии и определении прогноза исхода заболевания [1, 2, 6]. При COVID-19 в спектре биомаркеров воспаления особое место принадлежит С – реактивному белку [2, 6, 7]. Его повышение коррелирует с объемом поражения легочной ткани, а у большинства пациентов высокая концентрация СРБ прослеживалась с увеличением скорости оседания эритроцитов (СОЭ) [6, 7].

Проведенные исследования иммунокомпетентных клеток периферической крови пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, определили дефицит общего числа Т-лимфоцитов, незначительные изменения содержания Т-хелперов ($CD3^+CD4^+CD8^-$) с удельным весом $39,36 \pm 1,67\%$ ($M \pm m$), в абсолютном количестве – $1042,00 \pm 111,69$ кл/мкл ($M \pm m$); значимое снижение показателей Т-цитотоксических ($CD3^+CD4^-CD8^+$) с корреляцией по тяжести течения болезни. При средней тяжести клиническом течении болезни удельный вес Т-цитотоксических лимфоцитов составил $19,55 \pm 3,94\%$ ($M \pm m$), в абсолютном количестве – $440,00 \pm 83,88$ кл/мкл ($M \pm m$). У этих пациентов коронавирусная инфекция протекала в среднетяжелой форме и степень поражения легочной паренхимы не превышала 50%. У пациентов с тяжелым течением болезни выявлено снижение относительного содержания

Т-цитотоксических лимфоцитов до 14% и дефицит абсолютного числа клеток данной популяции. У пациентов с тяжелым и среднетяжелым течением болезни, вызванной SARS-CoV-2, выявлено низкое содержание Т-цитотоксических лимфоцитов, с более низкими показателями при утяжелении патологического процесса и поражением паренхимы легких более 75%.

У пациентов с коронавирусной инфекцией, вызванной COVID-19, в период реконвалесценции сохраняется низкое содержание в сыворотке крови $IFN\gamma$, отмечается дисбаланс регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов за счет снижения числа $CD3^+CD4^+CD8^-$ -клеток при сохранении обеспеченности $CD3^+CD4^+CD8^-$ -клеток на уровне здоровых.

Проведенные исследования выявили: особенности динамики биомаркеров воспаления в различные периоды болезни, стойкие изменения количественных и качественных характеристик иммунокомпетентных клеток и показателей цитокинов, корреляции иммунологических показателей и тяжести клинического течения и степени поражения легочной паренхимы. У пациентов с тяжелым течением заболевания в период выраженных клинических проявлений отмечена лейкопения с низким удельным весом лимфоцитов и длительное сохранение высоких показателей биомаркеров воспаления (СРБ, СОЭ), включая

ранний период реконвалесценции. Уровень и динамика антител класса IgG и класса IgM к SARS-CoV-2 различались в зависимости от тяжести клинического течения и длительности периода реконвалесценции. В период реконвалесценции сохранялось в сыворотке крови низкое содержание $IFN\gamma$, при показателях $TNF\alpha$ и IL-6 в пределах референсных значений и отмечен дисбаланс регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов за счет снижения числа $CD3^+CD4^+CD8^-$ -клеток при сохранении обеспеченности $CD3^+CD4^+CD8^-$ -клеток на уровне здоровых. Зафиксированы обратная корреляция содержания в сыворотке крови антител класса М к SARS-CoV-2, прямая слабая зависимость уровня антител класса G к SARS-CoV-2 и продолжительности периода реконвалесценции.

Заключение

Выявленные особенности динамики биомаркеров воспаления, разнонаправленные изменения и дисбаланс структурно-функциональных показателей иммунокомпетентных клеток и цитокинов на протяжении всех периодов болезни, включая период реконвалесценции инфекции, вызванной COVID-19, обуславливают актуальность исследования данных показателей с целью поиска точек применения патогенетической и иммунотропной терапии.

Список литературы / References

1. Абдуллаев Р.Ю., Комиссарова О.Г. Изменения маркеров гематологического, биохимического и коагулологического анализов крови при новой коронавирусной инфекции COVID-19 // *Consilium medicum*, 2020. Т. 22, № 11. С. 51-55. [Abdullaev R.Yu., Komissarova O.G. Changes in markers of hematological, biochemical and coagulological blood tests in a new coronavirus infection COVID-19. *Consilium Medicum*, 2020, Vol. 22, no. 11, pp. 51-55. (In Russ.)]
2. Амвросьева Т.В., Поклонская Н.В. SARS-CoV 2: лабораторная диагностика // *Наука и инновации*, 2020. № 7. С. 22-27. [Amvrosyeva T.V., Poklonskaya N.V. SARS-CoV 2: laboratory diagnostics. *Nauka i innovatsii = Science and Innovations*, 2020, no. 7, pp. 22-27. (In Russ.)]
3. Баклаушев В.П., Кулемзин С.В., Горчаков А.А. COVID-19. Этиология, патогенез, диагностика и лечение // *Клиническая практика*, 2020. Т. 11. № 1. С. 7-2. [Baklaushev V.P., Kulemzin S.V., Gorchakov A.A. COVID-19. Etiology, pathogenesis, diagnosis and treatment. *Klinicheskaya praktika = Clinical Practice*, 2020, Vol. 11, no. 1, pp. 2-7. (In Russ.)]
4. Бугоркова С.А. Некоторые аспекты формирования иммунного ответа у пациентов с COVID-19. COVID19-PREPRINTS.MICROBE.RU. 2020. [Bugorkova S.A. Some aspects of the formation of the immune response in patients with COVID-19. COVID19-PREPRINTS.MICROBE.RU. 2020. doi: 10.21055/preprints-3111717.]
5. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 11 (07.05.2021). 224 с. [Temporary methodological recommendations. Prevention, diagnosis and treatment of a new coronavirus infection (COVID-19). Version 11 (07.05.2021). 224 p.]
6. Елеукина А.А., Коржумбаев А.Н., Акшалов А.Р. Изменение С-реактивного белка в сыворотке крови при коронавирусной и бактериальной пневмонии // *Тенденции развития науки и образования*, 2021. № 74-1. С. 43-48. [Eleukina A.A., Korzhumbaev A.N., Akshalov A.R. Changes in C-reactive protein in blood serum in coronavirus and bacterial pneumonia. *Tendentsii razvitiya nauki i obrazovaniya = Trends in the Development of Science and Education*, 2021, no. 74-1, pp. 43-48. (In Russ.)]
7. Климов Н.А., Симбирцев А.С. COVID-19: особенности патогенеза заболевания и мишени для иммунотерапевтического воздействия // *Медицинский академический журнал*, 2020. Т. 20, № 3. С. 75-88.

