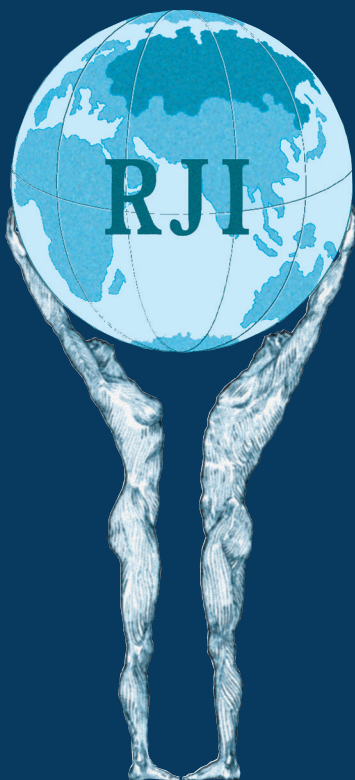


Том 25, № 1. С. 1-110

2022

Официальный журнал
Российского Научного Общества Иммунологов

**РОССИЙСКИЙ
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ**



**RUSSIAN JOURNAL
OF IMMUNOLOGY**

Official Journal
of Russian Society of Immunology

Volume 25
Number 1

2022

РОССИЙСКОЕ НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО ИММУНОЛОГОВ
(РНОИ)

РОССИЙСКИЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

январь-март

2022, том 25

№. 1

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 биоорганической 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, инфекционологии 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 биоорганической 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

Балмасова Ирина Петровна – доктор медицинских наук, профессор, Российский университет дружбы народов, кафедра аллергологии и иммунологии ФПК; Московский государственный 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

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

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

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

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

Карамов Эдуард Владимирович – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией иммунохимии ФНИЦ 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

Спиашвили 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

Сизягина 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

Толтыгина Анна Павловна – доктор медицинских наук, НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.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

Федосова 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 ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава РФ, заведующий лабораторией межклеточных взаимодействий, Москва, Россия

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

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

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

Издательство «Человек»
199004, Россия, Санкт-Петербург, Малый пр. В.О., 26, оф. 3.
E-mail: mail@mirmed.ru
Тел./факс: (812) 325-25-64.

Подписано в печать 30.03.2022 г. Формат 60 x 90 1/8. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 13,75. Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.)
Заказ № 025
Напечатано в ООО «АРТЕМИДА».
199178, Санкт-Петербург, 8-я линия В.О., 83, корп. 1, Литер А
Тел.: (812) 950-10-99.

RUSSIAN SOCIETY OF IMMUNOLOGY
(RSI)

**RUSSIAN
JOURNAL OF IMMUNOLOGY**

**ROSSIYSKIY
IMMUNOLOGICHESKIY
ZHURNAL**

January-March

2022, volume 25

No. 1

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. Freidin – 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 Grigorova – 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. Khaïdukov – Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Andrey S. Simbirtsev – 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

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

Editorial Council

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

Sergey B. Cheknyov – 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 №80, 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. Sizyakina – 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. Shmagel – 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

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)

Chelovek Publishing House

199004, Russian Federation, St. Petersburg, Malyi ave., Vasilevsky Island,

26, office 3.

E-mail: mail@mirmed.ru

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

Passed for printing 30.03.2022. Print format 60 x 90 1/8. Offset printing.

Printed sheets 13.75. Circulation 2000 copies. (1st edition – 1000 copies.)

Print in LLC «ARTEMIDA»

199178, Russian Federation, St. Petersburg, 8 line of Vasilevsky Island,

83/1-A

Phone: (812) 950-10-99

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

Обзоры

Малышев И.Ю., Чернышева О.О., Кузнецова Л.В., Пихлак А.Э. РОЛЬ МАКРОФАГОВ В ПОДАГРИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ	7
Глушков А.Н. ИММУНО-ГОРМОНАЛЬНЫЙ ДИСБАЛАНС ПРИ ХИМИЧЕСКОМ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ	23

Оригинальные статьи

Гринько Е.К., Марзанова С.Н., Донецкова А.Д. УСИЛЕНИЕ ГОМЕОСТАТИЧЕСКОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ Т-ЛИМФОЦИТОВ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ЦИКЛОФОСФАНА У МЫШЕЙ ЛИНИИ С57BL/6	37
Криволапова И.М., Пашнина И.А. УРОВЕНЬ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В СУПЕРНАТАНТАХ КУЛЬТУР КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ДЕТЕЙ С АУТОИММУННЫМИ И ИНФЕКЦИОННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ	47
Гурбанова Г.М., Рагимова Н.Д. ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА У НОВОРОЖДЕННЫХ С СУДОРОГАМИ	55
Топтыгина А.П., Андреев Ю.Ю. ПАРАМЕТРЫ ИММУНИТЕТА У ВЗРОСЛЫХ БОЛЬНЫХ КОРЬЮ В СРАВНЕНИИ СО ЗДОРОВЫМИ	63
Сайдакова Е.В., Королевская Л.Б., Шмагель К.В. ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПУЛА РЕГУЛЯТОРНЫХ CD4 ⁺ Т-ЛИМФОЦИТОВ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ, КОИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСОМ ГЕПАТИТА С	73
Гаверилова Т.В., Кинкулькина А.Р., Авагян А.С., Свитич О.А. АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ В ГЕНЕ eNOS С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ У ЖИТЕЛЕЙ ПЕРМСКОГО КРАЯ	83

Краткие сообщения

Прокопович С.С., Новикова И.А. СОСТОЯНИЕ КИЛЛЕРНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА У ВЗРОСЛЫХ ПАЦИЕНТОВ С ОБЩЕЙ ВАРИАБЕЛЬНОЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ	93
Никоношина Н.А., Долгих О.В., Зайцева Н.В. ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО СТАТУСА, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ФОРМИРОВАНИЕМ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У РАБОТНИКОВ ПРЕДПРИЯТИЯ НЕФТЕДОБЫЧИ	99

Некролог (Хаитов Рахим Мусаевич)	105
--	-----

Некролог (Федоскова Татьяна Германовна)	107
---	-----

Правила для авторов	108
---------------------------	-----

Авторский указатель	110
---------------------------	-----

Предметный указатель	110
----------------------------	-----

CONTENTS

Reviews

Malyshev I.Yu., Chernysheva O.O., Kuznetsova L.V., Pikhlak A.E.

MACROPHAGES IN GOUTY INFLAMMATION 7

Glushkov A.N.

IMMUNE-HORMONAL IMBALANCE IN CHEMICAL CANCEROGENESIS 23

Original articles

Grinko E.K., Marzanova S.N., Donetskova A.D.

ENHANCED HOMEOSTATIC PROLIFERATION OF T LYMPHOCYTES AFTER CYCLOPHOSPHAMIDE INJECTION IN C57BL/6 MICE 37

Krivolapova I.M., Pashnina I.A.

CONCENTRATION OF ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES IN SUPERNATANTS OF PERIPHERAL BLOOD CELL CULTURES IN CHILDREN WITH AUTOIMMUNE AND INFECTIOUS DISEASES 47

Gurbanova G.M., Ragimova N.J.

FEATURES OF CYTOKINE STATUS OF THE NEWBORNS WITH SEIZURES 55

Toptygina A.P., Andreev Yu.Yu.

IMMUNITY PARAMETERS IN ADULTS WITH MEASLES COMPARED WITH HEALTHY PERSONS 63

Saidakova E.V., Korolevskaya L.B., Shmagel K.V.

FUNCTIONAL STATE OF REGULATORY CD4⁺T CELL POOL IN HIV/HEPATITIS C VIRUS COINFECTED SUBJECTS..... 73

Gavrilova T.V., Kinkulkina A.R., Avakyan A.S., Svitich O.A.

ASSOCIATION BETWEEN POLYMORPHIC eNOS GENE MARKERS AND RISK OF PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA IN THE PERM REGION POPULATION 83

Short communications

Prokopovich S.S., Novikova I.A.

KILLER CELL CLUSTER IMMUNITY STATE IN ADULT PATIENTS WITH COMMON VARIABLE IMMUNODEFICIENCY..... 93

Nikonoshina N.A., Dolgikh O.V., Zaitseva N.V.

FEATURES OF IMMUNITY ASSOCIATED WITH EMERGING ARTERIAL HYPERTENSION IN WORKERS EMPLOYED AT OIL-PRODUCING ENTERPRISE..... 99

Obituary (Rakhim M. Khaitov) 105

Obituary (Tatiana G. Fedoskova)..... 107

Instructions to Authors..... 108

Author index..... 110

Subject index..... 110

РОЛЬ МАКРОФАГОВ В ПОДАГРИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ

Мальшев И.Ю.^{1,2}, Чернышева О.О.¹, Кузнецова Л.В.¹, Пихлак А.Э.¹

¹ ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

Резюме. Подагра является самой распространенной причиной воспалительного артрита. Этиологическим фактором подагры является гиперурикемия, которая приводит к образованию растворимых уратов и труднорастворимых кристаллов уратов в суставах и тканях. Обзор суммирует современные представления о механизмах подагрического аутовоспаления и анализирует перспективы новых подходов к лечению подагры. При подагре, воспаление связано с фагоцитозом кристаллов и активацией инфламмосомы NLRP3 в макрофагах. Этот процесс состоит из подготовительной стадии и стадии генерации провоспалительных цитокинов. На стадии подготовки растворимые ураты и кристаллы уратов инициируют в макрофагах транскрипцию предшественников IL-1 β и других провоспалительных цитокинов, синтез компонентов инфламмосомы NLRP3 и формирование иммунной памяти. Увеличение транскрипции предшественников IL-1 β и других цитокинов реализуется через PRAS40-AKT-mTOR сигнальный путь, противовоспалительный фактор IL-1 α и через TLR-MuD88-IRAK-NF- κ B-путь; увеличение синтеза компонентов инфламмосомы NLRP3 – через TLR-NF- κ B-путь, а формирование иммунной памяти происходит благодаря эпигенетическим модификациям, обусловленным (де-) ацетилированием и (де-) метилированием гистонов и ДНК. На следующей стадии, действие растворимых уратов и кристаллов уратов на макрофаги стимулирует активацию инфламмосомы NLRP3 благодаря: 1) изменению ионных токов K⁺, Cl⁻ и Ca²⁺; 2) повреждению лизосом и митохондрий и выход катепсина В и увеличения продукции реактивных форм кислорода, соответственно; 3) изменению локализации NLRP3 между эндоплазматическим ретикуломом, аппаратом Гольджи и цитозолем и 4) изменению структуры NLRP3 в результате присоединения вспомогательных белков, фосфорилирования, убиквитилирования и ацетилирования. Активность инфламмосомы NLRP3 проявляется в продукции активной каспазы 1, которая продуцирует IL-1 β и белки пироптоических пор. Через пироптоические поры высвобождаются IL-1 β , которые еще больше усиливают воспаление. При пироптозе из клеток высвобождаются растворимые ураты и кристаллы уратов, еще больше усиливая воспаление и повреждение тканей. Понимание механизмов подагрического воспаления позволяет сформулировать перспективные направления для разработки новых методов лечения. Макрофаги играют ключевую роль в развитии кристалл-индуцированного воспаления. Поэтому разработка новых биотехнологий основанных на макрофагах может оказаться весьма перспективной в лечении подагры. В обзоре проанализирована возможность использования М3-фенотипа макрофагов (АВ-М3), который, в отличие от М1- и М2-фенотипов, на действие воспалительных факторов может продуцировать противовоспалительные цитокины и благодаря этому подавлять кристалл-индуцированное воспаление. При этом, в отличие от препаратов антител против IL-1 β , такие как канакинумаб, которые блокируют лишь один

Адрес для переписки:

Мальшев Игорь Юрьевич
ФГБОУ ВО «Московский государственный
медико-стоматологический университет имени
А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения РФ
125315, Россия, Москва, ул. Делегатская, 20, стр. 1.
Тел.: 8 (495) 609-67-00
E-mail: iymalyshev1@gmail.com

Address for correspondence:

Malyshev Igor Yu.
A. Evdokimov Moscow State University of Medicine
and Dentistry
127473, Russian Federation, Moscow,
Delegatskaya str., 20, bldg 1.
Phone: 7 (495) 609-67-00
E-mail: iymalyshev1@gmail.com

Образец цитирования:

И.Ю. Мальшев, О.О. Чернышева, Л.В. Кузнецова,
А.Э. Пихлак «Роль макрофагов в подагрическом
воспалении» // Российский иммунологический журнал,
2022. Т. 25, № 1. С. 7-22.
doi: 10.46235/1028-7221-1096-MIG
© Мальшев И.Ю. и соавт., 2022

For citation:

I.Yu. Malyshev, O.O. Chernysheva, L.V. Kuznetsova,
A.E. Pikhlak "Macrophages in gouty inflammation", Russian
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2022, Vol. 25, no. 1, pp. 7-22.
doi: 10.46235/1028-7221-1096-MIG
DOI: 10.46235/1028-7221-1096-MIG

конечный продукт подагрического воспаления – IL-1 β , АВ-М3-макрофаги снижают не только продукцию IL-1 β , но и других воспалительных цитокинов.

Ключевые слова: подагра, инфламмосома, макрофаги, MSU, IL-1 β

MACROPHAGES IN GOUTY INFLAMMATION

Malyshev I.Yu.^{a,b}, Chernysheva O.O.^a, Kuznetsova L.V.^a, Pikhlak A.E.^a

^a A. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation

^b Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow. Russian Federation

Abstract. Gout disorder is likely to be the most common cause of inflammatory arthritis. Hyperuricemia leads to formation of poorly soluble crystalline urate salts in tissues and joints, thus being etiological factor of the gout. The review summarizes modern views on the mechanisms of autoinflammation in gout disorder and it provides an outlook for the new treatment approaches. Inflammation in gout is related to phagocytosis of the urate crystals and the macrophagic NLRP3 inflammasome activation. This process consists of preliminary stage and proinflammatory cytokine generation phases. During the preliminary phase, soluble and crystalline urate salts initiate mRNA transcription for IL-1 β and other proinflammatory cytokines precursors in macrophages, synthesis of NLRP3 inflammasome components, and formation of immune memory. Enhanced transcription of IL-1 β and other cytokine precursors is implemented *via* PRAS49-AKT-mTOR signaling, IL-1ra anti-inflammatory factor and TLR-MyD88-IRAK-NF- κ B pathway; the enhanced synthesis of NLRP3 inflammasome components provided *via* the TLR-NF- κ B pathway. The immune memory develops due to the epigenetic modifications, associated with (de-) acetylation and (de-) methylation of histones and DNA. During the next phase, the effect of soluble and crystalline urate salts upon macrophages promotes NLRP3 inflammasome activation, due to the following events: 1. K⁺, Cl⁻ and Ca²⁺ ionic currents shift; 2. lysosomal and mitochondrial damage, leading to the cathepsin B release and enhancement of reactive oxygen production, respectively; 3. NLRP3 relocation between the endoplasmic reticulum, Golgi complex and cytosol; 4. alteration of the NLRP3 structure due to auxiliary proteins attachment, phosphorylation, ubiquitination and acetylation. The NLRP3 inflammasome activity results into increased caspase 1 production which, in turn, produces IL-1 β and pyroptotic pores proteins. The pyroptotic pores allow IL-1 β passage, which further amplifies inflammation. During the pyroptosis, soluble and crystalline urate salts release from the cells, further increasing inflammation and tissue damage. Understanding the mechanisms of gout-associated inflammation helps us to formulate promising approaches to development of novel treatments. Macrophages are the key cells to crystal-induced inflammation development. Thus, new biotechnologies based on macrophage engineering may appear to be prospective in gout treatment. In this review, we have analyzed the prospects of M3 phenotype macrophages (AB-M3) usage in therapy, unlike M1 and M2 phenotypes, is able to produce anti-inflammatory cytokines in response to the inflammatory factors and, therefore, to inhibit crystal-induced inflammation. Meanwhile, unlike the anti-IL-1 β medications, e.g., canakinumab, targeting a single end product of the gout inflammation (IL-1 β), АВ-M3 macrophages inhibit not only IL-1 β production, but also a group of other inflammatory cytokines.

Keywords: gout, inflammasome, macrophages, MSU, IL-1 β

Написание обзора поддержано Российским фондом фундаментальных исследований (РФФИ) по результатам конкурсного отбора научных проектов в качестве победителя конкурса ЯМИФ_Г – Конкурс проектов 2018 г. фундаментальных научных исследований, проводимый совместно РФФИ и Японским фондом медицинских исследований.

Введение

Подагра является самой распространенной причиной воспалительного артрита. В мире в разных странах от этого заболевания страдают от 0,1 до 2,0% жителей, а в возрастной группе 50-60 лет – 4-6% [56]. Главным этиологическим фактором подагры является гиперурикемия (превышение концентрации мочевой кислоты в крови

значений 6–7 мг/л [31] с образованием растворимых уратов (соли и эфиры мочевой кислоты) и труднорастворимых кристаллов уратов в суставах и тканях [64]. Клинически это проявляется острыми приступами воспаления суставов, появлением подагрических узлов — тофусов, а при отсутствии лечения увеличением частоты приступов и прогрессирующим разрушением суставов [32, 79]. Осложнения подагры часто выходят за рамки суставов. У пациентов с подагрой наблюдается более высокая частота сердечно-сосудистых заболеваний [80], диабета 2 типа и хронических заболеваний почек [82], метаболического синдрома [96] и рака [55, 107]. Общим звеном этих заболеваний является воспаление, в котором растворимые ураты и кристаллы уратов возможно действуют как триггеры.

Клеточной мишенью растворимых уратов и кристаллов уратов являются иммунные клетки [100, 105], среди которых моноциты и макрофаги играют ключевую роль в развитии подагры [15, 104]. На мышинных моделях подагры показано, что циркулирующие моноциты первыми привлекаются к местам отложения кристаллов уратов в суставах и тканях [87]. Там моноциты дифференцируются в макрофаги — клетки, инициирующие воспаление. Макрофаги могут приобретать любой фенотип в континууме от провоспалительного М1 до противовоспалительного М2 [70]. И М1-, и М2-фенотип на действие воспалительных факторов усиливает продукцию воспалительных цитокинов. В результате формируется положительная обратная связь и развивается острое подагрическое воспаление.

Ранее, мы обосновали теоретическую возможность получения особого противовоспалительного М3-фенотипа макрофагов (АВ-М3) [61], который, в отличие от М1 и М2, на действие воспалительных факторов усиливает продукцию противовоспалительных цитокинов, и разработали технологию его получения [1, 2].

В обзоре проанализированы механизмы подагрического воспаления и перспективы использования АВ-М3-макрофагов для ограничения кристалл-индуцированное воспаление.

1. Стадии подагрического воспаления

Клетки врожденного иммунитета моноциты и макрофаги оснащены рецепторами распознавания образов (pattern recognition receptors, PRR), такими как Toll-подобные рецепторы (Toll-like receptors, TLR), RIG-I-подобные рецепторы (RIG-like receptors, RLR) и Nod-подобные рецепторы (Nod-like receptors, NLR) [52]. Лиган-

дами PRR являются патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (pathogen-associated molecular patterns, PAMP) и опасные молекулярные паттерны (danger associated molecular patterns, DAMP). К PAMP относятся липополисахариды (ЛПС), пептидогликаны, флагеллины, липотейхоевая кислота бактерий, нуклеиновые кислоты вирусов и неметилованные мотивы CpG, имитирующие бактериальную ДНК [60]. К DAMP относятся поврежденные молекулы [77] и нормальные молекулы, которые высвобождаются из клеток при некрозе, такие как нуклеиновые кислоты, АТФ, окисленные липопротеины низкой плотности, цитокины IFN γ , IL-1 β и др. [68], а также ураты [84].

После контакта PRR с PAMP или DAMP, иммунные клетки приобретают способность к более сильному воспалительному ответу на повторное действие PAMP или DAMP [9, 10]. Этот феномен был обозначен как праймирование или память врожденного иммунитета [15]. В контексте этого феномена, растворимые ураты и кристаллы уратов можно рассматривать как DAMP, который может сформировать память в иммунных клетках — основу последующего острого и хронического воспаления.

Воспаление при подагре связано с активацией инфламмосомы NLRP3 в моноцитах и макрофагах, усилением продукции IL-1 β , других провоспалительных цитокинов и пироптозом [67, 91]. Процесс развития воспаления делят на две стадии: 1) подготовки и 2) генерации провоспалительных цитокинов.

1.1. Стадия подготовки

На стадии подготовки происходят три ключевых события — усиление транскрипции предшественника IL-1 β (про-IL-1 β), синтез компонентов инфламмосомы NLRP3 и формирование памяти в клетках врожденного иммунитета. На этой стадии разные PAMP и DAMP, включая растворимые ураты и кристаллы уратов, действуя на PRR, могут инициировать все эти события [7, 15]. При этом надо иметь в виду, что по мере нарушения метаболизма мочевой кислоты, первоначально будет наблюдаться увеличение концентрации растворимых уратов в крови, а потом при достижении пороговых значений кристаллизации — образование кристаллов уратов. Поэтому сначала растворимые ураты будут действовать на моноциты крови, а затем, когда кристаллы накопятся в суставах, а моноциты дифференцируются в макрофаги — на эти макрофаги начнут действовать кристаллы уратов.

1.1.1. Транскрипция предшественника IL-1 β

Эффект растворимых уратов на продукцию про-IL-1 β доказала группа Crişan, показав, что на фоне повышенных концентраций растворимых уратов повторная стимуляция моноцитов здоровых доноров *in vitro* сопровождается более высокой транскрипцией гена про-IL-1 β , по сравнению с интактными клетками, а также что моноциты пациенты с подагрой имеют более высокие уровни мРНК про-IL-1 β по сравнению со здоровыми людьми [27]. Было выявлено, что растворимые ураты индуцировали фосфорилирование протеинкиназы В (Protein kinase B, АКТ) и богатого пролином субстрата АКТ 40 кДа (Proline-Rich Akt Substrate of 40 kDa, PRAS 40), который, в свою очередь активировал мишень рапамицина млекопитающих (mammalian Target Of Rapamycin, mTOR) с последующим снижением аутофагии продукции антагониста рецептора IL-1 (IL-1ra). Таким образом, подготовка клеток растворимыми уратами, вероятно, опосредуется PRAS40-АКТ-mTOR сигнальным путем и анти-воспалительным фактором IL-1ra.

В исследованиях *in vitro* было показано, что кристаллы уратов также могут стимулировать выработку макрофагами про-IL-1 β , и что происходит это через цитозольный адаптерный белок Myeloid Differentiation primary response gene 88 (MyD88) [19]. MyD88 передает сигнал от TLR и рецептора IL-1 (IL-1R) к IL-1R-ассоциированной киназе (Interleukin-1 Receptor-Associated Kinase, IRAK) и, таким образом, активирует фактор транскрипции κ B (Nuclear Factor κ B, NF- κ B) и последующую активацию воспалительных генов про-IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-12 p40 и др. [73]. Однако, важно отметить, что для чистых кристаллов уратов рецепторы пока не обнаружены [72], поэтому сам кристалл уратов не может активировать иммунные клетки через TLR или IL-1R. Вместе с тем кристаллы уратов могут адсорбировать белки, например растворимый CD14 [89], который может взаимодействовать с TLR и индуцировать воспалительные реакции. Выяснилось, что воспалительный ответ на кристаллы уратов зависит от адсорбированных белков, и что их состав меняется в ходе воспаления [6]. Например, IgG адгезированный на кристаллах уратов может усилить, а AroB [82], AroE или липопротеиды низкой плотности [86] ослабить воспаление. Предположение о других лигандах TLR при действии кристаллов уратов появилось, когда у пациентов с подагрой и у мышей, которым вводили кристаллы уратов, обнаружили увеличение концентрации эндогенных лигандов TLR4 – белков MRP-8 (Myeloid-Related Protein, MRP) и MRP-14 [47]. Возможно, что MRP-8 и MRP-14 при взаимодей-

ствии с TLR активируют NF- κ B и инициируют синтез про-IL-1 β .

Значимость TLR/MyD88/NF- κ B пути для воспалительных ответов на кристаллы уратов показали мыши, лишенные генов TLR или MyD88, у которых продукция IL-1 β была существенно снижена [58].

1.1.2. Продукция молекулярных компонентов инфламмосомы NLRP3

На стадии подготовки также происходит синтез компонентов инфламмосомы NLRP3. В условиях *in vitro* показано, что синтез NLRP3 на уровне транскрипции запускают разные PRR, такие как TLR4, который воспринимает разные PAMP или DAMP, например ЛПС, или другие рецепторы, передающие сигналы на активацию NF- κ B [7, 58]. Показано, что иммунные клетки мышей с дефицитом TLR слабее реагировали на кристаллы уратов, по сравнению с клетками нормальных мышей [58]. Возможно, кристаллы уратов с адсорбированными белками или MRP-8 и MRP-14, действуя на TLR, активируют NF- κ B и инициируют синтез не только про-IL-1 β , но и компонентов инфламмосомы.

1.1.3. Эпигенетические механизмы в формировании памяти врожденного иммунитета

На стадии подготовки, наряду с увеличением синтеза про-IL-1 β и компонентов инфламмосомы, в моноцитах/макрофагах происходят эпигенетические модификации [8, 85]. Эти события формируют память врожденного иммунитета, которая обеспечит более сильный воспалительный ответ на последующее действие кристаллов уратов [10, 15].

Эпигенетические модификации возникают в результате (де-) ацетилирования и (де-) метилирования гистонов и ДНК. Они влияют на экспрессию гена не меняя структуру ДНК [45, 76]. Ацетилирование гистонов регулируют ацетилтрансферазы и деацетилазы, а метилирование – метилтрансферазы и деметилазы [53]

Предполагается, что эпигенетические модификации, индуцированные растворимыми уратами, опосредуются через АКТ-mTOR сигнальный путь [5, 28] и через метилирование гистонов [27].

Показано, что кристаллы уратов также усиливают активность mTOR в моноцитах человека [23] и что у пациентов с подагрой, по сравнению со здоровыми людьми, более высокая экспрессия генов пути mTOR, и более низкая экспрессия фосфатазы с двойной субстратной специфичностью PTEN (Phosphatase and Tensin homolog, PTEN), ингибитора mTOR [97]. Воспалительные mTOR-зависимые реакции на кристаллы уратов, по-видимому, также зависят от эпигенетических

механизмов, поскольку ромидепсин, ингибитор гистондеацетилазы (Histone Deacetylases, HDAC), снижал продукцию цитокинов в мононуклеарных клетках периферической крови (Peripheral Blood Mononuclear Cell, PBMC) в ответ на действие кристаллов уратов [25]. Ингибирование HDAC приводило к усилению экспрессии SOCS1 (Suppressor Of Cytokine Signaling 1, SOCS1) и снижению фосфорилирования факторов транскрипции провоспалительных генов STAT1 (Signal Transducer and Activator of Transcription, STAT) и STAT3 [18, 23]. Учитывая, что SOCS1 направляет воспалительные молекулы на деградацию в протеосомы [20, 25], можно предположить, что кристаллы уратов каким-то образом активируют HDAC, это приводит к удалению ацетильных групп с гистонов, в результате снижается экспрессии SOCS1 и активируются STAT1 и STAT3. Оба сдвига способствуют увеличению продукции провоспалительных цитокинов.

Интересно, что в ответ на ромидепсин уровни мРНК IL-1 β были снижены, а транскрипты компонентов инфламмосомы не изменялись [25]. Это показывает специфичность эпигенетического контроля в отношении продукции цитокинов и компонентов инфламмосомы при кристаллиндуцированном воспалении. Интересно также, что растворимые ураты праймируют иммунные клетки на продукцию IL-1 β вовлекая метилирование гистонов, а кристаллы уратов – деацетилирование гистонов.

Важность эпигенетических модификаций также подтвердили эксперименты с бутиратом, ингибитором HDAC класса I. Было показано, что бутират снижает активацию NF- κ B [75] и, вероятно, благодаря этому подавляет индуцированную кристаллами уратов продукцию IL-1 β в клетках пациентов с подагрой [24].

После стадии подготовки, иммунная память макрофагов обеспечит быструю активацию инфламмосомы и увеличенный синтез IL-1 β при последующем взаимодействии уратов и кристаллов уратов с макрофагами.

1.2. Стадия генерации провоспалительных цитокинов

На этой стадии происходит сборка инфламмосомы NLRP3 из ее компонентов, продукция IL-1 β с помощью собранной NLRP3 и высвобождение IL-1 β из клеток через пиропототические поры.

1.2.1. Сборка и активация инфламмосомы NLRP3

NLRP3 является членом семейства внутриклеточных NLR. В собранном виде инфламмосома NLRP3 состоит из белка NLRP3, связанного

с апоптозом Speck-подобного белка, содержащего домен CARD (Apoptosis-associated Speck-like protein containing a CARD, ASC; CARD – домен, активирующий каспазу) и про-каспазы-1 [92]. Молекула белка NLRP3 содержит три домена: домен богатый повторами с лейцином (Leucine-Rich Repeat, LRR), промежуточный домен NACHT и пириновый домен (Pyrin Domain, PYD) [92]. PYD необходим для взаимодействия NLRP3 с аналогичным доменом в ASC [95], NACHT нужен для связывания и гидролиза АТФ, необходимого для олигомеризации NLRP3 [37], а LRR распознает разные DAMP и взаимодействует с NIMA-связанная Ser/Thr (Nek) киназой (Nek7) [103]. Nek7 катализирует олигомеризацию NLRP3 [103]. После олигомеризации NLRP3 привлекает белок ASC [16]. ASC состоит из N-концевого домена PYD, который связывается с доменом PYD белка NLRP3 и C-концевого домена CARD, который взаимодействует с про-каспазой-1.

1.2.2. Синтез и высвобождение IL-1 β и пироптоз

После сборки NLRP3 инфламмосома представляет собой мультимолекулярную платформу по производству воспалительного цитокина IL-1 β и белков мембранных каналов для выделения IL-1 β [14]. NLRP3 играет критически важную роль в развитии воспаления при подагре. Так, было показано, что у мышей с делецией NLRP3 [63] или LRR [46] после введения кристаллов уратов признаки воспаления были выражены существенно меньше. В другом исследовании Martinon и соавт. [67] обнаружили, что у мышей с дефицитом ASC продукция IL-1 β была существенно ослаблена. Эти исследования ясно демонстрируют, что NLRP3 имеет ключевое значение для распознавания кристаллов уратов, продукции IL-1 β и запуска воспаления.

О механизме NLRP3-индуцированного воспаления известно следующее. Когда ASC, в составе активной инфламмосомы NLRP3, рекрутирует про-каспазы-1 через свои домены CARD [78], происходит сближение про-каспаз-1 и их взаимное ауторасщепление до активной каспазы 1. Активная каспаза 1 может расщеплять предшественники про-IL-1 β и про-IL-18 до активных форм IL-1 β и IL-18 [12]. Каспаза-1 также расщепляет газдермин D (Gasdermin D, GSDMD) с образованием домена N-концевого фрагмента GSDMD [81, 102]. Эти домены олигомеризуются на плазматической мембране и образуют пиропототические поры [13], через которые высвобождаются медиаторы воспаления, включая IL-1 β [44] и другие DAMP, такие как ДНК, АТФ и ASC. Высвобождаемые DAMP дополнительно

привлекают иммунные клетки и усиливают воспаление [36]. Образование пироптоических пор может привести к гибели клетки, которая обозначается термином — пироптоз. Пироптоз еще больше усиливает выброс IL-1 β и воспаление [30].

IL-1 β является основным медиатором подагрического воспаления и фактором разрушения хрящевой ткани сустава. Когда IL-1 β связывается со своим рецептором IL-1R1, к цитоплазматической части рецептора присоединяется адапторный белок MyD88. Далее к рецептору присоединяются киназы IRAK и фактор 6, связанный с рецептором TNF (TNF Receptor Associated Factor 6, TRAF6). После этого собирается комплекс из I κ B киназ (I κ B kinase, IKK), который фосфорилирует и, благодаря этому деградирует ингибитор NF- κ B — I κ B. Активный NF- κ B, с одной стороны, стимулирует транскрипцию цитокинов и хемокинов, которые усиливают IL-1 β — опосредованное воспаление, а с другой — активирует продукцию компонентов инфламмосомы, которая продуцирует IL-1 β . Таким образом происходит формирование провоспалительной петли положительной обратной связи и усиление воспаления у пациентов с подагрой [84, 90]. IL-1 β вызывает вазодилатацию сосудов, привлечение нейтрофилов к месту отложения кристаллов [90], стимулирует выработку ферментов, разрушающих костную и хрящевую ткани [88], а действуя на центр регуляции и температуры в гипоталамусе, вызывает лихорадку [34].

Провоспалительный IL-1 β — ключевой и наиболее изученный цитокин подагрического воспаления. Вместе с тем другие цитокины, такие как IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-18, IL-37 и TNF α , также играют роль в развитии воспаления при подагре. Роль этих цитокинов хорошо представлена в обзоре Meimei Wu и соавт. [105].

1.3. Активации и модификация инфламмосомы NLRP3

Инфламмосома NLRP3 и продукция IL-1 β вместе с другими воспалительными цитокинами играют важную роль в борьбе с инфекцией. Однако неконтролируемая активация NLRP3 может вызвать чрезмерное или хроническое воспаление, как это происходит не только при подагре, но и при сердечном приступе, инсульте или болезни Альцгеймера [62]. Для того, чтобы обеспечить достаточную для подавления инфекции активацию NLRP3, но не допустить чрезмерной активации, в клетке существует многокомпонентная система регуляции.

Взаимодействие растворимых уратов и/или кристаллов уратов с макрофагами генерирует четыре типа сигналов для активации сбор-

ки инфламмосомы NLRP3 [11, 14, 91, 104]. Это сигналы, генерируемые 1) ионными токами K⁺, Cl⁻ и Ca²⁺; 2) повреждением лизосом и митохондрий; 3. изменением внутриклеточной локализации NLRP3 и 4. изменением пространственной структуры NLRP3.

1.3.1. Изменения ионных токов K⁺, Cl⁻ и Ca²⁺ в активации NLRP3

Показано, что кристаллы уратов могут увеличивать выход K⁺ из клетки и благодаря этому активировать сигнальный путь ATP-P2X7R (P2X7 Receptor, P2X7R), ведущий к олигомеризации NLRP3 [51, 108]. Отток Cl⁻ также играет важную роль в активации NLRP3. Это доказали эксперименты с блокаторами Cl⁻ каналов, которые ингибировали сборку NLRP3 [37]. Наконец, оказалось, что и транспорт Ca²⁺ влияет на активацию NLRP3. Это показали многие эксперименты [57, 71], включая эксперименты с хелатором Ca²⁺, который уменьшал и активацию NLRP3 и секрецию IL-1 β [94].

1.3.2. Роль поврежденных лизосом и митохондрий при фагоцитозе кристаллов в активации NLRP3

Кристаллы уратов, после захвата макрофагами, попадают в фаголизосому. Кристаллы могут нарушить целостность вакуолярной мембраны и внутривакуолярный катепсин В может попасть в цитозоль. Поскольку активация NLRP3 снижена в макрофагах, лишенных катепсина В [38], предполагают, что катепсины каким-то образом вовлечены в активацию NLRP3.

Активация инфламмосомы NLRP3 при действии растворимых уратов и/или кристаллов уратов также зависит от митохондриальных реактивных форм кислорода (reactive oxygen species, ROS) [11]. Наличие дисульфидной связи в структуре белковых компонентов NLRP3 поддерживает предположение о чувствительности инфламмосомы NLRP3 к ROS [3]. Гипотеза о ROS-зависимой активации NLRP3 согласуется с данными о том, что ингибитор никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ)-оксидазы (катализирует образование супероксидного радикала) снижает активацию каспазы-1 и последующее производство IL-1 β макрофагами в ответ на DAMP/АТФ [29], и о том, что антиоксиданты эффективно ингибируют активацию NLRP3 [41].

1.3.3. Роль изменений внутриклеточной локализации инфламмосомы NLRP3 в ее активации

Есть разные точки зрения на внутриклеточную локализацию белка NLRP3 до и после активации. Wang и соавт. [101] считают, что неактивная NLRP3 находится в цитозоле. Другие исследователи полагают, что до активации NLRP3 локализуется в эндоплазматическом ретикулуме

(ЭР), а затем в ходе активации перемещается к перинуклеарным, ассоциированным с митохондриями мембранам ЭР (Mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes, MAM) [69, 112]. Высвобождение из MAM позволяет NLRP3 присоединить цитозольный ASC для образования активной инфламмосомы [111]. Третья группа исследователей считает, что при активации NLRP3 перемещается из ЭР в аппарат Гольджи [21], поскольку нарушение везикулярного обмена между ЭР и аппаратом Гольджи ослабляет активацию NLRP3 [48]. Chen and Chen [21] высказали гипотезу, о том, что активаторы NLRP3 инициируют разборку сети транс-Гольджи (Trans-Golgi Network, TGN) с образованием дисперсного TGN (dTGN), в которой неактивный белок NLRP3 связывается с фосфатидилинозитолфосфатами (Phosphatidylinositol Phosphate, PIP) мембран dTGN. Дальше предполагается, что NLRP3 олигомеризуется и приобретает способность рекрутировать ASC с образованием активной инфламмосомы [21].

Дополнительная сложность пространственной регуляции сборки NLRP3 связана с посттрансляционными модификациями и изменениями локализации ASC. Так, для сборки инфламмосом NLRP3, по-видимому, необходимо убиквитинирование ASC [39]. Интересно, что фосфорилирование ASC киназами Syk и Jnk способствует присоединению ASC к NLRP3 [42], а фосфорилирование ASC с помощью киназы IκBα (IKKα), напротив, приводит к изолированию ASC в ядре, таким образом ингибируя сборку инфламмосомы NLRP3 [65]. Для присоединения ASC к NLRP3, ASC сначала прикрепляются к митохондриям, а затем с помощью микротрубочек митохондрии с ASC транспортируются к ЭР, где ASC присоединяется к NLRP3 [69].

Таким образом, изменение локализации белков NLRP3 и ASC является важным регуляторным механизмом в контроле сборки инфламмосомы NLRP3. Возможно, что разные сигналы активации используют разные пути переноса белка NLRP3: направленный к MAM или к TGN, хотя и тот, и другой приводит к активации инфламмосомы.

1.3.4. Роль изменений структуры инфламмосомы NLRP3 в ее активации

Изменения конформации NLRP3 – еще один уровень регуляции ее активности. Первое структурное изменение, которое происходит с белком NLRP3 связано с присоединением NEK7 к LRR [103]. В результате NACHT-LRR домены приобретают форму «серьги». Дальше с помощью домена NACHT происходит гидролиз АТФ [26], и

NLRP3 приобретает так называемую «открытую» конформацию готовую к полимеризации и активации [93]. Влияют ли ионные токи или ROS, индуцированные растворимыми уратами или кристаллами уратов на конформацию NLRP3, остается пока неизученным.

Важность конформационных изменений NLRP3 для ее активации подтвердили ингибиторы NLRP3. Так, связывание MCC950 с доменом NACHT блокирует гидролиз АТФ и стабилизирует «закрытую» конформацию NLRP3 [26, 93]. Другой ингибитор NLRP3, 3,4-метилendioкси-β-нитростирол связывается с доменами LRR и NACHT и также подавляет АТФ-азную активность NLRP3 [110]. Еще один ингибитор, CY09 конкурирует с АТФ за связывание с NACHT и нарушает олигомеризацию NLRP3 [54]. Наконец, ингибитор NLRP3 оридонин посредством ковалентной модификации цистеина 279 блокирует взаимодействие NEK7 с NLRP3, таким образом нарушая образование структуры «серьги» и «открытой» конформации NLRP3 [43].

Учитывая опасность чрезмерной активации NLRP3, не удивительно было обнаружить большое количество белков, которые контролируют ее активность [19]. Эти белки модифицируют активность NLRP3 посредством фосфорилирования, убиквитилирования и ацетилирования.

Тирозинкиназа Брутона (Bruton Tyrosine Kinase, BTK) является положительным регулятором NLRP3 [33]. Показано, что клетки пациентов с мутацией в BTK, или с мутацией целевых остатков тирозина в NLRP3, или клетки пациентов, получавших *in vivo* ингибиторы BTK, имели слабую активацию NLRP3 и высвобождение IL-1β [33]. Предполагается, что BTK фосфорилирует NLRP3 и таким образом делает возможным ассоциацию NLRP3 с dTGN [104] для дальнейшего перемещения из dTGN в цитозоль и взаимодействия с ASC. Интересно, что BTK способствует активации NLRP3 при низких концентрациях ЛПС, тогда как при высоких концентрации ЛПС, BTK превращается в негативный регулятор [63]. Эти данные позволили Alexander N.R. Weber и соавт. выдвинуть идею о BTK как о молекулярном рестае, который способствует активации NLRP3 при попадании инфекции или при стерильном воспалении, но отключает NLRP3 при чрезмерных концентрациях воспалительных агентов, чтобы предотвратить чрезмерное воспаление [63, 104]. Другим положительным регулятором активации NLRP3 является фосфатаза PTEN [50]. Взаимодействие PTEN с NLRP3 приводит к дефосфорилированию тирозину 32, что позволяет NLRP3 взаимодействовать с ASC [50]. Протеин-

киназа D (Proteinkinase D, PKD) фосфорилирует NLRP3 посередину 293, тем самым способствуя перемещению мембрано-связанной NLRP3 в цитозоль для сборки активного комплекса [111].

Другие посттрансляционные модификации NLRP3 связаны с убиквитилированием. Так, убиквитилирование NLRP3 F-бокс-белком L2 (FBXL2) или cullin-1 снижает стабильность NLRP3 [40] и/или блокирует рекрутирование ASC, и таким образом препятствует сборке инфламмосомы [99].

Ацетилирование — еще один способ регуляции NLRP3. В макрофагах ацетилирование NLRP3 способствует взаимодействию NLRP3 с ASC и сборке комплекса [59]. Эта модификация могла быть устранена NAD⁺-зависимой деацетилазой и SIRT2 (Sirtuin 2, SIRT2), который подавляет активацию инфламмосом [59]. Интересно, что в макрофагах старых мышей экспрессия SIRT2 была снижена и макрофаги таких мышей отвечали на стимулы повышенной активацией инфламмосом. Предположили, что усиление воспалительных процессов у стареющих людей может быть вызвано сниженной активностью SIRT2 [59].

Таким образом, сборка активной инфламмосомы находится под контролем сложного регуляторного механизма, который воспринимает разные стимулы и реорганизует внутриклеточное распределение, конформацию и посттрансляционные модификации компонентом инфламмосомы NLRP3.

2. Перспективы использования макрофагов в подавлении подагрического воспаления

Потребность в эффективных способах лечения подагры стимулирует разработку новых способов терапии. Макрофаги играют центральную роль в инициации острого и поддержании хронического воспаления при подагре. Поэтому немного удивительно, что интерес к разработке клеточной противовоспалительной терапии на основе макрофагов стал появляться совсем недавно [18]. Макрофаги обладают секреторной активностью в широком диапазоне от воспалительной до противовоспалительной. Воспалительные факторы среды, такие как ЛПС и IFN γ , усиливают продукцию воспалительных цитокинов, и программируют антимикробный, антиопухолевый и провоспалительный M1-фенотип, а противовоспалительные цитокины, такие как IL-10, IL-13 или TGF- β , стимулируют продукцию противовоспалительных цитокинов, и программируют антипаразитарный противовоспалительный M2-фенотип макрофагов [75]. Логичным было предположить, что увеличение количества M2-макрофагов в зоне воспаления будет способствовать подавлению

воспалительной реакции [4, 109]. Действительно, при артрите адаптивный трансфер макрофагов был терапевтически заметным [17]. Однако фенотип макрофагов сильно зависит от микроокружения [70] и введение M2-макрофагов в зону воспаления не приводило к стойкому противовоспалительному эффекту, потому что воспалительная среда перепрограммировала M2-макрофаги в провоспалительный M1-фенотип.

Мы предположили, что можно запрограммировать M3-фенотип, который, в отличие от M1- и M2-фенотипов, на действие воспалительных факторов может продуцировать противовоспалительные цитокины (AB-M3) и благодаря этому подавлять кристалл-индуцированное воспаление. При разработке способа программирования AB-M3-макрофагов мы исходили из представлений о дихотомии провоспалительного сигнала в макрофагах. Кратко, многие сигнальные пути формирования фенотипа макрофага, JNK-, PI3K/Akt-, Notch-, JAK/STAT-, TGF- β /SMAD/non-SMAD-, TLR/NF- κ B-, EGF- и VEGF-пути и др. имеют бифуркацию [49, 61]. Сигнальные пути M1-фенотипа, имеют ответвление на активацию продукции противовоспалительных M2-цитокинов, а сигнальные пути M2-фенотипа — ответвление на активацию продукции воспалительных M1-цитокинов. Наличие таких бифуркаций позволяет получить M3-фенотип. Действительно, блокада провоспалительной ветви внутриклеточного сигнального пути, активируемого воспалительными M1-факторами, должна в условиях M1-стимуляции привести к активации оставшейся интактной противовоспалительной M2-ветви и продукции M2-цитокинов.

С учетом того, что [3] критически важным фактором синтеза IL-1 β при подагре является инфламмосома и [4] секреция противовоспалительного цитокина TGF- β 1 макрофагами является важнейшим фактором спонтанного разрешения кристалл-индуцированного воспаления [22], логика программирования AB-M3-фенотипа состояла в том, чтобы заблокировать внутриклеточную провоспалительную ветвь кристалл-индуцированного сигнала, идущую через активацию инфламмосомы, и сохранить и усилить противовоспалительную ветвь, идущую на активацию продукции TGF- β 1. При программировании AB-M3-фенотипа мы использовали MCC950 — ингибитор инфламмосомы NLRP3 [91] для блокады воспалительного кристалл-индуцированного пути, предполагая, что кристалл-индуцированный сигнал, идущий на активацию синтеза TGF- β 1 будет сохранен. Для дополнительного ингибирования инфламмосомы и стимуляции секреции противовоспалительных

тельных цитокинов добавляли противовоспалительный цитокин IL-4.

Результаты работы подтвердили нашу гипотезу о том, что АВ-М3-фенотип, полученный с помощью сочетанного блокирования NLRP3 и активации противовоспалительных путей, может ограничить кристалл-индуцированное воспаление *in vitro* [1]. АВ-М3-макрофаги ограничили кристалл-индуцированную продукцию воспалительного цитокина IL-1 β и увеличили продукцию противовоспалительного цитокина TGF- β 1 по сравнению с М0-макрофагами. В экспериментах *in vivo* АВ-М3-макрофаги предотвратили кристалл-индуцированную воспалительную реакцию в подушечке лапы мыши (подано в печать).

Таким образом, макрофаги могли бы стать хорошей мишенью для разработки клинической версии технологии АВ-М3-макрофагов.

Можно обозначить несколько потенциальных возможностей АВ-М3-макрофагов в лечении подагрического артрита, не поддающегося традиционным методам воздействия.

Во-первых, лекарственные препараты антител против IL-1 β , такие как канакинумаб блокируют лишь один конечный продукт подагрического воспаления – IL-1 β , не затрагивая механизм производства IL-1 β и не снижают содержание других воспалительных медиаторов, которые выделяют активированные кристаллами макрофаги. С большой вероятностью АВ-М3-макрофаги снижают не только продукцию IL-1 β , но и других воспалительных цитокинов.

Во-вторых, введенные АВ-М3-макрофаги, продуцируя TGF- β , будут перепрограммировать резидентные макрофаги на противовоспалительный М2-фенотип. Это будет способствовать подавлению хронического воспаления в суставе.

В-третьих, терапия, действующая на специфическую NLRP3 инфламмасому и не затрагивающая другие инфламмосомы и механизмы высвобождения IL-1 β , вероятно будет обладать большей безопасностью для пациентов, так как незатронутые инфламмосомы будут по-прежнему обеспечивать иммунную защиту организма. Кроме того, избирательная блокада NLRP3 может иметь более высокий терапевтический потенциал, по сравнению с анти-IL-1 β терапией, так как приводит к одновременной блокаде IL-1 β , IL-18 и пироптоза [98].

В-четвертых, возможно, что комбинированная терапия АВ-М3 с противовоспалительными препаратами системного и/или локального действия даст наилучший результат в лечении кристалл-индуцированного воспаления.

Выводы

Представленные в обзоре данные о взаимодействии растворимых уратов и кристаллов уратов с макрофагами при подагре можно суммировать в трех основных положениях.

1. При увеличении концентрации мочевой кислоты, растворимые ураты праймируют циркулирующие моноциты через PRAS40-АКТ-mTOR сигнальный путь с последующим снижением противовоспалительного фактора IL-1ra. Это приводит к повышению уровня про-IL-1 β в клетках. Сверхнасыщенные ураты кристаллизуются в кристаллы уратов. Разные DAMP и PAMP, включая кристаллы уратов могут активировать TLR/MyD88/NF- κ B-зависимый путь. В результате увеличивается синтез компонентов инфламмосомы NLRP3. Увеличенные уровни про-IL-1 β и компонентов NLRP3 вместе с эпигенетическими модификациями в моноцитах и макрофагах формируют память, которая обеспечит более сильный воспалительный ответ клеток при повторном действии кристаллов уратов или других DAMP. Все эти события знаменуют собой стадию подготовки подагрического воспаления.

2. Моноциты и макрофаги в ответ на последующее действие кристаллов уратов инициируют несколько внутриклеточных событий, которые запускают сборку активной инфламмосомы NLRP3. К таким событиям относятся: 1) увеличение выходящих токов K⁺ и Cl⁻ и увеличение входящего Ca²⁺; 2) выход катепсинов из лизосом и свободных радикалов из митохондрий; 3) изменение внутриклеточной локализации белка NLRP3 и ASC, позволяющее связываться компонентам инфламмосомы и 4) конформационные модификации белка NLRP3, позволяющие NLRP3 присоединять другие компоненты инфламмосомы. Окончательную настройку активного состояния инфламмосомы NLRP3 обеспечивают посттрансляционные модификации белка NLRP3 и ASC с помощью фосфорилирования, убиквитилирования и ацетилирования. Все эти события отражают хорошо регулируемый процесс сборки и активации инфламмосомы.

3. Активность инфламмосомы NLRP3 проявляется в продукции активной каспазы 1, которая продуцирует воспалительный цитокин IL-1 β и белки пироптоических пор. Через пироптоически поры высвобождаются IL-1 β и другие DAMP, которые еще больше усиливают воспаление. При пироптозе из клеток высвобождаются растворимые ураты и кристаллы уратов, еще больше усиливая воспаление и повреждение тканей.

Макрофаги играют ключевую роль в развитии кристалл-индуцированного воспаления. Поэтому разработка новых биотехнологий основанных на макрофагах может оказаться весьма перспек-

тивной в лечении подагры. Исследования проведенные на мышинных моделях и репрограммированных макрофагах делают это предположение убедительным.

Список литературы / References

1. Калиш С.В., Лямина С.В., Кузнецова Л.В., Буданова О.П., Логачев В.А., Пихлак А.Э., Мальшев И.Ю. Антивоспалительный искусственно запрограммированный М3 фенотип макрофагов ограничивает кристалл-индуцированное подагрическое воспаление *in vitro* // Патогенез, 2020. № 2. С. 45-52. [Kalish S.V., Lyamina S.V., Kuznetsova L.V., Budanova O.P., Logachev V.A., Pihlak A.E., Malyshev I.Yu. The anti-inflammatory, artificially programmed M3 macrophage phenotype restricts crystal-induced gouty inflammation *in vitro*. *Patogenez = Pathogenesis*, 2020, no. 2, pp. 45-52. (In Russ.)]
2. Мальшев И.Ю., Пихлак А.Э., Кузнецова Л.В., Калиш С.В., Лямина С.В., Логачев В.А. Модифицированный антивоспалительный макрофаг, способ его получения и применения // Патент № 2739572 Российская Федерация, МПК C12N 5/0786 (2010.01) A61K 35/15 (2015.01) A61P 29/00 (2006.01). № 2017105030: заявл. 06.12.2020, опубл. 25.12.2020, С. 1-25. [Malyshev I.Yu., Pihlak A.E., Kuznetsova L.V., Kalish S.V., Lyamina S.V., Logachev V.A. Modified anti-inflammatory macrophage, a method for production and use thereof. // Patent No. 2739572 Russian Federation, IPC C12N5/0786 (2010.01) A61K 35/15 (2015.01) A61P 29/00 (2006.01). No. 2017105030, application 06.12.2020, publ. 25.12.2020, pp. 1-25].
3. Abais J.M., Xia M., Zhang Y., Boini K.M., Li P.L. Redox Regulation of NLRP3 Inflammasomes: ROS as Trigger or Effector? *Antioxid. Redox Signal.*, 2015, Vol. 22, no. 13, pp. 1111-1129.
4. Alvarez M.M., Liu J.C., Trujillo-de Santiago G., Cha B.H., Vishwakarma A., Ghaemmaghami A.M., Khademhosseini A. Delivery strategies to control inflammatory response: Modulating M1-M2 polarization in tissue engineering applications. *J. Control. Release*, 2016, Vol. 240, pp. 349-363.
5. Arts-Rob J.W., Novakovic B., ter Horst R., Carvalho A., Bekkering S., Lachmandas E., Rodrigues F., Silvestre R., Cheng S., Shuang-Yin W., Habibi E., Gonçalves Luís G., Mesquita I., Cunha C., van Laarhoven A., van de Veerdonk F.L., Williams D.L., van der Meer Jos W.M., Logie C., O'Neill L.A., Dinarello C.A., Riksen Niels P., van Crevel R., Clish C., Notebaart Richard A., Joosten A.B., Stunnenberg H.G. Glutaminolysis and fumarate accumulation integrate immunometabolic and epigenetic programs in trained immunity article glutaminolysis and fumarate accumulation integrate immunometabolic and epigenetic programs in trained immunity. *Cell Metab.*, 2016, Vol. 24, no. 6, pp. 807-819.
6. Barbero F., Russo L., Vitali M., Piella J., Salvo I., Borrajo M.L., Busquets-Fité M., Grandori R., Bastús N.G., Casals E., Puentes V. Formation of the Protein Corona: The Interface between Nanoparticles and the Immune System. *Semin. Immunol.*, 2017, Vol. 34, pp. 52-60.
7. Bauernfeind F.G., Horvath G., Stutz A., Alnemri E.S., Mac Donald K., Speert D., Fernandes-Alnemri T., Wu J., Monks B.G., Fitzgerald K.A., Hornung V., Latz E. Cutting Edge: NF- κ B activating pattern recognition and cytokine receptors license NLRP3 inflammasome activation by regulating NLRP3 expression. *J. Immunol.*, 2009, Vol. 183, no. 2, pp. 787-791.
8. Bekkering S., Arts R.J., Novakovic B., Kourtzelis I., vander Heijden C.D., Li Y., Popp C.D., ter Horst R., van Tuij J., Netea-Maier R.T., van de Veerdonk F.L., Chavakis T., Joosten L.A., van der Meer J.W., Stunnenberg H., Riksen N.P., Netea M.G. Metabolic induction of trained immunity through the mevalonate pathway. *Cell*, 2018, Vol. 172, no. 1-2, pp. 135-146.e9.
9. Boraschi D., Italiani P. Innate immune memory: Time for adopting a correct terminology. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, 799. doi: 10.3389/fimmu.2018.00799.
10. Bowdish D.M., Loffredo M.S., Mukhopadhyay S., Mantovani A., Gordon S. Macrophage receptors implicated in the 'adaptive' form of innate immunity. *Microbes Infect.*, 2007, Vol. 9, no. 14-15, pp. 1680-1687.
11. Braga T.T., Forni M.F., Correa-Costa M., Ramos R.N., Barbuto J.A., Branco P., Castoldi A., Hiyane M.I., Davanzo M.R., Latz E., Franklin B.S., Kowaltowski A.J., Camara N.O. Soluble Uric Acid Activates the NLRP3 Inflammasome. *Sci. Rep.*, 2017, Vol. 7, no. 13, pp. 1-14.
12. Brough D., Rothwell N.J. Caspase-1-dependent processing of pro-interleukin-1 β is cytosolic and precedes cell death. *J. Cell Sci.*, 2007, Vol. 120, no. 5, pp. 772-781.
13. Broz P., Pelegrín P. The gasdermins, a protein family executing cell death and inflammation. *Nat. Rev. Immunol.*, 2020, Vol. 20, no. 3, pp. 143-157.
14. Broz P.D., Inflammasomes: mechanism of assembly, regulation and signalling. *Nat. Rev. Immunol.*, 2016, Vol. 16, no. 7, pp. 407-420.
15. Cabău G., Crișan T.O., Klück V., Popp R.A., Joosten L.A. Urate-induced immune programming: Consequences for gouty arthritis and hyperuricemia. *Immunol. Rev.*, 2020, Vol. 294, no. 1, pp. 92-105.

16. Cai X., Chen J., Xu H., Liu S., Jiang Q.X., Halfmann R., Chen Z.J. Prion-like polymerization underlies signal transduction in antiviral immune defense and inflammasome activation. *Cell*, 2014, Vol. 156, no. 6, pp. 1207-1222.
17. Chan M., Gómez-Aristizábal A., Gandhi R. *Ex vivo* polarized pro-inflammatory vs. homeostatic monocytes/macrophages elicit differential responses within a human osteoarthritic joint explant model. *Osteoarthr. Cartil.*, 2019, Vol. 27, Suppl. 1, pp. 379-380.
18. Chan M.W.Y., Viswanathan S. Recent progress on developing exogenous monocyte / macrophage-based therapies for inflammatory and degenerative diseases. *Cytotherapy*, 2019, Vol. 21, no. 4, pp. 393-415.
19. Chen C.J., Shi Y., Hearn A., Fitzgerald K., Golenbock D., Reed G., Akira S., Rock K.L. MyD88-dependent IL-1 receptor signaling is essential for gouty inflammation stimulated by monosodium urate crystals. *J. Clin. Invest.*, 2006, Vol. 116, no. 8, pp. 2262-2271.
20. Chen D., Frezza M., Schmitt S., Kanwar J., Dou Q.P. Bortezomib as the first proteasome inhibitor anticancer drug: current status and future perspectives. *Curr. Cancer Drug Targets*, 2011, Vol. 11, no. 3, pp. 239-253.
21. Chen J.C., PtdIns4P on dispersed trans-Golgi network mediates NLRP3 inflammasome activation. *Nature*, 2018, Vol. 564, no. 7764, pp. 71-76.
22. Chen Y.H., Hsieh S.C., Chen W.Y., Li K.J., Wu C.H., Wu P.C., Tsai C.Y., Yu C.L. Spontaneous resolution of acute gouty arthritis is associated with rapid induction of the anti-inflammatory factors TGF β 1, IL-10 and soluble TNF receptors and the intracellular cytokine negative regulators CIS and SOCS3. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2017, Vol. 13, no. 11, pp. 639-647.
23. Chung Y., Kim D., Lee W. Monosodium urate crystal-induced pro-interleukin-1 β production is post-transcriptionally regulated via the p38 signaling pathway in human monocytes. *Sci. Rep.*, 2016, Vol. 6, 34533. doi: 10.1038/srep34533.
24. Cleophas M.C., Crişan T.O., Lemmers H., Toenhake-Dijkstra H., Fossati G., Jansen T.L., Dinarello C.A., Netea M.G., Joosten L.A. Suppression of monosodium urate crystal-induced cytokine production by butyrate is mediated by the inhibition of class I histone deacetylases. *Ann. Rheum. Dis.*, 2015, Vol. 75, no. 3, pp. 593-600.
25. Cleophas M.C., Crişan T.O., Klück V., Hoogerbrugge N., Netea-Maier R.T., Dinarello C.A., Netea M.G. Romidepsin suppresses monosodium urate crystal-induced cytokine production through upregulation of suppressor of cytokine signaling 1 expression. *Arthritis Res. Ther.*, 2019, Vol. 21, 50. doi: 10.1186/s13075-019-1834-x.
26. Coll R.C., Hill J.R., Day C.J., Zamoshnikova A., Boucher D., Massey N.L., Chitty J.L., Fraser J.A., Jennings M.P., Robertson A.A., Schroder K. MCC950 directly targets the NLRP3 ATP-hydrolysis motif for inflammasome inhibition. *Nat. Chem. Biol.*, 2019, Vol. 15, no. 6, pp. 556-559.
27. Crişan T.O., Cleophas M.C., Oosting M., Lemmers H., Toenhake-Dijkstra H., Netea M.G., Jansen T.L., Joosten L.A. Soluble uric acid primes TLR-induced proinflammatory cytokine production by human primary cells via inhibition of IL-1Ra. *Ann. Rheum. Dis.*, 2016, Vol. 75, no. 4, pp. 755-762.
28. Crişan T.O., Cleophas M.C., Novakovic B. Uric acid priming in human monocytes is driven by the AKT-PRAS40 autophagy pathway. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2017, Vol. 114, no. 21, pp. 5485-5490.
29. Cruz C.M., Rinna A., Forman H.J., Ventura A.L., Persechini P.M., Ojcius D.M. ATP Activates a reactive oxygen species-dependent oxidative stress response and secretion of proinflammatory cytokines in macrophages. *J. Biol. Chem.*, 2007, Vol. 282, no. 5, pp. 2871-2879.
30. Cullen S.P., Kearney C.J., Clancy D.M., Martin S.J. Diverse activators of the NLRP3 inflammasome promote IL-1 β secretion by triggering necrosis article diverse activators of the NLRP3 inflammasome promote IL-1 β secretion by triggering necrosis. *Cell Rep.*, 2015, Vol. 11, no. 10, pp. 1535-1548.
31. Dalbeth N., Phipps-Green A., Frampton C., Neogi T., Taylor W.J., Merriman T.R. Relationship between serum urate concentration and clinically evident incident gout: An individual participant data analysis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2018, Vol. 77, no. 7, pp. 1048-1052.
32. Dalbeth N., Merriman T.R., Stamp L.K. Gout. *Lancet*, 2016, Vol. 388, no. 55, pp. 2039-2052.
33. Dillen C., Delmiro G., Kraus H., Dickhöfer S., Daiber E., Münzenmayer L., Wahl S., Rieber N., Kümmerle-Deschner J., Yazdi A., Franz-Wachtel M., Macek B., Radsak M., Vogel S., Schulte B. Alexander N.R. Human NLRP3 inflammasome activity is regulated by and potentially targetable via BTK. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2017, Vol. 140, no. 4, pp. 1054-1067.e10.
34. Dinarello C.A. Infection, fever, and exogenous and endogenous pyrogens: some concepts have changed. *J. Endotoxin Res.*, 2004, Vol. 10, no. 4, pp. 201-222.
35. Duncan J.A., Bergstralh D.T., Wang Y., Willingham S.B., Ye Z., Zimmermann A.G., Ting J.P. Cryopyrin/NALP3 binds ATP/dATP, is an ATPase, and requires ATP binding to mediate inflammatory signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007, Vol. 104, no. 19, pp. 8041-8046.
36. Franklin B.S., Bossaller L., De Nardo D., Ratter J.M., Stutz A., Engels G., Brenker C., Nordhoff M., Mirandola S.R., Al-Amoudi A., Mangan M.S., Zimmer S., Monks B.G., Fricke M., Schmidt R.E., Espevik T., Jones B., Jarnicki A.G., Hansbro P.M., Busto P., Marshak-Rothstein A., Hornemann S., Aguzzi A., Kastenmüller W., Latz E. The adaptor ASC has extracellular and "prionoid" activities that propagate inflammation. *Nat. Immunol.*, 2014, Vol. 15, no. 8, pp. 727-737.

37. Green J.P., Yu S., Martín-Sánchez F., Pelegrin P., Lopez-Castejon G., Lawrence C.B., Brough D. Chloride regulates dynamic NLRP3-dependent ASC oligomerization and inflammasome priming. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2018, Vol. 115, no. 40, pp. 9371-9380.
38. Gu Y., Zhu Y., Deng G., Liu S., Sun Y., Lv W. Curcumin analogue AI-44 alleviates MSU-induced gouty arthritis in mice via inhibiting cathepsin B-mediated NLRP3 inflammasome activation. *Int. Immunopharmacol.*, 2021, Vol. 93, 107375. doi: 10.1016/j.intimp.2021.107375.
39. Guan K., Wei C., Zheng Z., Song T., Wu F., Zhang Y., Cao Y., Ma S., Chen W., Xu Q., Xia W., Gu J., He X., Zhong H. MAVS promotes inflammasome activation by targeting ASC for K63-linked ubiquitination via the E3 Ligase TRAF3. *J. Immunol.*, 2015, Vol. 194, no. 10, pp. 4880-4890.
40. Han S., Lear T.B., Jerome J.A., Rajbhandari S., Snavely C.A., Gulick D.L., Gibson K.F., Zou C., Chen B.B., Mallampalli R.K. Lipopolysaccharide primes the NALP3 inflammasome by inhibiting its ubiquitination and degradation mediated by the SCF FBXL2 E3 ligase. *J. Biol. Chem.*, 2015, Vol. 290, no. 29, pp. 18124-18133.
41. Haneklaus M., Neill L.A., Coll R.C. Modulatory mechanisms controlling the NLRP3 inflammasome in inflammation: recent developments. *Curr. Opin. Immunol.*, 2013, Vol. 25, no. 1, pp. 40-45.
42. Hara H., Tsuchiya K., Kawamura I., Fang R., Hernandez-Cuellar E., Shen Y., Mizuguchi J., Schweighoffer E., Tybulewicz V., Mitsuyama M. Phosphorylation of the adaptor ASC acts as a molecular switch that controls the formation of speck-like aggregates and inflammasome activity. *Nat. Immunol.*, 2013, Vol. 14, no. 12, pp. 1247-1255.
43. He H., Jiang H., Chen Y., Ye J., Wang A., Wang C., Liu Q., Liang G., Deng X., Jiang W., Zhou R. Oridonin is a covalent NLRP3 inhibitor with strong anti-inflammasome activity. *Nat. Commun.*, 2018, Vol. 9, no. 1, pp. 1-12.
44. Heilig R., Dick M.S., Sborgi L., Meunier E., Hiller S.B. The Gasdermin-D pore acts as a conduit for IL-1 β secretion in mice. *Eur. J. Immunol.*, 2018, Vol. 48, no. 4, pp. 584-592.
45. Heintzman N.D., Stuart R.K., Hon G., Fu Y., Ching C.W., Hawkins R.D., Barrera L.O., Van Calcar S., Qu C., Ching K.A., Wang W., Weng Z., Green R.D., Crawford G.E., Ren B. Distinct and predictive chromatin signatures of transcriptional promoters and enhancers in the human genome. *Nat. Genet.*, 2007, Vol. 39, no. 3, pp. 311-318.
46. Hoffman H.M., Scott P., Mueller J.L., Misaghi A., Stevens S., Yancopoulos G.D., Murphy A., Valenzuela D.M., Liu-Bryan R. Role of the leucine-rich repeat domain of cryopyrin / NALP3 in monosodium urate crystal – induced inflammation in mice. *Arthritis Rheum*, 2010, Vol. 62, no. 7, pp. 2170-2179.
47. Holzinger D., Nippe N., Vogl T., Marketon K., Mysore V., Weinhage T., Dalbeth N., Pool B., Merriman T., Baeten D., Ives A., Busso N., Foell D., Bas S., Gabay C., Roth J. Myeloid-related proteins 8 and 14 contribute to monosodium urate monohydrate crystal-induced inflammation in gout. *Arthritis Rheum.*, 2014, Vol. 66, no. 5, pp. 1327-1339.
48. Hong S., Hwang I., Gim E., Yang J., Park S., Yoon S.H., Lee W.W., Yu J.W. Brefeldin A – sensitive ER-Golgi vesicle trafficking contributes to NLRP3-dependent caspase-1 activation. *FASEB J.*, 2018, Vol. 33, no. 3, pp. 4547-4558.
49. Hu G., Su Y., Kang B.H., Fan Z., Dong T., Brown D.R., Cheah J., Wittrup K.D., Chen J. High-throughput phenotypic screen and transcriptional analysis identify new compounds and targets for macrophage reprogramming. *Nat. Commun.*, 2021, Vol. 12, no. 1, 773. doi: 10.1038/s41467-021-21066-x.
50. Huang Y., Wang H., Hao Y., Lin H., Dong M., Ye J., Song L., Wang Y., Li Q., Shan B., Jiang Y., Li H., Shao Z., Kroemer G., Zhang H., Bai L., Jin T., Wang C., Ma Y., Cai Y., Ding C., Liu S., Pan Y., Jiang W., Zhou R. Myeloid PTEN promotes chemotherapy-induced NLRP3-inflammasome activation and antitumour immunity. *Nat. Cell Biol.*, 2020, Vol. 22, no. 6, pp. 716-727.
51. Hung Z., Kanneganti T.D., Rehman J., Malik A.B. The TWIK2 potassium efflux channel in macrophages article the TWIK2 potassium efflux channel in macrophages mediates NLRP3 inflammasome-induced inflammation. *Immunity*, 2018, Vol. 49, no. 1, pp. 56-65.
52. Janeway C.J., Medzhitov R. Innate Immune recognition: mechanisms and pathways. *Immunol. Rev.*, 2000, Vol. 173, pp. 89-97.
53. Jenuwein T., Allis C.D. Translating the histone code. *Science*, 2001, Vol. 293, no. 5532, pp. 1074-1080.
54. Jiang H., He H., Chen Y., Huang W., Cheng J., Ye J., Wang A., Tao J., Wang C., Liu Q., Jin T., Jiang W., Deng X., Zhou R. Identification of a selective and direct NLRP3 inhibitor to treat inflammatory disorders. *J. Exp. Med.*, 2017, Vol. 214, no. 11, pp. 3219-3238.
55. Kuo C.F., Luo S.F., See L.C., Chou I.J., Fang Y.F., Yu K.H. Increased risk of cancer among gout patients: A nationwide population study. *Joint Bone Spine*, 2012, Vol. 79, no. 4, pp. 375-378.
56. Kuo C.F., Luo S.F., See L.C., Chou I.J., Fang Y.F., Yu K.H. Global epidemiology of gout: Prevalence, incidence and risk factors. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2015, Vol. 11, no. 11, pp. 649-662.
57. Lee G.S., Subramanian N., Kim A.I., Aksentijevich I., Goldbach-Mansky R., Sacks D.B., Germain R.N., Kastner D.L. The calcium-sensing receptor regulates the NLRP3 inflammasome through Ca²⁺ and cAMP. *Nature*, 2012, Vol. 492, no. 7427, pp. 123-127.

58. Liu-Bryan R., Scott P., Sydlaske A., Rose D.M., Terkeltaub R. Innate immunity conferred by Toll-like receptors 2 and 4 and myeloid differentiation factor 88 expression is pivotal to monosodium urate monohydrate crystal-induced inflammation. *Arthritis Rheum.*, 2005, Vol. 52, no. 9, pp. 2936-2946.
59. Luo H., Zheng Z., Qiao Q., Wang L., Tan M., Ohkubo R., Mu W.C., Zhao S., Wu H., Chen D. An acetylation switch of the NLRP3 inflammasome regulates aging-associated chronic inflammation and insulin resistance article an acetylation switch of the NLRP3 inflammasome regulates aging-associated chronic inflammation and insulin resistance. *Cell Metab.*, 2020, Vol. 31, no. 3, pp. 580-591.e5.
60. Mahla R.S., Reddy M.C., Prasad D.V., Kumar H. Sweeten PAMPs: Role of sugar complexed PAMPs in innate immunity and vaccine biology. *Front. Immunol.*, 2013, Vol. 4, 248. doi: 10.3389/fimmu.2013.00248.
61. Malyshev I., Malyshev Y. Current concept and update of the macrophage plasticity concept: Intracellular mechanisms of reprogramming and M3 macrophage “switch” phenotype. *BioMed Research International. Biomed Res. Int.*, 2015, Vol. 2015, 341308. doi: 10.1155/2015/341308.
62. Mangan M.S., Olhava E.J., Roush W.R., Seidel H.M., Glick G.D., Latz E. Targeting the NLRP3 inflammasome in inflammatory diseases. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2018, Vol. 17, no. 9, 688. doi: 10.1038/nrd.2018.149.
63. Mao L., Kitani A., Hiejima E., Montgomery-Recht K., Zhou W., Fuss I., Wiestner A.S. Bruton tyrosine kinase deficiency augments NLRP3 inflammasome activation and causes IL-1 β – mediated colitis. *J. Clin. Invest.*, 2020, Vol. 130, no. 4, pp. 1793-1807.
64. Martillo M.A., Nazzal L., Crittenden D.B. The crystallization of monosodium urate. *Curr. Rheumatol. Rep.*, 2014, Vol. 16, no. 2, 400. doi: 10.1007/s11926-013-0400-9.
65. Martin B.N., Wang C., Willette-Brown J. IKK α negatively regulates ASC-dependent inflammasome activation. *Nat. Commun.*, 2014, Vol. 30, no. 5, 4977. doi: 10.1038/ncomms5977.
66. Martin W.J., Walton M., Harper J. Resident macrophages initiating and driving inflammation in a monosodium urate monohydrate crystal – induced murine peritoneal model of acute gout. *Arthritis Rheum.*, 2009, Vol. 60, no. 1, pp. 281-289.
67. Martinon F., Pétrilli V., Mayor A., Tardivel A., Tschopp J. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature*, 2006, Vol. 440, no. 7081, pp. 237-241.
68. Matzinger P. The danger model: A renewed sense of self. *Science*, 2002, Vol. 296, no. 5566, pp. 301-305.
69. Misawa T., Takahama M., Kozaki T., Lee H., Zou J., Saitoh T. Microtubule-driven spatial arrangement of mitochondria promotes activation of the NLRP3 inflammasome. *Nat. Immunol.*, 2013, Vol. 14, no. 5, pp. 454-460.
70. Mosser D.M., Edwards J.P. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat. Rev. Immunol.*, 2008, Vol. 8, no. 12, pp. 958-969.
71. Murakami T., Ockinger J., Yu J., Byles V., Mc Coll A., Hofer A.M., Horng T. Critical role for calcium mobilization in activation of the NLRP3 inflammasome. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2012, Vol. 109, no. 28, pp. 11282-11287.
72. Nakayama M. Macrophage recognition of crystals and nanoparticles. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, 103. doi: 10.3389/fimmu.2018.00103.
73. Narayanan K.B., Park H.H. Toll/interleukin-1 receptor (TIR) domain-mediated cellular signaling pathways. *Apoptosis*, 2015, Vol. 20, no. 2, pp. 196-209.
74. Orecchioni M., Ghosheh Y., Pramod A.B., Ley K. Macrophage polarization: different gene signatures in M1 (LPS+) vs. classically and M2 (LPS-) vs. alternatively activated macrophages. *Front. Immunol.*, 2019, Vol. 10, 1084. doi: 10.3389/fimmu.2019.01084.
75. Place R.F., Noonan E.J., Giardina C. HDAC inhibition prevents NF- κ B activation by suppressing proteasome activity: Down-regulation of proteasome subunit expression stabilizes I kappa B alpha. *Biochem. Pharmacol.*, 2005, Vol. 70, no. 3, pp. 394-406.
76. Portela A., Esteller M. Epigenetic modifications and human disease. *Nat. Biotechnol.*, 2010, Vol. 28, no. 10, pp. 1057-1068.
77. Pradeu T., Cooper E.L. The danger theory: 20 years later. *Front. Immunol.*, 2012, Vol. 3, 287. doi: 10.3389/fimmu.2012.00287.
78. Qi W.C. Research advances in NLRP3 inflammasome. *Basic Clin. Med.*, 2015, Vol. 15, no. 1, pp. 115-121.
79. Ragab G., Elshahaly M., Bardin T. Gout: An old disease in new perspective – A review. *J. Adv. Res.*, 2017, Vol. 8, no. 5, pp. 495-511.
80. Rahimi-Sakak F., Maroofi M., Rahmani J., Bellissimo N.H. Serum uric acid and risk of cardiovascular mortality: A systematic review and dose-response meta-analysis of cohort studies of over a million participants. *BMC Cardiovasc. Disord.*, 2019, Vol. 19, no. 1, pp. 1-8.
81. Rashidi M., Simpson D.S., Hempel A., Frank D., Petrie E., Vince A., Feltham R., Murphy J., Chatfield S.M., Salvesen G.S., Murphy J.M., Wicks I.P., Vince J.E. The pyroptotic cell death effector gasdermin d is activated by gout-associated uric acid crystals but is dispensable for cell death and IL-1 β release. *J. Immunol.*, 2019, Vol. 203, no. 3, pp. 736-748.