[Klimov N.A., Simbirtsev A.S. COVID-19: features of the pathogenesis of the disease and targets for immunotherapy. *Meditsinskiy akademicheskii zhurnal = Medical Academic Journal*, 2020, Vol. 20, no. 3, pp. 75-88. (In Russ.)]

8. Пашенков М.В., Хаитов М.Р. Иммуный ответ против эпидемических коронавирусов // Иммунология, 2020. Т. 41, № 1. С. 5-18. [Paschenkov M.V., Khaitov M.R. Immune response against epidemic coronaviruses. *Immunologiya = Immunologiya*, 2020, Vol. 41, no. 1, pp. 5-18. (In Russ.)]

9. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян А.А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» // Российский иммунологический журнал, 2014. Т. 8, № 4. С. 974-992. [Khaydukov S.V., Baidun L.A., Zurochka A.V., Totolian A.A. Standardized technology "Study of the subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes using flow cytofluorimeters-analyzers". *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2014, Vol. 8, no. 4, pp. 974-992. (In Russ.)]

10. Garcia L.F. Immuneresponse, inflammation, and the clinical spectrum of COVID-19. *Front. Immunol.*, 2020, no. 11, 1441. doi: 10.3389/fimmu.2020.01441.

11. Guan W.J., Ni Z.Y., Hu Y. China Medical Treatment Expert Group for COVID-19. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N. Engl. J. Med.*, 2020, Vol. 382, no. 18, pp. 1708-1720.

12. Hou H., Wang T., Zhang B., Luo Y., Mao L., Wang F. Detection of IgM and IgG antibodies in patients with coronavirus disease 2019. *Clin. Transl. Immunol.*, 2020, Vol. 9, no. 5, e01136. doi: 10.1002/cti2.1136.

13. Leisman D.E., Ronner L., Pinotti R. Cytokine elevation in severe and critical COVID-19: a rapid systematic review, metaanalysis, and comparison with other inflammatory syndromes. *Lancet Respir. Med.*, 2020, Vol. 8, Iss. 12, pp. 1233-1244.

14. Liu Y. C., Yang Y., Zhang C. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury. *Sci. China Life Sci.*, 2020, Vol. 63, no. 3, pp. 364-374.

15. Remy K.E., Mazer M., Striker D.A. Severe immunosuppression and not a cytokine storm characterizes COVID-19 infections. *JCI Insight*, 2020, Vol. 5, Iss. 17, pp. 1-15.

Авторы:

Ситдикова Т.С. — к.м.н., врач — аллерголог-иммунолог, ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; заведующая отделением КГБУЗ «Владивостокская поликлиника № 3», г. Владивосток, Россия

Кабиева А.А. — главный врач КГБУЗ «Владивостокская поликлиника № 3»; главный внештатный специалист Министерства здравоохранения Приморского края по медицинской профилактике, г. Владивосток, Россия

Просекова Е.В. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Authors:

Siddikova T.S., PhD (Medicine), Allergologist and Clinical Immunologist, Assistant Professor, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, General and Clinical Immunology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation; Head, City Polyclinic No. 3, Vladivostok, Russian Federation

Kabieva A.A., Chief Physician, City Polyclinic No. 3; Chief Regional Specialist for Medical Prevention, Vladivostok, Russian Federation

Prosekova E.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Clinical Laboratory Diagnostics and General and Clinical Immunology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Поступила 15.07.2021
Принята к печати 20.08.2021

Received 15.07.2021
Accepted 20.08.2021

РАСШИРЕННЫЕ ГАПЛОТИПЫ НА ОСНОВЕ РЕДКИХ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ *TNFA* И *HLA DRB1* В АССОЦИИ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Сташкевич Д.С.¹, Хромова Е.Б.¹, Девальд И.В.^{1,2}, Ходус Е.А.³,
Бурмистрова А.Л.¹

¹ ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

² ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», г. Челябинск, Россия

³ Клиника профессора Кинзерского, г. Челябинск, Россия

Резюме. Ревматоидный артрит (РА) является мультифакторным сложно-наследуемым заболеванием, в основе генетического компонента которого лежат межгенные взаимодействия, приводящие к формированию генных сетей, и актуальным направлением изучения полигенной природы РА является оценка взаимодействий «ген – ген».

Среди возможных генетических факторов, способствующих развитию заболевания, основополагающая роль принадлежит генам главного комплекса гистосовместимости, а именно HLA II класса. К другой группе рассматриваемых в литературе генетических факторов восприимчивости или устойчивости к РА относят полиморфные варианты генов цитокинов. Одним из возможных генов кандидатов, обеспечивающих восприимчивость к данной патологии и вклад в иммунопатогенез, по литературным данным, является ген *TNFA*. Особое расположение данного гена позволяет предположить формирование расширенных гаплотипов *TNFA – HLA*.

Исходя из вышеизложенного данной работе был проведен анализ особенностей распределения двухлокусных гаплотипов SNPs *TNFA – HLA DRB1* в ассоциации с ревматоидным артритом в популяции русских Челябинской области.