82. Rashidi M., Simpson D.S., Hempel A., Frank D., Petrie E., Vince A., Feltham R., Murphy J., Chatfield S.M., Salvesen G.S., Murphy J.M., Wicks I.P., Vince J.E. Adsorption of proteins on m-CPPD and urate crystals inhibits crystal-induced cell responses: Study on albumin-crystal interaction. *J. Funct. Biomat.*, 2019, Vol. 10, no. 2, pp. 1-19.
83. Robinson P.C., Horsburgh S. Gout: Joints and beyond, epidemiology, clinical features, treatment and comorbidities. *Maturitas*, 2014, Vol. 78, no. 4, pp. 245-251.
84. Rock K.L., Kataoka H., Lai J.J. Uric acid as a danger signal in gout and its comorbidities. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2013, Vol. 9, no. 1, pp. 13-23.
85. Saeed S., Quintin J., Kerstens H.H., Rao N.A., Aghajani-refah A., Matarese F., Cheng S.C., Ratter J., Berentsen K., van der Ent M.A., Sharifi N., Janssen-Megens E.M., Ter Huurne M., Mandoli A., van Schaik T., Ng A., Burden F., Downes K., Frontini M., Kumar V., Giamarellos-Bourboulis E.J., Ouweland W.H., van der Meer J.W., Joosten L.A., Wijmenga C., Martens J.H., Xavier R.J., Logie C., Netea M.G., Stunnenberg H.G. Epigenetic programming of monocyte-to-macrophage differentiation and trained innate immunity. *Science*, 2014, Vol. 345, no. 6204, 1251086. doi: 10.1126/science.1251086.
86. Scanu A., Luisetto R., Oliviero F., Gruaz L., Sfriso P., Burger D., Punzi L. High-density lipoproteins inhibit urate crystal-induced inflammation in mice. *Ann. Rheum. Dis.*, 2015, Vol. 74, no. 3, pp. 587-594.
87. Schiltz C., Lioté F., Prudhommeaux F., Meunier A., Champy R., Callebert J., Bardin T. Monosodium urate monohydrate crystal-induced inflammation *in vivo*: Quantitative histomorphometric analysis of cellular events. *Arthritis Rheum.*, 2002, Vol. 46, no. 6, pp. 1643-1650.
88. Schlesinger N., Thiele R.G., Wood U.R. The pathogenesis of bone erosions in gouty arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2010, Vol. 69, no. 11, pp. 1907-1912.
89. Scott P., Ma H., Viriyakosol S., Terkeltaub R., Liu-Bryan R. Engagement of CD14 mediates the inflammatory potential of monosodium urate crystals. *J. Immunol.*, 2006, Vol. 177, no. 9, pp. 6370-6378.
90. So A., Dumusc A., Nasi S. The role of IL-1 in gout: from bench to bedside. *Rheumatology (Oxford)*, 2018, Vol. 57, pp. 12-19.
91. So A.K., Martinon F. Inflammation in gout: Mechanisms and therapeutic targets. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2017, Vol. 13, no. 11, pp. 639-647.
92. Swanson K.V. The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics. *Nat. Rev. Immunol.*, 2019, Vol. 19, no. 8, pp. 477-489.
93. Tapia-Abellán A., Angosto-Bazarra D., Martínez-Banaclocha H., de Torre-Minguela C., Cerón-Carrasco J.P., Pérez-Sánchez H., Arostegui J.I., Pelegrin P. MCC950 closes the active conformation of NLRP3 to an inactive state. *Nat. Chem. Biol.*, 2019, Vol. 15, no. 6, pp. 560-564.
94. Triantafilou K., Hughes T.R., Triantafilou M.B. The complement membrane attack complex triggers intracellular Ca²⁺ fluxes leading to NLRP3 inflammasome activation. *J. Cell Sci.*, 2013, Vol. 126, no. 13, pp. 2903-2913.
95. Vajjhala P.R., Mirams R.E., Hill J.M. Multiple binding sites on the pyrin domain of ASC protein allow self-association and interaction with NLRP3 protein. *J. Biol. Chem.*, 2012, Vol. 287, no. 50, pp. 41732-41743.
96. Vandanmagsar B., Youm Y.H., Ravussin A., Galgani J.E., Stadler K., Mynatt R.L., Ravussin E., Stephens J.M., Dixit V.D. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nat. Med.*, 2011, Vol. 17, no. 2, pp. 179-189.
97. Vazirpanah N., Ottria A., van der Linden M., Wichers C.G., Schuiveling M., van Lochem E., Phipps-Green A., Merriman T., Zimmermann M., Jansen M., Radstake T.R., Broen J.C. mTOR inhibition by metformin impacts monosodium urate crystal - induced inflammation and cell death in gout: a prelude to a new add-on therapy? *Ann. Rheum. Dis.*, 2019, Vol. 78, no. 5, pp. 663-671.
98. Vincent T.L. IL-1 in osteoarthritis: time for a critical review of the literature. *F1000Res.*, Vol. 8, pp. 1-8.
99. Wan P., Zhang Q., Liu W., Jia Y., Ai S., Wang T., Wang W., Pan P., Yang G., Xiang Q., Huang S., Yang Q., Zhang W., Liu F., Tan Q., Zhang W., Wu K., Liu Y., Wu J. Cullin1 binds and promotes NLRP3 ubiquitination to repress systematic inflammasome activation. *FASEB J.*, 2019, Vol. 33, no. 4, pp. 5793-5807.
100. Wang B., Chen S., Qian H., Zheng Q., Chen R., Liu Y., Shi G. Role of T cells in the pathogenesis and treatment of gout. *Int. Immunopharmacol.*, 2020, Vol. 8, 106877. doi: 10.1016/j.intimp.2020.106877.
101. Wang H., Mao L., Meng G. The NLRP3 Inflammasome activation in human or mouse cells , sensitivity causes puzzle. *Protein Cell*, 2013, Vol. 4, no. 8, pp. 565-568.
102. Wang K., Sun Q., Zhong X., Zeng M., Zeng H., Shi X., Li Z., Wang Y., Zhao Q., Shao F., Ding J. Structural mechanism for GSDMD targeting by article structural mechanism for GSDMD targeting by autoprocessed caspases in pyroptosis. *Cell*, 2020, Vol. 180, no. 5, pp. 941-955.e20.
103. Wang K., Sun Q., Zhong X., Zeng M., Zeng H., Shi X., Li Z., Wang Y., Zhao Q., Shao F., Ding J. Structural mechanism for NEK7-licensed activation of NLRP3 inflammasome. *Nature*, 2019, Vol. 570, 7761, pp. 338-343.
104. Weber A.N., Bittner Z.A., Shankar S., Liu X., Chang T.H., Jin T., Tapia-Abellán A. Recent insights into the regulatory networks of NLRP3 inflammasome activation. *J. Cell Sci.*, 2020, Vol. 133, no. 23, jcs248344. doi: 10.1242/jcs.248344.

105. Wu M., Tian Y., Wang Q., Guo C. Gout: a disease involved with complicated immunoinflammatory responses: a narrative review. *Clin. Rheumatol.*, 2020, Vol. 39, no. 10, pp. 2849-2859.
106. Xiong H., Du W., Zhang Y.J., Hong J., Su W.Y., Tang J.T., Wang Y.C., Lu R., Fang J.Y. Trichostatin A, a histone deacetylase inhibitor, suppresses JAK2 / STAT3 signaling via inducing the promoter-associated histone acetylation of SOCS1 and SOCS3 in human colorectal cancer cells. *Mol. Carcinog.*, 2012, Vol. 184, pp. 174-184.
107. Yan S., Zhang P., Xu W., Liu Y., Wang B., Jiang T., Hua C., Wang X., Xu D., Sun B. Serum uric acid increases risk of cancer incidence and mortality: a systematic review and meta-analysis. *Mediat. Inflamm.*, 2015, Vol. 2015, 764250. doi: 10.1155/2015/764250.
108. Yaron J.R., Gangaraju S., Rao M.Y., Kong X., Zhang L., Su F., Tian Y., Glenn H.L., Meldrum D.R. K(+) regulates Ca(2+) to drive inflammasome signaling: dynamic visualization of ion flux in live cells. *Cell Death Dis.*, 2015, Vol. 6, pp. 19-24.
109. Yunna C., Mengru H., Lei W., Weidong C. Macrophage M1/M2 polarization. *Eur. J. Pharmacol.*, 2020, Vol. 877, no. 3, pp. 173-190.
110. Zahid A., Li B., Kombe A.J., Jin T.J. Pharmacological inhibitors of the NLRP3 inflammasome. *Front. Immunol.*, 2019., Vol. 10, 2538. doi: 10.3389/fimmu.2019.02538.
111. Zhang Z., Meszaros G., He W.T., Xu Y., de Fatima Magliarelli H., Maily L., Mihlan M., Liu Y., Puig Gámez M., Goginashvili A., Pasquier A., Bielska O., Neven B., Quartier P., Aebersold R., Baumert T.F., Georgel P., Han J., Ricci R. Protein kinase D at the Golgi controls NLRP3 inflammasome activation. *J. Exp. Med.*, 2017, Vol. 214, no. 9, pp. 2671-2693.
112. Zhou R., Yazdi A.S., Menu P. A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Nature*, 2011, Vol. 469, no. 7329, pp. 221-225.

Авторы:

Мальшев И.Ю. — д.м.н., заведующий кафедрой патологической физиологии ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения РФ; заведующий лабораторией регуляторных механизмов стресса и адаптации ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

Чернышева О.О. — студентка лечебного факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Malyshev I. Yu., PhD, MD (Medicine), Head, Department of Pathological Physiology, A. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry; Head, Stress and Adaptation Laboratory, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russian Federation

Chernysheva O. O., Student, Faculty of Medicine, A. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation

Кузнецова Л.В. — к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных биотехнологий ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Kuznetsova L.V., PhD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Cellular Biotechnologies, A. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation

Пихлак А.Э. — к.м.н., заведующий кафедрой ревматологии и медико-социальной реабилитации ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Pikhlak A.E., PhD (Medicine), Head, Department of Rheumatology and Medical and Social Rehabilitation, A. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation

Поступила 31.12.2021
Отправлена на доработку 11.02.2022
Принята к печати 13.02.2022

Received 31.12.2021
Revision received 11.02.2022
Accepted 13.02.2022

ИММУНО-ГОРМОНАЛЬНЫЙ ДИСБАЛАНС ПРИ ХИМИЧЕСКОМ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

Глушков А.Н.

ФГБУН «Институт экологии человека», Федеральный исследовательский центр угля и углекислоты Сибирского отделения Российской академии наук, г. Кемерово, Россия

Резюме. В данной статье представлены экспериментальные и клинические аспекты иммуно-гормональных взаимодействий при химическом канцерогенезе: образование аддуктов химических канцерогенов с ДНК как ключевое звено канцерогенеза и пусковой механизм синтеза специфических антител; антитела к аддуктам химических канцерогенов с ДНК, как маркеры экспозиции человека к химическим канцерогенам; иммуномодуляция химического канцерогенеза специфическими антителами в эксперименте; взаимосвязанное участие антител против химических канцерогенов и стероидных гормонов в канцерогенезе у человека; феномены иммунологической интерференции и инверсии иммуно-гормональных взаимодействий под действием антител против химических канцерогенов окружающей среды; иммуно-гормональный дисбаланс при канцероген-индуцированных стероидзависимых онкологических заболеваниях; иммуностимуляция канцерогенеза в стадии прогрессии. Показано, что антитела, специфичные к эстрадиолу и прогестерону, принимают участие в регуляции содержания этих гормонов в сыворотке крови у здоровых женщин. Избыточное образование антител против бензо[а]пирена ассоциировано с нарушением физиологического баланса между уровнями антител, специфичных к эстрадиолу и прогестерону. В результате нарушается баланс между содержанием в сыворотке крови эстрадиола и прогестерона. Иммуно-гормональный дисбаланс стимулирует процессы инициации, промоции и прогрессии опухолей. Обсуждаются новые подходы к иммунодиагностике индивидуальных онкологических рисков и иммунопрофилактике рака. Предполагается, что совместное образование антител против бензо[а]пирена и эстрадиола отражает наличие ДНК-аддуктов с генотоксическими метаболитами этих соединений как проявление синергизма их канцерогенного воздействия на клетки мишени. Поэтому одновременное повышение уровней сывороточных антител против бензо[а]пирена и эстрадиола у здоровых людей можно считать иммунологическим признаком высокого онкологического риска и показанием к применению новых средств иммунологической защиты против полициклических ароматических углеводородов и фитоэстрогенов. Однако способность таких антител повышать содержание химических канцерогенов окружающей среды и эндогенного эстрадиола в сыворотке крови, как показано в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, исключает возможность активной иммунопрофилактики рака. Применение антиканцерогенных вакцин для индукции протективных секреторных антител с высокой вероятностью может сопровождаться повышением уровней проканцерогенных сывороточных антител против бензо[а]пирена и эстрадиола с последующим усилением иммуно-гормонального дисбаланса и стимуляцией канцерогенеза. Альтернативой анти-канцерогенным вакцинам может быть разработка пробиотиков, модифицированных

Адрес для переписки:

Мун Стелла Андреевна
ФГБУН «Институт экологии человека», Федеральный исследовательский центр угля и углекислоты Сибирского отделения Российской академии наук
650065, Россия, г. Кемерово, Ленинградский пр., 10.
Тел.: 8 (3842) 57-50-79.
E-mail: stellamun@yandex.ru

Address for correspondence:

Mun Stella A.
Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences
650065, Russian Federation, Kemerovo,
Leningradsky ave., 10.
Phone: 7 (3842) 57-50-79.
E-mail: stellamun@yandex.ru

Образец цитирования:

А.Н. Глушков «Иммуно-гормональный дисбаланс при химическом канцерогенезе» // Российский иммунологический журнал, 2022. Т. 25, № 1. С. 23-36.
doi: 10.46235/1028-7221-1091-IHI
© Глушков А.Н., 2022

For citation:

A.N. Glushkov "Immune-hormonal imbalance in chemical cancerogenesis", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2022, Vol. 25, no. 1, pp. 23-36.
doi: 10.46235/1028-7221-1091-IHI
DOI: 10.46235/1028-7221-1091-IHI

генами человеческих антител против химических канцерогенов окружающей среды. Предполагается, что экспрессируемые такими пробиотиками антитела будут связывать химические канцерогены, препятствовать их проникновению в организм, образованию аддуктов с ДНК, индукции специфических аутоантител и проявлению феноменов иммуностимуляции канцерогенеза.

Цель – обоснование концепции иммуно-гормонального дисбаланса при канцероген-индуцированных гормонально зависимых опухолях у человека.

Ключевые слова: антитела, химические канцерогены, стероидные гормоны, иммунодиагностика, иммунопрофилактика

IMMUNE-HORMONAL IMBALANCE IN CHEMICAL CANCEROGENESIS

Glushkov A.N.

Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russian Federation

Abstract. The present article deals with experimental and clinical aspects of immuno-hormonal interactions in chemical carcinogenesis i.e., formation of DNA-adducts with chemical carcinogens as a trigger of tumor initiation; synthesis of specific antibodies as markers of human exposure to environmental carcinogens; immunomodulation of chemical carcinogenesis by the specific antibodies in experimental studies; interactions of antibodies against environmental carcinogens with endogenous steroid hormones in human carcinogenesis; immunological interference and inversion of immuno-hormonal interactions by the action of antibodies against environmental carcinogens; immune stimulation of tumor progression in cancer patients. It is shown that antibodies specific to estradiol and progesterone participate in regulation of serum estradiol and progesterone levels in healthy women. Excessive production of antibodies against benzo[a]pyrene is associated with impaired physiological balance between the levels of antibodies to estradiol and progesterone, thus causing disturbed physiological balance between serum estradiol and progesterone. Immuno-hormonal imbalance promotes tumor initiation, its growth and progression. The new approaches to the personalized cancer immunoprediction and immune prevention are discussed. Coordinated synthesis of antibodies against benzo[a]pyrene and estradiol seems to reflect production of DNA-adducts with genotoxic metabolic effects of these compounds manifesting as synergistic carcinogenic effects upon the target cells. Hence, simultaneously increased levels of serum antibodies against benzo[a]pyrene and estradiol in healthy people may be considered an immunological marker of high oncological risk and an reason to use of new immunoprotective tools against polycyclic aromatic hydrocarbons and phytoestrogens. However, ability of these antibodies to raise the blood serum levels of environmental carcinogens and endogenous estradiol, as shown *in vitro* and *in vivo*, excludes the opportunity for active cancer immune prevention. Usage of anticarcinogen vaccines aimed for induction of protective secretory antibodies is likely to further increase high levels of procarcinogenic serum antibodies against benzo[a]pyrene and estradiol, followed by additional enhancement of immuno-hormonal imbalance and promotion of carcinogenesis. Development of probiotics transduced with genes encoding human antibodies against environmental carcinogens may present an alternative approach to cancer immune prevention. The antibodies produced by such probiotics would bind appropriate carcinogens and prevent their invasion into the organism, thus inhibiting emergence of DNA-adducts and suppressing synthesis of specific autoantibodies that may promote carcinogenesis. The aim is to substantiate the concept of immuno-hormonal imbalance for the carcinogen-induced hormone-dependent tumors.

Keywords: antibodies, chemical carcinogens, steroid hormones, cancer immunoprediction, immune prevention

Введение

Химические канцерогены (ХК) окружающей среды являются основной причиной возникновения злокачественных новообразований с устойчивым ростом числа впервые выявленных

случаев в мире и в РФ [11, 13, 86]. Наряду с ограничением контакта человека с производственными и бытовыми канцерогенами, снижение заболеваемости раком достижимо путем создания условий, препятствующих достижению мутагена-

ми клеток-мишеней [14], в том числе разработки новых фармакологических средств защиты человека от ХК. Очевидно, что показанием для применения таких средств может быть высокая индивидуальная чувствительность к ХК. Поэтому создание новых методов диагностики персональных онкологических рисков является необходимым компонентом в медицинских технологиях профилактики рака. Исследование иммунологических механизмов адаптации человека к ХК представляется перспективным для решения этих прикладных задач. Настоящая статья посвящена развитию ранее предложенной концепции иммунологического дисбаланса при химическом канцерогенезе [2, 40] на основе системного анализа экспериментальных и клинических данных о специфических иммунных реакциях на экзогенные и эндогенные низкомолекулярные органические соединения, участвующие в возникновении злокачественных опухолей.

Цель – обоснование концепции иммуно-гормонального дисбаланса при канцероген-индуцированных гормонально зависимых опухолях у человека.

Образование аддуктов химических канцерогенов с ДНК – ключевое звено химического канцерогенеза

Согласно классической модели химический канцерогенез включает в себя три последовательные стадии: инициацию, промоцию и прогрессию. На стадии инициации ХК под действием ферментов биотрансформации (цитохромов Р450) превращаются в генотоксические метаболиты, образуют ковалентные связи с ДНК и тем самым запускают процессы мутагенеза в клетках-мишенях. На стадии промоции происходит селективная пролиферация мутантных клеток под действием агентов, стимулирующих митоз. Мутации в онкогенах накапливаются до критического уровня, при котором инициированная клетка уходит из-под контроля внеклеточных факторов, регулирующих ее дифференцировку и пролиферацию. Автономное поведение, инвазивный рост и метастазирование являются основными признаками канцерогенеза в стадии прогрессии [1, 10, 60].

Таким образом, образование аддуктов ХК с ДНК является ключевым звеном химического канцерогенеза. Учитывая широкое распространение в окружающей среде таких ХК, как полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), основное количество исследований посвящено анализу аддуктов ПАУ-ДНК у здоровых людей при повышенной канцерогенной нагрузке и у больных злокачественными опухолями [19].

ПАУ-ДНК-аддукты были обнаружены:

– у курильщиков в эпителиальных клетках ротовой полости [51, 52], в лейкоцитах перифе-

рической крови [92], в эндотелиальных и гладкомышечных клетках сосудов [95];

– у рабочих, занятых в производстве кокса, и у больных псориазом при лечении каменноугольной смолой [48, 49, 83].

Высокое содержание ПАУ-ДНК-аддуктов в лейкоцитах крови, неизмененных тканях и в злокачественных опухолях обнаруживали у больных раком легкого [26, 45, 69, 93], раком молочной железы [53, 76, 80, 81, 82], раком толстой кишки [16, 17, 47, 54, 71], раком предстательной железы [65, 78, 79, 90].

Важным свойством ПАУ является способность повышать активность цитохромов Р450, трансформирующих в генетические метаболиты не только экзогенные ХК, но и эндогенные стероиды [8, 12, 18, 44]. Метаболиты эстрогенов образуют аддукты с ДНК, ассоциированные с высоким риском рака молочной железы, предстательной железы и мочевого пузыря [24, 25, 94].

В модельных экспериментах на мышах и клеточных культурах *in vitro* показано, что эстрогены усиливают канцерогенные эффекты ПАУ [31, 56], а ПАУ в свою очередь усиливают канцерогенные эффекты эстрогенов [30, 36, 57].

В естественных условиях ХК окружающей среды и эндогенные стероидные гормоны воздействуют на организм человека совместно. Весьма вероятно, что сочетанный анализ аддуктов ДНК с ХК и с эстрогенами может быть более информативным в диагностике индивидуальных онкологических рисков, чем определение каждого из них по-отдельности. Однако исследований в этом направлении до сих пор не проводилось.

Антитела, специфичные к аддуктам ПАУ-ДНК, как маркеры экспозиции человека к ПАУ

Наличие аддуктов низкомолекулярных ХК с макромолекулярным носителем ДНК предполагает образование АТ, специфичных к ХК как к гаптенам. В связи с этим в сыворотке крови различных категорий людей были исследованы АТ к аддуктам ПАУ-ДНК в качестве маркеров экспозиции к ПАУ.

АТ к аддуктам метаболитов ПАУ с ДНК обнаруживали у 40% здоровых людей; в некоторых образцах сыворотки выявлено перекрестное связывание АТ с бензо[а]пиреном (Вр), бенз[а]антраценом и хризенном; значимые взаимосвязи исследованных АТ с курением отсутствовали [64]. У курильщиков АТ к Вр-ДНК встречались реже, чем у некурящих людей, а при отказе от курения частота образования этих АТ возрастала [73]. В других исследованиях, напротив, наличие АТ к Вр-ДНК было ассоциировано с курением у здоровых людей [70].

Антитела к ПАУ-ДНК обнаруживали у 30% рабочих, занятых в производстве кокса [83, 92];

у 13% рабочих алюминиевой промышленности [39]. У больных псориазом повышался уровень АТ к Вр-ДНК при лечении каменноугольной смолой [21].

У здоровых людей выявлены ассоциации АТ к Вр-ДНК аддуктам с наличием у родственников рака легкого [70]. Уровни АТ к Вр-ДНК были повышены у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких и раком легкого, независимо от фактора курения [67].

Дополнительными индукторами образования АТ против ПАУ у человека могут быть аддукты их метаболитов с белками крови и тканей-мишеней [55, 72].

Ни в одной работе не обнаружены явные взаимосвязи образования АТ к аддуктам ПАУ-ДНК или ПАУ-белку с наличием или количеством самих аддуктов. По-видимому, образование таких АТ зависит не только от экспозиции человека к ХК, но и от индивидуальных генетически детерминированных особенностей реакции иммунной системы организма на ХК.

Исследований АТ к аддуктам эстрогенов с ДНК, в том числе во взаимосвязи с экспозицией к ХК или с онкологическими заболеваниями до сих пор не проводилось. Однако у здоровых людей и пациентов с аутоиммунными заболеваниями и злокачественными опухолями обнаружены АТ, связывающие Es [32] и эстрогеновый рецептор (ER) [59, 66]. Весьма вероятно, что АТ, специфичные к ER, являются анти-идиотипическими по отношению к АТ против Es, образование которых у здоровых людей и больных раком вполне допустимо.

Иммуномодуляция химического канцерогенеза специфическими антителами в эксперименте

Торможение химического канцерогенеза специфическими АТ впервые продемонстрировали W. Franks и H. Crecch: появление опухолей, инициированных дибенз[а]антраценом у животных, угнеталось после предварительной иммунизации конъюгатом дибенз[а]антрацена с белком [37]. Аналогичным образом угнеталось возникновение опухолей, индуцированных 2-антриламином [68] и диметилбенз[а]антраценом [63]. После предварительной иммунизации анти-идиотипическими АТ с внутренним иммунологическим образом Вр наблюдали торможение появления опухолей, индуцированных Вр [29]. В других экспериментах активная иммунизация животных белковым конъюгатом Вр, наоборот, стимулировала образование опухолей после обработки животных Вр [33].

Таким образом, специфические АТ способны как угнетать, так и стимулировать возникновение химически индуцированных опухолей. На других экспериментальных моделях было установлено,

что протективными свойствами обладают секреторные АТ против ХК. После интраназальной иммунизации животных белковым конъюгатом фторметилбенз[а]антрацена подавлялось накопление Вр в клетках эпителия дыхательных путей [62]. Трансэпителиальная абсорбция ацетиламинофлуорена подавлялась секреторными IgA после внутрикишечной иммунизации этим ХК, конъюгированным с холерным токсином [87]. Введение ацетиламинофлуорена в смеси со специфическими АТ *per os* приводило к повышению его экскреции с фекалиями и снижению адсорбции в желудочно-кишечном тракте [74].

В опытах *in vitro* специфические АТ, имитирующие секреторные IgA, подавляли диффузию ацетиламинофлуорена через полупроницаемую мембрану, а имитирующие сывороточные IgG, наоборот, усиливали трансмембранный транспорт ХК [88]. Авторы оценили высокое соотношение секреторных/сывороточных АТ как протективное и предложили использовать селективные адъюванты для стимуляции секреторного иммунитета против ХК при создании новых средств защиты человека от химических токсинов окружающей среды [89].

Эксперименты с поляризованным монослоем эпителиальных клеток кишечника (Caco-2) расширили представление о влиянии секреторных и сывороточных АТ на трансэпителиальный транспорт и метаболизм ХК. Моноклональные IgG против Вр в апикальном пространстве (имитирующие секреторные АТ) снижали абсорбтивный транспорт Вр и повышали обратный выброс из клеток фенольных метаболитов Вр; базолатеральные АТ (имитирующие сывороточные АТ) повышали трансэпителиальный поток Вр, но не нарушали «защитных» свойств апикальных АТ при совместной обработке монослоя Caco-2 [34].

Сывороточные АТ *in vivo* модулировали распределение ХК по организму. После предварительной внутрибрюшинной иммунизации мышшей против Вр и последующего введения Вр внутрибрюшинно повышалась концентрация Вр в крови, печени и селезенке [46]. После подкожной иммунизации мышшей против Вр и последующего введения Вр внутрибрюшинно снижалось количество аддуктов Вр-ДНК в печени [27, 38]. Признавая высокую вероятность индукции системной иммунной реакции на ХК при активной генерации секреторного иммунитета против ХК, S. de Buck и C. Muller считают достижимым превалирование процессов детоксикации реактивных метаболитов ХК за счет: снижения накопления ХК в клетках-мишенях вследствие перераспределения ХК по организму; ограничения индукции цитохромов Р-450 в легких; угнетения промоторного действия ХК вследствие снижения

их концентрации в органах-мишенях; ковалентного связывания метаболитов ХК с АТ; ограничения трансплацентарного влияния ХК на чувствительные ткани эмбриона [35].

Роль АТ, специфичных к стероидным гормонам, в химическом канцерогенезе оставалась неизученной. Только в одной работе показано увеличение латентного периода начала роста опухолей после имплантации крысам клеток аденокарциномы молочной железы МТ/WSA и предварительной иммунизации конъюгатом Es с белком-носителем [23]. Авторы расценили этот эффект как результат связывания Es специфическими АТ и угнетения пролиферации эстроген-зависимых опухолевых клеток. В то же время, многочисленные эксперименты на различных видах животных продемонстрировали, что иммунизация против стероидных гормонов приводит к образованию специфических АТ, значительно повышению концентрации соответствующих гормонов в крови и модулированию их биологических функций [20, 50, 58]. В некоторых экспериментах иммунизации против одного гормона сопровождалась повышением содержания в крови другого гормона. Например, после иммунизации овец конъюгатом эстрон-белка повышалась концентрация прогестерона (Pg) [75], а после иммунизации конъюгатом Pg-белка возрастало содержание Es [77]. Поэтому весьма вероятно, что образование АТ против макромолекулярных аддуктов Es у человека может приводить к повышению в сыворотке крови не только самого Es, но и Pg.

Взаимосвязанное участие антител против ПАУ и стероидных гормонов в канцерогенезе у человека

Основанием комплексного изучения АТ против ПАУ и стероидных гормонов при канцерогенезе у человека послужили результаты экспериментальных и клинических исследований, изложенные выше:

- канцерогенные эффекты Vp и Es при совместном воздействии на клетки-мишени более выражены, чем каждого из них по отдельности;
- Vp и Es образуют аддукты с макромолекулярными носителями у здоровых людей и боль-

ных раком и таким образом превращаются в гаптены, распознаваемые иммунной системой;

– у здоровых людей и больных раком имеет место образование АТ к аддуктам Vp-ДНК и, весьма вероятно, к аддуктам Es-ДНК;

– образование АТ против Vp и стероидных гормонов у иммунизированных животных сопровождается повышением в сыворотке крови содержания Vp и гормонов и модуляцией их биологических эффектов;

– селективная стимуляция образования секреторных АТ против ХК предлагается как стратегия иммунопрофилактики рака.

Наиболее предпочтительной моделью для комплексного исследования АТ, специфичных к ПАУ и стероидным гормонам, представляется канцерогенез молочной железы. Именно у больных раком молочной железы (РМЖ) обнаружены АТ, специфичные к Vp [28] и АТ, специфичные к ER, стимулирующие пролиферацию клеток молочной железы *in vitro* [59]; доказано ингибирующее действие Pg на Es-зависимую пролиферацию эксплантов РМЖ [61]; описаны изменения ER и PR при прогрессии РМЖ [15]; успешно начато применение селективных модуляторов ER для профилактики РМЖ [85].

Нами исследованы АТ класса А против Vp, Es и Pg в сыворотке крови женщин в постменопаузе, здоровых и больных РМЖ, поскольку их образование связано с секреторным иммунным ответом на экзогенные ПАУ, способностью (предположительно) модулировать содержание стероидных гормонов в крови и продуцировать образование антиидиотипических АТ, специфичных к мембранным стероидным рецепторам, и таким образом принимать участие в процессах инициации, промоции и прогрессии РМЖ.

В результате были выявлены следующие иммунологические феномены.

Образование АТ против ПАУ и стероидных гормонов – взаимосвязанные процессы

Обнаружены статистически значимые ($p < 0,001$), прямые линейные корреляции средней силы между уровнями IgA-Es и IgA-Pg, с од-

ТАБЛИЦА 1. КОРРЕЛЯЦИИ МЕЖДУ УРОВНЯМИ IgA-Vp, IgA-Es И IgA-Pg У ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ РМЖ [84]

TABLE 1. CORRELATION BETWEEN IgA-Vp, IgA-Es AND IgA-Pg LEVELS IN HEALTHY WOMEN AND BREAST CANCER PATIENTS [84]

x	y	Здоровые женщины Healthy women (n = 395)		Больные РМЖ Breast cancer patients (n = 1539)	
		r	$y = a \cdot x + b$	r	$y = a \cdot x + b$
IgA-Vp	IgA-Es	0,7	$y = 0,8 \cdot x + 0,9$	0,7	$y = 0,6 \cdot x + 1,1$
IgA-Vp	IgA-Pg	0,5	$y = 0,6 \cdot x + 1,5$	0,6	$y = 0,5 \cdot x + 0,9$
IgA-Es	IgA-Pg	0,6	$y = 0,6 \cdot x + 1,2$	0,7	$y = 0,7 \cdot x + 0,4$

ной стороны, и IgA-Bp, с другой стороны, у женщин сравниваемых групп [5] (табл. 1).

Взаимосвязанное образование АТ против ХК окружающей среды и эстрогенных стероидов может быть обусловлено:

— одновременным образованием макромолекулярных аддуктов метаболитов Bp и Es, который индуцирует синтез отдельных по специфичности АТ;

— схожестью структуры Bp, Es и Pg, обеспечивающей кросс-реактивность с указанными гаптенами одного и того же АТ.

Разные значения коэффициентов *a* и *b* в уравнениях линейной корреляции уровней IgA-Es (*y*) и IgA-Pg (*y*) с уровнями IgA-Bp (*x*) у здоровых женщин косвенно подтверждают первое предположение. Аналогичные различия между здоровыми и больными РМЖ в корреляциях IgA-Bp (*x*) с IgA-Pg (*y*), а также IgA-Es (*x*) с IgA-Pg (*y*) свидетельствуют об особенностях выявленных взаимосвязей при канцерогенезе молочной железы.

Чем бы ни было обусловлено образование АТ против ХК и стероидных гормонов, очевидно, что они принимают совместное участие в возникновении РМЖ.

Иммунологическая интерференция

На основании известных данных о разнонаправленных эффектах Bp и Es (инициация, промоция), с одной стороны, и Pg (антипромоция), с другой стороны, исследовали индивидуальные соотношения уровней АТ, предположительно стимулирующих канцерогенез (IgA-Bp и IgA-Es),

и ингибирующих АТ (IgA-Pg) в сыворотке крови здоровых женщин и больных РМЖ [6]. Обнаружили, что только одновременное превышение уровней IgA-Bp и IgA-Es над уровнем IgA-Pg было ассоциировано с высоким риском РМЖ (OR = 3,2). Такое состояние обозначено проканцерогенным иммунологическим фенотипом. При одновременно низких уровнях IgA-Bp и IgA-Es по сравнению с IgA-Pg (протективный иммунологический фенотип) риск РМЖ был минимальный (OR = 0,3). Если уровни IgA-Bp были выше, а IgA-Es ниже или уровни IgA-Bp были ниже, а IgA-Es выше, чем уровни IgA-Pg, значения OR составили 0,9 и 0,6 соответственно (компенсаторные иммунологические фенотипы). Распределение здоровых женщин и больных РМЖ по указанным иммунологическим фенотипам представлено на рисунке 1.

Высокий риск возникновения РМЖ при одновременном повышении индивидуальных уровней IgA-Bp и IgA-Es в сочетании с низким уровнем IgA-Pg можно рассматривать как проявление иммунологической интерференции — взаимного усиления проканцерогенных эффектов АТ, стимулирующих процессы инициации и промоции, при ослабленном действии АТ, ингибирующих промоцию.

Иммунорегуляция гормонального баланса

Учитывая роль половых гормонов в регуляции процессов дифференцировки и пролиферации клеток молочной железы, исследовали содержание Es и Pg в сыворотке крови женщин с опи-

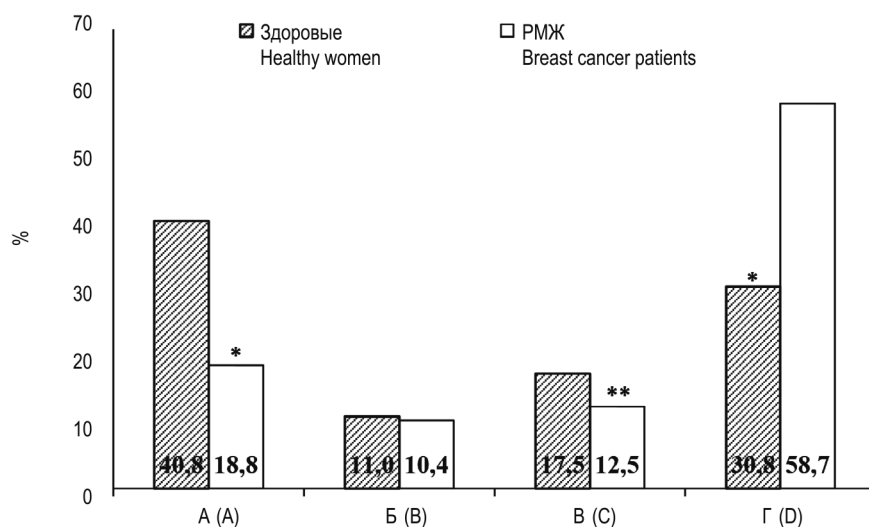


Рисунок 1. Частота (%) обнаружения иммунологических фенотипов (А – протективный, Б и В – компенсаторный, Г – проканцерогенный) у здоровых женщин и больных РМЖ [6]

Примечание. * – $p < 0,0001$; ** – $p < 0,01$.

Figure 1. Frequency (%) of revealing immunological phenotypes (A, protective; B and C, compensatory, D, procarcinogenic) in healthy women and breast cancer patients [6]

Note. *, $p < 0.0001$; **, $p < 0.01$.

санными выше иммунологическими фенотипами [7]. Индивидуальные соотношения P_g/E_s у больных РМЖ были, как и ожидалось, ниже, чем у здоровых женщин (2,9 против 6,6, $p < 0,0001$) за счет повышения концентрации E_s и снижения P_g. У здоровых женщин соотношение P_g/E_s зависело от иммунологического фенотипа (рис. 2).

Максимальное значение P_g/E_s (9,7) выявлено у здоровых женщин с протективным иммунологическим фенотипом, минимальное (3,5) – с проканцерогенным, которое незначительно отличалось от такового у больных РМЖ. Низкие значения P_g/E_s у женщин с проканцерогенным фенотипом обусловлены повышением содержания в сыворотке E_s и снижением P_g, у женщин с компенсаторными фенотипами – только снижением концентрации P_g.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что физиологические соотношения АТ, специфичных к В_p, E_s и P_g (протективный иммунологический фенотип) поддерживают физиологический гормональный баланс. Нарушение этих соотношений (проканцерогенный иммунологический фенотип) приводит к гормональному дисбалансу и повышению риска РМЖ.

Инверсия иммуно-гормональных взаимодействий под воздействием АТ против ХК окружающей среды

Для прояснения роли АТ против ХК окружающей среды в нарушениях физиологических иммуно-гормональных взаимодействий исследовали зависимость содержания E_s и P_g от уровней IgA-E_s и IgA-P_g при низких и высоких уровнях

IgA-V_p в сыворотке крови здоровых женщин в постменопаузе [43].

Концентрация E_s не зависела от уровня IgA-V_p, но повышалась с ростом IgA-E_s при высоких уровнях IgA-V_p ($r = 0,38$, $p < 0,001$; рис. 3А). Напротив, концентрация P_g повышалась с ростом IgA-P_g при низких уровнях IgA-V_p ($r = 0,49$, $p < 0,001$), но не зависела от IgA-P_g при высоких уровнях IgA-V_p (рис. 3Б).

Механизм переключения физиологических иммуно-гормональных взаимодействий с угнетения на стимуляцию канцерогенеза (switching effect) под влиянием АТ против ХК окружающей среды представляется следующим образом.

При низких уровнях сывороточных IgA-V_p не происходит стимуляции транспорта В_p из окружающей среды через поверхностный эпителий в кровь и органы мишени; сохраняется физиологическая активность цитохромов Р450 и низкий уровень E_s-аддуктов, который индуцирует преимущественное образование высоко-аффинных IgA-P_g, повышающих концентрацию P_g. В результате P_g угнетает пролиферацию клеток-мишеней, т. е. промоцию канцерогенеза.

Повышение уровней IgA-V_p приводит к стимуляции транспорта В_p к клеткам-мишеням; активации цитохромов Р450 и супрессии E_s-индуцированной СОМТ [57], избыточному образованию В_p-ДНК и E_s-ДНК аддуктов и инициации канцерогенеза. E_s-аддукты индуцируют преимущественное образование высоко-аффинных IgA-E_s, повышающих концентрацию E_s.

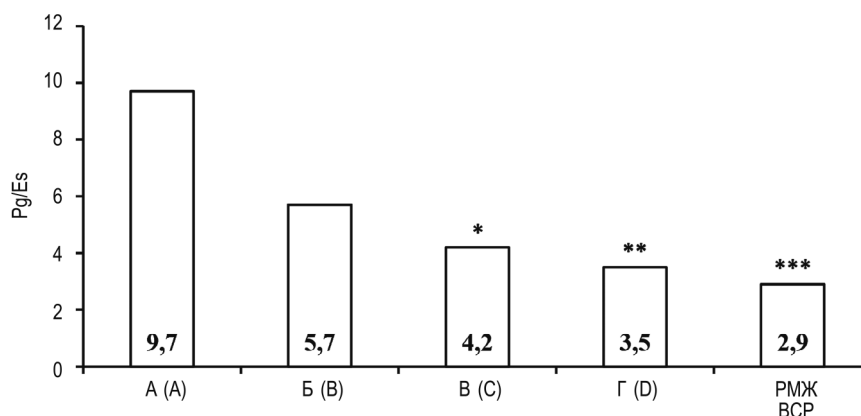


Рисунок 2. Индивидуальные соотношения P_g/E_s в сыворотке крови у здоровых женщин с разными иммунологическими фенотипами (А – протективный, Б и В – компенсаторные, Г – проканцерогенный) и у больных РМЖ [7]

Примечание. * – $p = 0,003$; ** – $p < 0,0001$ в сравнении с А.

Figure 2. Individual blood serum ratios P_g/E_s in healthy women with different immunological phenotypes (A, protectiv; B and C, compensatory; D, procancerogenic) and breast cancer patients (BCP) [7]

Note. *, $p = 0.003$; **, $p < 0.0001$ in comparison with A.

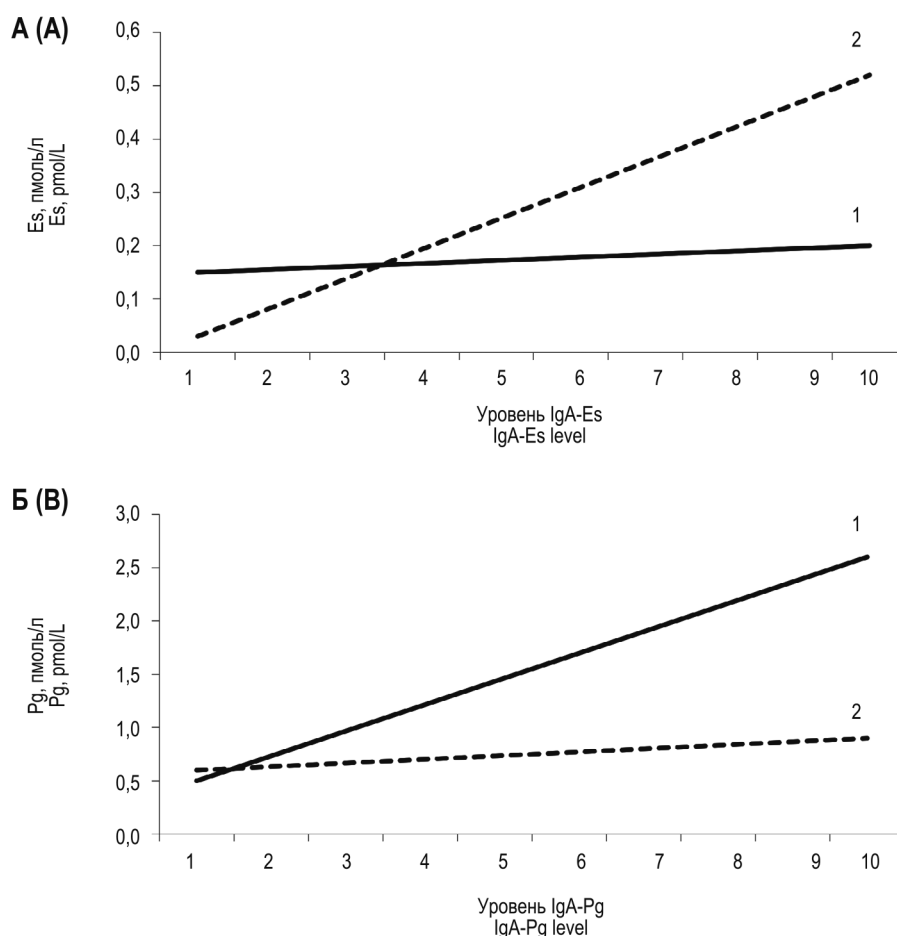


Рисунок 3. Корреляции между концентрациями эстрадиола (А) и прогестерона (Б), и уровнями IgA-Es и IgA-Pg в сыворотке крови здоровых женщин с низким (1) и высоким (2) уровнями IgA-Bp [43]

Figure 3. Correlations between blood serum Es (A) and Pg (B) concentrations and IgA-Es and IgA-Pg levels in healthy women with low (1) and high (2) IgA-Bp levels [43]

В результате Es стимулирует промоцию канцерогенеза.

Иммуностимуляция канцерогенеза в стадии прогрессии

Основным признаком канцерогенеза в стадии прогрессии является автономность опухоли — нарастающая независимость дифференцировки и пролиферации малигнизированных клеток от внеклеточных регулирующих факторов, в том числе за счет «утраты» эстрогеновых и прогестероновых рецепторов.

Сравнение больных РМЖ в начале опухолевого роста (I стадия) и его прогрессии, инвазии и метастазирования (II-IV стадии) показало следующее. При высоких значениях IgA-Es/IgA-Pg > 1,0 удельный вес ER⁺ опухолей у больных РМЖ II-IV стадии был меньше (55,2%), а ER⁻ больше (20,9%), чем у больных с I стадией РМЖ (63,3% и 11,5% соответственно, p < 0,0001). Аналогичные различия обнаружены и при анализе прогестероновых рецепторов (рис. 4). При низ-

ких значениях IgA-Es/IgA-Pg ≤ 1,0 подобной разницы не обнаружили.

Такие же статистически значимые (p = 0,0001) ассоциации ER и PR в опухолях I и II-IV стадий выявлены с высокими значениями IgA-Bp/IgA-Pg > 1,0.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что преимущественное образование АТ против Bp и Es при низких уровнях АТ против Pg стимулируют прогрессию РМЖ и открывают новые перспективы в изучении молекулярных механизмов иммунологического дисбаланса в химическом канцерогенезе у человека.

Заключение

Результаты многочисленных экспериментальных исследований послужили основанием для разработки стратегии активной иммунопрофилактики рака путем селективной индукции секреторного иммунитета против ЖК окружающей среды, т.е. создания анти-канцерогенных вак-

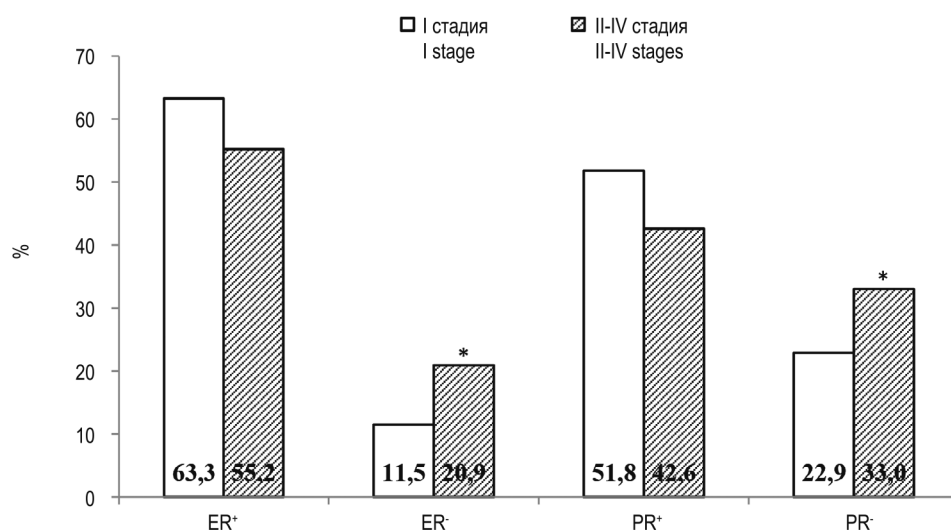


Рисунок 4. Удельный вес (%) случаев с высоким соотношением IgA-Es/IgA-Pg > 1,0 у больных РМЖ с ограниченной (I стадия) и прогрессирующей (II-IV стадии) опухолями с учетом наличия/отсутствия (+/-) ER и PR

Примечание. * – p < 0,0001.

Figure 4. Frequency (%) of high individual IgA-Es/IgA-Pg ratio in breast cancer patients with I and II-IV tumor stages according to ER/PR status

Note. *, p < 0.0001.

цин [35, 62, 84, 89]. Очевидно, что применение таких вакцин необходимо только у людей с высоким риском возникновения злокачественных опухолей, обусловленным индивидуальными особенностями специфических иммунных реакций на ХК. Наши исследования показали [3, 4], что высокий риск возникновения РМЖ и рака легкого ассоциирован с преимущественным образованием сывороточных IgA, специфичных к Вр и Es при низких уровнях IgA к Pg (OR > 1,0). При низких уровнях IgA-Вр и IgA-Es вероятность возникновения этих опухолей среднестатистическая (OR = 1,0). Преимущественное образование IgA-Pg ассоциировано с низкими онкорисками (OR < 1,0).

Таким образом, у людей с протективным и компенсаторными иммунологическими фенотипами применение анти-канцерогенных вакцин не показано. А у людей с проканцерогенным иммунологическим фенотипом активная иммунизация против ХК противопоказана, так как индукция секреторных АТ с высокой вероятностью активирует проявление уже имеющегося иммуно-гормонального дисбаланса:

– дальнейшее повышение уровня сывороточных IgA-Вр и взаимосвязанное с ним повышение уровня IgA-Es с ростом соотношений IgA-Вр/IgA-Pg вместе с IgA-Es/IgA-Pg;

– дальнейшее повышение содержания в сыворотке Es с ростом соотношения Es/Pg;

– активацию процессов инициации и промции у здоровых людей и прогрессии – у больных раком.

Альтернативой анти-канцерогенным вакцинам может быть стратегия пассивной иммунопрофилактики рака с разработкой пробиотиков, модифицированных генами, кодирующими человеческие АТ против ХК [42]. Предполагается, что АТ специфичные к ХК (в том числе к фитоэстрогенам), экспрессируемые такими пробиотиками, будут связывать ХК окружающей среды, препятствовать их проникновению в поверхностный эпителий и образованию аддуктов с ДНК и белками, ингибируя процессы инициации и промции. Наряду с этим ограничится образование сывороточных АТ против ХК, что приведет к восстановлению физиологического иммуно-гормонального баланса.

Иммунодиагностика онкологических рисков с помощью комплексного анализа АТ против Вр, Es и Pg будет полезной при использовании известных фармакологических средств химиопрофилактики [85, 91]. Идентификация протективного или компенсаторного иммунологического фенотипа позволит значительно сузить круг женщин для назначения селективных модуляторов эстрогеновых рецепторов и ингибиторов ароматазы. Применение этих препаратов у женщин с проканцерогенным иммунологическим фенотипом повысит их эффективность в снижении риска РМЖ. Вероятно, при этом снизится и риск рака легкого, поскольку проканцероген-

ный иммунологический фенотип ассоциирован с риском возникновения этой злокачественной опухоли у женщин и мужчин, а эстрогеновые рецепторы рассматриваются как новая мишень в ее терапии [9], и лечение РМЖ анти-эстрогенами сопровождается снижением смертности от вторичного рака легкого [22].

Следует отметить, что ХК и стероидные гормоны принимают участие в возникновении и других заболеваний – врожденных пороков развития плода, воспалительных и аутоиммунных болезней, атеросклероза и гипертонии [41]. По-

этому изучение иммуно-гормональных взаимодействий при этих заболеваниях может быть полезным для разработки новых методов их профилактики.

Благодарности

Автор благодарит академика Л.Н. Иванову за поддержку выбранного направления исследований и коллег из Института экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН за многолетнюю совместную работу по иммунологии химического канцерогенеза.

Список литературы / References

1. Высоцкая И.В., Лetyagin В.П., Шабанов М.А., Кирсанов В.Ю., Ким Е.А., Левкина Н.В. Актуальные вопросы канцерогенеза // Клиническая онкогематология, 2019. Т. 12, № 1. С. 101-106. [Vysotskaya I.V., Letyagin V.P., Shabanov M.A., Kirsanov V.Yu., Kim E.A., Levkina N.V. Current issues in carcinogenesis. *Klinicheskaya onkogematologiya = Clinical Oncohematology*, 2019, Vol. 12, no. 1, pp. 101-106. (In Russ.)]
2. Глушков А.Н. Клиническая иммунохимия канцерогенеза: новые задачи и перспективы // Российский иммунологический журнал, 2013. Т. 7 (16), № 1. С. 27-34. Glushkov A.N. The immunochemistry on carcinogenesis: the new tasks and perspectives. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2013, Vol. 7 (16), no. 1, pp. 27-34. (In Russ.)]
3. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Гордеева Л.А., Мун С.А., Костянюк М.В., Антонов А.В., Титов В.А., Вержбицкая Н.Е., Вафин И.А. Иммунологический дисбаланс при раке молочной железы и раке легкого у женщин в постменопаузе // Медицинская иммунология, 2018. Т. 20, № 6. С. 927-934. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Gordeeva L.A., Mun S.A., Kostyanko M.V., Antonov A.V., Titov V.A., Verzhbitskaya N.E., Vafin I.A. Immunological imbalance in breast cancer and lung cancer in postmenopausal women. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2018, Vol. 20, no. 6, pp. 927-934. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2018-6-927-934.
4. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Костянюк М.В., Титов В.А., Вафин И.А., Рагожина С.Е. Взаимное влияние антител к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону на риски возникновения рака легкого // Российский иммунологический журнал, 2015. Т. 9 (18), № 3. С. 343-349. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Kostyanko M.V., Titov V.A., Vafin I.A., Ragozhina S.E. Mutual effects of antibodies to benzo[a]pyrene, estradiol and progesterone on the lung cancer risks. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2015, Vol. 9 (18), no. 3, pp. 343-349. (In Russ.)]
5. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Магарилл Ю.А., Аносова Т.П., Антонов А.В., Вержбицкая Н.Е. Антитела к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону у больных раком молочной железы в постменопаузе // Сибирский онкологический журнал, 2016. Т. 15, № 6. С. 28-34. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Magarill Yu.A., Anosova T.P., Antonov A.V., Verzhbitskaya N.E. Antibodies to benzo[a]pyrene, estradiol, and progesterone in postmenopausal breast cancer patients. *Sibirskiy onkologicheskii zhurnal = Siberian Journal of Oncology*, 2016, Vol. 15, no. 6, pp. 28-34. (In Russ.)]
6. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Мун С.А., Гордеева Л.А., Костянюк М.В., Антонов А.В., Вержбицкая Н.Е., Вафин И.А. Индивидуальный иммунологический фенотип и риск рака молочной железы у женщин в постменопаузе // Российский иммунологический журнал, 2019. Т. 13, № 1. С. 44-52. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Mun S.A., Gordeeva L.A., Kostyanko M.V., Antonov A.V., Verzhbitskaya N.E., Vafin I.A. Personal immunological phenotype and breast cancer risk in postmenopausal women. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2019, Vol. 13, no. 1, pp. 44-52. (In Russ.)]
7. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Мун С.А., Гордеева Л.А., Костянюк М.В., Колпинский Г.И., Луценко В.А., Антонов А.В., Титов В.А., Вафин И.А. Антитела к химическим канцерогенам и половым стероидам и содержание эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови женщин больных раком молочной железы и мужчин больных раком легкого // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 1. С. 69-78. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Mun S.A., Gordeeva L.A., Kostyanko M.V., Kolpinskiy G.I., Lutsenko V.A., Antonov A.V., Titov V.A., Vafin I.A. Antibodies to the chemical carcinogens and sex steroids of estradiol and progesterone the serum levels of features in women and men with breast and lung cancer. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2020, Vol. 23, no. 1, pp. 69-78. (In Russ.)]
8. Гуляева Л.Ф., Вавилин В.А., Ляхович В.В. Ферменты биотрансформации ксенобиотиков в химическом канцерогенезе. Новосибирск: ГПНТБ СО РАН, 2000. 85 с. [Gulyaeva L.F., Vavilin V.A., Lyakhovich V.V. Biotransformation enzymes of xenobiotics in chemical carcinogenesis]. Novosibirsk: GPNTB SBRAS, 2000. 85 p. (In Russ.)]
9. Давыдов М.И., Богущ Т.А., Полоцкий Б.Е., Тюляндин С.А. Эстрогеновые рецепторы β – новая мишень в терапии немелкоклеточного рака легкого // Вестник РАМН, 2012. Т. 67, № 2. С. 16-22. [Davidov M.I.,

Bogush T.A., Polotskiy B.E., Tylyandin S.A. Estrogen receptors β – new target in cellular lung cancer treatment. *Vestnik RAMN = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2012, Vol. 67, no. 2, pp. 16-22. (In Russ.)

10. Имянитов Е.Н., Хансон К.П. Молекулярная онкология: клинические аспекты. Санкт-Петербург: Издательский дом СПбМАПО, 2007. 211 с. [Imyanitov E.N., Hanson K.P. Molecular Oncology: Clinical aspects]. St. Petersburg: Publishing house of St. Petersburg Medical Academy of Postgraduate Education, 2007, 211 p.

11. Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2020. 239 с. [State of cancer care in Russia in 2019. Ed. Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Shachzodova A.O.] Moscow: P. Herzen Moscow Oncology Research Institute – Branch of National Medical Radiology Research Center, 2020. 239 p.

12. Суханов В.А., Пирюзьян Л.А. Роль физиологических факторов в прогнозировании риска развития онкологических заболеваний на основе полиморфизма системы ферментов метаболизма ксенобиотиков // Физиология человека, 2010. Т. 36, № 6. С. 122-137. [Sukhanov V.A., Piruzyan L.A. Role of physiological factors in predicting the risk of oncological diseases on the basis of the polymorphism of the xenobiotic metabolism enzyme system. *Fiziologiya cheloveka = Human Physiology*, 2010, Vol. 36, no. 6, pp. 723-736. (In Russ.)]

13. Худoley В.В. Канцерогены: характеристики, закономерности, механизмы действия // Исследования по генетике, 1999. №12. С. 67-85. [Khudoley V.V. Carcinogens: characteristics, patterns, mechanisms of action. *Issledovaniya po genetike = Research on Genetics*, 1999, no. 12, pp. 67-85. (In Russ.)]

14. Худoley В.В., Мизгирев И.В. Экологически опасные факторы. СПб.: Publishing House, 1996. 184 с. [Khudoley V.V., Mizgirev I.V. Environmentally dangerous factors]. St. Petersburg: Publishing House, 1996. 184 p.

15. Шашова Е.Е., Кондакова И.В., Слонимская Е.М., Глуценко С.А. Сравнительное изучение содержания рецепторов эстрогенов и прогестерона в неизменной, опухолевой и метастатической тканях при раке молочной железы // Сибирский онкологический журнал, 2008. Т. 4, № 28. С. 42-45. [Shashova E.E., Kondakova I.V., Slonimskaya E.M., Gluschenko S.A. Comparative study of the levels of estrogen and progesterone receptors in normal, tumor and metastatic tissues of breast cancer patients. *Sibirskiy onkologicheskiy zhurnal = Siberian Journal of Oncology*, 2008, Vol. 4, no. 28, pp. 42-45. (In Russ.)]

16. Agudo A., Peluso M., Munnia A., Luján-Barroso L., Sánchez M.J., Molina-Montes E., Sánchez-Cantalejo E., Navarro C., Tormo M.J., Chirlaque M.D., Barricarte A., Ardanaz E., Amiano P., Dorronsoro M., Quirós J.R., Piro S., Bonet C., Sala N., González C.A. Aromatic DNA adducts and risk of gastrointestinal cancers: a case-cohort study within the EPIC-Spain. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2012, Vol. 21, no. 4, pp. 685-692.

17. Al-Saleh I., Arif J., El-Doush I., Al-Sanea N., Jabbar A.A., Billedo G., Shinwari N., Mashhour A., Mohamed G. Carcinogen DNA adducts and the risk of colon cancer: case-control study. *Biomarkers*, 2008, Vol. 13, no. 2, pp. 201-216.

18. Androutsopoulos V.P., Tsatsakis A.M., Spandidos D.A. Cytochrome P450 CYP1A1: wider roles in cancer progression and prevention. *BMC Cancer*, 2009, Vol. 9, 187. doi: 10.1186/1471-2407-9-187.

19. Blaszczyk E., Mielżyńska-Śvach D. Polycyclic aromatic hydrocarbons and PAH-related DNA adducts. *J. Appl. Genet.*, 2017, Vol. 58, no. 3, pp. 321-330.

20. Bochska R., Thie M., Kirchner C.J. Active immunization of rabbits against progesterone: increase in hormone levels, and changes in metabolic clearance rates and in genital tract tissues. *Steroid Biochem.*, 1989, Vol. 33, no. 3, pp. 349-355.

21. Borska L., Andrys C., Krejsek J., Palicka V., Chmelarova M., Hamakova K., Kremlacek J., Borsky P., Fiala Z. Serum level of antibody against benzo[a]pyrene-7,8-diol-9,10-epoxide-DNA adducts in people dermally exposed to PAHs. *J. Immunol. Res.*, 2014, 834389. doi: 10.1155/2014/834389.

22. Bouchardy C., Benhamo S., Schaffar R., Verkooijen H.M., Fioretta G., Schubert H., Vinh-Hung V., Soria J.C., Vlastos G., Rapiti E. Lung cancer mortality risk among breast cancer patients treated with anti-estrogens. *Cancer*, 2011, Vol. 117, no. 6, pp. 1288-1295.

23. Caldwell B.V., Tillson S.A., Esber H., Thorneycroft I.H. Survival of tumors after immunization against oestrogens. *Nature*, 1971, Vol. 231, no. 5298, pp. 118-119.

24. Cavalieri E.L., Rogan E.G. Depurinating estrogen-DNA adducts, generators of cancer initiation: their minimization leads to cancer prevention. *Clin. Transl. Med.*, 2016, Vol. 5, 12. doi: 10.1186/s40169-016-0088-3.

25. Cavalieri E.L., Rogan E.G., Zahid M. Critical depurinating DNA adducts: Estrogen adducts in the etiology and prevention of cancer and dopamine adducts in the etiology and prevention of Parkinson's disease. *Int. J. Cancer*, 2017, Vol. 141, no. 6, pp. 1078-1090.

26. Ceppi M., Munnia A., Cellai F., Bruzzone M., Peluso M.E.M. Linking the generation of DNA adducts to lung cancer. *Toxicology*, 2017, no. 390, pp. 160-166.

27. Černohorská H., Klimešová S., Lepša L., Jinoch P., Milcová A., Schmuczerová J., Topinka J., Lábaj J. Influence of immunization with non-genotoxic PAH-KLH conjugates on the resistance of organisms exposed to benzo[a]pyrene. *Mut. Res.*, 2012, Vol. 742, no. 1-2, pp. 2-10.

28. Chagnaud J.L., Faiderbe S., Geffard M. Identification and immunochemical characterization of IgA in sera of patients with mammary tumors. *Int. J. Cancer*, 1992, Vol. 50, no. 3, pp. 395-401.

29. Chagnaud J.L., Faiderbe S., Geffard M. Effects of monoclonal anti-idiotypic antibody, internal image of benzo(a)pyrene on sarcoma in rats. *C.R Acad. Sci III.*, 1993, Vol. 316, no. 10, pp. 1266-1269. (In French)

30. Charles G.D., Bartles M.J., Zacharewski T.R., Gollapudi B.B., Freshour N.L., Carney E.W. Activity of benzo[a]pyrene and its hydroxylated metabolites in an estrogen receptor-alpha reporter gene assay. *Toxicol. Sci.*, 2000, Vol. 55, no. 2, pp. 320-326.
31. Chen Z., Zhang Y., Yang J., Jin M., Wang X.W., Shen Z.Q., Qiu Z., Zhao G., Wang J., Li J.W. Estrogen promotes benzo[a]pyrene-induced lung carcinogenesis through oxidative stress damage and cytochrome c-mediated caspase-3 activation pathway in female mice. *Cancer. Lett.*, 2011, Vol. 308, no. 1, pp. 14-22.
32. Counihan K.A., Vertosick F.T., Kelly R.H. Anti-estrogen antibodies in systemic lupus erythematosus: a quantitative evaluation of serum levels. *Immunol. Invest.*, 1991, Vol. 20, no. 3, pp. 317-331.
33. Curtis G.L., Ryan W.L., Stenbäck F. Antibody stimulation of benzo[a]pyrene carcinogenesis. *Cancer Lett.*, 1978, Vol. 4, no. 4, pp. 223-228.
34. de Buck S.S., Augustijns P., Muller C.P. Specific antibody modulates absorptive transport and metabolic activation of benzo[a]pyrene across Caco-2 monolayers. *J. Pharmacol. Experim. Therap.*, 2005, Vol. 313, no. 2, pp. 640-646.
35. de Buck S.S., Muller C.P. Immunopropylactic approaches against chemical carcinogenesis. *Vaccine*, 2005, Vol. 23, no. 17-18, pp. 2403-2406.
36. Fertuck K.C., Matthews J.B., Zacharewski T.R. Hydroxylated benzo[a]pyrene metabolites are responsible for *in vitro* estrogen receptor-mediated gene expression induced by benzo[a]pyrene, but do not elicit uterotrophic effects *in vivo*. *Toxicol. Sci.*, 2001, Vol. 59, no. 2, pp. 231-240.
37. Franks W.R., Creech H.J. Chemoantigens and carcinogenesis: I. *Cancer Res.*, 1939, Vol. 35, no. 2, pp. 203-212.
38. Galati R., Crebelli R., Zijno A., Conti L., Falasca G., Verdina A. The effect of humoral immunity against adducted benzo[a]pyrene on DNA damage elicited by acute carcinogen exposure in Swiss mice. *In vivo*, 2000, Vol. 14, no. 6, pp. 747-751.
39. Galati R., Zijno A., Crebelli R., Falasca G., Tomei F., Iecher F., Carta P., Verdina A. Defection of antibodies to benzo[a]pyrene diol epoxide-DNA adducts in sera from individuals exposed to low doses of polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 2001, Vol. 20, no. 3, pp. 359-364.
40. Glushkov A.N. Immunological disbalance in carcinogenesis. *Med. Hypotheses*, 2014, Vol. 83, no. 2, pp. 166-171.
41. Glushkov A.N., Polenok E.G. Immunomodulation of carcinogens-induced steroids-dependent human diseases. *Saudi J. Biol. Sci.*, 2019, Vol. 26, no. 2, pp. 244-251.
42. Glushkov A.N., Polenok E.G., Mun S.A., Gordeeva L.A. Immunization against environmental chemical carcinogens: pro and contra. *Med. Hypotheses*, 2019, Vol. 131, 109303. doi: 10.1016/j.mehy.2019.109303.
43. Glushkov A.N., Polenok E.G., Mun S.A., Gordeeva L.A. Inversion of natural immuno-hormonal interactions under influence of antibodies against environmental chemical carcinogens. *Med. Hypotheses*, 2020, Vol. 144, 109981. doi: 10.1016/j.mehy.2020.109981.
44. Go R.E., Hwang K.A., Choi K.C. Cytochrome P450 1 family and cancers. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2015, Vol. 147, pp. 24-30.
45. Grigoryeva E.S., Kokova D.A., Gratchev A.N., Cherdyntsev E.S., Buldakov M.A., Kzhyshkowska J.G., Cherdyntseva N.V. Smoking-related DNA adducts as potential diagnostic markers of lung cancer: new perspectives. *Exp. Oncol.*, 2015, Vol. 37, no. 1, pp. 5-12.
46. Grova N., Prodhomme E.J., Schellenberger M.T., Farinelle S., Muller C.P. Modulation of carcinogen bioavailability by immunisation with benzo[a]pyrene – conjugate vaccines. *Vaccine*, 2009, Vol. 27, no. 31, pp. 4142-4151.
47. Gunter M.J., Divi R.L., Kulldorff M., Vermeulen R., Haverkos K.J., Kuo M.M., Strickland P., Poirier M.C., Rothman N., Sinha R. Leukocyte polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adduct formation and colorectal adenoma. *Carcinogenesis*, 2007, Vol. 28, no. 7, pp. 1426-1429.
48. Harris C.C., Vahakangas K., Newman M.J., Trivers G.E., Shamsuddin A., Sinopoli N., Mann D.L., Wright W.E. Detection of benzo[a]pyrene diol epoxide-DNA adducts in peripheral blood lymphocytes and antibodies to the adducts in serum from coke oven workers. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1985, Vol. 82, no. 19, pp. 6672-6676.
49. Haugen A., Becher G., Benestad C., Vahakangas K., Trivers G.E., Newman M.J., Harris C.C. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in the urine, benzo(a)pyrene diol epoxide-DNA adducts in lymphocyte DNA, and antibodies to the adducts in sera from coke oven workers exposed to measured amounts of polycyclic aromatic hydrocarbons in the work atmosphere. *Cancer Res.*, 1986, Vol. 46, no. 8, pp. 4178-4183.
50. Hillier S.G., Groom G.V., Boyns A.R., Cameron E.H. Effects of active immunisation against steroids upon circulating hormone concentrations. *J. Steroid Biochem.*, 1975, Vol. 6, no. 3-4, pp. 529-535.
51. Hsu T.M., Zhang Y.J., Santella R.M. Immunoperoxidase quantitation of 4-aminobiphenyl- and polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in exfoliated oral and urothelial cells of smokers and nonsmokers. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 1997, Vol. 6, no. 3, pp. 193-199.
52. Jacobson J.S., Begg M.D., Wang L.W., Wang Q., Agarwal M., Norkus E., Singh V.N., Young T.L., Yang D., Santella R.M. Effects of a 6-month vitamin intervention on DNA damage in heavy smokers. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2000, Vol. 9, no. 12, pp. 1303-1311.
53. Jeffy B.D., Chirnomas R.B., Romagnolo D.F. Epigenetics of breast cancer: polycyclic aromatic hydrocarbons as risk factors. *Environ. Mol. Mutagen.*, 2002, Vol. 39, no. 2-3, pp. 235-244.

54. Jonsson C., Stål P., Sjöqvist U., Akerlund J.E., Löfberg R., Möller L. DNA adducts in normal colonic mucosa from healthy controls and patients with colon polyps and colorectal carcinomas. *Mutagenesis*, 2010, Vol. 25, no. 5, pp. 499-504.
55. Käfferlein H.U., Marczynski B., Mensing T., Brüning T. Albumin and hemoglobin adducts of benzo[a]pyrene in humans – Analytical methods, exposure assessment, and recommendations for future directions. *Crit. Rev. Toxicol.*, 2010, Vol. 40, no. 2, pp. 126-150.
56. Kang S.C., Lee B.M. Effect of estrogen receptor (ER) on benzo[a]pyrene-DNA adduct formation in human breast cancer cells. *J. Toxicol. Environ. Health A.*, 2005, Vol. 68, no. 21, pp. 1833-1840.
57. Lin S., Lin C.J., Hsieh D.P., Li L.A. ERα phenotype, estrogen level, and benzo[a]pyrene exposure modulate tumor growth and metabolism of lung adenocarcinoma cells. *Lung Cancer*, 2012, Vol. 75, no. 3, pp. 285-292.
58. Martin T.E., Henricks D.M., Hill J.R. Jr, Rawlings N.C. Active immunization of the cow against oestradiol-17β. *J. Reprod. Fertil.*, 1978, Vol. 53, no. 1, pp. 173-178.
59. Maselli A., Capoccia S., Pugliese P., Raggi C., Cirulli F., Fabi A., Malorni W., Pierdominici M., Ortona E. Autoantibodies specific to estrogen receptor alpha act as estrogen agonists and their level correlate with breast cancer cell proliferation. *Oncimmunology*, 2016, Vol. 5, no. 2, e1074375-2. doi: 10.1146/annurev-cancerbio-050216-122002.
60. McCreery M.Q., Balmain A. Chemical carcinogenesis models of cancer: back to the future. *Annu. Rev. Cancer Biol.*, 2017, Vol. 1, pp. 295-312.
61. Mohammed H., Russell I.A., Stark R., Rueda O.M., Hickey T.E., Tarulli G.A., Serandour A.A., Birrell S.N., Bruna A., Saadi A., Menon S., Hadfield J., Pugh M., Raj G.V., Brown G.D., D'Santos C., Robinson J.L., Silva G., Launchbury R., Perou C.M., Stingl J., Caldas C., Tilley W.D., Carroll J.S. Progesterone receptor modulates ERα action in breast cancer. *Nature*, 2015, Vol. 523, no. 7560, pp. 313-317.
62. Moolten F.L., Capparel N., Boger E. Reduction of respiratory tract binding of benzo(a)pyrene in mice by immunization. *J. Natl Cancer Inst.*, 1978, Vol. 61, no. 5, pp. 1347-1349.
63. Moolten F.L., Schreiber B., Rizzone A., Weiss A.J., Boger E. Protection of mice against 7,12-dimethylbenz(a)anthracene – induced skin tumors by immunization with a fluorinated analog of the carcinogen. *Cancer Res.*, 1981, Vol. 41, no. 2, pp. 425-429.
64. Newman M.J., Light B.A., Weston A., Tollurud D., Clark J.L., Mann D.L., Blackmon J.P., Harris C.C. Detection and characterization of human serum antibodies to polycyclic aromatic hydrocarbon diol-epoxide DNA adducts. *J. Clin. Invest.*, 1988, Vol. 82, no. 1, pp. 145-153.
65. Nock N.L., Tang D., Rundle A., Neslund-Dudas C., Savera A.T., Bock C.H., Monaghan K.G., Koprowski A., Mittrache N., Yang J.J., Rybicki B.A. Associations between smoking, polymorphisms in polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) metabolism and conjugation genes and PAH-DNA adducts in prostate tumors differ by race. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2007, Vol. 16, no. 6, pp. 1236-1245.
66. Ortona E., Pierdominici M., Berstein L. Autoantibodies to estrogen receptors and their involvement in autoimmune diseases and cancer. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2014, 144, Pt B, pp. 260-267.
67. Pauk N., Klimesova S., Kara J., Topinka J., Labaj J. The relevance of monitoring of antibodies against polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) and PAH-DNA adducts in serum in relation to lung cancer and chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Neoplasma*, 2013, Vol. 60, no. 2, pp. 182-187.
68. Peck R.M., Peck E.B. Inhibition of chemically induced neoplasia by immunization with an antigenic carcinogen- protein conjugate. *Cancer Res.*, 1971, Vol. 31, pp. 1550-1554.
69. Peluso M., Munnia A., Hoek G., Krzyzanowski M., Veglia F., Airoldi L., Autrup H., Dunning A., Garte S., Hainaut P., Malaveille C., Gormally E., Matullo G., Overvad K., Raaschou-Nielsen O., Clavel-Chapelon F., Linseisen J., Boeing H., Trichopoulos A., Trichopoulos D., Kaladidi A., Palli D., Krogh V., Tumino R., Panico S., Bueno-De-Mesquita H.B., Peeters P.H., Kumle M., Gonzalez C.A., Martinez C., Dorransoro M., Barricarte A., Navarro C., Quiros J.R., Berglund G., Janzon L., Jarvholm B., Day N.E., Key T.J., Saracci R., Kaaks R., Riboli E., Vineis P. DNA adducts and lung cancer risk: a prospective study. *Cancer Res.*, 2005, Vol. 65, no. 17, pp. 8042-8048.
70. Petruzzelli S., Celi A., Pulerà N., Baliva F., Vieggi, G., Carrozzi L., Ciacchini G., Bottai M., Di Pede F., Paoletti P., Giuntini C. Serum antibodies to benzo[a]pyrene diol epoxide-DNA adducts in the general population: effects of air pollution, tobacco smoking, and family history of lung diseases. *Cancer Res.*, 1998, Vol. 58, no. 18, pp. 4122-4126.
71. Pfohl-Leszkowicz A., Grosse Y., Carrière V., Cugnenc P.H., Berger A., Carnot F., Beaune P., de Waziers I. High levels of DNA adducts in human colon are associated with colorectal cancer. *Cancer Res.*, 1995, Vol. 55, no. 23, pp. 5611-5616.
72. Phillips D.H. Smoking-related DNA and protein adducts in human tissues. *Carcinogenesis*, 2002, Vol. 23, no. 12, pp. 1979-2004.
73. Pulerà N., Retruzzelli S., Celi A., Puntoni R., Fornai E., Säwe U., Paoletti P., Giuntini C. Presence and persistence of serum anti-benzo[a]pyrene diol-epoxide-DNA adduct antibodies in smokers: effects of smoking reduction and cessation. *Int. J. Cancer*, 1997, Vol. 70, no. 2, pp. 145-149.
74. Rasmussen M.V., Silbart L.K. Peroral administration of specific antibody enhances carcinogen excretion. *J. Immunother.*, 1998, Vol. 21, no. 6, pp. 418-426.
75. Rawlings N.C., Kennedy S.W., Henricks D.M. The active immunization of the cyclic ewe against an estrone protein conjugate. *Theriogenology*, 1979, Vol. 12, no. 3, pp. 139-151.