В исследовании использовались следующие методы: выделение образцов ДНК из цельной крови, проведение генотипирования исследуемых полиморфизмов генов с помощью ПЦР, ПДРФ с электрофоретической детекцией. Расчет частот двухлокусных гаплотипов, образованных SNPs в точках *-1031T/C*, *-863C/A* промоторной области гена *TNFA*, расширенных гаплотипов *TNFA – HLA DRB1* проводился с использованием EM-алгоритма и оценки неравновесного сцепления (D' ; χ^2 ; p) с помощью программы Arlequin ver. 3.5. Сравнение двух выборок с целью поиска ассоциации с предрасположенностью к РА проводилось с использованием стандартных иммуногенетических критериев. Значимость различий при $p \leq 0,05$.

Анализ данных показал, что двухлокусные гаплотипы *-1031T/C* и *-863C/A TNFA* не ассоциированы с предрасположенностью к ревматоидному артритом в популяции русских.

Установлены гаплотипы, ассоциированные с предрасположенностью к ревматоидному артритом: *TNFA -863*a – HLA DRB1*03*, *TNFA -1031*t – HLA DRB1*04*, *TNFA -1031*t – HLA DRB1*04*.

Адрес для переписки:

Сташкевич Дарья Сергеевна
ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет»
454021, Россия, г. Челябинск, ул. Молдавская, 25, кв. 15.
Тел.: 8 (351) 799-71-54.
E-mail: stashkevich_darya@mail.ru

Address for correspondence:

Stashkevich Daria S.
Chelyabinsk State University
454021, Russian Federation, Chelyabinsk,
Moldavskaya str., 25, apt 15.
Phone: 7 (351) 799-71-54.
E-mail: stashkevich_darya@mail.ru

Образец цитирования:

Д.С. Сташкевич, Е.Б. Хромова, И.В. Девальд, Е.А. Ходус, А.Л. Бурмистрова «Расширенные гаплотипы на основе редких однонуклеотидных полиморфизмов *TNFA* и *HLA DRB1* в ассоциации с ревматоидным артритом» // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 4. С. 555-562.
doi: 10.46235/1028-7221-1053-EHB
© Сташкевич Д.С. и соавт., 2021

For citation:

D.S. Stashkevich, E.B. Khromova, I.V. Devald, E.A. Khodus, A.L. Burmistrova "Extended haplotypes based on rare single nucleotide polymorphisms of *TNFA* and *HLA DRB1* associated with rheumatoid arthritis", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 4, pp. 555-562.
doi: 10.46235/1028-7221-1053-EHB
DOI: 10.46235/1028-7221-1053-EHB

В исследовании выявлены следующие гаплотипы-протекторы: *TNFA* -1031**t* – *HLA DRB1**15; *TNFA* -1031**t* – *HLA DRB1**11.

Таким образом, наше исследование показывает, что кроме отдельных генных семейств *HLA* II класса в предрасположенность/устойчивость к ревматоидному артриту вносят вклад гаплотипические сочетания редких однонуклеотидных полиморфизмов в точках -1031, -863 C/A гена *TNFA* и *HLA DRB1*.

Ключевые слова: гаплотипы, неравновесное сцепление, однонуклеотидные полиморфизмы, *HLA*, *TNFA*, ревматоидный артрит

EXTENDED HAPLOTYPES BASED ON RARE SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS OF *TNFA* AND *HLA DRB1* ASSOCIATED WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

Stashkevich D.S.^a, Khromova E.B.^a, Devald I.V.^{a, b}, Khodus E.A.^c,
Burmistrova A.L.^a

^a Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

^b South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

^c Professor Kinzersky Clinic, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. Rheumatoid arthritis (RA) is a multifactorial disease, with genetic component based on intergenic interactions leading to the formation of gene networks. The current trend in RA immunogenetic studies is to assess the gene-to-gene interactions. Among possible genetic factors contributing to RA development, the genes of main histocompatibility complex (*HLA* class II) play a fundamental role. *TNFA* gene is among possible candidate genes providing susceptibility to this disorder and contributing to its immune pathogenesis. The special location of this gene suggests arrangement of extended *TNFA* – *HLA* haplotypes. This work analyzed the distribution features of two-locus SNP haplotypes (*TNFA* and *HLA DRB1*) for their association with rheumatoid arthritis in Russians. The following methods were used: DNA isolation, PCR-based genotyping, RFLP analysis with electrophoretic detection. Calculation of two-locus haplotypes frequencies and linkage disequilibrium (D' ; χ^2 ; p) was carried out using the EM algorithm in the Arlequin ver 3.5 program. Comparison of paired samples was carried out using standard immunogenetic criteria. The significance level was < 0.05 . Analysis of the data showed that the two-locus haplotypes -1031T/C and -863C/A *TNFA* were not associated with predisposal for rheumatoid arthritis in Russian population sample. The haplotypes associated with predisposition for RA were *TNFA* -863*a – *HLA DRB1**03, *TNFA* -1031**t* – *HLA DRB1**04, *TNFA* -1031**t* – *HLA DRB1**04. Meanwhile, *TNFA* -1031**t* – *HLA DRB1**15; *TNFA* -1031**t* – *HLA DRB1**11 proved to be protective haplotypes. Our study showed that, in addition to individual *HLA* II alleles, the predisposal or resistance to rheumatoid arthritis may be promoted by haplotypes of rare SNPs at positions -1031, -863 C/A of *TNFA* gene, and *HLA DRB1*.

Keywords: haplotypes, linkage disequilibrium, *HLA*, *TNFA*, rheumatoid arthritis

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Челябинской области в рамках научного проекта № 20-415-740013.

Введение

В свете литературных данных хорошо известно, что ревматоидный артрит (РА) является иммуновоспалительным (аутоиммунным) ревматическим заболеванием, характеризующимся тяжелым про-

грессирующим поражением суставов и внутренних органов, его развитие определяется сложным взаимодействием факторов внешней среды и генетической предрасположенности, ведущих к глобальным нарушениям в системе гуморального и клеточного иммунитета [2]. Ключевую роль в иммунопатогенезе играют биологически активные молекулы – цитокины, способствующие индукции и генерализации воспаления [8, 10]. Данные многочисленных ис-

следований, проводимых на протяжении большого количества времени, позволяют предположить, что ключевым цитокином, определяющим активность воспалительного процесса, является фактор некроза опухолей α (TNF α) [9, 10]. Согласно литературным данным, TNF α повышает продукцию белков острой фазы воспаления, является хемоаттрактаном макрофагов и клеток Лангерганса, стимулятором ангиогенеза, потенциальным активатором моноцитов, а также фагоцитоза и продукции свободных радикалов. TNF α может выступать и как паракринный индуктор для синтеза других провоспалительных цитокинов, таких как IL-1, IL-6, IL-8 и GM-CSF, матриксных металлопротеиназ и коллагеназы – основных эффекторов деградации хряща при данной патологии [2, 9, 10].

В связи с тем, что ревматоидный артрит является мультифакторным сложно-наследуемым заболеванием, в основе генетического компонента которого лежат межгенные взаимодействия, приводящие к формированию генных сетей, то актуальным направлением изучения полигенной природы РА является оценка взаимодействий «ген – ген» [1]. Среди возможных генетических факторов, способствующих развитию заболевания, основополагающая роль принадлежит генам главного комплекса гистосовместимости, а именно HLA II класса. Система HLA представляет собой мультигенное семейство, включающее около 230 локусов. Гены HLA располагаются на 6-й хромосоме и делятся на регионы I, II и III классов [8]. По современным представлениям, система HLA обеспечивает регуляцию иммунного ответа за счет взаимодействия всех иммунокомпетентных клеток организма, распознавание своих и чужеродных, в том числе измененных собственных, клеток, запуск и реализацию иммунного ответа [1, 8].

Однако гены HLA обеспечивают только часть общего генетического риска, примерно у 25% больных не обнаружено генов предрасположенности к РА в пределах главного комплекса гистосовместимости [1, 7].

К другой группе рассматриваемых в литературе генетических факторов восприимчивости или устойчивости к РА относят полиморфные варианты генов цитокинов. Одним из возможных генов кандидатов, обеспечивающих восприимчивость к данной патологии и вклад в иммунопатогенез, по литературным данным, является ген TNFA [1, 2, 3, 8, 9, 10].

Ген фактора некроза опухолей α (TNFA) локализован в третьем классе генов главного комплекса гистосовместимости между локусами HLA-B и HLA-DR [1, 2, 3]. Такое расположение

«внутри» блока, для которого доказано наличие неравновесного сцепления, позволяет предположить формирование расширенных гаплотипов TNFA – HLA.

Анализ литературных данных, посвященных генетической составляющей ревматоидного артрита, показал, что большая часть работ включает только монолокусный анализ отдельных генов-кандидатов. Кроме того, обращает внимание тот факт, что при оценке вклада полиморфных сайтов гена TNFA и генных семейств HLA II класса различные исследования показывают спорные данные, что, вероятно, связано с наличием межэтнических различий. В более ранних наших исследованиях были установлены HLA-биомаркеры ассоциированные с предрасположенностью к ревматоидному артриту: в популяции русских аллельные варианты гена HLA DRB1*04: 0401, 0404, 0408 [4], в популяции башкир – HLA DRB1*04 и HLA DRB1*01 [3], аллели TNFA [3].

Цель исследования – анализ особенностей распределения двухлокусных гаплотипов SNPs TNFA – HLA DRB1 в ассоциации с ревматоидным артритом в популяции русских Челябинской области.

Задачи исследования:

1. Оценка параметров неравновесного сцепления и частот гаплотипов, образованных SNPs в точках -1031T/C, -863C/A промоторной области гена TNFA в выборках больных РА и условно здоровых лиц русской популяции.

2. Определение параметров неравновесного сцепления и частот гаплотипов, образованных SNPs в точках -1031T/C, -863C/A и генных семейств HLA DRB1 в выборках больных РА и условно здоровых лиц русской популяции.

Материалы и методы

Работа относится к ретроспективному типу исследований «Случай – контроль». В качестве контрольной группы (132 человека: мужчин – 73, женщин – 59, средний возраст – 34,6±0,75 лет) использовали популяционную выборку, сформированную случайным образом на основе ДНК-банка потенциальных доноров костного мозга ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови», проживающих в г. Челябинске и Челябинской области. Популяционная принадлежность определялась по данным генеалогического анамнеза до третьего поколения (согласно рекомендациям 8-го Международного Симпозиума в 1980 г., Лос-Анджелес, США). Выборка больных ревматоидным артритом составлялась ведущими ревматологами города Челябинска вне зависимости от возраста и клинического вариан-

та РА: (98 человек: мужчин – 17, женщин – 81, средний возраст – $51,7 \pm 1,3$ лет).

Выделение тотальной ДНК из мононуклеаров венозной крови проводили с использованием реагентов Protrans DNA Box 500 (Германия) согласно инструкции производителя. Исследование полиморфизма генов *HLA* II класса проводилось методом полимеразной цепной реакции с сиквенс-специфическими праймерами (Single Specific Primer-Polymerase Chain Reaction, PCR-SSP) с использованием наборов Protrans [13]. Генотипирование однонуклеотидных полиморфизмов промоторной области гена *TNFA* осуществлялось методом ПДРФ (PCR-RFLP-анализ). Детекция результатов – горизонтальный электрофорез в 8% полиакриамидном и 3% агарозном гелях [3].