76. Ronco A.L., de Stefani E., Correa P., Deneo-Pellegrini H., Boffetta P., Acosta G., Mendilaharsu M. Dietary benzo[a]pyrene, alcohol drinking, and risk of breast cancer: a case-control study in Uruguay. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 2011, Vol. 12, no. 6, pp. 1463-1467.
77. Rosenberg M., Amir D., Folman Y. The effect of active immunization against progesterone on plasma concentrations of total and free progesterone, estradiol-17beta and LH in the cyclic ewe. *Theriogenology*, 1987, Vol. 28, no. 4, pp. 417-426.
78. Rundle A., Richards C., Neslund-Dudas C., Tang D., Rybicki B.A. Neighborhood socioeconomic status modifies the association between individual smoking status and PAH-DNA adduct levels in prostate tissue. *Environ Mol. Mutagen.*, 2012, Vol. 53, no. 5, pp. 384-391.
79. Rybicki B.A., Neslund-Dudas C., Bock C.H., Rundle A., Savera A.T., Yang J.J., Nock N.L., Tang D. Polycyclic aromatic hydrocarbon – DNA adducts in prostate and biochemical recurrence after prostatectomy. *Clin. Cancer Res.*, 2008, Vol. 14, no. 3, pp. 750-757.
80. Sadikovic B., Rodenhiser D.I. Benzopyrene exposure disrupts DNA methylation and growth dynamics in breast cancer cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2006, Vol. 216, no. 3, pp. 458-468.
81. Sagiv S.K., Gaudet M.M., Eng S.M., Abrahamson P.E., Shantakumar S., Teitelbaum S.L., Bell P., Thomas J.A., Neugut A.I., Santella R.M., Gammon M.D. Polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts and survival among women with breast cancer. *Environ. Res.*, 2009, Vol. 109, no. 3, pp. 287-291.
82. Santella R.M., Gammon M.D., Zhang Y.J., Motykiewicz G., Young T.L., Hayes S.C., Terry M.B., Schoenberg J.B., Brinton L.A., Bose S., Teitelbaum S.L., Hibshoosh H. Immunohistochemical analysis of polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in breast tumor tissue. *Cancer Lett.*, 2000, Vol. 154, no. 2, pp. 143-149.
83. Santella R.M., Perera F.P., Young T.L., Zhang Y.J., Chiamprasert S., Tang D., Wang L.W., Beachman A., Lin J.H., DeLeo V.A. Polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA and protein adducts in coal tar patients and controls and their relationship to glutathione S-transferase genotype. *Mutat. Res.*, 1995, Vol. 334, no. 2, pp. 117-124.
84. Schellenberger M.T., Farinelle S., Willième S., Muller C.P. Evaluation of adjuvants for a candidate conjugate vaccine against benzo[a]pyrene. *Hum. Vaccin.*, 2011, Vol. 7, no. 1, pp. 166-173.
85. Sestak I. Preventative therapies for healthy women at high risk of breast cancer. *Cancer Manag. Res.*, 2014, Vol. 6, pp. 423-430.
86. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer Statistics, 2020. *C. A. Cancer J. Clin.*, 2020, Vol. 70, no. 1, pp. 7-30.
87. Silbart L.K., Keren D.F. Reduction of intestinal carcinogen absorption by carcinogen-specific immunity. *Science*, 1989, Vol. 243, no. 4897, pp. 1462-1464.
88. Silbart L.K., McAller F., Rasmussen M.V., Goslinoski L., Keren D.F., Finley A., Van Kruiningen H.J., Winchell J.M. Selective induction of mucosal immune responses to 2-acetylaminofluorene. *Anticancer Res.*, 1996, Vol. 16, no. 2, pp. 651-660.
89. Silbart L.K., Rasmussen H.V., Oliver A.R. Immunoprophylactic intervention in chemical toxicity and carcinogenicity. *Vet. Hum. Toxicol.*, 1997, Vol. 39, no. 1, pp. 37-43.
90. Tang D., Kryvenko O.N., Wang Y., Jankowski M., Trudeau S., Rundle A., Rybicki B.A. Elevated polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in benign prostate and risk of prostate cancer in African Americans. *Carcinogenesis*, 2013, Vol. 34, no. 1, pp. 113-120.
91. Vogel V.G. Role of hormones in cancer prevention. ASCO Educational Book, 2014, Vol. 34, pp. 34-40.
92. Weston A., Rowe M., Poirier M., Trivers G., Vahakangas K., Newman M., Haugen A., Manchester D., Mann D., Harris C. The application of immunoassays and fluorometry to the detection of polycyclic hydrocarbon-macromolecular adducts and anti-adduct antibodies in humans. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 1988, Vol. 60, no. 3, pp. 157-62.
93. Wiencke J.K., Kelsey K.T., Varkonyi A., Semey K., Wain J.C., Mark E., Christiani D.C. Correlation of DNA adducts in blood mononuclear cells with tobacco carcinogen-induced damage in human lung. *Cancer Res.*, 1995, Vol. 55, no. 21, pp. 4910-4914.
94. Yager J.D. Mechanisms of estrogen carcinogenesis: The role of E2/E1 – quinone metabolites suggests new approaches to preventive intervention – A review. *Steroids*, 2015, Vol. 99b (Pt A), pp. 56-60.
95. Zhang Y.J., Weksler B.B., Wang L., Schwartz J., Santella R.M. Immunohistochemical detection of polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA damage in human blood vessels of smokers and non-smokers. *Atherosclerosis*, 1998, Vol. 140, no. 2, pp. 325-331.

Автор:

Глушков А.Н. – д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммуногенетики ФГБУН «Институт экологии человека», Федеральный исследовательский центр угля и углекислого газа Сибирского отделения Российской академии наук, г. Кемерово, Россия

Author:

Glushkov A.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Research Associate, Laboratory of Immunogenetics, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russian Federation

Поступила 10.11.2021

Отправлена на доработку 06.01.2022

Принята к печати 15.02.2022

Received 10.11.2021

Revision received 06.01.2022

Accepted 15.02.2022

УСИЛЕНИЕ ГОМЕОСТАТИЧЕСКОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ Т-ЛИМФОЦИТОВ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ЦИКЛОФОСФАНА У МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6

Гринько Е.К.^{1,2}, Марзанова С.Н.², Донецкова А.Д.^{1,3,4}

¹ ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии»» ФМБА России, Москва, Россия

² ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», Москва, Россия

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

⁴ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия

Резюме. Химиотерапевтические препараты, которые применяются в медицине для лечения онкологических заболеваний, способны вызвать повреждение иммунной системы и привести к формированию вторичного иммунодефицита. Восстановление Т-клеточного звена иммунитета, которое под действием химиотерапевтических средств поражается наиболее сильно, является важным объектом исследований как для понимания патогенеза повреждающего действия цитостатиков, так и для поиска адекватных способов коррекции возникающих нарушений. Целью исследования было изучить процесс восстановления Т-клеток и выяснить вклад гомеостатической пролиферации в восстановление субпопуляций Т-лимфоцитов. Эксперимент проводили на 33 самках мышей линии C57BL/6. Опытной группе (25 мышей) однократно вводился циклофосфан в дозе 125 мг/кг, контрольная группа препарат не получала. Материалом для исследования являлись спленоциты, выделенные на 5, 10, 20, 30 и 60 сутки после введения препарата. С помощью проточной цитометрии была проведена оценка восстановления Т-хелперов (фенотип CD3⁺CD4⁺) и цитотоксических Т лимфоцитов (ЦТЛ) (фенотип CD3⁺CD8⁺), а также их «возрастной» фенотип по содержанию субпопуляций наивных (Tnaive) и центральных Т-клеток памяти (Tcm). Вклад гомеостатической пролиферации в восстановление численности Т-клеток определяли по соотношению Tnaive/Tcm. Было выявлено статистически значимое увеличение численности общего числа спленоцитов, субпопуляций Т-хелперов, ЦТЛ, а также соотношения CD4⁺/CD8⁺Т-клеток в ранний период после введения ЦФ (5-е сутки). В дальнейшем отмечалось снижение спленоцитов и их субпопуляций. Субпопуляция ЦТЛ не восстанавливается даже через 2 месяца после введения препарата и является более уязвимой к действию циклофосфана, чем субпопуляция Т-хелперов. При оценке «возрастного» фенотипа Т-клеток было показано, что наивные Т-хелперы и наивные ЦТЛ наиболее подвержены действию ЦФ, эти субпопуляции также не восстанавливались через 60 суток после его введения. В то же время число клеток с фенотипом центральных Т-клеток памяти преобладало к концу эксперимента: выявлена конверсия фенотипа Т-лимфоцитов с преобладанием клеток с фенотипом центральных Т-клеток памяти. Таким образом, после введения ЦФ показано усиление гомеостатической пролиферации с конверсией фенотипа наивных Т-клеток в клетки с фенотипом центральных Т-клеток памяти, сопровождающееся дефицитом наивных Т-клеток. Подобные изменения приводят к сужению репертуара Т-клеточных рецепторов,

Адрес для переписки:

Гринько Екатерина Константиновна
ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии»» ФМБА России
115522, Россия, Москва, Каширское шоссе, 24.
Тел: 8 (499) 617-79-19.
Факс: 8 (499) 612-81-51.
E-mail: info@nrcci.ru

Address for correspondence:

Grinko Ekaterina K.
National Research Center – Institute of Immunology
115522, Russian Federation, Moscow,
Kashirskoye highway, 24.
Phone: 7 (499) 617-79-19.
Fax: 7 (499) 612-81-51.
E-mail: info@nrcci.ru

Образец цитирования:

Е.К. Гринько, С.Н. Марзанова, А.Д. Донецкова
«Усиление гомеостатической пролиферации
Т-лимфоцитов после введения циклофосфана у мышей
линии C57BL/6» // Российский иммунологический
журнал, 2022. Т. 25, № 1. С. 37-46.
doi: 10.46235/1028-7221-1098-ЕНР
© Гринько Е.К. и соавт., 2022

For citation:

E.K. Grinko, S.N. Marzanova, A.D. Donetskova
“Enhanced homeostatic proliferation of T lymphocytes after
cyclophosphamide injection in C57BL/6 mice”, *Russian
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal*, 2022, Vol. 25, no. 1, pp. 37-46.
doi: 10.46235/1028-7221-1098-EHP
DOI: 10.46235/1028-7221-1098-EHP

что вызывает преждевременное старение иммунной системы и повышает риск развития аутоиммунных заболеваний.

Ключевые слова: гомеостатическая пролиферация, конверсия фенотипа, лимфопения, проточная цитометрия, C57BL/6, циклофосфамид

ENHANCED HOMEOSTATIC PROLIFERATION OF T LYMPHOCYTES AFTER CYCLOPHOSPHAMIDE INJECTION IN C57BL/6 MICE

Grinko E.K.^{a, b}, Marzanova S.N.^b, Donetskova A.D.^{a, c, d}

^a National Research Center – Institute of Immunology, Moscow, Russian Federation

^b K. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow, Russian Federation

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

^d Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

Abstract. Chemotherapeutic agents are used in medicine to treat cancer. They can damage immune system and lead to the secondary immunodeficiency. T cells are most severely affected during chemotherapy. Restoration of the T lymphocytes is an important topic in research to understand pathogenesis of damaging effects caused by cytostatics and searching ways to correct the resulting disorders. The aim of our study was to follow the process of T cell recovery, and to understand the role of its homeostatic proliferation. 33 female C57BL/6 mice were included into the experiment. The experimental group (25 mice) received a single injection of cyclophosphamide (Cy) at a dose of 125 mg/kg; the control group did not receive the drug. Biomaterials for the study were splenocytes isolated on days 5, 10, 20, 30 and 60 after the drug administration. Flow cytometry was used to measure the recovery of T helpers (CD3⁺CD4⁺) and cytotoxic T lymphocytes (CTL, CD3⁺CD8⁺), as well as their “age-related” phenotype assayed for naive (T_{naive}) and central memory (T_{cm}) T cells. The level of homeostatic proliferation was determined by the T_{naive}/T_{cm} ratio. The total amount of splenocytes, T helpers, CTLs and the CD4⁺/CD8⁺ ratio showed a statistically significant increase at the early terms after Cy administration (day 5). Further, a decrease in splenocytes and their subpopulations was observed. We found that the CTL subpopulation didn't recover even 2 months after the drug administration and was more sensitive to the action of cyclophosphamide than the T helper subpopulation. We have also revealed that naive T helpers and naive CTLs are most susceptible to the Cy action; these subpopulations also failed to recover 60 days after the drug administration. At the same time, the amount of central memory T cells predominated by the end of the experiment, showing conversion of the T cell phenotype. Thus, we have shown an increase in homeostatic proliferation, along with conversion of naive T cell phenotype to the central memory T cells after Cy administration accompanied by deficiency of naive T cells. Such changes cause skewing of TCR repertoire. This shift may cause premature aging of immune system and increases the risk of autoimmune diseases.

Keywords: homeostatic proliferation, phenotype conversion, lymphopenia, flow cytometry, C57BL/6, cyclophosphamide

Введение

В течение жизни организм может подвергаться воздействию различных факторов, вызывающих лимфопению. Одним из механизмов восстановления численности лимфоцитов является гомеостатическая пролиферация (ГП). Гомеостатическая пролиферация лимфоцитов – это деление вышедших из тимуса Т-лимфоцитов в периферических органах иммунной системы [4]. В гомеостатической пролиферации участвуют как наивные Т-клетки, не контактировавшие с антигеном, так и Т-клетки памяти. Этот процесс происходит главным образом в Т-зависимых зонах – периартериальных муфтах селезенки и паракортексе лимфатических узлов и имеет некото-

рые особенности у наивных Т-клеток и Т-клеток памяти [2].

Для гомеостатической пролиферации в периферических органах иммунной системы наивным Т-клеткам необходим контакт с МНС в комплексе с аутологичным пептидом, так же, как и созревающим Т-лимфоцитам во время тимопоэза в процессе отрицательной и положительной селекции (контакт с комплексами МНС-эндогенный пептид). Наивные Т-клетки могут конкурировать за факторы выживания с Т-клетками памяти во время этого процесса [12].

Для гомеостатической пролиферации важен еще один процесс, который напоминает положительную селекцию в тимусе. Он требует взаимодействия Т-клеток с МНС II (для CD4⁺Т-клеток)

и МНС I (для CD8⁺Т-клеток), однако не нуждается в костимуляции через CD28 [3].

Кроме клеточных взаимодействий для ГП необходимы интерлейкины-7 (IL-7) и интерлейкин-15 (IL-15). Эти же цитокины являются ингибиторами супрессорной активности Treg, что, предположительно, может создавать предпосылки к возникновению аутоиммунной патологии. Помимо этого, усиление гомеостатической пролиферации приводит к повышению олигоклональности Т-клеточных рецепторов [8, 21].

IL-7 необходим для экспрессии в пролиферирующих клетках антиапоптотических факторов. Концентрация этого цитокина определяет интенсивность ГП: концентрация IL-7 для ГП должна быть выше, чем для поддержания жизни лимфоцита в обычных условиях. IL-7 вырабатывают клетки стромы и дендритные клетки периферических лимфоидных органов иммунной системы. IL-15 необходим для гомеостатической пролиферации CD8⁺Т-клеток [3].

Наивные Т-клетки в результате гомеостатической пролиферации приобретают фенотип клеток памяти, экспрессия ими CD44 усиливается. Приобретение наивными клетками фенотипа клеток памяти без вовлечения в иммунный ответ получило название «конверсия фенотипа». Следует отметить важную особенность этих клеток – Т-лимфоциты, подвергшиеся ГП, пролиферируют в ответ на лимфопеническое состояние, не взаимодействуя с антигеном [18].

Таким образом, большая часть наивных клеток, вовлеченных в гомеостатическую пролиферацию, образует в итоге популяцию покоящихся клеток, фенотипически похожих на центральные Т-клетки памяти, возникшие в ответ на чужеродные антигены. Они, подобно центральным клеткам памяти, экспрессируют CCR7 и CD62L, необходимые для их рециркуляции, а также CD127 (IL-7R α) и CD122 (IL-2R β /IL-15) [4, 7].

Приобретенный фенотип клеток памяти сохраняется стабильно при продолжающейся Т-клеточной лимфопении. При этом Т-лимфоциты, которые приобретают фенотип и свойства клеток памяти, продолжают участвовать в ГП и попадают под действие факторов, определяющих гомеостаз Т-клеток памяти с его особенностями [5].

Для гомеостатической пролиферации Т-клеток памяти не требуется контакта клеток с молекулами МНС, но необходимы гуморальные факторы. Для пролиферации CD8⁺Т-клеток памяти, которые высоко экспрессируют CD122 (субъединицы IL-2R β /IL-15), нужен IL-15 [14, 17]. Также имеются данные, что CD8⁺Т-клетки памяти могут пролиферировать и под действием таких цитокинов, как IL-7 и IL-2 [20]. Гомеостатическую пролиферацию CD4⁺Т-клеток памяти регулирует IL-7 [19]. Синергичную роль оказы-

вает экспрессия OX40 в эффекторных CD4⁺Т-клетках памяти при ГП [23].

Конверсия фенотипа наивных клеток и сужение репертуара TCR при ГП влияет на способность иммунной системы отвечать на антигены. Это может создавать предпосылки к накоплению аутореактивных клонов и преждевременному старению иммунной системы, что следует учитывать при индуцированных лимфопениях различного генеза. При терапии опухолей по схемам лечения, которые включают циклофосфан, в ответ на лимфопению усиливается гомеостатическая пролиферация. Циклофосфан или циклофосфамид (ЦФ) – это производное бис- β -хлорэтиламина (азотистый аналог иприта). Циклофосфамид метаболизируется системой цитохрома P450 в печени [9].

В настоящей работе мы исследовали особенности ГП после введения циклофосфана – одного из распространенных химиотерапевтических препаратов алкилирующего действия, который активно применяется для лечения опухолей.

Материалы и методы

Мыши

Эксперимент проводили на самках мышей линии C57BL/6 в возрасте 6–8 недель и массой 18–20 г. Мыши были получены из питомника «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Работа с мышами проводилась в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (ETS N123), приказом МЗ РФ от 23 августа 2010 года №708н «Об утверждении правил лабораторной практики» и «Положением об этическом отношении к лабораторным животным ГНЦ «Института иммунологии» ФМБА России».

В исследовании было задействовано 33 мыши, которых разделили на 2 группы: 25 животных в опытной и 8 мышей в контрольной группе. Опытная группа получала ЦФ. На 5-е, 10-е, 20-е, 30-е и 60-е сутки (по 5 мышей в каждой экспериментальной подгруппе) анализировали Т-клетки, выделенные из селезенок мышей.

Химиотерапия

Опытной группе мышей однократно внутрибрюшинно вводился циклофосфамид (Endoxan, Бакстер Онкология ГмбХ, Германия) в дозе 125 мг/кг, что составляет половину от максимальной переносимой дозы 250 мг/кг. Сухой лиофилизированный ЦФ разводили в 10 мл стерильного физиологического раствора [13].

Выделение спленоцитов

Спленоциты выделяли из мышечных селезенок. Для получения клеток селезенки механически гомогенизировали с помощью гомогенизатора Поттера, далее переносили их в PBS

(«ПанЭко», Россия) с добавлением 1% BSA (Sigma, США) и 0,1% NaN₃ (Sigma, США).

Для удаления эритроцитов к суспензии добавляли 1 мл лизирующего буфера (Becton Dickinson, США) с последующей отмывкой в 5 мл PBS.

Количество клеток в органе определяли с помощью камеры Горяева. Жизнеспособность клеток определяли методом эксклюзии 0,1%-ного раствора трипанового синего, она была выше 95% во всех исследованиях.

Проточная цитометрия

Проточная цитометрия проводилась на цитометре BD FACSCanto™ II (Becton Dickinson, США), как описано в предыдущем исследовании [1].

Определяли общее содержание клеток, процент и абсолютное содержание Т-лимфоцитов (CD3⁺) и их субпопуляций: Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺), цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺), возрастной фенотип Т-клеток (наивные Т-лимфоциты (Tnaive), центральные Т-клетки памяти (Tcm)). У мышей «возрастной» фенотип оценивали по коэкспрессии поверхностных маркеров — CD44 и CD62L. Наивные Т-клетки имеют фенотип CD62L⁺44^{lo/-}, а центральные Т-клетки памяти — CD62L⁺44^{hi}.

Использовали следующую комбинацию моноклональных антител фирмы eBioscience (США) (препараты для изотипических контролей также этой фирмы):

Анти-CD3-FITC + анти-CD4-PerCP-Cy5.5 + анти-CD8-APC-eFluor780 + анти-CD44-PE-Cy7 + анти-CD62L-PE.

Статистическая обработка результатов

Обработка результатов проводилась с помощью компьютерной программы Statistica 12.5 (Stat Soft Inc., США). Учитывая негауссово распределение (по критерию Шапиро-Уилка), использовали методы непараметрического анализа. Исследованные количественные данные представлены в виде Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}), где Me — медиана, Q_{0,25} — нижний квартиль, Q_{0,75} — верхний квартиль. Для попарного сравнения экспериментальных групп с контрольными применяли непараметрический U-критерий Манна-Уитни. В случаях $p < 0,05$ различие считали статистически значимым.

При графическом представлении данных проводили нормализацию относительно контроля, значение которого принимали за единицу.

Результаты

Нами проведена оценка восстановления Т-хелперов (фенотип CD3⁺CD4⁺) и цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ) (фенотип CD3⁺CD8⁺), а также их субпопуляций после воздействия циклофосфана. Для исследования влияния гомеостатической пролиферации на восстановление

лимфоцитов был проанализирован «возрастной» фенотип Т-клеток.

Анализ восстановления численности спленоцитов, Т-хелперов и ЦТЛ

Результаты изучения численности клеток селезенки мышей после однократного введения циклофосфана представлены в таблице 1. Число всех спленоцитов на 5-е сутки после введения ЦФ увеличилось на 36% ($p < 0,05$ в сравнении с контролем).

Анализ численности субпопуляций Т-хелперов и ЦТЛ показал, что количество клеток обеих субпопуляций увеличилось почти в 2 раза на 5-е сутки, однако в дальнейшем наблюдалось их снижение (до 20-х суток включительно) (табл. 1, рис. 1).

Количество ЦТЛ уменьшилось к 10-м суткам на 46%, а к 20-м суткам — до 26% от контроля ($p < 0,05$ в сравнении с контролем). Число Т-хелперов уменьшилось до 48% на 20-е сутки, однако различия с контрольной группой не были статистически значимы, что, по-видимому, связано с небольшим числом мышей в группах.

Начиная с 30-х суток (табл. 1, рис. 1) численность Т-хелперов и ЦТЛ начала увеличиваться. Для Т-хелперов процесс восстановления занял 2 месяца: к 60-м суткам число Т-хелперов мышей опытной группы достигло уровня Т-хелперов мышей в контроле.

Процент ЦТЛ через 60 суток был лишь 76% от уровня контроля ($p < 0,05$ в сравнении с контролем). Следовательно, восстановления популяции Т-киллеров не происходит даже через 2 месяца после воздействия цитостатика.

Оценка вклада гомеостатической пролиферации в восстановление субпопуляций Т-лимфоцитов

Помимо изучения восстановления числа Т-хелперов и ЦТЛ мы провели исследование влияния гомеостатической пролиферации на восстановление лимфоцитов. Поскольку гомеостатическая пролиферация сопровождается конверсией фенотипа наивных Т-клеток, мы оценили соотношение наивных Т-клеток и центральных Т-клеток памяти. Алгоритм цитометрического определения субпопуляций наивных и центральных Т-клеток памяти на примере ЦТЛ селезенки интактной мыши представлен на рисунке 2.

При анализе восстановления наивных Т-клеток (Tnaive) и Т-клеток памяти (Tcm) было выявлено статистически значимое увеличение численности на 5-е сутки во всех субпопуляциях, кроме CD8⁺Tnaive (табл. 2, рис. 3, 4) ($p < 0,05$ в сравнении с контролем). Однако на 10-е сутки численность клеток во всех анализируемых субпопуляциях снизилась в 2-3 раза, кроме CD4⁺Tcm ($p < 0,05$ в сравнении с контролем).

Численность наивных Т-хелперов была минимальной на 20-е сутки, а наивных ЦТЛ — на 30-е сутки после введения ЦФ. Содержание клеток в этих субпопуляциях не достигало уровня контро-

ТАБЛИЦА 1, ЧИСЛЕННОСТЬ СПЛЕНОЦИТОВ, Т-ХЕЛПЕРОВ И ЦТЛ МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6 ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ВВЕДЕНИЯ ЦИКЛОФОСФАНА, млн

TABLE 1, NUMBER OF SPLENOCYTES, T-HELPERS AND CTLs OF C57BL/6 MICE AFTER A SINGLE INJECTION OF CYCLOPHOSPHAMIDE, mln

Сутки Days	Спленоциты Splenocytes	CD3 ⁺ CD4 ⁺ Т-хелперы T helper	CD3 ⁺ CD8 ⁺ ЦТЛ CTL
0	127,88 (118,50-139,50)	26,17 (23,93-29,41)	24,9 (24,38-26,26)
5	174,00 (147,00-247,00)*	61,81 (44,56-79,86)*	45,67 (39,34-65,32)*
10	100,50 (91,00-100,50)	17,67 (14,39-20,19)	13,39 (12,55-13,58)*
20	60,50 (56,50-64,50)*	12,61 (12,17-13,29)*	6,55 (6,16-7,28)*
30	70,00* (62,50-71,25)	16,34 (12,73-17,66)*	6,14 (6,13-6,60)*
60	140,00 (110,00-148,50)	27,37 (21,52-27,39)	18,97 (13,58-20,45)*

Примечание. * – $p < 0,05$ в сравнении с контролем.

Note. *, $p < 0.05$ in comparison with control.

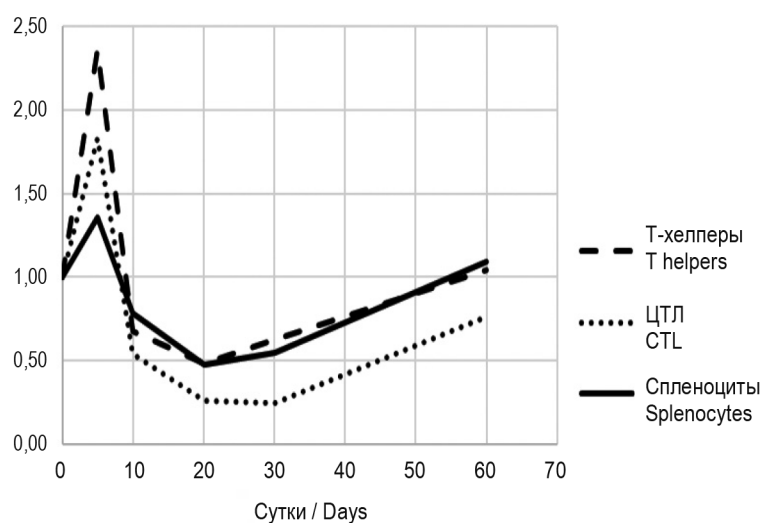


Рисунок 1. Динамика изменения численности популяций спленоцитов, Т-хелперов и ЦТЛ мышей линии C57BL/6 после однократного введения циклофосфана

Примечание. По оси абсцисс отмечены сутки после введения ЦФ, по оси ординат – нормализованные данные по количеству клеток, где за 1 принято значение контроля. Общее число спленоцитов, Т-хелперов и ЦТЛ увеличивается на 5-е сутки после введения ЦФ и снижается до 47%, 46% и 23% от контроля, соответственно, на 20-е сутки.

Figure 1. Dynamics of changes in the number of splenocyte, T helper and CTL populations in C57BL/6 mice after a single injection of cyclophosphamide

Note. The abscissa shows the day after CP injection, the ordinate shows the normalized data of the cell number the control value taken as 1. The total number of splenocytes, T helpers and CTLs increases on the 5th day after CP injection and decreases to 47%, 46% and 23% of the control amount on the 20th day, respectively.

ля к концу эксперимента: численность наивных Т-хелперов составила 69% от уровня контроля, а содержание наивных ЦТЛ составило 76% от контроля ($p < 0,05$). Следовательно, наивные Т-клетки не восстановились даже через 60 суток

после введения ЦФ ($p < 0,05$ в сравнении с контролем).

Число Т-хелперов и ЦТЛ с фенотипом центральных Т-клеток памяти уменьшилось к 10-м суткам после введения ЦФ и было мини-

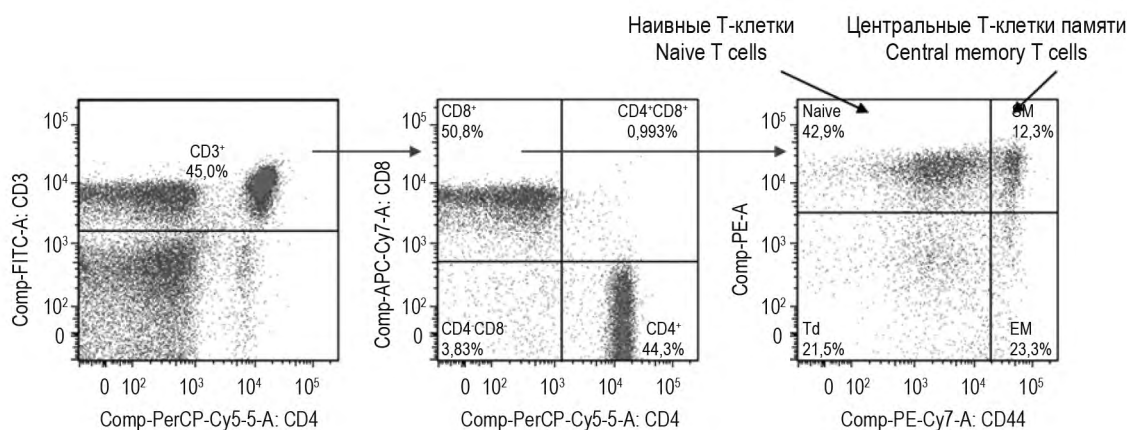


Рисунок 2. Алгоритм цитометрического определения субпопуляций наивных и центральных Т-клеток памяти на примере ЦТЛ селезенки интактной мыши линии C57BL/6

Примечание. Стрелками обозначены подмножества Tnaive и Tcm.

Figure 2. Algorithm for cytometric determination of naive and central memory T cell subpopulations using CTLs of the spleen of an intact C57BL/6 mouse as an example

Note. The subsets of Tnaive and Tcm are marked by a black arrow.

мальным на 20-е сутки: 54% от содержания в контроле для субпопуляции CD4⁺Tcm и 27% от контроля — для CD8⁺Tcm ($p < 0,05$). Следовательно, количество CD8⁺T-клеток Tcm уменьшилось в 3,6 раза, а CD4⁺T-клеток Tcm — в 2 раза.

К 30-му дню эксперимента количество клеток постепенно увеличивалось (табл. 2, рис. 3, 4).

К концу эксперимента (60-е сутки) количество клеток с фенотипом центральных Т-клеток памяти постепенно увеличивалось и стало статистически значимо превышать их содержание в контроле: содержание Tcm в субпопуляциях Т-хелперов

и ЦТЛ увеличилось в 2 раза для CD4⁺Tcm и в 1,2 раза для CD8⁺Tcm на фоне снижения числа наивных Т-клеток (табл. 2, рис. 3, 4).

На рисунке 5 представлено соотношение наивных и центральных Т-клеток памяти — Tnaive/Tcm. По графику видно преобладание Tcm. Соотношение Tnaive/Tcm у Т-хелперов снизилось с 23,6 (соотношение Tnaive/Tcm контрольных мышей) до 10,4 к концу эксперимента. У ЦТЛ соотношение между наивными и центральными Т-клетками памяти после введения ЦФ так-

ТАБЛИЦА 2. ЧИСЛЕННОСТЬ «ВОЗРАСТНЫХ» СУБПОПУЛЯЦИЙ Т-ХЕЛПЕРОВ (CD4⁺) И ЦТЛ (CD8⁺) МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6 ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ВВЕДЕНИЯ ЦИКЛОФОСФАНА, млн

TABLE 2. NUMBER OF "AGE" SUBPOPULATIONS OF T HELPER (CD4⁺) AND CTL (CD8⁺) C57BL/6 MICE AFTER A SINGLE INJECTION OF CYCLOPHOSPHAMIDE, mln

Сутки Days	CD4 ⁺ Tnaive	CD4 ⁺ Tcm	CD8 ⁺ Tnaive	CD8 ⁺ Tcm
0	20,33 (16,27-21,64)	0,79 (0,68-0,96)	15,45 (13,3-16,1)	3,44 (3,24-4,51)
5	25,27 (14,93-26,20)*	5,35 (3,63-7,30)*	19,84 (16,76-24,10)	11,95 (9,56-13,72)*
10	8,77* (7,18-9,81)	0,79 (0,65-0,94)	5,41* (4,31-5,59)	1,36* (1,17-1,36)
20	5,81* (5,18-5,97)	0,43* (0,38-0,46)	3,94* (3,85-4,12)	0,94* (0,92-1,21)
30	8,87* (7,70-8,93)	0,40* (0,40-0,59)	3,40* (3,35-3,95)	1,07* (0,64-1,08)
60	13,94* (9,10-15,38)	1,51* (0,84-1,59)	11,82* (7,55-12,01)	4,29 (3,18-5,07)*

Примечание. * — $p < 0,05$ в сравнении с контролем (0-е сутки).

Note. *, $p < 0.05$ in comparison with control (day 0).