Статистическая обработка

Расчет частот двухлокусных гаплотипов образованных SNPs в точках *-1031T/C*, *-863C/A* промоторной области гена *TNFA* и расширенных гаплотипов *TNFA – HLA DRB1* с использованием EM-алгоритма и расчет неравновесного сцепления (D' ; χ^2 ; r) проводился с помощью программы Arlequin ver 3.5. [5]. Сравнение двух выборок с целью поиска ассоциации с предрасположенностью к РА проводилось с использованием следующих критериев: Критерий Пирсона (χ^2), Критерий χ^2 с поправкой Йетса, точный двусторонний критерий Фишера, критерий отношения шансов с 95%-ным доверительным интервалом. Значимость различий при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Работа состояла из двух этапов. На первом этапе была проведена оценка параметров сцепления и частот двухлокусных гаплотипов, образованных аллельными вариантами SNPs *-1031*, *-863 TNFA*. Расчет параметров неравновесного сцепления показал, что однонуклеотидные полиморфизмы в точках *-1031T/C* и *-863C/A* характеризуются высокой степенью неравновесного сцепления, а именно предковые формы аллелей *-1031*T* и *-863*C* сцеплены друг с другом и аллели с заменами *-1031*C* и *-863*A* наследуются сцепленно (параметры сцепления $D' = 0,86$; $\chi^2 = 132,8$; $p < 0,001$). В результате формируются двухлокусные гаплотипы, частоты которых не различались в выборках больных РА и условно здоровых лиц русской популяции. Для обеих групп характерна высокая частота гаплотипа, содержащего предковые формы аллелей. Анализ данных показал, что двухлокусные гаплотипы *-1031T/C* и *-863C/A TNFA* не ассоциированы с предрасположенностью к ревматоидному артриту в популяции русских. Результаты представлены в таблице 1.

На втором этапе были определены частоты двухлокусных гаплотипов SNPs *TNFA – HLA DRB1* (данные представлены в таблице 2).

В группе условно здоровых лиц русской популяции установлено четыре двухлокусных гаплотипа SNPs *-863 TNFA* и *HLA DRB1*, частоты встречаемости которых и параметры сцепления представлены в таблице 2.

ТАБЛИЦА 1. ЧАСТОТА ДВУХЛОКУСНЫХ ГАПЛОТИПОВ, ОБРАЗОВАННЫХ АЛЛЕЛЬНЫМИ ВАРИАНТАМИ SNPs *-863C/A* И *-1031 T/C TNFA*, В ГРУППАХ БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ И УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ЛИЦ РУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

TABLE 1. FREQUENCY OF TWO-LOCUS SNPs *-863C/A* AND *-1031 T/C TNFA* HAPLOTYPES IN GROUPS OF PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS AND HEALTHY INDIVIDUALS OF THE RUSSIAN POPULATION

Гаплотип <i>-863C/A -1031 T/C</i> Haplotype <i>-863C/A -1031 T/C</i>	Группа больных РА, частота гаплотипа Group of RA patients, haplotype frequency (Hf), %	Контрольная группа, частота гаплотипа Control group, haplotype frequency (Hf), %	Уровень значимости, p Level of significance, p
<i>-863*c -1031*t</i>	77,6	79,9	0,8
<i>-863*a -1031*c</i>	16,8	15,0	0,5
<i>-863*a -1031*t</i>	2,0	4,0	0,7
<i>-863*c -1031*c</i>	4,0	1,0	0,9

ТАБЛИЦА 2. ЧАСТОТЫ ВСТРЕЧАЕМОСТИ И ПАРАМЕТРЫ НЕРАВНОВЕСНОГО СЦЕПЛЕНИЯ ДВУХЛОКУСНЫХ ГАПЛОТИПОВ TNFA -863C/A – HLA DRB1, TNFA -1031T/C – HLA DRB1 В ГРУППАХ БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ И УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ЛИЦ РУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

TABLE 2. FREQUENCIES AND PARAMETERS OF LINKAGE DISEQUILIBRIUM OF TWO-LOCUS HAPLOTYPES TNFA -863C/A – HLA DRB1, TNFA -1031T/C – HLA DRB1 IN GROUPS OF PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS AND HEALTHY INDIVIDUALS OF THE RUSSIAN POPULATION

Гаплотип Haplotype	Группа больных РА Group of patients with RA		Контрольная группа Control group		p
	Частота гаплотипа Haplotype frequency (Hf), %	Параметры неравновесного сцепления Parameters of linkage disequilibrium	Частота гаплотипа Haplotype frequency (Hf), %	Параметры неравновесного сцепления Parameters of linkage disequilibrium	
-863*c – DRB1*07	9,2	D' = 1,0 $\chi^2 = 4,6$ p = 0,03	13,2	D' = 0,8 $\chi^2 = 5,4$ p = 0,02	0,18
-863*a – DRB1*03	6,1	D' = 0,4 $\chi^2 = 15,9$ p << 0,001	0,4	D' = -0,71 $\chi^2 = 2,3$ p = 0,13	<< 0,001
-863*c – DRB1*13	4,0	D' = 1 $\chi^2 = 5,7$ p = 0,017	8,0	D' = 1,0 $\chi^2 = 2,8$ p = 0,09	0,09
-863*c – DRB1*15	6,0	D' = 1,0 $\chi^2 = 3,2$ p = 0,07	14,0	D' = 0,68 $\chi^2 = 3,97$ p = 0,04	0,012
-1031*c – DRB1*03	8,0	D' = 0,5 $\chi^2 = 27,7$ p << 0,001	1,5	D' = -0,04 $\chi^2 = 1,4$ p = 0,23	0,014
-1031*t – DRB1*04	30,0	D' = 0,7 $\chi^2 = 12,2$ p << 0,001	6,0	D' = -0,4 $\chi^2 = 19,8$ p << 0,001	<< 0,001
-1031*c – DRB1*13	3,0	D' = 0,28 $\chi^2 = 4,7$ p = 0,03	5,0	D' = 0,24 $\chi^2 = 9,5$ p = 0,002	0,321
-1031*t – DRB1*15	7,0	D' = 1,0 $\chi^2 = 3,6$ p = 0,06	14,0	D' = 0,86 $\chi^2 = 7,9$ p = 0,005	0,009
-1031*t – DRB1*11	5,0	D' = 1,0 $\chi^2 = 2,7$ p = 0,1	10,0	D' = 1,0 $\chi^2 = 7,6$ p = 0,005	0,04
-1031*c – DRB1*12	0	D' = -1,0 $\chi^2 = 0,78$ p = 0,37	1,5	D' = 0,75 $\chi^2 = 12,4$ p = 0,0004	0,2
-1031*c – DRB1*16	0	D' = -1,0 $\chi^2 = 1,05$ p = 0,3	1,5	D' = 0,6 $\chi^2 = 9,1$ p = 0,003	0,2
-1031*c – DRB1*04	2,0	D' = -0,7 $\chi^2 = 12,0$ p << 0,001	6,0	D' = 0,4 $\chi^2 = 19,8$ p << 0,001	0,089
-1031*t – DRB1*01	13,0	D' = -0,07 $\chi^2 = 0,7$ p = 0,4	13,0	D' = 0,57 $\chi^2 = 3,3$ p = 0,07	0,9
-1031*t – DRB1*08	1,5	D' = 1,0 $\chi^2 = 0,78$ p = 0,4	5,0	D' = 1,0 $\chi^2 = 3,5$ p = 0,06	0,06