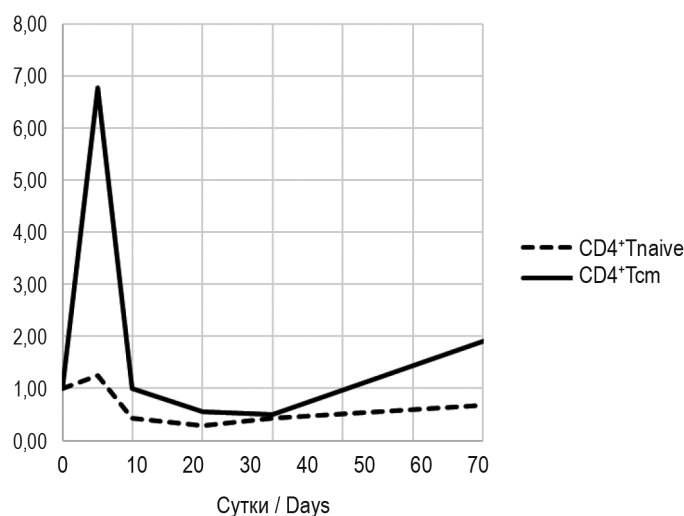


Рисунок 3. Динамика изменения численности «возрастных» субпопуляций Т-хелперов мышей линии C57BL/6 после однократного введения циклофосфана

Примечание. По оси абсцисс отмечены сутки после введения ЦФ, по оси ординат – нормализованные данные по количеству клеток, где за 1 принято значение контроля. На 5-е сутки число Tcm значительно увеличивается, число Tnaive статистически значимо не меняется. Содержание Tcm уменьшается до 30-х суток и увеличивается к 60-м суткам, число Tnaive ниже содержания в контроле на протяжении 10-60 суток.

Figure 3. Dynamics of changes in the number of T helper “age” subpopulations of in C57BL/6 mice after a single injection of cyclophosphamide

Note. The abscissa shows the day after CP injection, the ordinate shows the normalized data of the cell number the control value taken as 1. The number of Tcm increases significantly, the number of Tnaive does not change on the 5th day. The number Tcm significantly decreases to 30 days, the Tnaive number is significantly lower compared to the control, and the Tcm number significantly increases by 60 days.

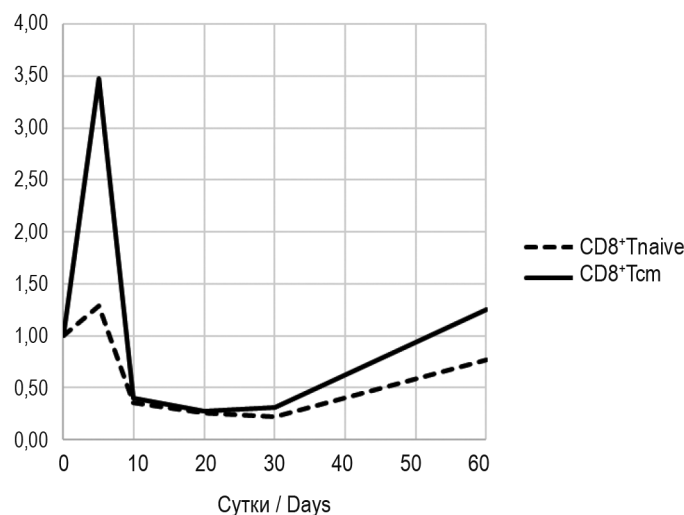


Рисунок 4. Динамика изменения численности «возрастных» субпопуляций ЦТЛ мышей линии C57BL/6 после однократного введения циклофосфана

Примечание. По оси абсцисс отмечены сутки после введения ЦФ, по оси ординат – нормализованные данные по количеству клеток, где за 1 принято значение контроля. На 5-е сутки количество Tnaive и Tcm значительно увеличивается, к 30-м суткам – уменьшается. К 60-м суткам число Tnaive остается ниже содержания в контроле, а Tcm увеличивается, превышая уровень контроля.

Figure 4. Dynamics of changes in the number of CTL “age” subpopulations in C57BL/6 mice after a single injection of cyclophosphamide.

Note. The abscissa shows the day after CP injection, the ordinate shows the normalized data of the cell number with the control value taken as 1. The amount of Tnaive and Tcm significantly increases on the 5th day, it significantly decreases by the 30th day. The number of Tnaive keeps significantly lower compared to the control, and for Tcm it significantly increases by the 60th day.

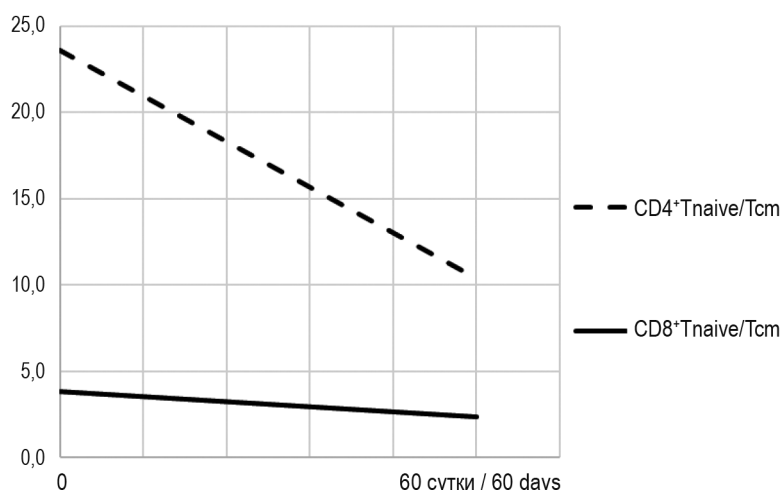


Рисунок 5. Изменение соотношения наивных и центральных Т-клеток памяти в субпопуляциях Т-хелперов (CD4⁺) и ЦТЛ (CD8⁺) в селезенке мышей линии C57BL/6 на 60-е сутки после однократного введения циклофосфана

Примечание. По оси абсцисс отмечены сутки после введения ЦФ, по оси ординат – соотношение Tnaive/Tcm. К 60-м суткам наблюдается снижение соотношения Tnaive/Tcm для обеих субпопуляций Т-клеток: в 2 раза для Т-хелперов и в 1,6 раза для ЦТЛ.

Figure 5. Changes in the ratio of naive and central memory T cells for T helpers (CD4⁺) and CTL (CD8⁺) in the spleen of C57BL/6 mice on day 60 after a single injection of cyclophosphamide

Note. The abscissa shows the days after CP injection, the ordinate shows the Tnaive/Tcm ratio. There is a decrease in the Tnaive/Tcm ratio for both subpopulations of T cells: a 2-fold decrease for T helpers and 1.6-fold for CTLs is registered by the 60th day.

же уменьшилось, но более плавно – с 3,9 до 2,4 (рис. 5).

Обсуждение

В данной работе мы наблюдали существенное увеличение численности общего числа спленоцитов, субпопуляций Т-хелперов и ЦТЛ в ранний период после введения ЦФ (5-е сутки). Этот процесс можно объяснить компенсаторным выбросом наивных клеток из тимуса в ответ на лимфопеническое состояние, вызванное действием ЦФ. В проведенном ранее исследовании было показано снижение соотношения CD4⁺/CD8⁺Т-клеток после введения ЦФ, в нашем исследовании мы наблюдали обратную картину: на 5-й день после введения ЦФ соотношение CD4⁺/CD8⁺Т-клеток увеличивалось с 1,05 (26,17/24,9) до 1,35 (61,81/45,67) [11].

В дальнейшем (до 20-х суток) отмечалось снижение числа спленоцитов, субпопуляций Т-хелперов и ЦТЛ: при этом количество ЦТЛ уменьшилось к 10-м суткам, а Т-хелперов – к 20-м суткам почти наполовину. В исследовании Motoyoshi Y. и соавт. было показано, что даже небольшая доза ЦФ (20 мг/кг) вызывает уменьшение числа спленоцитов на 50%, выбранная нами доза ЦФ (125 мг/кг) оказывает похожий эффект [16].

Начиная с 30-х суток после введения препарата в селезенке начинается процесс восстановления численности Т-лимфоцитов. При этом субпопуляция Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺Т-клеток)

восстанавливает свою численность до количества клеток в контрольной группе к 60-м суткам, а численность клеток субпопуляции ЦТЛ (CD3⁺CD8⁺Т-клеток) к этому времени остается ниже контрольных значений. Полученные данные показывают, что популяция ЦТЛ (CD3⁺CD8⁺Т-клетки) является более уязвимой к действию ЦФ.

При анализе восстановления «возрастных» субпопуляций Т-лимфоцитов (наивных Т-клеток и Т-клеток памяти), нами также было выявлено статистически значимое увеличение их численности в ранний период (на 5-е сутки). Исключение составила субпопуляция наивных Т-киллеров, увеличение которой не было статистически значимым. В дальнейшем (с 10-х суток) численность клеток во всех анализируемых субпопуляциях снизилась (кроме клеток субпопуляции CD4⁺Tcm). При этом уровень наивных CD4⁺Т-клеток был минимальным на 20-е сутки, а наивных CD8⁺Т-клеток – на 30-е сутки после введения ЦФ. Содержание клеток в этих субпопуляциях не достигало уровня контроля к 60-м суткам после действия ЦФ. Следовательно, наивные Т-клетки не восстановились даже через 2 месяца после введения цитостатика. Таким образом, они наиболее подвержены к токсическому действию циклофосфана по сравнению со зрелыми Т-клетками.

Число Т-хелперов и ЦТЛ с фенотипом центральных Т-клеток памяти также уменьшилось к 10-м суткам после введения ЦФ и было мини-

мальным на 20-е сутки, в дальнейшем их количество постепенно увеличивалось. В исследовании Hong S.H. и соавт. было выявлено увеличение числа CD44⁺Т-клеток (Т-клетки памяти) на 10-й день после введения ЦФ, нами же продемонстрировано, что численность субпопуляции CD8⁺Tcm на 10-е сутки уменьшается, а субпопуляции CD4⁺Tcm остается неизменной [10]. Различия результатов могут быть связаны с отсутствием разделения на субпопуляции в приведенной выше работе.

В исследовании, проведенном Włodarczyk M. и соавт. было показано, что ЦФ вызывает снижение только CD4⁺Tcm, но не CD8⁺Tcm, но не CD8⁺Т-клеток Tcm [22]. В нашей работе мы выявили уменьшение числа клеток с фенотипом центральных Т-клеток памяти обеих популяций, причем количество CD8⁺-клеток Tcm уменьшилось в 3,6 раза, а CD4⁺Т-клеток Tcm в 2 раза.

Через 2 месяца после действия ЦФ мы выявили постепенное увеличение численности клеток с фенотипом центральных Т-клеток памяти. Ряд исследований также подтверждает преобладание Tcm на фоне усиления ГП при восстановлении Т-клеток в случаях лимфопенических состояний [6, 15].

Преобладание клеток субпопуляции центральных Т-клеток памяти над наивными клетками говорит о конверсии фенотипа Т-лимфоцитов и значительном вкладе гомеостатической пролиферации в восстановление лимфоцитов. Можно предположить, что конверсия фенотипа происходит не очень активно в популяции ЦТЛ, либо наивные CD8⁺Т-клетки приобретают фенотип клеток памяти на ограниченный промежуток времени, а ГП CD4⁺Т-клеток идет более интенсивно по сравнению с CD8⁺Т-клетками.

Заключение

Таким образом, исследование восстановления Т-лимфоцитов селезенки после воздействия ци-

клофосфана показало существенный вклад гомеостатической пролиферации в восстановление численности Т-хелперов (CD4⁺) и ЦТЛ (CD8⁺) в селезенке мышей линии C57BL/6 после лимфопении, вызванной введением циклофосфана в терапевтической дозе 125 мг/кг. Было выявлено, что ЦТЛ менее устойчивы к действию ЦФ в терапевтической дозе по сравнению с Т-хелперами, причем их восстановления не происходило даже через 2 месяца после воздействия цитостатика. При оценке «возрастного» фенотипа Т-клеток было показано, что наивные Т-хелперы и наивные ЦТЛ наиболее подвержены действию ЦФ, они также не восстанавливались через 60 суток после его введения. В то же время число клеток с фенотипом центральных Т-клеток памяти преобладало к концу эксперимента: выявлена конверсия фенотипа Т-лимфоцитов с преобладанием клеток с фенотипом центральных Т-клеток памяти.

При назначении циклофосфана в терапевтических целях необходимо учитывать, что сохраняющаяся Т-клеточная лимфопения влечет за собой усиление гомеостатической пролиферации. Накопление клеток с фенотипом центральных клеток памяти, снижение содержания наивных Т-клеток с сужением репертуара Т-клеточных рецепторов приводит к преждевременному старению иммунной системы и возможному повышению риска развития аутоиммунных заболеваний.

Благодарности

Авторы выражают признательность ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, при финансовой поддержке которого была выполнена экспериментальная часть работы. Публикация подготовлена при поддержке Программы стратегического академического лидерства РУДН.

Список литературы / References

1. Гринько Е.К., Вериго К.С., Мухина Е.А., Шарова Н.И., Комогорова В.В., Литвина М.М., Марзанова С.Н., Донецкая А.Д., Митин А.Н. Динамика восстановления субпопуляций Т-лимфоцитов после действия различных повреждающих агентов // Иммунология, 2021. Т. 42, № 4. С. 346-355. [Grinko E.K., Verigo K.S., Mukhina E.A., Sharova N.I., Komogorova V.V., Litvina M.M., Marzanova S.N., Donetskova A.D., Mitin A.N. Dynamics of T-lymphocyte subpopulations' recovery after influence of various damaging agents. *Immunologiya = Immunologiya*, 2021, Vol. 42, no. 4, pp. 346-355. (In Russ.)]
2. Козлов В.А. Гомеостатическая пролиферация как основа неизбежного формирования тотального иммунодефицита // Медицинская иммунология, 2014. Т. 16, № 5. С. 403-408. Kozlov V.A. Homeostatic proliferation as a basis for the inevitable formation of total immunodeficiency. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2014, Vol. 16, no. 5, pp. 403-408. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2014-5-403-408.
3. Шевырев Д.В., Терещенко В.П., Козлов В.А. Гомеостатическая пролиферация: от нормы к патологии // Российский иммунологический журнал, 2018. Т. 21, № 2. С. 91-105. [Shevyrev D.V., Tereshchenko V.P., Kozlov V.A. Homeostatic proliferation: from health to pathology. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2018, Vol. 21, no. 2, pp. 91-105. (In Russ.)]
4. Boyman O., Letourneau S., Kreig C., Sprent J. Homeostatic proliferation and survival of naive and memory T cells. *Eur. J. Immunol.*, 2009, Vol. 39, no. 8, pp. 2088-2094.
5. Farber D.L., Yudanin N.A., Restifo N.P. Human memory T cells: generation, compartmentalization and homeostasis. *Nat. Rev. Immunol.*, 2014, Vol. 14, no. 1, pp. 24-35.

6. Goldrath A.W., Bogatzki L.Y., Bevan M.J. Naive T cells transiently acquire a memory-like phenotype during homeostasis driven proliferation. *J. Exp. Med.*, 2000, Vol. 192, no. 4, pp. 557-564.
7. Gudmundsdottir H., Turka L.A. A closer look at homeostatic proliferation of CD4⁺ T cells: costimulatory requirements and role in memory formation. *J. Immunol.*, 2001, Vol. 167, no. 7, pp. 3699-3707.
8. Heninger A.K., Theil A., Petzold C., Huebel N., Kretschmer K., Bonifacio E., Monti P. IL-7 abrogates suppressive activity of human CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ regulatory T cells and allows expansion of alloreactive and autoreactive T cells. *J. Immunol.*, 2012, Vol. 189, no. 12, pp. 5649-5658.
9. Heylmann D., Bauer M., Becker H., van Gool S., Bacher N., Steinbrink K., Kaina B. Human CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells are sensitive to low dose cyclophosphamide: implications for the immune response. *PLoS One*, 2013, Vol. 8, no. 12, e83384. doi: 10.1371/journal.pone.0083384.
10. Hong S.H., Yoon I.H., Kim Y.H., Yang S.H., Park M.J., Nam H.Y., Kim B., Kim Y., Park C.S., Park C.G. High-dose cyclophosphamide-mediated anti-tumor effects by the superior expansion of CD44(high) cells after their selective depletion. *Immunobiology*, 2010, Vol. 215, no. 3, pp. 182-193.
11. Huyen X.H., Lin Y.P., Gao T., Chen R.Y., Fan Y.M. Immunosuppressive effect of cyclophosphamide on white blood cells and lymphocyte subpopulations from peripheral blood of Balb/c mice. *Int. Immunopharmacol.*, 2011, Vol. 11, no. 9, pp. 1293-1297.
12. Kieper W.C., Burghardt J.T., Surt C.D. A role for TCR affinity in regulating naive T cell homeostasis. *J. Immunol.*, 2004, Vol. 172, no. 1, pp. 40-44.
13. Kuwatani M., Ikarashi Y., Mineishi S., Asaka M., Wakasugi H. An irradiation-free nonmyeloablative bone marrow transplantation model – importance of the balance between donor T-cell number and the intensity of conditioning. *Transplantation*, 2005, Vol. 80, no. 9, pp. 1145-1152.
14. Lin J.X., Leonard W.J. The common cytokine receptor γ chain family of cytokines. *Cold Spring Harb Perspect. Biol.*, 2018, Vol. 10, no. 9, a028449. doi: 10.1101/cshperspect.a028449.
15. Mackall C.L., Hakim F.T., Gress R.E. Restoration of T-cell homeostasis after T-cell depletion. *Semin. Immunol.*, 1997, Vol. 9, no. 6, pp. 339-346.
16. Motoyoshi Y., Kaminoda K., Saitoh O., Hamasaki K., Nakao K., Ishii N., Nagayama Y., Eguchi K. Different mechanisms for anti-tumor effects of low- and high-dose cyclophosphamide. *Oncol. Rep.*, 2006, Vol. 16, no. 1, pp. 141-146.
17. Nolz J.C., Richer M.J. Control of memory CD8⁺ T cell longevity and effector functions by IL-15. *Mol. Immunol.*, 2020, Vol. 117, pp. 180-188.
18. Prlic M., Blazar B.R., Khoruts A., Zell T., Jameson S.C. Homeostatic expansion occurs independently of costimulatory signals. *J. Immunol.*, 2001, Vol. 167, no. 10, pp. 5664-5668.
19. Seddon B., Tomlinson P., Zamoyska R. Interleukin 7 and T cell receptor signals regulate homeostasis of CD4⁺ memory cells. *Nat. Immunol.*, 2003, Vol. 4, no. 7, pp. 680-686.
20. Tan J.T., Ernst B., Kieper W.C., LeRoy E., Sprent J., Surh C.D. Interleukin (IL)-15 and IL-7 jointly regulate homeostatic proliferation of memory phenotype CD8⁺ cells but are not required for memory phenotype CD4⁺ cells. *J. Exp. Med.*, 2002, Vol. 195, no. 12, pp. 1523-1532.
21. van Belle T.L., Dooms H., Boonefaes T., Wei X.Q., Leclercq G., Grooten J. IL-15 augments TCR-induced CD4⁺ T cell expansion *in vitro* by in-habiting the suppressive function of CD25^{high} CD4⁺ T cells. *PLoS One*, 2012, Vol. 7, no. 9, e45299. doi: 10.1371/journal.pone.0045299
22. Włodarczyk M., Ograczyk E., Kowalewicz-Kulbat M., Druszczyńska M., Rudnicka W., Fol M. Cyclophosphamide treatment on central and effector memory T Cells in Mice. *Int. J. Toxicol.*, 2018, Vol. 37, no. 5, pp. 373-382.
23. Yamaki S., Ine S., Kawabe T., Okuyama Y., Suzuki N., Soroosh P., Mousavi S.F., Nagashima H., Sun S.L., So T. OX40 and IL-7 play synergistic roles in the homeostatic proliferation of effector memory CD4⁺ T cells. *Eur. J. Immunol.*, 2014, Vol. 44, no. 10, pp. 3015-3025.

Авторы:

Гринько Е.К. – младший научный сотрудник ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии»» ФМБА России; студентка ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», Москва, Россия

Марзанова С.Н. – к.б.н., доцент ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», Москва, Россия

Донецкова А.Д. – д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии»» ФМБА России; профессор ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ; профессор ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия

Authors:

Grinko E.K., Junior Research Associate, National Research Center – Institute of Immunology; Student, K. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow, Russian Federation

Marzanova S.N., PhD (Biology), Associate Professor, K. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow, Russian Federation

Donetskova A.D., PhD, MD (Medicine), Professor, Leading Research Associate, National Research Center – Institute of Immunology; Professor, N. Pirogov Russian National Research Medical University (Pirogov Medical University); Professor, Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russian Federation

Поступила 09.02.2022
Принята к печати 13.02.2022

Received 09.02.2022
Accepted 13.02.2022

УРОВЕНЬ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В СУПЕРНАТАНТАХ КУЛЬТУР КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ДЕТЕЙ С АУТОИММУННЫМИ И ИНФЕКЦИОННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Криволапова И.М.^{1,2}, Пашнина И.А.¹

¹ ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», г. Екатеринбург, Россия

² ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук,
г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Цитокины являются сигнальными молекулами, участвующими в регуляции пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток, реализации их эффекторных функций. Для развития воспалительного процесса любой этиологии важно соотношение про- и противовоспалительных цитокинов. В число наиболее значимых противовоспалительных цитокинов входят IL-1ra, IL-4, IL-10. Их функцией является ограничение и подавление иммунного ответа при воспалительных процессах любой этиологии. В связи с этим целью настоящей работы явилась оценка синтеза противовоспалительных цитокинов IL-1ra, IL-4 и IL-10 клетками периферической крови детей с аутоиммунными и инфекционными заболеваниями.

Обследованы дети в возрасте от 2 до 17 лет: с ювенильным идиопатическим артритом (n = 101); с неуточненной реактивной артропатией (n = 24); с системной красной волчанкой (n = 14); с хроническим вирусным гепатитом С (n = 24); условно здоровые дети (контрольная группа, n = 33). Образцы гепаринизированной крови разводили глутаминсодержащей средой RPMI-1640, готовили контрольный образец без стимулятора и образец, стимулированный фитогемагглютинином в конечной концентрации 20 мкг/л. Образцы разведенной крови инкубировали в течение 24 часов (37°C, 5% CO₂). Супернатанты однократно замораживали. Определение концентрации IL-1ra, IL-4 и IL-10 проводили методом иммуноферментного анализа с использованием диагностических наборов фирмы «Вектор-Бест» (Россия).

Выявлено, что в группах больных системной красной волчанкой, ювенильным идиопатическим артритом и гепатитом С спонтанная продукция противовоспалительных цитокинов IL-1ra, IL-4 и IL-10 либо не отличалась от контрольных значений, либо была снижена. Системная красная волчанка – аутоиммунное заболевание, ювенильный артрит имеет смешанную аутоиммунно-аутовоспалительную природу. Гепатит С является вирусным заболеванием, но в хронической стадии также могут проявляться аутоиммунные реакции. Снижение синтеза противовоспалительных цитокинов является одним из свидетельств аутоиммунных проявлений при всех перечисленных заболеваниях, несмотря на их различную этиологию. Повышение спонтанной продукции IL-1ra и IL-10 у детей с

Адрес для переписки:

Криволапова Ирина Михайловна
ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница»
620149, Россия, г. Екатеринбург, ул. С. Дерябиной, 32.
Тел.: 8 (343) 231-91-28.
E-mail: krivolapovaim@mis66.ru

Address for correspondence:

Krivolapova Irina M.
Regional Pediatric Clinical Hospital
620149, Russian Federation, Yekaterinburg,
S. Deryabina str., 32.
Phone: 7 (343) 231-91-28.
E-mail: krivolapovaim@mis66.ru

Образец цитирования:

И.М. Криволапова, И.А. Пашнина «Уровень противовоспалительных цитокинов в супернатантах культур клеток периферической крови у детей с аутоиммунными и инфекционными заболеваниями» // Российский иммунологический журнал, 2022. Т. 25, № 1. С. 47-54. doi: 10.46235/1028-7221-1093-COA
© Криволапова И.М., Пашнина И.А., 2022

For citation:

I.M. Krivolapova, I.A. Pashnina “Concentration of anti-inflammatory cytokines in supernatants of peripheral blood cell cultures in children with autoimmune and infectious diseases”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2022, Vol. 25, no. 1, pp. 47-54. doi: 10.46235/1028-7221-1093-COA
DOI: 10.46235/1028-7221-1093-COA

неуточненной реактивной артропатией может указывать на подключение компенсаторных реакций, сдерживающих развитие воспаления при этом заболевании. Во всех исследованных группах стимулированная продукция IL-1ra, IL-4 и IL-10 либо не отличалась от группы здоровых детей, либо была ниже контрольных значений. Это свидетельствует об истощении функциональных резервов клеток в условиях длительной активации.

Ключевые слова: аутоиммунные заболевания, инфекционные заболевания, системная красная волчанка, ювенильный идиопатический артрит, реактивная артропатия, гепатит С, дети, цитокины

CONCENTRATION OF ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES IN SUPERNATANTS OF PERIPHERAL BLOOD CELL CULTURES IN CHILDREN WITH AUTOIMMUNE AND INFECTIOUS DISEASES

Krivolapova I.M.^{a, b}, Pashnina I.A.^a

^a Regional Pediatric Clinical Hospital, Yekaterinburg, Russian Federation

^b Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. Cytokines belong to the class of signaling molecules, being involved into regulation of proliferation, differentiation and effector functions of immunocompetent cells. The ratio of pro- and anti-inflammatory cytokines is important for development of any inflammatory process. IL-1ra, IL-4, IL-10 are among the most important anti-inflammatory cytokines. Their function is to limit and suppress immune response in inflammatory processes of any etiology. In this respect, the aim of this study was to evaluate production of the anti-inflammatory cytokines IL-1ra, IL-4 and IL-10 by peripheral blood cells in children with autoimmune and infectious diseases. Patients and methods: Pediatric patients (2-17 years old) participated in the study including those with juvenile idiopathic arthritis (n = 101); unspecified reactive arthropathy (n = 24); systemic lupus erythematosus (SLE, n = 14); chronic viral hepatitis C (n = 24). 33 healthy children (n = 33) comprised the control group. Heparinized blood samples were diluted with glutamine-containing medium RPMI-1640. Control samples were not treated by any stimulants, and the stimulated samples were supplied with phytohemagglutinin (20 mkg/ml). The samples of diluted blood were incubated for 24 hours (37 °C, 5% CO₂). The supernates were frozen once. The concentrations of IL-1ra, IL-4 and IL-10 in these cell supernatants were determined by ELISA technique (Vector-Best, Russia). Results: It was found that the spontaneous production of anti-inflammatory cytokines (IL-1ra, IL-4 and IL-10) didn't differ, or was lower in the groups of patients with SLE, juvenile idiopathic arthritis and hepatitis C if compared with control group. SLE is an autoimmune disease, whereas juvenile arthritis is of mixed autoimmune-autoinflammatory etiology. Chronic hepatitis C is a viral disease, but autoimmune responses may manifest at the chronic stage of the disorder. Decreased production of anti-inflammatory cytokines could be an evidence for autoimmune mechanisms of these diseases, despite their different etiology. More intensive spontaneous production of IL-1ra and IL-10 in children with unspecified reactive arthropathy may suggest some compensatory reactions which inhibit development of inflammation in this disorder. IL-1ra, IL-4 and IL-10 production in stimulated cultures didn't differ between all groups of the patients, or it was lower in comparison with healthy children. Decrease cytokine production in groups of children with different diseases suggests exhausted functional reserve of immunocompetent cells caused by their chronic activation.

Keywords: autoimmune diseases, infection diseases, systemic lupus erythematosus, juvenile idiopathic arthritis, reactive arthropathy, hepatitis C, children, cytokines

Работа выполнена в рамках госзадания ИИФ УрО РАН (№ гос. регистрации АААА-F21-121012090091-6, тема «Иммунная система в регуляции физиологических функций в норме и при патологических процессах»).

Введение

Цитокины (ЦК) – обширное семейство сигнальных полипептидных молекул, которые синтезируются клетками иммунной системы и других тканей: эпителия, эндотелия, соедини-

тельной ткани и т.д. [4]. ЦК регулируют процессы пролиферации, созревания клеток, их эффекторные функции. Им принадлежит значительная роль в иммунном ответе при внедрении различных патогенов, а также в формировании многих неинфекционных заболеваний, включая онкологические, аутоиммунные и аллергические [7]. Для развития воспалительного процесса любой этиологии важно соотношение про- и противовоспалительных ЦК. Последние осуществляют контроль за эффектами провоспалительных ЦК: способны подавлять транскрипцию их генов в клетках-продуцентах, индуцировать синтез рецепторных антагонистов, усиливать образование растворимых рецепторов и снижать плотность мембранных рецепторов провоспалительных цитокинов [4, 7].

В число наиболее значимых противовоспалительных ЦК входят IL-1ra, IL-4, IL-10. IL-1ra – естественный антагонист IL-1, синтезируется моноцитами и макрофагами, Т- и В-лимфоцитами, нейтрофилами, фибробластами, эндотелиальными клетками, гепатоцитами. IL-1ra всегда присутствует в сыворотке крови, для предотвращения негативных последствий системного действия IL-1 [9]. IL-10 продуцируется Т-лимфоцитами, преимущественно Т-хелперами 2-го типа, моноцитами. Противовоспалительный эффект IL-10 реализуется через подавление активности макрофагов и Т-лимфоцитов – прежде всего синтеза этими клетками IL-1, IL-6, IFN γ , TNF α [4]. IL-4 синтезируется Т-хелперами 2-го типа и, подобно IL-10, способен ингибировать продукцию IL-1, IL-6, TNF α и IFN γ , при этом IL-4 активирует В-лимфоциты, индуцирует выработку иммуноглобулина класса Е [4].

Исследованию уровня ЦК в сыворотке или плазме крови при различных заболеваниях посвящено большое количество публикаций. Однако уровни ЦК в циркуляции могут быть крайне низкими, т.к. они являются короткоживущими молекулами, могут накапливаться в основном в очаге воспаления, в крови могут присутствовать растворимые рецепторы ЦК, антицитокиновые антитела и антагонисты рецепторов [10].

Альтернативой исследованию ЦК в естественных биологических жидкостях может служить определение их концентрации в культуральной среде при инкубировании клеток периферической крови *in vitro*. Использование различных специфических и неспецифических стимуляторов позволяет оценить уровень исходной активности клеток, способность реагировать на индукцию, наличие функциональных резервов [3]. В качестве неспецифических стимуляторов чаще

используют растительные митогенные лектины, в том числе фитогемагглютинин (ФГА) [4]. Определение секреции ЦК клетками крови может быть особо интересно при различной хронической патологии, при которой не всегда наблюдаются повышенные концентрации этих белков в сыворотке и плазме крови.

В связи с этим **целью нашей работы** явилось определение уровня спонтанной и стимулированной продукции противовоспалительных цитокинов в супернатантах клеточных культур цельной крови у детей с аутоиммунными и инфекционными заболеваниями.

Материалы и методы

Обследованы дети и подростки от 2 до 17 лет. В наших предварительных исследованиях не выявлено взаимосвязи концентрации ЦК с возрастом детей. В связи с этим дети разного возраста объединены в пределах групп с разными диагнозами. Группы: ювенильный идиопатический артрит (ЮИА, n = 101); неуточненная реактивная артропатия (нРеА, n = 24); системная красная волчанка (СКВ, n = 14); хронический вирусный гепатит С (ХВГС, n = 24); условно здоровые дети (УЗД, n = 33). ЮИА является гетерогенным заболеванием и включает в себя несколько патогенетически различных вариантов [1]. Однако нами не выявлено различий между вариантами течения ЮИА по уровню спонтанной и стимулированной секреции противовоспалительных ЦК [5]. На этом основании пациенты с ЮИА объединены в одну группу.

Дети с СКВ, ЮИА и нРеА проходили обследование и лечение у детских ревматологов консультативной поликлиники, дети с ХВГС были госпитализированы в гастроэнтерологическое отделение ГАУЗ СО «ОДКБ». Диагноз «ЮИА» устанавливался на основании критериев ILAR (Международной лиги ревматологических ассоциаций второго пересмотра в Edmonton, 2001); диагноз «СКВ» – в соответствии с критериями Американского колледжа ревматологов (ACR, 1997); критерии нРеА: множественные поражения суставов с высокой степенью активности; затяжное течение заболевания до 1 года или рецидивирующее течение (суставная атака 1-2 раза в год); отсутствие хронологической связи с инфекционными заболеваниями. Все дети с ревматическими заболеваниями и из контрольной группы не имели признаков острого или хронического инфекционного процесса на момент обследования. Критерием постановки диагноза «ХВГС» яв-

лялось обнаружение возбудителя и определение вирусной нагрузки.

Кровь забирали в вакуумные пробирки (Greiner, Австрия) с антикоагулянтом (гепарин). Образцы крови разводили глутаминсодержащей средой RPMI-1640 («ПанЭко», Россия), в соотношении 1:9, готовили 2 образца: контрольный образец без стимулятора; образец, стимулированный фитогемагглютинином (ФГА, Sigma) в конечной концентрации 20 мкг/мл. Образцы разведенной крови инкубировали (37 °С, 5% CO₂) в течение 24 часов. Супернатанты клеточных культур (СКК) разливали на аликвоты и однократно замораживали для хранения. Определение кон-

центрации IL-1ra, IL-4, IL-10 в СКК проводили методом ИФА с использованием диагностических наборов фирмы «Вектор-Бест» (Россия).

Для оценки значимости различий между независимыми группами использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Статистическая обработка выполнена с использованием программы Statistica для Windows (версия 6.0 StatSoftInc).

Результаты

При исследовании спонтанной продукции IL-1ra, IL-4 и IL-10 выявлено, что их выработка клетками крови у пациентов с ЮИА оставалась на уровне контрольной (табл. 1). У больных с nReA

ТАБЛИЦА 1. КОНЦЕНТРАЦИЯ IL-1ra, IL-4 И IL-10 В СУПЕРНАТАНТАХ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР У ДЕТЕЙ С ЮИА, nReA, СКВ, ХВГС И УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. CONCENTRATION OF IL-1ra, IL-4 AND IL-10 IN SUPERNATANTS OF BLOOD CELL CULTURES IN CHILDREN WITH JIA, NREA, SLE, CVHC AND IN HEALTHY CHILDREN, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Диагноз Diagnosis	Вариант инкубации Option of incubation	Цитокин, пг/мл Cytokines, pg/ml		
		IL-1ra	IL-4	IL-10
СКВ SLE (n = 14)	Спонтанный Spontaneous	373,0 (169,0-1042,0)	2,0* (1,0-3,0)	3,5 (1,0-5,0)
	ФГА PNA	2789,0 (1695,0-3552,0)	6,0** (2,0-8,0)	73,0 (54,0-398,0)
ЮИА JIA (n = 101)	Спонтанный Spontaneous	505,0 (242,0-970,0)	3,0 (2,0-5,0)	1,0 (0,0-3,0)
	ФГА PNA	2637,0* (1829,0-3475,0)	11,0 (8,0-15,0)	255,0 (158,0-378,0)
nReA nReA (n = 24)	Спонтанный Spontaneous	718,0* (341,0-1009,0)	5,0 (2,0-6,0)	5,5* (0,1-41,0)
	ФГА PNA	2001,0*** (1261,0-2797,0)	12,0 (7,0-15,0)	335,0 (177,0-447,0)
ХВГС CVHC (n = 24)	Спонтанный Spontaneous	592,0 (355,0-942,0)	1,0* (0,0-4,0)	1,0 (1,0-2,0)
	ФГА PNA	2901,0* (2542,0-3119,0)	7,0** (2,5-12,5)	339,0 (231,0-448,0)
Условно здоровые дети Healthy children (n = 33)	Спонтанный Spontaneous	508,0 (215,0-703,0)	4,0 (2,0-5,0)	1,5 (0,0-4,0)
	ФГА PNA	3363,0 (2432,0-4280,0)	13,0 (8,0-19,0)	276,0 (174,0-341,0)

Примечание. Различия с группой условно здоровых детей: * – p < 0,05; ** – p < 0,01; *** – p < 0,001.

Note. Differences with healthy children: *, p < 0.05; **, p < 0.01; ***, p < 0.001.

уровень IL-4 в супернатантах культур клеток крови также не отличался от контрольных значений, а продукция IL-1ra и IL-10 была выше, по сравнению со здоровыми детьми. Спонтанный уровень IL-4 у детей с СКВ и ХВГС был значительно ниже, чем в контрольной группе, концентрации IL-1ra и IL-10 не отличались от таковых в группе УЗД.

Инкубация клеток крови с фитогемагглютинином в течение 24 часов приводила к существенному усилению синтеза ЦК в каждой группе по сравнению с интактными клетками (табл. 1). У детей с ЮИА, нРеА и ХВГС выявлено снижение стимулированной концентрации IL-1ra в культуральной жидкости по сравнению со здоровыми детьми. Различий по продукции этого ЦК между группами детей с СКВ и УЗД выявлено не было. Обнаружено снижение ФГА-индуцированной продукции IL-4 у больных с СКВ и ХВГС по сравнению со здоровыми детьми. Больные с ЮИА и нРеА не отличались от детей контрольной группы по данному параметру (табл. 1). Индуцированная выработка IL-10 клетками крови в исследованных группах не различалась (табл. 1).

Обсуждение

Спонтанная продукция противовоспалительных цитокинов IL-1ra, IL-4 и IL-10 клетками крови у пациентов с ЮИА не отличалась от таковой у здоровых детей (табл. 1). Отсутствие различий по выработке IL-4 и IL-10 соотносится с данными ряда авторов, получивших аналогичные результаты [12, 18]. Однако в исследованиях S. Raziuddin и соавт. показано, что клетки периферической крови интенсивнее продуцировали IL-4 и IL-10 в отсутствие стимулятора у больных с различными вариантами ЮИА, по сравнению с контролем [20].

Нами было выявлено снижение стимулированной продукции IL-1ra в группе с ЮИА по сравнению с контролем, концентрации двух других ЦК не различались. Аналогичные результаты получены Müller K. и соавт. при использовании в качестве стимуляторов фитогемагглютинаина и липополисахарида [18]. Однако в другой работе сообщается, что стимулированная форбол-миристилацетатом и иономицином секреция IL-10 и IL-4 клетками цельной крови больных с ЮИА была выше, чем в группе условно здоровых детей [20].