Группа больных ревматоидным артритом характеризовалась достоверными значениями параметров неравновесного сцепления для следующих двухлокусных гаплотипов: *TNFA* -863**c* – *HLA DRB1**07 ($D' = 1,0$; $\chi^2 = 4,6$; $p = 0,03$), *TNFA* -863**a* – *HLA DRB1**03 ($D' = 0,4$; $\chi^2 = 15,9$; $p < 0,001$), *TNFA* -863**c* – *HLA DRB1**13 ($D' = 1,0$; $\chi^2 = 5,7$; $p = 0,017$), *TNFA* -863**c* – *HLA DRB1**15 ($D' = 1,0$; $\chi^2 = 3,2$; $p = 0,007$). Оценка особенностей распределения данных гаплотипов у больных РА в сравнении с группой условно здоровых лиц показала, что частота *TNFA* -863**c* – *HLA DRB1**07 была практически одинаковой в обеих выборках.

У больных РА в два раза снижена частота встречаемости гаплотипа *TNFA* -863**c* – *HLA DRB1**13, но по критерию отношения шансов данное изменение не имеет прогностической значимости (тенденция, OR = 0,5; 95% CI 0,2-1,2).

Частота *TNFA* -863**c* – *HLA DRB1**15 составила 6,0% против 14,0% в группе сравнения. Носительство данного гаплотипа снижает вероятность развития РА (OR = 0,4; 95% CI 0,2-0,8).

Гаплотип *TNFA* -863**a* – *HLA DRB1**03 встречался в группе больных с частотой 6,0%. Тогда как в выборке условно здоровых лиц частота его составила всего 0,4%, а показатели неравновесного сцепления не достигали статистической значимости ($D' = -0,71$; $\chi^2 = 2,3$; $p = 0,13$). Следует отметить, что в более ранних наших работах ген *HLA DRB1**03 для этой популяции русских Челябинской области не был определен как предрасполагающий, несмотря на достаточно высокую частоту встречаемости в группе больных РА – 30,38% против 21,33% в контрольной группе [4].

Таким образом, именно в такой комбинации данный гаплотип может рассматриваться в качестве биомаркера предрасположенности к ревматоидному артриту в русской популяции (OR = 17,2; 95% CI 2,2-133,1).

Точка -1031 *TNFA* формирует следующие гаплотипические сочетания с *HLA DRB1* общие для обеих выборок: -1031**t* – *DRB1**15; -1031**c* – *DRB1**13, -1031**t* – *DRB1**11 (табл. 2).

Тогда как гаплотипы -1031**t* – *DRB1**04; -1031**c* – *DRB1**03 обладали достоверными параметрами сцепления только у больных РА, а в группе условно здоровых лиц дополнительно сформированы следующие гаплотипы: -1031**t* – *DRB1**11; -1031**c* – *DRB1**12; -1031**c* – *DRB1**16; -1031**c* – *DRB1**04; -1031**t* – *DRB1**01; -1031**t* – *DRB1**08.

Установлено, что частота встречаемости гаплотипа *TNFA* -1031**t* – *HLA DRB1**04 составляет 30% в группе больных, тогда как в контроле – 6,0%.

Носительство *TNFA* -1031**t* – *HLA DRB1**04 повышает вероятность развития ревматоидного

артрита согласно критерию отношения шансов (OR = 7,0; 95% CI 3,9-12,6).

Кроме того, в выборке условно здоровых лиц, вероятнее всего аллель *TNFA* и ген *HLA DRB1**04 наследуются независимо. Подобный результат был получен для гаплотипа *TNFA* -1031**c* – *DRB1**03, характеризующегося положительным D' и частотой встречаемости 8,0% в группе больных, а в группе сравнения аллель *TNFA* -1031**c* не сцеплен с *HLA DRB1**03. Носительство *TNFA* -1031**c* – *HLA DRB1**03 повышает вероятность развития ревматоидного артрита согласно критерию отношения шансов (OR = 5,4; 95% CI 1,8-16,5).

Было показано, что *TNFA* -1031**t* – *HLA DRB1**15 (OR = 0,4; 95% CI 0,2-0,8) и *TNFA* -1031**t* – *HLA DRB1**11 (OR = 0,4; 95% CI 0,2-0,9) могут рассматриваться как факторы, снижающие риск развития РА.

Заключение

В нашем исследовании показано, что полиморфные сайты -1031 и -863 C/A промоторной области гена *TNFA* реализуют свой вклад в предрасположенность к ревматоидному артриту через гаплотипические сочетания с *HLA DRB1*.

Гаплотипы ассоциированные с предрасположенностью к РА: *TNFA* -863**a* – *HLA DRB1**03; *TNFA* -1031**c* – *HLA DRB1**03; включают аллели с заменами, располагающиеся в потенциальных сайтах связывания регуляторных транскрипционных факторов NF-κB и OCT-1 и влияющие на экспрессию *TNFA* [6, 11, 12]

В паре *TNFA* -1031**t* – *HLA DRB1**04 вероятнее всего, ведущее значение для формирования предрасположенности принадлежит генным специфичностям *HLA DRB1**04.

При этом *HLA DRB1**04 – однозначный маркер предрасположенности к РА среди генов *HLA*, устойчивых гаплотипических сочетаний с точковым полиморфизмом *TNFA* -863 не формирует.

Кроме того, двухлокусные гаплотипы *TNFA* -1031**t* – *DRB1**15 и *TNFA* -863**c* – *HLA DRB1**15 наряду с общим *HLA DRB1**15, определенным как ген устойчивости к РА в русской популяции, содержат «среднепродуктивные» аллельные варианты -1031**t* и -863**c* *TNFA*, что, вероятнее всего, вносит вклад в формирование такого протекторного комплекса.

Данная работа является продолжением комплексного исследования и показывает, что кроме отдельных генных семейств *HLA* II класса в предрасположенность/устойчивость к ревматоидному артриту вносят вклад гаплотипические сочетания редких однонуклеотидных полиморфизмов в точках -1031, -863 C/A гена *TNFA* и *HLA DRB1*.

Список литературы / References

1. Кузир Т.Д. Полигенная природа ревматоидного артрита // Экологическая генетика, 2019. Т. 17, № 4. С. 77-90. [Kuzhir T.D. Polygenic nature of rheumatoid arthritis. *Ekologicheskaya genetika = Ecological Genetics*, 2019, Vol. 17, no. 4, pp. 77-90. (In Russ.)]
2. Насонов Е.Л. Проблемы иммунопатологии ревматоидного артрита: эволюция болезни // Научно-практическая ревматология, 2017. Т. 55, № 3. С. 277-294. [Nasonov E.L. Problems of rheumatoid arthritis immunopathology: evolution of the disease. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*, 2017, Vol. 55, no. 3, pp. 277-294. (In Russ.)]
3. Сташкевич Д.С., Девальд И.В. Анализ двухлокусных гаплотипов HLA и TNFA у больных ревматоидным артритом башкирской популяции // Вестник Уральской медицинской академической науки, 2011. № 2-2 (35). С. 116-117. [Stashkevich D.S., Devald I.V. Analysis of two-locus haplotypes HLA and TNFA in patients with rheumatoid arthritis of the Bashkir population. *Vestnik Uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki = Bulletin of the Ural Medical Academic Science*, 2011, no. 2-2 (35), pp. 116-117. (In Russ.)]
4. Сулова Т.А., Бурмистрова А.Л., Хромова Е.Б., Сташкевич Д.С., Девальд И.В., Исаканова А.О., Болдырева М.Н., Алексеев Л.П. Генетическая предрасположенность к ревматоидному артриту: роль генов и гаплотипов HLA класса II // Иммунология, 2008. Т. 29, № 3. С. 137-140. [Suslova T.A., Burmistrova A.L., Khromova E.B., Stashkevich D.S., Devald I.V., Isakanova A.O., Boldyreva M.N., Alekseev L.P. Genetic predisposition to rheumatoid arthritis: the role of HLA class II genes and haplotypes. *Immunologiya = Immunologiya*, 2008, Vol. 29, no. 3, pp. 137-140. (In Russ.)]
5. Excoffier L., Slatkin M. Maximum-likelihood estimation of molecular haplotype frequencies in a diploid population. *Mol. Biol. Evol.*, 1995, Vol. 12, no. 5, pp. 921-927.
6. Gabriel M.L., Braga F.B., Cardoso M.R., Lopes A.C., Piatto V.B., Souza A.S. The association between pro- and anti-inflammatory cytokine polymorphisms and periventricular leukomalacia in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. *J. Inflamm. Res.*, 2016, Vol. 9, pp. 59-67.
7. Karami J., Aslani S., Jamshidi A., Garshasbi M., Mahmoudi M. Genetic implications in the pathogenesis of rheumatoid arthritis; an updated review. *Gene*, 2019, Vol. 702, pp. 8-16.
8. Mikhaylenko D.S., Nemtsova M.V., Bure I.V. Genetic polymorphisms associated with rheumatoid arthritis development and antirheumatic therapy response. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, Vol. 21, no. 14, 4911. doi:10.3390/ijms21144911.
9. Noack M., Miossec P. Selected cytokine pathways in rheumatoid arthritis. *Semin. Immunopathol.*, 2017, Vol. 39, no. 4, pp. 365-383.
10. Ridgley L.A., Anderson A.E., Pratt A.G. What are the dominant cytokines in early rheumatoid arthritis? *Curr. Opin. Rheumatol.*, 2018, Vol. 30, no. 2, pp. 207-214.
11. Sadaf T., John P., Bhatti A., Malik J.M. Lack of association of -863C/A (rs1800630) polymorphism of tumor necrosis factor- α gene with rheumatoid arthritis. *Arch. Med. Sci.*, 2019, Vol. 15, no. 2, pp. 531-536.
12. Sandoval-Pinto E., Padilla-Gutiérrez J.R., Valdés-Alvarado E., García-González I.J., Valdez-Haro A., Francisco Muñoz-Valle J., Flores-Salinas H. E., Brennan-Bourdon L.M., Valle Y. Association of the -1031T>C polymorphism and soluble TNF- α levels with Acute Coronary Syndrome. *Cytokine*, 2016, Vol. 78, pp. 37-43.
13. Suslova T.A., Burmistrova A.L., Vavilov M.N., Chernova M.S., Khromova E.B., Belyaeva S.V., Zaripova O.N., Stashkevich D.S., Galkin A.S., Darke C. HLA gene and haplotype frequencies in a nagaybaks population from the Chelyabinsk region (Russian South Urals). *Hum. Immunol.*, 2017, Vol. 78, no. 10, pp. 595-601.