У обследованных нами больных с нРеА спонтанный уровень IL-4 в СКК не отличался от контрольных значений, а продукция IL-1ra и IL-10

была выше по сравнению с группой здоровых детей. В отечественной и зарубежной литературе отсутствуют данные об оценке секреции IL-1ra, IL-4 и IL-10 культурами клеток крови у детей с неуточненной реактивной артропатией. Имеются свидетельства, что у взрослых пациентов с реактивным артритом спонтанная секреция IL-4 клетками крови была снижена, а выработка IL-10 не отличалась от таковой у здоровых доноров [13]. В сыворотке крови взрослых больных с реактивным артритом в острый период заболевания был значительно снижен уровень IL-4, тогда как при хроническом течении этого заболевания выявлено умеренное увеличение концентрации этого цитокина [2]. Возможно, на более поздних стадиях заболевания подключаются компенсаторные механизмы, обуславливающие повышенный уровень противовоспалительных ЦК, что и было выявлено в нашем исследовании в отношении IL-1ra и IL-10. Более низкая стимулированная выработка IL-1ra в группе с нРеА по сравнению с контролем свидетельствует о том, что клетки-продуценты уже истощили свои резервы в условиях хронического воспалительного процесса.

Спонтанный и стимулированный уровень IL-1ra и IL-10 у обследованных нами детей с СКВ не отличался от такового в группе УЗД. В одной из малочисленных публикаций, посвященных исследованию секреции ЦК *in vitro*, обнаружено увеличение спонтанного и стимулированного липополисахарида синтеза IL-1ra клетками крови у взрослых пациентов с СКВ, по сравнению со здоровыми лицами [21].

При исследовании сыворотки крови, у детей с СКВ в активной стадии заболевания выявлены высокие уровни IL-10, по сравнению с пациентами с неактивной стадией заболевания и здоровыми детьми, уровень IL-4 не отличался от контрольных значений [14]. Другие авторы также обнаружили повышение сывороточной концентрации IL-10 при СКВ у детей [19] и взрослых [15, 22]. Также выявлена положительная корреляция сывороточного уровня IL-10 с активностью заболевания по шкале SLEDAI как у взрослых пациентов с СКВ [22], так и у детей [19].

Известно, что IL-10 увеличивает пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов и индуцирует продукцию аутоантител этими клетками при СКВ [17, 19]. Кроме того, отмечался позитивный эффект введения анти-IL-10 моноклональных антител пациентам с СКВ [16]. Однако в нашем исследовании никаких различий с кон-

трольной группой по продукции этого ЦК не выявлено.

Спонтанная и стимулированная выработка IL-4 у обследованных нами детей с СКВ была ниже, чем в контрольной группе. Это согласуется с данными Guimaraes P.M. и соавт., которые выявили снижение уровня IL-4 в сыворотке крови у взрослых пациентов с СКВ [15]. Хотя есть ряд работ, в которых не найдено различий по сывороточной концентрации IL-4 между взрослыми больными с СКВ и здоровыми донорами [19, 22].

У обследованных нами детей с ХВГС спонтанная и стимулированная концентрация IL-4 и стимулированная концентрация IL-1ra были ниже, чем в группе здоровых детей. Гепатит С является вирусным заболеванием, однако в хронической стадии могут присоединяться аутоиммунные механизмы [6]. Снижение выработки противовоспалительных ЦК может косвенно свидетельствовать об активации аутоиммунитета. По данным литературы, у взрослых пациентов с ХВГС и ХВГВ, напротив, выявлено увеличение продукции IL-4 и IL-10 клетками крови в спонтанном и стимулированном ФГА вариантах [6]. В сыворотке крови и в супернатантах биоптатов печени у взрослых больных с ХГС также наблюдалось достоверное увеличение концентраций этих двух ЦК [8]. Однако эти пациенты могли находиться в более ранней стадии заболевания, еще до подключения аутоиммунных механизмов.

Заключение

Таким образом, в группах больных с СКВ, ЮИА и ХВГС спонтанная продукция противовоспалительных цитокинов IL-1ra, IL-4 и IL-10 либо не отличалась от контрольных значений, либо была снижена. Ведущим механизмом развития СКВ является аутоагрессия [19]. ЮИА имеет смешанную аутоиммунно-аутовоспалительную природу [1]. В хронической стадии вирусного гепатита С также могут развиваться аутоиммунные реакции [6]. Снижение синтеза противовоспалительных ЦК указывает на недостаточный контроль над воспалительным процессом при всех перечисленных заболеваниях, несмотря на их различную этиологию. Повышение спонтанной продукции IL-1ra и IL-10 у детей с нРеА может являться компенсаторным механизмом, сдерживающим развитие воспаления при этом заболевании [11].

Во всех исследованных группах стимулированная продукция IL-1ra, IL-4 и IL-10 либо не отличалась от группы здоровых детей, либо была ниже контрольных значений. Это свидетельствует об истощении функциональных резервов клеток, об их неспособности отвечать на дополнительный стимул.

Благодарности

Авторы искренне благодарят врачей ГАУЗ СО «ОДКБ» Козлову Е.С., Скоробогатову О.В., Салохину Е.Н. за подбор пациентов для исследования.

Список литературы / References

1. Алексеева Е.И. Ювенильный идиопатический артрит: клиническая картина, диагностика, лечение // Вопросы современной педиатрии, 2015. Т. 14, № 1. С. 78-94. [Alekseeva Ye.I. Juvenile idiopathic arthritis: Clinical picture, Diagnosis, Treatment. *Voprosy sovremennoy pediatrii = Current Pediatrics*, 2015, Vol. 14, no 1, pp. 78-94. (In Russ.)]
2. Гапонова Т.В., Лила А.М., Шемеровская Т.Г., Захарова Г.А., Масляева Т.Н. Изучение цитокинового статуса больных реактивным артритом // Медицинская иммунология, 2008. Т. 10, № 2-3. С. 167-172. [Gaponova T.V., Lila A.M., Shemerovskaya T.G., Zakharova G.A., Maslyeva T.N. Investigation of cytokine profile in patients with reactive arthritis. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2008, Vol. 10, no. 2-3, pp. 167-172. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2008-2-3-167-172.
3. Демьянов А.В., Котов А.Ю., Симбирцев А.С. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике // Цитокины и воспаление, 2003. Т. 2, № 3. С. 20-35. [Demyanov A.V., Kotov A. Yu., Simbirtsev A.S. Diagnostic value of cytokine studies in clinical practice. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2003, Vol. 2, no. 3, pp. 20-35. (In Russ.)]
4. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: Фолиант, 2008. 552 с. [Ketlinsky S.A., Simbirtsev A.S. *Cytokines*. St. Petersburg: Foliant, 2008. 552 p.

5. Криволапова И.М., Пашнина И.А., Черешнев В.А. Уровень провоспалительных цитокинов в супернатантах культур цельной крови у детей с ювенильным идиопатическим артритом. // Вестник уральской медицинской академической науки, 2018. Т. 15, № 3. С. 421-431. [Krivolapova I.M., Pashnina I.A., Chereshnev V.A. The level of proinflammatory cytokines in cells cultures supernatants in children with juvenile idiopathic arthritis. *Vestnik uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki = Journal of Ural Medical Academic Science*, 2018, Vol. 15, no. 3, pp. 421-431. (In Russ.)]
6. Наследникова И.О., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Ткаченко С.Б., Зима А.П. Дисбаланс иммунорегуляторных Th1- и Th2-цитокинов при персистентных вирусных инфекциях // Медицинская иммунология, 2007. Т. 9, № 1. С. 53-60. [Naslednikova I.O., Ryazantseva N.V., Novitsky V.V., Tkachenko S.B., Zima A.P. Imbalance of immunoregulatory Th1- and Th2-cytocines in persistent viral infections. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2007, Vol. 9, no. 1, pp. 53-60. (In Russ.)] doi:10.15789/1563-0625-2007-1-53-60.
7. Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе инфекционных и неинфекционных заболеваний человека // Медицинский академический журнал, 2013. Т. 13, № 3. С. 18-41. [Simbirtsev A.S. Cytokines in the pathogenesis of infectious and noninfectious human diseases. *Meditsinskiy akademicheskij zhurnal = Medical Academic Journal*, 2013, Vol. 13, no. 3, pp. 18-41. (In Russ.)]
8. Скляр Л.Ф. Роль системы цитокинов в гепатоцеллюлярном повреждении при ХГС // Медицинская иммунология, 2006. Т. 8, № 1. С. 81-86. [Sklyar L.Ph. The role of cytokine network in hepatocellular damage caused by chronic hepatitis C. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2006, Vol. 8, no. 1, pp. 81-86. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2006-1-81-86.
9. Сташкевич Д.С., Филиппова Ю.Ю., Бурмистрова А.Л. Актуальные вопросы иммунологии: система цитокинов, биологическое значение, генетический полиморфизм, методы определения: учебное пособие. Челябинск: Цицеро, 2016. 82 с. [Stashkevich D.S., Filippova Yu.Yu., Burmistrova A.L. Topical issues of immunology: the cytokine system, biological significance, genetic polymorphism, methods of determination: textbook]. Chelyabinsk: Tsitsero, 2016. 82 p.
10. Супрун Е.Н. Цитокины и аутоантитела к цитокинам (часть 2) // Аллергология и иммунология в педиатрии, 2016. Т. 1, № 44. С. 33-36. [Suprun E.N. Cytokines and autoantibodies to cytokines (part 2). *Allergologiya i immunologiya v pediatrii = Allergology and Immunology in Pediatrics*, 2016, Vol. 1, no. 44, pp. 33-36. (In Russ.)]
11. Хрипунова И.Г., Журбина Н.В. Реактивные артриты. Методические рекомендации. Ставрополь: СГМА, 2003. 25 с. [Khripunova I.G., Zhurbina N.V. Reactive arthritis. Methodical recommendation]. Stavropol: Stavropol State Medical University, 2003. 25 p.
12. Aggarwal A. Cytokine production by peripheral blood mononuclear cells patients with juvenile idiopathic arthritis. *Indian Pediatrics*, 2002, Vol. 3, pp. 739-742.
13. Butrimiene I., Jormalaite S., Ranceva J., Venalis A., Jasiuleviciute L., Zvirbliene A. Different cytokine profiles in patients with chronic and acute reactive arthritis. *Rheumatology*, 2004, no. 43, pp. 1300-1304.
14. Cavalcanti A., Santos R., Mesquita Z., Duarte A.L.B.P., Lucena-Silva N. Cytokine profile in childhood-onset systemic lupus erythematosus: a cross-sectional and longitudinal study. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 2017, Vol. 50, no. 4, e5738. doi: 10.1590/1414-431X20175738.
15. Guimaraes P.M., Scavuzzi B.M., Stadtlober N.P., Santos L.F., Lozovoy M.A., Iriyoda T.M., Costa N.T., Reiche E.M., Maes M., Dichi I., Simão A.N. Cytokines in systemic lupus erythematosus: far beyond Th1/Th2 dualism lupus: cytokine profiles. *Immunol. Cell Biol.*, 2017, Vol. 95, no. 9, pp. 824-831.
16. Llorente L., Richaud-Patin Y., García-Padilla C., Claret E., Jakez-Ocampo J., Cardiel M.H., Alcocer-Varela J., Grangeot-Keros L., Alarcón-Segovia D., Wijdenes J., Galanaud P., Emilie D. Clinical and biologic effects of anti-interleukin-10 monoclonal antibody administration in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 2000, Vol. 43, no. 8, pp. 1790-1800.
17. Llorente L., Richaud-Patin Y. The role of interleukin-10 in systemic lupus erythematosus. *J. Autoimmun.*, 2003, no. 20, pp. 287-289.
18. Muller K., Herner E.B., Stagg A., Bendtzen K., Woo P. Inflammatory cytokines and cytokine antagonists in whole blood cultures of patients with systemic juvenile chronic arthritis. *Br. J. Rheumatol.*, 1998, Vol. 37, no 5, pp. 562-569.
19. Quan W., An J., Li G., Qian G., Jin M., Feng Ch., Li S., Li X., Xu Y., Hu X. Th cytokine profile in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *BMC Pediatr*, 2021, Vol. 21, no. 1, 187. doi: 10.1186/s12887-021-02659-3.
20. Raziuddin S.A., Bahabri S, Al-Dalaan A, Siraj A.K., Al-Sedairy S. A mixed Th1/Th2 cell cytokine response predominates in systemic onset juvenile rheumatoid arthritis: immunoregulatory IL-10 function. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1998, Vol. 86, no. 2, pp. 192-198.

21. Scuderi F., Convertino R., Molino N., Provenzano C., Marino M., Zoli A., Bartoccioni E. Effect of pro-inflammatory/anti-inflammatory agents on cytokine secretion by peripheral blood mononuclear cells in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity*, 2003, Vol. 36, no 2, pp. 71-77.

22. Talaat R.M., Mohamed S.F., Bassyouni I.H., Raouf A.A. Th1/Th2/Th17/Treg cytokine imbalance in systemic lupus erythematosus (SLE) patients: Correlation with disease activity. *Cytokine*, 2015, Vol. 72, no. 2, pp. 146-153.

Авторы:

Криволапова И.М. — к.б.н., биолог клинко-диагностической лаборатории ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница»; младший научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Пашина И.А. — д.б.н., заведующая клинко-диагностической лабораторией ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», г. Екатеринбург, Россия

Authors:

Krivolapova I.M., PhD (Biology), Biologist, Clinical Diagnostic Laboratory, Regional Pediatric Clinical Hospital; Junior Research Associate, Laboratory of Immunology of Inflammation, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Pashnina I.A., PhD, MD (Biology), Head, Clinical Diagnostic Laboratory, Regional Pediatric Clinical Hospital, Yekaterinburg, Russian Federation

Поступила 12.12.2021
Принята к печати 09.01.2022

Received 12.12.2021
Accepted 09.01.2022

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА У НОВОРОЖДЕННЫХ С СУДОРОГАМИ

Гурбанова Г.М.¹, Рагимова Н.Д.²

¹ Азербайджанский государственный институт усовершенствования врачей имени А. Алиева, г. Баку, Азербайджан

² Научно-исследовательский институт педиатрии имени К.Я. Фараджевой, г. Баку, Азербайджан

Резюме. Целью исследования явилась оценка уровня цитокинов у новорожденных детей различного гестационного возраста с судорогами. Проведено проспективное, комплексное исследование 307 новорожденных различного гестационного возраста с судорогами. Изучение анамнестических данных, антенатальных, интранатальных факторов риска с использованием статистических методов показало, что у матерей новорожденных (доношенных и недоношенных соответственно) с судорогами высокий процент экстрагенитальных заболеваний ($31,8 \pm 3,7\%$ $\chi^2 = 15,4$ $p = 0,009$ и $62,3 \pm 5,0\%$ $\chi^2 = 27,2$ $p_1 < 0,001$), гинекологических заболеваний ($49,1 \pm 3,6\%$ $\chi^2 = 37,1$ $p < 0,001$ и $47,0 \pm 5,1\%$ $\chi^2 = 9,69$ $p_1 = 0,046$), угроза прерывания беременности ($9,1 \pm 2,5\%$ $\chi^2 = 11,290$ $p < 0,001$ и $28,5 \pm 4,7\%$ $\chi^2 = 14,779$ $p_1 < 0,001$), анемия беременных $40,0 \pm 3,6\%$ $\chi^2 = 14,9$ $p < 0,001$ и $66,4 \pm 4,3\%$ $\chi^2 = 18,9$ $p < 0,001$). В результате электроэнцефалографических исследований было выявлено, что в большинстве случаев у 78 (30,0%) новорожденных отмечался полиморфный характер судорог, т.е. сочетание различных видов судорог. У 64 (24,5%) новорожденных отмечались атипичные судороги с преобладанием их у 61 (40,4%) недоношенного новорожденного. Клонические судороги чаще регистрировались у 34 (30,9%) доношенных и 26 (17,2%) недоношенных. Судороги миоклонического характера встречались в основном у 21 (13,9%) доношенных новорожденных. Судороги тонические судороги встречались всего у 5 (5,3%) новорожденных. Согласно нейросонографическим исследованиям отек мозга регистрировался у 83 (31,8%), венрикуломегалия – у 44 (16,9%), венрикулит – у 43 (16,5%), внутрижелудочковые кровоизлияния – у 66 (15,3%) новорожденных основной группы. В группе контроля перивентрикулярные кровоизлияния отмечаются у 37 (14,2%) новорожденных. У недоношенных новорожденных частота названных нарушений была на 18,6% выше по сравнению с доношенными новорожденными ($\chi^2 = 13,3$; $p = 0,004$). Изменения иммунологической реактивности у новорожденных с судорогами проявляется в нарушении цитокинового статуса и достоверном повышении провоспалительных цитокинов (IL-1 β в 1,9; IL-6 в 3 раз; TNF α в 3,3 раза) по отношению к новорожденным контрольной группы. Повышенная концентрация провоспалительных цитокинов у новорожденных с ГИЭ приводит к поддержанию судорожной активности и усугубляет дальнейший неблагоприятный неврологический исход. Установлено, что при неонатальных судорогах церебральные нарушения и дисфункция ряда органов и систем находятся в коррелятивной связи с параметрами иммунной системы. Таким образом, экспрессия провоспалительных цитокинов может использоваться в качестве скринингового маркера в диагностике и прогнозировании неонатальных судорог на фоне перинатального гипоксически – ишемического поражения ЦНС.

Ключевые слова: цитокиновый статус, неонатальные судороги, корреляционные связи, поражение центральной нервной системы

Адрес для переписки:

Рагимова Наиля Джалил гызы
Научно-исследовательский институт
педиатрии имени К.Я. Фараджевой
AZ 1065, Азербайджан, г. Баку, ул. Басти Багировой, 17.
Тел.: +99450 3352990.
E-mail: rahimova_nailya@mail.ru

Address for correspondence:

Ragimova Naila J. q1z1
K. Farajova Research Institute of Pediatrics
AZ 1065, Azerbaijan, Baku, Basti Bagirova str., 17.
Phone: +99450 3352990.
E-mail: rahimova_nailya@mail.ru

Образец цитирования:

Г.М. Гурбанова, Н.Д. Рагимова «Особенности цитокинового статуса у новорожденных с судорогами» // Российский иммунологический журнал, 2022. Т. 25, № 1. С. 55-62.
doi: 10.46235/1028-7221-980-FOC
© Гурбанова Г.М., Рагимова Н.Д., 2022

For citation:

G.M. Gurbanova, N.J. Ragimova "Features of cytokine status of the newborns with seizures", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2022, Vol. 25, no. 1, pp. 55-62.
doi: 10.46235/1028-7221-980-FOC
DOI: 10.46235/1028-7221-980-FOC

FEATURES OF CYTOKINE STATUS OF THE NEWBORNS WITH SEIZURES

Gurbanova G.M.^a, Ragimova N.J.^b

^a A. Aliyev Azerbaijan State Medical Institute for Postgraduate Education, Baku, Azerbaijan

^b K. Farajova Research Institute of Pediatrics, Baku, Azerbaijan

Abstract. The aim of the present study was to assess the level of cytokines in newborn children of various gestational terms with seizures. A prospective, comprehensive study of 307 newborns of various gestational ages with seizures was carried out.

Evaluation of anamnestic data, antenatal, intrapartum risk factors with using statistical methods showed that mothers of newborns (respectively, full-term and premature) with seizures had a high percentage of extragenital diseases ($31.8 \pm 3.7\%$ $\chi^2 = 15.4$, $p = 0.009$, vs $62.3 \pm 5.0\%$ $\chi^2 = 27.2$, $p_1 < 0.001$), gynecological disorders ($49.1 \pm 3.6\%$ $\chi^2 = 37.1$ $p < 0.001$, and $47.0 \pm 5.1\%$ $\chi^2 = 9.69$ $p_1 = 0.046$), threatened miscarriage ($9.1 \pm 2.5\%$ $\chi^2 = 11.290$ $p < 0.001$, and $28.5 \pm 4.7\%$ $\chi^2 = 14.779$ $p_1 < 0.001$), anemia of pregnancy ($40.0 \pm 3.6\%$ $\chi^2 = 14.9$, $p < 0.001$ vs $66.4 \pm 4.3\%$ $\chi^2 = 18.9$, $p < 0.001$). After EEG examination, we found that in most cases, 78 (30.0%) newborns exhibited polymorphic convulsions, i.e. a combination of different types of convulsions. The atypical convulsions were reported in 64 (24.5%) newborns, with a predominance of preterm infants 61 (40.4%). Clonic seizures were more common in full-term infants ($n = 34$; 30.9%) and preterm ($n = 26$; 17.2%). Myoclonic convulsions were found mainly in preterm newborns 21% (13.9%). Tonic convulsions were found in only 5 cases (5.3%). According to neurosonographic data, brain swelling was reported in 83 (31.8%), ventriculomegaly in 44 (16.9%), ventriculitis in 43 (16.5%), intraventricular hemorrhage in 66 (15.3%) newborns of the main group. In the control group, periventricular hemorrhage was observed in 37 (14.2%) newborns. Frequency of these disorders in preterm infants was 18.6% higher than in full-term infants ($\chi^2 = 13.3$; $p = 0.004$). Altered immunological reactivity in newborns with seizures manifested as abnormal cytokine status and significantly elevated pro-inflammatory cytokines (IL-1 β , 1.9-fold; IL-6, 3-fold; TNF α 3.3-fold increase) compared with newborns of control group. Increased concentration of pro-inflammatory cytokines in newborns with HIE is associated with maintenance of seizure activity and aggravates further unfavorable neurological outcome. The cerebral disorders and dysfunction of different organs and systems were found to correlate with immune parameters. Hence, the expression of pro-inflammatory cytokines may be used as a screening marker in diagnostics and prediction of neonatal seizures in presence of perinatal hypoxic-ischemic lesions of the central nervous system.

Keywords: cytokine status, seizures, newborns, central nervous system, damage

Введение

Неонатальные судороги являются сложной и актуальной проблемой современной неонатологии и педиатрии в целом, так как остаются наиболее частыми и тяжелыми маркерами неврологических осложнений у новорожденных детей [11, 15, 17]. Частота судорог в популяции новорожденных колеблется в пределах 1-5%, достигая 20% у недоношенных детей [12, 13, 19, 21]. Согласно этиологической структуре судорог у новорожденных доминирующее место занимают перинатальная гипоксия плода, острая асфиксия новорожденных, внутричерепные кровоизлияния и внутриутробные инфекции [1, 4, 14]. В настоящее время проведено множество исследований указывающих на регулирующее влияние иммунной си-

стемы на развитие перинатальное гипоксически-ишемическое поражение центральной нервной системы. Показано, что дисбаланс про и противовоспалительных цитокинов в периферической крови и мозговых структурах организма человека на ранних этапах онтогенеза определяет дальнейшее его когнитивное, эмоциональное развитие и риск развития патологии центральной нервной системы в перинатальный, постнатальный период. Согласно исследованиям многих зарубежных авторов иммунный гомеостаз определяет характер системного воспалительного процесса и в то же время зависит от тяжести гипоксически-ишемического повреждения головного мозга [5, 8, 9, 13, 21]. Дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов предопределяет тяжелые неврологические поражения у детей, что позволяет ис-

пользовать их как прогностический критерий исхода заболевания. Иммунный ответ на повреждающий фактор может иметь как защитный, так и патологический характер [2]. Ряд авторов указывают на особо значение ряда цитокинов при оценке неврологических нарушений [3, 5, 6, 7].

Роль нейроиммунных механизмов в развитии церебральных нарушений заключается в том, что постгипоксическая энцефалопатия формируется в результате воспаления с последующим нарушением гематоэнцефалического барьера [7, 19]. Таким образом, исследования, посвященные значимости цитокинов как предикторов судорожных состояний на фоне перинатального поражения ЦНС, актуальны и перспективны, и в то же время данная проблема нуждается в дальнейшем изучении исследователей.

Цель исследования – провести сравнительную оценку уровня цитокинов у новорожденных детей с перинатальным поражением центральной нервной системы, перенесших судороги.

Материалы и методы

Проведено проспективное исследование 307 новорожденных с судорогами, поступивших на стационарное лечение в период за 2018-2020 годы в Научно-Исследовательский Институт Педиатрии, в отделения реанимации и интенсивной терапии, патологии новорожденных и недоношенных детей. Большинство новорожденных 182 (59,3%±3,0) поступали из районов Азербайджана, остальные 125 (40,7%±2,0) – из города Баку. Сформировано две группы: I основная группа – 261 новорожденный с судорогами, II группа – 46 условно здоровых новорожденных, родившихся от нормально протекавшей беременности физиологических родов. Возраст матерей колебался от 17 до 41 лет, в среднем составив 26,5±5,2 лет. У матерей основной группы первая беременность была у 117 (44,8±3,1%) матерей, повторная (2-8) беременность была у 144 (55,2±3,1%) женщин. Первородящих было 131 (50,2±3,1%), повторнородящих 130 (49,8%±3,1%). Роды двойней отмечались в 21 (8,0±1,7%) случаях. Согласно гестационному возрасту к моменту рождения включенные в исследование новорожденные были рождены при сроке гестации от 25 до 42 недель, с массой тела от 800 г до 4500 г (2656,0±678,7%), длиной тела от 31 до 56 см (47,1±6,0%). Среди них преобладали недоношенные 151 (57,8%), доношенных было 110 (32,2%). По сроку гестации среди недоношенных в возрасте 35-37 недель было 87 новорожденных; 32-34 недели – 30; 29-31 неделя – 26, 25-28 недель – 8 новорожденных. Мальчиков было 177 (67,8±2,9%), девочек – 84 (32,2±2,9%).

Всем детям в неонатальном периоде было проведено комплексное клиничко-инструментальное и лабораторное исследование. С целью диагностики структурных церебральных поражений и для подтверждения клинических признаков перинатального поражения ЦНС проводилось нейросонографическое исследование (НСГ). По показаниям выполнялись компьютерная томография (КТ), магнитно-резонансная томография (МРТ), эхокардиография, эхография, а также ультразвуковая доплерография церебральной гемодинамики. Проводились биохимические, серологические и иммунохимические исследования. В ходе исследования изучался антенатальный и интранатальный период и оценивался неврологический статус.

Определение содержания цитокинов: IL-1β, IL-6, IL-10, IL-18, TNFα, а также HSE, β₂-МГ выполняли стандартным методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием диагностических тест-систем производства «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) на анализаторе ElisysUnoHuman (Германия).

Полученные цифровые данные подвергли статистической обработке методами медицинской статистики. Применены методы вариационного (U-критерий Манна–Уитни, KU-критерий Краскела–Уоллиса), дисперсионного (ANOVA-F-Фишер, FS-Фишер–Снедекор), дискриминантного (чувствительность и специфичность) и ROC-анализов. Вычисления проводили в электронных таблицах Excel 2013 и SPSS 20.

Результаты

Изучение анамнестических данных, антенатальных, интранатальных факторов риска с использованием статистических методов показало, что у матерей новорожденных (доношенных и недоношенных соответственно) с судорогами высокий процент экстрагенитальных заболеваний (31,8±3,7% $\chi^2 = 15,4$ $p = 0,009$ и 62,3±5,0% $\chi^2 = 27,2$ $p_1 < 0,001$) гинекологических заболеваний (49,1±3,6% $\chi^2 = 37,1$ $p < 0,001$ и 47,0±5,1% $\chi^2 = 9,69$ $p_1 = 0,046$) угроза прерывания беременности (9,1±2,5% $\chi^2 = 11,290$ $p < 0,001$ и 28,5±4,7% $\chi^2 = 14,779$ $p_1 < 0,001$) анемия беременных (40,0±3,6% $\chi^2 = 14,9$ $p < 0,001$ и 66,4±4,3% $\chi^2 = 18,9$ $p < 0,001$).

Доношенные новорожденные основной группы в 47,3% случаях при рождении на 1-й минуте оценивались в 6-7 баллов, в 14,5% – 4-5 баллов, в 33,6% случаях – 0-3 баллов. Аналогичным образом, на 1-й минуте оценивались недоношенные, но рожденных с 0-3 баллами недоношенных было на 10% больше чем доношенных. На пятой

минуте жизни новорожденные с судорогами в основном восстанавливались и имели оценку по шкале Апгар 8-10 баллов. Судороги у наблюдаемых новорожденных развивались на фоне перинатального поражения ЦНС. Морфологические изменения представлены гипоксически-ишемическим поражением ЦНС у 165, гипоксически-геморрагическим поражением ЦНС у 44, гипоксически-инфекционным поражением ЦНС у 30, метаболические нарушения у 22 новорожденных. Дебют судорог в первые 3 суток регистрировался у 128 (49,0±3,1%) новорожденных, частота судорог у доношенных выше на 11,1% по сравнению с недоношенными новорожденными. В период от 3 до 7 дней судороги отмечались у 42 (16,1±2,3%) новорожденных детей. Поздний дебют, т.е. в период 7 дней и более судороги выявлялись у 74 (28,4±2,8%) новорожденных, в основном у недоношенных 53 (35,1%) против 21 (19,1%) у доношенных. Обследованные новорожденные чаще поступали в стационар в тяжелом 89 (34,1±2,9%) и очень тяжелом состоянии 108 (41,4±3,0%). В преагональном состоянии были 45 (17,2±2,3%), летальность отмечалась у 19 (7,3±1,6%) новорожденных. Синдром угнетения был у 124 (47,5±3,1%), синдром гипервозбудимости – у 39 (14,9±2,2%), неонатальная кома – у 3 (1,1±0,7%), гипертензионный синдром – у 48 (18,4±2,4%) новорожденных детей. Согласно нейросонографическим исследованиям отек мозга регистрировался у 83 (31,8%) ($\chi^2 = 20,1$; $p < 0,001$), вентрикуломегалия у 44 (16,9%) ($\chi^2 = 5,2$; $p = 0,029$), вентрикулит у 43 (16,5±2,3%) ($\chi^2 = 8,81$; $p = 0,003$), внутрижелудочковые кровоизлияния у 66 (15,3±2,4%) ($\chi^2 = 12,3$; $p = 0,006$) новорожденных основной группы. В группе контроля перивентрикулярные кровоизлияния отмечаются у 37 (14,2±2,2%) новорожденных. У недоношенных новорожденных частота названных нарушений была на 18,6% выше по сравнению с доношенными новорожденными ($\chi^2 = 13,3$; $p = 0,004$).

В результате электроэнцефалографических исследований было выявлено, что в большинстве случаев у 78 (30,0%) новорожденных отмечался полиморфный характер судорог, т.е. сочетание различных видов судорог. У 64 (24,5%) новорожденных отмечались атипичные судороги с преобладанием их у 61 (40,4%) недоношенных новорожденных. Клонические судороги чаще регистрировались у 34 (30,9%) доношенных и 26 (17,2%) недоношенных. Судороги миоклонического характера встречались в основном у 21 (13,9%) доношенных новорожденных. Судороги тонические судороги встречались всего у 5 (5,3%) новорожденных.

В исследуемых группах нами также был определен уровень С-реактивный белок (СРБ), который является наиболее часто используемым в клинической практике маркером инфекционного процесса. У новорожденных основной группы уровень СРБ составил 44,6±1,7 (6-96) г/л и превышал показатели контрольной группы в 7,2 раза ($F = 27,2$; $p < 0,001$).

Согласно проведенным исследованиям, полиорганное нарушения отмечались у 100 (38,3±3,0%) новорожденных с судорогами, при этом у недоношенных частота встречаемости этих поражений на 8,3% больше по сравнению с доношенными детьми.

С целью прогнозирования развития неонатальных судорог явилось изучение особенностей цитокиновой активности у группы новорожденных на фоне гипоксически-ишемического поражения ЦНС. Для этого было проведено исследование сыровоточного уровня провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, TNF α и противовоспалительного цитокина IL-4 у данного контингента новорожденных. В таблице 1 представлены характеристики уровней цитокинов у новорожденных с судорогами различного гестационного возраста. Нормативные значения показателей цитокинов у здоровых доношенных детей превышали показатели нормативов условно-недоношенных детей. Анализ концентрации выявил, что уровень IL-1 в основной группе достоверно превышал концентрацию вышеуказанных цитокинов новорожденных контрольной группы в 1,9 раза ($F = 12,9$; $\chi^2 = 11,2$; $p < 0,001$); IL-6 в 3 раза ($F = 23,9$; $\chi^2 = 29,4$; $p < 0,001$); TNF α 3 раза ($F = 12,1$; $\chi^2 = 17,9$; $p < 0,001$) по сравнению со здоровыми новорожденными. Содержание противовоспалительного цитокина IL-4 у доношенных детей был низким ($F = 7,8$; $\chi^2 = 5,5$; $p = 0,006$) по сравнению с новорожденными контрольных групп. Уровень перечисленных провоспалительных цитокинов у недоношенных детей с судорогами менялся аналогичным образом: IL-1 β в 7 раз ($F = 25,5$; $\chi^2 = 42,5$; $p < 0,001$); IL-6 в 5,6 раза ($F = 14,1$; $\chi^2 = 40,1$; $p < 0,001$); TNF α в 6,1 раза ($F = 11,4$; $\chi^2 = 28,7$; $p < 0,001$) превышал нормативы здоровых новорожденных.

При проведении корреляционного анализа τ -Кендалла выявлены множественные корреляционные связи с другими показателями новорожденных. У новорожденных с судорогами выявлена прямая корреляционная зависимость между гиперпродукцией IL-1 β , IL-6, TNF α и асфиксией при рождении, повышенным уровнем С-реактивного белка, полиорганной недостаточностью. Прямая средней силы корреляционная

ТАБЛИЦА 1. ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС НОВОРОЖДЕННЫХ С СУДОРОГАМИ, М±m

TABLE 1. CYTOKINE STATUS OF NEWBORNS WITH SEIZURES, M±m

Цитокины, пг/мл Cytokines, pg/ml	Контрольная группа Control group (n = 46)		Основная группа Main group (n = 139)	
	Доношенные Term (n = 25)	Недоношенные Premature (n = 21)	Доношенные Term (n = 58)	Недоношенные Premature (n = 81)
IL-1β	5,8±0,5 (3,1-14,0)	2,6±0,1 (1,6-3,6)	10,8±0,9*** (2,2-32,0)	18,1±1,8*** (3,1-34,8)
IL-6	5,6±0,4 (4,0-12,0)	3,2±0,2 (1,7-5,2)	17,1±1,5*** (1,5-61,9)	18,1±2,1*** (1,5-107,5)
IL-4	3,1±0,3 (0,9-5,0)	3,7±0,3 (3,2-4,3)	2,6±0,2** (0,8-6,6)	2,2±0,2 (1,1-3,8)
TNFα	3,2±0,6 (0,5-10,1)	1,6±0,2 (1,2-2,1)	9,9±1,2*** (0,5-56,9)	9,75±1,20** (7,3-12,7)

Примечание. М – среднее значение, m – стандартная ошибка, (min-max) – размах вариации: минимальные и максимальные значения ряда. Статистическая достоверность разницы с показателями контрольной группы: * – p < 0,05; ** – p < 0,01; *** – p < 0,001.

Note. M, mean value; m, standard error; (min-max), range of variation: minimum and maximum values of the series. Statistical significance of the difference with the indicators of the control group: *, p < 0.05; **, p < 0.01; ***, p < 0.001.

ТАБЛИЦА 2. КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ ВЗАИМОСВЯЗИ У НОВОРОЖДЕННЫХ С СУДОРОГАМИ

TABLE 2. CORRELATIONS OF NEWBORNS WITH SEIZURES

Цитокины, пг/мл Cytokines, pg/ml	Корреляция/достоверность Correlation / Reliability	Оценка по шкале Апгар Apgar score	С-реактивный белок C-reactive protein	Полиорган недост Multiple org failure	Синдром угнетения Syndrome of depression	Синдром гипервозбудимости Syndrom hyperexcitability	Вентрикуломегалия Ventrikulomegaly	Вентрикулит Ventriculitis	Внутричерепные кровоизлияния Intracranial hemorrhages
IL-1β	τ	0,206**	0,182**	0,144*	0,195**	0,174**	0,257**	0,274**	0,203**
	p	0,000	0,002	0,018	0,001	0,004	0,000	0,000	0,001
IL-6	τ	0,197**	0,158**	0,212**	0,249**	0,246**	0,345**	0,329**	0,250**
	p	0,001	0,008	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
IL-4	τ	-0,186**	-0,133**	-0,132*	-0,198**	-0,146	-0,141**	-0,193**	-0,144**
	p	0,001	0,029	0,032	0,001	0,018	0,019	0,002	0,016
TNFα	τ	0,141*	0,080*	0,133*	0,186	0,126**	0,288**	0,263**	0,135*
	p	0,013	0,179	0,029	0,002	0,307	0,000	0,000	0,022

ТАБЛИЦА 3. АНАЛИЗ ANOVA В ОЦЕНКЕ ЦИТОКЕМИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ С СУДОРОГАМИ

TABLE 3. ANOVA ANALYSIS IN THE ASSESSMENT OF CYTOKENEMIA OF NEWBORNS WITH SEIZURES

Цитокины, пг/мл Cytokines, pg/ml	F (Fisher)		EIF% (Snedecor)		LB ₉₅		UB ₉₅		P _{FS}
	Доношен- ные Term	Недоно- шенные Premature	Доношен- ные Term	Недоно- шенные Premature	38-40	27-37	38-40	27-37	
IL-1β	47,4	23,4	35,7	163,3	32,5	163,3	38,8	160,8	0,000
IL-6	44,9	37,6	65,1	170,2	63,4	315,7	66,8	167,7	0,000
IL-4	0,872	85,7	1,1	2,7	0,0	84,4	6,1	0,0	0,104
TNFα	75,6	15,1	48,6	62,2	46,0	60,8	51,1	63,6	0,000

Примечание. EIF% – степень влияния фактора; ДИ – доверительный интервал; FS – значение критерия Фишера–Снедекора (Fisher–Snedecor); IL – цитокины.