Авторы:

Сташкевич Д.С. – к.б.н., доцент, декан биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Хромова Е.Б. – к.б.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Authors:

Stashkevich D.S., PhD (Biology), Associate Professor, Dean, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Khromova E.B., PhD (Biology), Assistant Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Девальд И.В. — к.м.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет»; доцент кафедры терапии ИДПО ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», г. Челябинск, Россия

Ходус Е.А. — к.м.н., врач-ревматолог клиники профессора Кинзерского, г. Челябинск, Россия

Бурмистрова А.Л. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Devald I.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University; Associate Professor, Department of Therapy, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Khodus E.A., PhD (Medicine), Clinical Rheumatologist, Professor Kinzersky Clinic, Chelyabinsk, Russian Federation

Burmistrova A.L., PhD, MD (Medicine), Head, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Поступила 15.07.2021
Принята к печати 20.08.2021

Received 15.07.2021
Accepted 20.08.2021

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 β 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 β 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. Также 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

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Алексеева А.С.	461	Костюшко А.В.	519	Радаева О.А.	531
Барило А.А.	455	Краскевич Д.А.	539	Радыгина Т.В.	495
Батурина И.Л.	483	Красников В.Е.	519	Разина А.С.	513
Бесшейнов Д.Д.	531	Кудрявцев И.В.	525	Савочкина А.Ю.	483
Бовдуй М.А.	519	Кузнецов А.С.	489	Самойликов Р.В.	539
Борзенко С.А.	495	Кузнецова А.С.	483	Сарычев В.А.	469
Бурмистрова А.Л.	461, 555	Кузнецова В.С.	539	Серебрякова М.К.	525
Валикова О.В.	469	Кузнецова Р.Н.	525	Сидорова Д.А.	513
Воробьев С.В.	525	Купцова Д.Г.	495	Силаев А.А.	507
Генкель В.В.	483	Лазанович В.А.	501	Симбирцев А.С.	531
Гончаров А.Г.	477	Левенец М.А.	489	Ситдикова Т.С.	547
Гончарова Е.А.	477, 513	Леонова А.Ю.	539	Скляр Л.Ф.	489
Горбунова А.Ю.	513	Литвинова Л.С.	477	Смирнова С.В.	455
Греченко В.В.	539	Маркелова Е.В.	489, 501, 507	Соловьева Н.П.	489
Девальд И.В.	555	Мархайчук А.З.	513	Сташкевич Д.С.	555
Долгушин И.И.	483	Матюшкина Л.С.	519	Тодосенко Н.М.	477
Здор В.В.	469	Машнина С.В.	531	Федянина Л.Н.	507
Зенина А.А.	507	Минасова А.А.	483	Филиппова Ю.Ю.	461
Искандярова М.С.	531	Намиот Е.Д.	539	Ходус Е.А.	555
Кабиева А.А.	547	Невежкина Т.А.	519	Хромова Е.Б.	555
Казо М.Е.	461	Негоднова Е.В.	531	Чагина Е.А.	507
Кныш С.В.	489	Норка А.О.	525	Шапошник И.И.	483
Коваленко С.Н.	525	Петричук С.В.	495	Шуматов В.Б.	501
Комах Ю.А.	495	Постнова В.Е.	501	Шуплецова В.В.	477
Костина Ю.А.	531	Просекова Е.В.	547		

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

АКДС	540	когнитивная дисфункция	508	эозинофильный катионный протеин..	455
АКШ	508	коронавирусная инфекция	548	эссенциальная гипертензия	532
аллергия	455	макрофагальный		25(ОН) витамин D	470
аллергопатология	514	колониестимулирующий фактор	532	В-лимфоциты	526
атеросклероз	483	метаболизм лимфоцитов	496	CD36	483
атопия	455	многоцветный анализ	526	COVID-19	532
аутоиммунный тиреоидит	470	моноциты	483, 501	CYP2R1	470
биомаркер	501	мукозальный иммунитет	520	DHCR7	470
биомаркеры воспаления	548	мультипотентные мезенхимальные		Eotaxin	540
вакцинация	532	стволовые клетки	478	G-CSF	540
вирусный гепатит С	490	мышы	540	GC	470
вирус папилломы человека	520	нейровоспаление	508	HLA	556
ВИЧ	490	неравновесное сцепление	556	IFNλ1	520
воспаление	526	однонуклеотидные полиморфизмы	556	IFNλ1	520
гаплотипы	556	отторжение трансплантата роговицы	496	IL-12p40	540
гемокоагуляция	501	Полимилекс	540	IL-1α	540
гормоны стресса	462	провоспалительные цитокины	478	IL-2	540
гуморальное звено системы		противовоспалительные цитокины	478	IL-34	532
иммунитета	526	протоочная цитометрия	526	IL-4	540
деменция	462	псориаз	455	IL6	470
дети	514	ревматоидный артрит	556	IL-6	540
дифференциальная диагностика	462	ростовые факторы	478	Inosine pranobex	520
здоровое старение	462	сахарный диабет 1-го типа	478	M-CSF	532
иммунный статус	514	сенсбилизация	455	MIP-1β	540
иммунобиологическая реактивность	514	сепсис	501	MMP9	508
иммунограмма	514	синдром поликистозных яичников	470	NSE	508
иммунокомпетентные клетки	548	сокультивирование	478	SARS-CoV-2	532, 548
иммуномодуляторы	496	сотрясение головного мозга	526	TIMP1	508
инсулин-продуцирующие клетки	478	старческая депрессия	462	TNFA	556
интенсивность экспрессии	483	тканевой фактор	501	VDR	470
интерлейкины	540	цервикальная слизь	520	VEGF-A	532
интерфероны-лямбда	490	цитокины	462, 548		
интерфероны	490	черепно-мозговая травма	526		
классические моноциты	483	экология	514		