Note. EIF%, the degree of influence of the factor; CI, confidence interval; FS, value of the Fisher–Snedecor test; IL, cytokines.

связь отмечалась между провоспалительными цитокинами и неврологической симптоматикой (синдромом общего угнетения, гипервозбудимостью, двигательными нарушениями), морфологическими изменениями ЦНС (внутрижелудочковыми кровоизлияниями, церебральной ишемией, вентрикулитом, вентрикуломегалией). Отрицательная связь выявлена между IL-4 и низкой оценкой по шкале Апгар при рождении ($\tau = -0,186^{**}$, $p = 0,001$), С-реактивного белка ($\tau = -0,133^{**}$, $p = 0,029$), мультиорганной дисфункцией ($\tau = -0,132^{**}$, $p = 0,032$), а также с поражением ЦНС.

Для доношенных оптимальной «точкой отсечения» для IL-1β является величина 8,5 пг/мл. В этой точке чувствительность равна (Sn) 63,8±6,3%, специфичность (Sp) 92,0±5,4%; при IL-6 ≥ 8,2 – Sn = 79,3±5,3%, Sp = 88,0±6,5%, IL-4 ≤ 1,2 – Sn = 91,1±3,8%, Sp = 16,0±7,3%; TNFα ≥ 3,8 – Sn = 77,2±5,6%, Sp = 84,0±7,3%.

Для недоношенных оптимальной «точкой отсечения» для IL-1β является величина 3,7 пг/мл. В этой точке чувствительность равна (Sn) 90,1±3,3%, специфичность (Sp) 100,0±0,0%; при IL-6 ≥ 4,2 – Sn = 91,4%, Sp = 95,2±4,6%, IL-4 ≤ 3,9 Sn = 13,8±3,9%, Sp = 71,4±9,9%; TNFα ≥ 3,7 – Sn = 76,8±4,7%, Sp = 100,0±0,0%.

Для оценки значимости цитокинов и силы влияния их экспрессии на реализацию судорожного синдрома у новорожденных использован дисперсионный метод (FS-критерий Фишера–Снедекора) с вычислением 95% нижней и верхней границ. Согласно данным в таблице 2,

наиболее значимое влияние на развитие судорог оказывает повышенный уровень провоспалительных цитокинов (IL-1β, IL-6, TNFα).

Обсуждение

Таким образом, проведенные исследования показали, что при судорожном синдроме, ряд клинических и лабораторных признаков находятся в коррелятивной связи с параметрами иммунной системы. Выявленная направленность иммунных сдвигов и их выраженность указывают на важную патогенетическую роль иммунных механизмов в развитии и прогрессировании изменений в состоянии новорожденных с судорогами. Это связано, с тем, что цитокины, обладая широким спектром биологической активности, также регулируют взаимодействия главных биологических интегративных систем организма – нервной, иммунной и эндокринной.

В неонатальный период в развитии церебральных поражений гипоксическо-ишемического генеза важную роль играет нейровоспаление и поэтому высокие уровни провоспалительных цитокинов при судорогах рассматриваются критерий тяжести поражения мозга.

Заключение

В нашем исследовании выявлены изменения изучаемых сывороточных цитокинов, возникающие в результате реакции иммунной системы с формированием воспалительной реакции и клинической симптоматики у новорожденных с

судорогами на фоне перинатального поражения ЦНС различной степенью тяжести по сравнению с новорожденными контрольных групп. Так, поврежденная в результате гипоксии, ишемии или травмы ткань мозга может быть источником провоспалительных цитокинов, обладающих потенциально нейротоксическим действием. Повышенная концентрация провоспалительных цитокинов у новорожденных с ГИЭ с нарушением проницаемости гематоэнцефалического барьера приводит к поддержанию судорожной активности и усугубляет дальнейший неблаго-

приятный неврологический исход. Выявленное нами достоверное повышение уровня цитокинов с противовоспалительной направленностью показало, что при неонатальных судорогах церебральные нарушения и дисфункция ряда органов и систем находятся в коррелятивной связи с параметрами иммунной системы. Таким образом, экспрессия провоспалительных цитокинов может служить дополнительным маркером своевременной диагностики и прогнозирования неонатальных судорог на фоне перинатального гипоксически-ишемического поражения ЦНС.

Список литературы / References

1. Айкарди Ж., Бакс М., Гиллберг К. Заболевания нервной системы у детей. Пер. с англ.; под ред. А.А. Скоромца. М., 2013. 1036 с. [Aikardi J., Bax M., Gillberg K. Diseases of the nervous system in children (Translated from English under the editorship of A.A. Skoromets)]. Moscow, 2013. 1036 p.
2. Галашева З.В., Поскотнинова Л.В. Роль интерлейкина-6 и интерлейкина-10 в функционировании НС // Вестник САФУ. Сер.: Медико-биологические науки, 2016. № 3. С. 5-17. [Galasheva Z.V., Poskotinova L.V. The role of interleukin-6 and interleukin-10 in the nervous system function at the early and mature stages of ontogeny. *Vestnik SAFU. Ser.: Mediko-biologicheskie nauki = Bulletin of the Northern (Arctic) Federal University. Biomedical Sciences*, 2016, no. 3, pp. 5-17. (In Russ.)]
3. Гараев В.Р., Скоромец А.П., Шумилина М.В., Горелик Ю.В., Мостовой А.В., Любименко В.А., Шабалов В.П., Каган А.В. Новые возможности терапии детей, родившихся в состоянии асфиксии, и предикторы их неврологического исхода // Нейрохирургия и неврология детского возраста, 2012. Т. 31, № 1. С. 79-83. [Garaev V.R., Skoromets A.P., Shumilina M.V., Gorelik Yu.V., Mostovoy A.V., Lyubimenko V.A., Shabalov V.P., Kagan A.V. New possibilities of therapy for children born with asphyxia and predictors of their neurological outcome. *Neyrokhirurgiya i nevrologiya detskogo vozrasta = Pediatric Neurosurgery and Neurology*, 2012, Vol. 31, no. 1, pp. 79-83. (In Russ.)]
4. Карпова Л.Н., Таранушенко Т.Е., Салмина А.Б. Клинико-метаболические особенности церебральной ишемии у доношенных новорожденных с анемией // Педиатрия, 2011. Т. 90, № 1. С. 23-29. [Karpova L.N., Taranushenko T.E., Salmina A.B. Clinical and metabolic features of cerebral ischemia in term infants with anemia. *Pediatriya = Russian Pediatrics*, 2011, Vol. 90, № 1, pp. 23-29. (In Russ.)]
5. Панченко А.С., Панова М.С. Биохимические маркеры гипоксического поражения головного мозга у доношенных новорожденных // Доктор.Ру, 2020. Т.19, № 3. С. 12-16. [Panchenko A.S., Panova M.S. Biochemical markers of hypoxic brain damage in full-term newborns. *Doktor.Ru = Doctor.Ru*, 2020, Vol. 19, no. 3, pp. 12-16. (In Russ.)]
6. Рагимова Н.Д., Гурбанова Г.М. Нейроиммунологические нарушения у недоношенных детей с перинатальными инфекциями // Педиатрическая фармакология, 2018. Т. 15, № 1. С. 95-101. [Rahimova N.J., Gurbanova G.M. Neuroimmunological disturbance features in premature infants with perinatal infections. *Pediatricheskaya farmakologiya = Pediatric Pharmacology*, 2018, Vol. 15, no. 1, pp. 95-101. (In Russ.)]
7. Созаева Д.И., Бережанская С.Б. Основные механизмы взаимодействия нервной и иммунной систем. Клинико-экспериментальные данные // Кубанский научный медицинский вестник, 2014. № 3 (145). С. 145-150. [Sozaeva D.I., Berezhanskaya S.B. The basic mechanisms of interaction nervous and immune systems. Clinico-experimental data. *Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik = Kuban Scientific Medical Bulletin*, 2014, no. 3 (145), pp. 145-150. (In Russ.)]
8. Чистякова Г.Н., Ремизова И.И., Газиева И.А., Бычкова С.В., Занина Е.В., Чарипова Б.Т. Про- и противовоспалительные медиаторы у новорожденных с перинатальной патологией // Российский вестник перинатологии и педиатрии, 2014. Т. 59, № 2. С. 66-70. [Chistyakova G.N., Remizova I.I., Gazieva I.A., Bychkova S.V., Zanina E.V., Charipova B.T. Pro- and anti-inflammatory mediators in neonates with perinatal pathology. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*, 2014, Vol. 59, no. 2, pp. 66-70. (In Russ.)]
9. Aly H., Khashaba M.T., El Ayouty M., El Sayed O., Hasanein B.M. IL-1 beta, IL-6 and TNF-alpha and outcomes of neonatal hypoxic ischemic encephalopathy. *Brain Dev.*, 2006, Vol. 28, no. 3, pp. 178-182.

10. Arimoto T., Choi D.-Y., Lu X., Liu M., Nguyen X.V., Zheng N., Stewart C.A., Kim H.-C., Bing G. Interleukin 10 protects against inflammation-mediated degeneration of dopaminergic neurons in substantia nigra. *Neurobiol. Aging*, 2007, Vol. 28, no. 6, pp. 894-906.
11. Boylan G., Stevenson N., Vabhatalo S. Monitoring neonatal seizures. *Semin. Fetal Neonatal Med.*, 2013, Vol. 18, no. 4, pp. 202-208.
12. Garg P.R., Saraswathy K.N., Kalla A.K., Sinha E., Ghosh P.K. Pro-inflammatory cytokine gene polymorphisms and threat for coronary heart disease in a North Indian Agrawal population. *Gene*, 2013, Vol. 514, no. 1, pp. 69-74.
13. Glass H. Neonatal seizures: advances in mechanisms and management. *Clin. Perinatol.*, 2014, Vol. 41, no. 1, pp. 177-190.
14. Glass H.C., Shellhaas R.A., Wusthoff C.J., Chang T., Abend N.S., Chu C.J., Cilio M.R., Glidden D.V., Bonifacio S.L., Massey S., Tsuchida T.N., Silverstein F.S., Soul J.S., Neonatal Seizure Registry Study Group. Contemporary profile of seizures in neonates: A prospective cohort study. *J. Pediatr.*, 2016, Vol. 174, pp. 98-103.
15. Hart A., Pilling E., Alix J. Neonatal seizures – part 1: Not everything that jerks, stiffens and shakes is a fit. *Arch. Dis. Child Educ. Pract. Ed.*, 2015, Vol. 100, pp. 170-175.
16. Hernandez-Ontiveros D.G., Tajiri N., Acosta S., Giunta B., Tan J., Borlongan C.V. Microglia activation as a biomarker for traumatic brain injury. *Front. Neurol.*, 2013, Vol. 4, 30. doi: 10.3389/fneur.2013.00030.
17. Jensen F., Silverstein F. Neonatal seizures. In: Swaiman's Pediatric Neurology: Principles and Practice 5th edition [Internet]. In: Swaiman K., Ashwal S., Ferriero D.M., N.F. S., editors. Edinburgh: Elsevier; 2012 [Cited 2016 Aug 15]. Available from: ClinicalKey Australia.
18. Lisyany N.I., Znamenska T.K., Martyniuk V.Yu., Shveikina V.B. To the question of neuroimmune mechanisms in the formation of perinatal brain damage. *Modern Pediatrics. Ukraine*, 2019, Vol. 6, no. 102, 7289. doi 10.15574/SP.2019.102.72.
19. Rao S., Lewis B., Ghosh S., Nagarajan L. Clinical approach to neonatal seizures. In: Nagarajan L., editor. Neonatal seizures: current treatment and future challenges. London: Mac Keith Press, 2016.
20. Sävman K., Blennow M., Hagberg H., Tarkowski E., Thoresen M., Whitelaw A. Cytokine response in cerebrospinal fluid from preterm infants with posthaemorrhagic ventricular dilatation. *Acta Paediatr.*, 2007, Vol. 91, no. 12, pp. 1357-1363.
21. Sivaswamy L. Approach to neonatal seizures. *Clin. Pediatr. (Phila)*, 2012, Vol. 51, no. 5, pp. 415-425.

Авторы:

Гурбанова Г.М. — к.м.н., ассистент кафедры неврологии
Азербайджанского государственного института
усовершенствования врачей имени А. Алиева, г. Баку,
Азербайджан

Рагимова Н.Д. — д.м.н., доцент, заместитель
директора по научной работе Научно-
исследовательского института педиатрии имени
К.Я. Фараджевой, г. Баку, Азербайджан

Authors:

Gurbanova G.M., PhD (Medicine), Assistant Professor,
Department of Neurology, A.Aliyev Azerbaijan State Medical
Institute for Postgraduate Education, Baku, Azerbaijan

Ragimova N.J., PhD, MD (Medicine), Associate Professor,
Deputy Director for Research, K. Farajova Research Institute
of Pediatrics, Baku, Azerbaijan

Поступила 23.03.2021
Принята к печати 18.04.2021

Received 23.03.2021
Accepted 18.04.2021

ПАРАМЕТРЫ ИММУНИТЕТА У ВЗРОСЛЫХ БОЛЬНЫХ КОРЬЮ В СРАВНЕНИИ СО ЗДОРОВЫМИ

Топтыгина А.П.^{1,2}, Андреев Ю.Ю.¹

¹ ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия

² ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Резюме. Корь – высококонтагиозная вирусная инфекция, передающаяся воздушно-капельным путем и характеризующаяся лихорадкой, интоксикацией и специфическими высыпаниями на коже и слизистых. Несмотря на наличие высокоэффективных вакцин и многолетние усилия мирового медицинского сообщества, проводящего под эгидой ВОЗ активную иммунизацию населения земного шара против этой инфекции, корь все еще остается серьезной проблемой. Целью настоящей работы было исследовать влияние коревой инфекции у взрослых на широкий спектр субпопуляций лимфоцитов и цитокновый профиль крови в сравнении со здоровым контролем.

Исследовали пробы венозной крови от 50 взрослых больных корью в возрасте от 20 до 55 лет, взятые на 6 ± 1 день после появления сыпи, в сравнении с пробами крови от 50 здоровых взрослых, сопоставимых по возрасту. В пробирку типа эппендорф отбирали 200 мкл плазмы, образовавшейся в результате самопроизвольного оседания форменных элементов, замораживали при -30°C и использовали в течение 3 месяцев для исследования цитокинового профиля. 15 цитокинов тестировали мультиплексным методом (MagPlex, BioRad, США). Мононуклеары выделяли методом градиентного центрифугирования и иммунофенотипировали с помощью четырехцветного окрашивания, технологии и реактивы BD Biosciences (США).

В группе больных корью обнаружена активация врожденного иммунитета: значимо повышены цитокины IL-1, IL-6, IL-23, IL-31 и TNF, относящиеся к ранним провоспалительным цитокинам. У больных корью впервые выявлено значимое повышение цитокинов, свидетельствующее об активном участии клеток эпителия в иммунном ответе на вирус кори. Они выделяют сигналы опасности (IL-25 и IL-33), индуцируя развитие адаптивного иммунитета, активизируют свои защитные способности через продукцию IL-17F и занимаются репарацией под действием IL-22. Клетки адаптивного иммунитета подвергаются инфицированию вирусом кори и гибнут, одновременно они активно отвечают на вирусную инфекцию и пролиферируют, что приводит к изменению соотношения их субпопуляций. Так у больных выявлено значимое снижение T-лимфоцитов за счет снижения CD4^+ клеток, повышение процента клеток в состоянии senescent и exhaustion, значимое снижение субпопуляций T_{EMRO} как среди CD4^+ , так и CD8^+ лимфоцитов, повышение $\text{CD8}^+\text{T}_{\text{CM}}$. Уровень субпопуляций В-клеток (V_m, V₁, V_{reg}) у больных корью не отличался от здоровых, а уровень плазмобластов был значимо повышен. Уровень субпопуляций CD4^+ лимфоцитов и продукция ими цитокинов-маркеров сильно различалась. В группе больных обнаружен сдвиг типа иммунного ответа в сторону Th2 и Th17, выявлена активация Tfh и Treg, обнаружена повышенная экспрессия маркеров активации HLA-DR и CD38.

Адрес для переписки:

Топтыгина Анна Павловна
ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора
125212, Россия, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10.
Тел.: 8 (495) 452-18-01.
Факс: 8 (495) 452-18-30.
E-mail: toptyginaanna@rambler.ru

Address for correspondence:

Toptygina Anna P.
G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology
125212, Russian Federation, Moscow,
Admiral Makarov str., 10.
Phone: 7 (495) 452-18-01.
Fax: 7 (495) 452-18-30.
E-mail: toptyginaanna@rambler.ru

Образец цитирования:

А.П. Топтыгина, Ю.Ю. Андреев «Параметры иммунитета у взрослых больных корью в сравнении со здоровыми» // Российский иммунологический журнал, 2022. Т. 25, № 1. С. 63-72.

doi: 10.46235/1028-7221-1084-IPI

© Топтыгина А.П., Андреев Ю.Ю., 2022

For citation:

A.P. Toptygina, Yu. Yu. Andreev "Immunity parameters in adults with measles compared with healthy persons", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2022, Vol. 25, no. 1, pp. 63-72.

doi: 10.46235/1028-7221-1084-IPI

DOI: 10.46235/1028-7221-1084-IPI

В ответ на коревую инфекцию в организме больного идет несколько независимых, разнонаправленных процессов. С одной стороны, вирус кори атакует эпителиальные клетки слизистых и кожи и иммунокомпетентные клетки, оказывая цитопатическое действие и приводя к лимфопении и избирательному снижению различных субпопуляций лимфоцитов. С другой стороны, вирус кори инициирует активацию как врожденного, так и адаптивного иммунитета, что приводит к продукции соответствующих цитокинов, экспрессии маркеров активации и увеличению субпопуляций клеток-эффекторов. Лучшее понимание иммунопатогенеза коревой инфекции и ассоциированной с ним иммуносупрессии помогут улучшить результаты вакцинации от этой инфекции и предотвратить ассоциированные с корью смертельные исходы.

Ключевые слова: корь, цитокины, субпопуляции лимфоцитов, Т-лимфоциты, В-лимфоциты, иммунологическая память

IMMUNITY PARAMETERS IN ADULTS WITH MEASLES COMPARED WITH HEALTHY PERSONS

Toptygina A.P.^{a, b}, Andreev Yu.Yu.^a

^a G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

^b Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Abstract. Measles is a highly contagious viral infection transmitted by airborne droplets, characterized by fever, intoxication and specific rashes on the skin and mucous membranes. Despite the availability of highly effective vaccines and many years of efforts by the world medical community with active immunization of the world's population against this infection under the auspices of WHO, measles still remains a serious problem. The aim of this work was to investigate the effect of measles infection in adults upon the wide range of lymphocyte subsets and blood cytokine profile in comparison with healthy controls.

The venous blood samples from 50 adult measles patients aged 20 to 55 years, were taken 6 ± 1 days after the onset of skin rash, being compared with blood samples from 50 healthy adults of similar age group. The 200 μ L plasma aliquotes resulting from spontaneous sedimentation of the formed elements in an Eppendorf tube were taken, frozen at -30 °C and used within 3 months for the cytokine profile assays. 15 cytokines were tested by multiplex technique (MagPix, BioRad, USA). Mononuclear cells were isolated by gradient centrifugation and immunophenotyped using four-color staining by means of equipment and reagents from BD Biosciences (USA).

In the group of measles patients, activation of innate immunity was revealed, i.e., the IL-1, IL-6, IL-23, IL-31 cytokines and TNF, which belong to early pro-inflammatory cytokines, were significantly increased. In measles patients, a significant increase in cytokines was found, suggesting active participation of epithelial cells in immune response to the measles virus. They produce danger signals (IL-25 and IL-33), inducing the development of adaptive immunity, activate their protective abilities via IL-17F production, and are involved in repair under the influence of IL-22. Some cells of adaptive immunity are infected with the measles virus and die, others actively respond to the viral infection and proliferate, thus leading to changing ratio of their subsets. Hence, the patients showed a significant decrease in T lymphocytes due to a decrease in CD4⁺ cells, an increased percentage of cells in "senescent" and "exhaustion" state, a significant decrease in T_{EMRO} subpopulations, both among CD4⁺ and CD8⁺ lymphocytes, and an increase in CD8⁺T_{CM}. The levels of B cell subpopulations (Bm, B1, Breg) in measles patients did not differ from healthy ones, and the level of plasmablasts was significantly increased. The level of CD4⁺ lymphocyte subpopulations and production of their cytokine markers varied greatly. In the patient group, a shift in the type of immune response towards Th2 and Th17 was found, activation of Tfh and Treg was detected, and increased expression of HLA-DR and CD38 activation markers was found.

In response to measles infection, there are several independent, multidirectional processes observed in the patients. On the one hand, the measles virus attacks epithelial cells of mucous membranes and skin and immunocompetent cells, exerting a cytopathic effect and leading to lymphopenia and selective decrease in various lymphocyte subsets. On the other hand, the measles virus initiates activation of both innate and adaptive immunity, thus causing production of the corresponding cytokines, expression of activation markers, and an increase in effector cell subsets. Better understanding of the immunopathogenesis of measles infection and associated immunosuppression will help us to improve vaccination outcomes against this infection and prevent measles-related mortality.

Keywords: measles, cytokines, lymphocyte subsets, T lymphocytes, B lymphocytes, immunological memory

Введение

Корь – высококонтагиозная вирусная инфекция, передающаяся воздушно-капельным путем и характеризующаяся лихорадкой, интоксикацией и специфическими высыпаниями на коже и слизистых [11]. Несмотря на наличие высокоэффективных вакцин и многолетние усилия мирового медицинского сообщества, проводящего под эгидой ВОЗ активную иммунизацию населения земного шара против этой инфекции, корь все еще остается серьезной проблемой. Так, в 2019 г. корью заболело около 870 тыс. человек и умерло от кори и ее последствий более 200 тыс. человек [31]. Накрывшая мир пандемия COVID-19 привела к сбою в диагностике и учете коревой инфекции. Но еще более серьезными последствиями этой пандемии явились нарушения в графике прививок детей и, в частности, прививок против кори. Несомненно, увеличение количества не привитых детей чревато вспышками этой инфекции. Известно, что в результате заболевания корью формируется длительное состояние иммуносупрессии, которое может привести к смертельным исходам даже спустя 2 года после перенесенного заболевания [10, 23]. Но вирус кори может также приводить и к активации иммунной системы [12]. Более того, вирус кори индуцирует сильный гуморальный и клеточный иммунитет, который сохраняется многие десятилетия, защищая от повторного заражения [24]. Над разрешением этого парадокса работают лучшие умы мировой медицинской науки. Описана деплеция лимфоцитов и истощение лимфоидных фолликулов в начале коревой инфекции [8]. Было показано, что Т-клетки памяти более чувствительны к поражению коревым вирусом, чем наивные лимфоциты. В то же время В-клетки, как наивные, так и клетки памяти, одинаково чувствительны к заражению этим вирусом [8, 20]. Используя в качестве рецептора signaling lymphocytic activation molecule (SLAM) – CD150, вирус кори поражает активированные Т- и В-лимфоциты, лимфоциты памяти, тимоциты, дендритные клетки и макрофаги. Для внедрения в эпителиальные клетки кожи и слизистых вирус кори использует другой рецептор – nectin-4 [26, 29]. Известно, что SLAM опосредует TCR-индуцированную CD28-независимую пролиферацию Т-клеток памяти, дифференцировку хелперов в сторону Th1, продукцию интерферона ($IFN\gamma$) и интерлейкина (IL-17), пролиферацию и цитотоксичность $CD8^+$ лимфоцитов, пролиферацию В-клеток и синтез антител [14, 32]. Репликация вируса кори в В-клетках и Т-клетках памяти и пролиферация лимфоцитов в ответ на атаку вируса приводит к лимфопении и изменению соотношения субпопуляций лимфоцитов в крови больного [18]. Активное вмешательство вируса кори в формирование иммунного ответа на этот

вирус приводит к изменению цитокинового профиля сыворотки крови. Так, при кори показано переключение с продукции $IFN\gamma$ на IL-5, IL-10 и IL-17 [25]. Несмотря на активное изучение особенностей иммунного ответа при коревой инфекции, далеко не все еще ясно. Лучшее понимание иммунопатогенеза коревой инфекции и ассоциированной с ним иммуносупрессии помогут улучшить результаты вакцинации от этой инфекции и предотвратить ассоциированные с корью смертельные исходы.

Целью настоящей работы было исследовать влияние коревой инфекции у взрослых на широкий спектр субпопуляций лимфоцитов и цитокиновый профиль крови в сравнении со здоровым контролем.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 50 взрослых больных корью в возрасте от 20 до 55 лет. У всех больных диагноз был подтвержден клинически и лабораторно по наличию противокоревых IgM-антител. В контрольную группу вошли 50 условно здоровых взрослых, сопоставимых по возрасту. Обследованные лица подписывали информированное согласие на участие в исследовании. Кровь из локтевой вены в количестве 4 мл в вакуумную пробирку с ЭДТА брали у здоровых и у больных корью на 6 ± 1 день после появления сыпи. Из пробирок с кровью отбирали 200 мкл плазмы, образовавшейся в результате самопроизвольного оседания клеточных элементов, замораживали при -30°C и использовали в течение 3 месяцев для исследования цитокинового профиля. Затем из крови выделяли мононуклеары методом градиентного центрифугирования. Иммунофенотипирование лимфоцитов крови проводили методом проточной цитофлюорометрии с четырехцветным окрашиванием. Использовали технологию и реактивы BD Biosciences (США) – проточный цитометр BD FACS Canto II, программу сбора и обработки информации FACSDiva. Выделение лимфоидного региона проводилось по показателям прямого и бокового светорассеяния с учетом экспрессии CD45. Для определения субпопуляций лимфоцитов использовали следующие поверхностные маркеры: CD3-FITC, CD45-FITC, CD8-FITC, CD45RA-FITC, CD25-FITC, CD27-FITC, CD57-FITC, CD14-PE, CD(16+56)-PE, CD38-PE, CD122-PE, CD45R0-PE, CD127-PE, CD1d-PE, CD3-PerCP, CD4-PerCP, CD8-PerCP, CD5-PerCP, HLA-DR-APC, CD19-APC, CD279-APC, CD161-APC, CD62L-APC, CXCR5-APC.

Содержание 15 цитокинов (IL-1, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22, IL-23, IL-25, IL-31, IL-33, TNF, $IFN\gamma$, sCD40L) в плазме крови определяли мультиплексным методом на автоматизированном LED-анализаторе (MagPix,

Luminex, США), Количество цитокинов в исследуемых образцах определяли с использованием стандартных калибровочных разведений, концентрации цитокинов высчитывали автоматически с использованием программ Ехponent и Analist. Использовали коммерческую панель Th17 (BioRad, США), определяемый динамический диапазон 0,2-3200 пг/мл.

Результаты исследования были подвергнуты статистической обработке. Полученные результаты были исследованы на предмет нормальности распределение признака по методу Колмагорова—Смирнова. В случае подтверждения нормальности распределения использовали параметрическую статистику с вычислением средней и ее ошибки ($M \pm SE$). Различия между группами анализировали с помощью критерия t Стьюдента. Если нормальность распределения признака не была подтверждена, результаты представляли в виде медианы, первого и третьего квартилей — Me ($Q_{0,25}$ — $Q_{0,75}$). Использовали критерий Манна—Уитни для анализа различий. Уровень $p < 0,05$ считали значимым.

Результаты

В таблице 1 представлены основные крупные субпопуляции лимфоцитов. Из таблицы видно, что в крови больных корью значимо снижено количество Т-лимфоцитов. Разница с группой здоровых составила — 9,73% ($p < 0,05$). Это снижение происходит, по-видимому, за счет $CD3^+CD4^+$ лимфоцитов, разница между группой больных и здоровых составила 8,19% ($p < 0,05$). Также значимо были снижены наивные Т-хелперы $CD4^+CD127^+$ на 8,95% по сравнению с группой здоровых ($p < 0,01$). В то же время уровни $CD3^+CD8^+$ ци-

тотоксических клеток, $CD19^+$ В-клеток и $CD3^+CD16/56^+$ натуральных киллеров не различались в этих двух группах. Процент наивных лимфоцитов, несущих маркер CD45RA, был значимо снижен у больных корью на 6,9% ($p < 0,05$), тогда как уровень клеток памяти ($CD45RO$) в группе больных не отличался от здоровых. Также в группе больных была в 2,65 раза повышена субпопуляция активированных Т-лимфоцитов ($CD3^+HLA-DR^+$), разница составила 2,18% ($p < 0,01$).

Сопоставление малых субпопуляций $CD3^+CD4^+$ хелперов представлено на рисунке 1А. Разные субпопуляции $CD3^+CD4^+$ по-разному отвечают на коревую инфекцию. Так, хелперы, экспрессирующие CD25, демонстрируют лишь тенденцию к снижению у больных корью, фолликулярные хелперы — Tfh ($CD4^+CXCR5^+$) и регуляторные клетки — Treg ($CD4^+CD25^+CD127^-$) не различаются в 2 исследованных группах. В то же время значимо повышена субпопуляция Treg, экспрессирующая супрессорную молекулу PD-1 ($CD4^+CD25^+CD127^-CD279^+$), составившая у больных 0,24% против 0,1% у здоровых ($p < 0,05$). Также в группе больных оказались значимо снижены Th17 с 5,37% в группе здоровых до 2,95% у больных ($p < 0,01$). Интересно, что в группе больных корью оказались значимо повышены субпопуляция хелперов, экспрессирующая супрессорную молекулу PD-1: 1,83% у здоровых против 3,13% у больных ($p < 0,05$), и субпопуляция $CD4^+CD57^+$ лимфоцитов: 0,27% и 0,97% соответственно ($p < 0,01$). Это маркеры зрелых, высоко дифференцированных клеток.

Цитотоксические $CD3^+CD8^+$ лимфоциты тоже оказались вовлечены в инфекционный процесс (рис. 1Б). Так, в группе больных оказалась резко повышенной субпопуляция $CD8^+CD38^+$

ТАБЛИЦА 1. ОСНОВНЫЕ СУБПОПУЛЯЦИИ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ КОРЬЮ ПО СРАВНЕНИЮ СО ЗДОРОВЫМИ, %

TABLE 1. MAIN SUBSETS OF PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES IN MEASLES PATIENTS COMPARED WITH HEALTHY ONES, %

	Здоровые Healthy people	Больные корью Measles patients
CD3⁺	64,22±2,44	54,49±5,31*
CD3⁺CD4⁺	38,88±2,07	30,69±2,68*
CD3⁺CD8⁺	22,08±1,58	20,41±1,98
CD19⁺	5,81±0,67	5,09±0,69
CD3⁺CD16⁺CD56⁺	26,42±2,07	29,59±3,02
CD127⁺	66,33±2,10	41,93±6,17*
45RA⁺	55,17±1,75	48,27±3,17*
45RO⁺	27,15±1,97	24,03±1,34
CD4⁺CD127⁺	35,12±1,93	26,17±2,39*

Примечание. * — $p < 0,05$.

Note. *, $p < 0.05$.

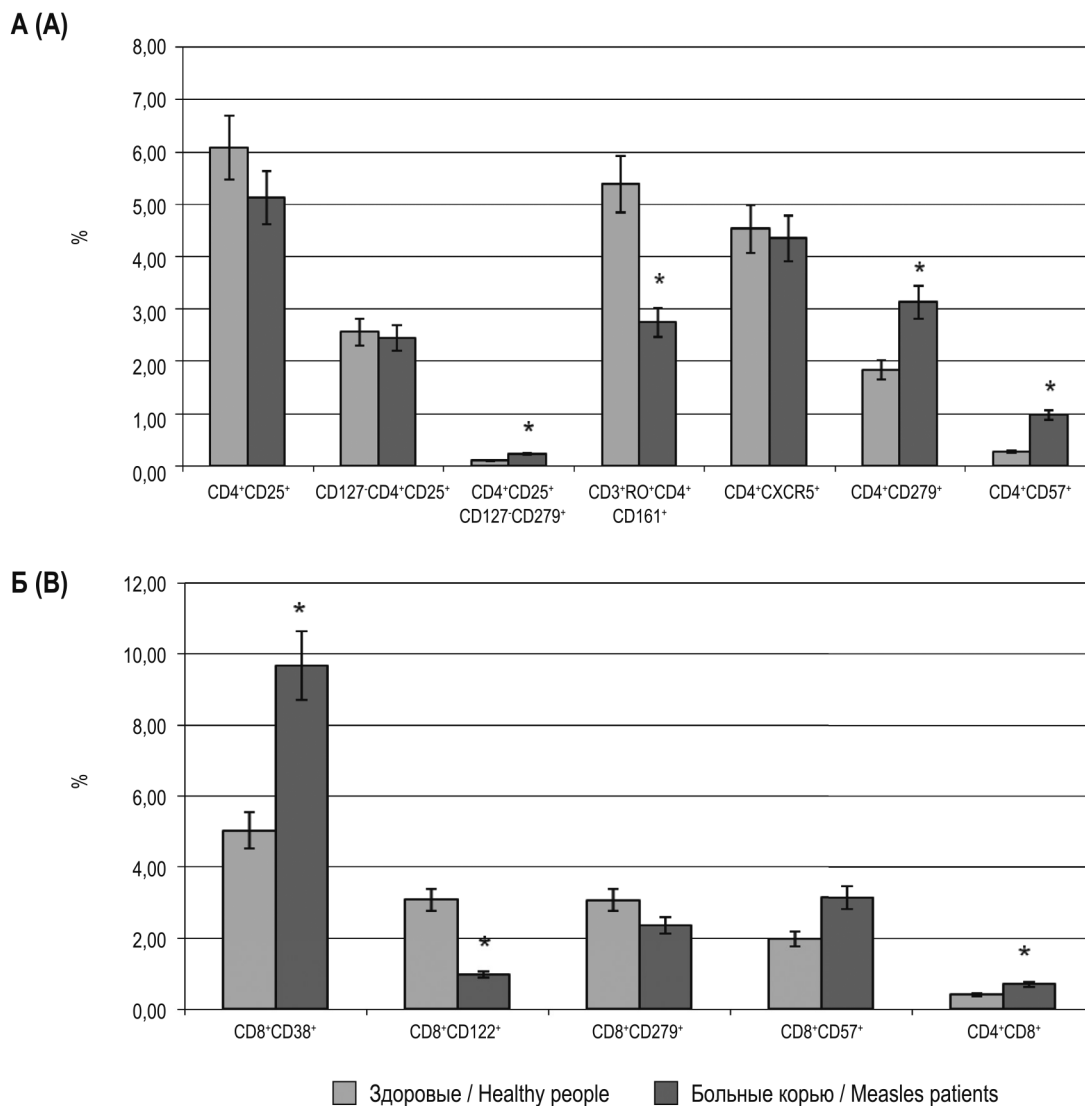


Рисунок 1. Сопоставление малых субпопуляций хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов в крови здоровых и больных корью

Примечание. А – субпопуляции CD3⁺CD4⁺Т-лимфоцитов. Б – субпопуляции CD3⁺CD8⁺Т-лимфоцитов. * – p < 0,05.

Figure 1. Comparison of small subsets of helpers and cytotoxic T lymphocytes in the blood of healthy and measles patients

Note. A, subpopulations of CD3⁺CD4⁺T lymphocytes. B, subpopulations of CD3⁺CD8⁺T lymphocytes. *, p < 0.05.

до 9,68% по сравнению с контрольной группой – 5,03% (p < 0,05), тогда как субпопуляция, экспрессирующая β-цепь рецептора интерлейкина 2 (CD8⁺CD122⁺), оказалась значимо снижена у больных до 0,97% против 3,08% у здоровых (p < 0,05). Также в группе больных обнаружено значимое повышение дважды положительных CD4⁺CD8⁺ лимфоцитов до 0,69% против 0,40% у здоровых (p < 0,05).

На рисунке 2 представлены субпопуляции наивных лимфоцитов и Т-клеточной памяти. Отмечается тенденция к снижению наивных клеток (CD4⁺CD45RA⁺CD62L⁺ и CD8⁺CD45RA⁺CD62L⁺). Однако значимое снижение в группе больных корью было выявлено в субпопуляции хелперов эффекторов памяти

– CD4⁺T_{EMRO} (CD4⁺CD45R0⁺CD62L⁻) с 5,46% у здоровых до 3,37% у больных (p < 0,05) и цитотоксических эффекторов памяти – CD8⁺T_{EMRO} (CD8⁺CD45R0⁺CD62L⁻) с 2,87% до 1,76%, соответственно (p < 0,05). В то же время субпопуляция цитотоксических центральных клеток памяти – CD8⁺T_{CM} (CD8⁺CD45R0⁺CD62L⁺), напротив, оказалась повышенной в группе больных корью до 3,79% против 1,73% у здоровых (p < 0,05).

Субпопуляции В-клеточного звена представлены на рисунке 3. Имеется тенденция к снижению В-клеток, однако ни субпопуляция В-клеточной памяти – V_m (CD19⁺CD27⁺), ни В1-клетки (CD19⁺CD5⁺), ни V_{reg} (CD19⁺CD5⁺CD1d⁺) не демонстрировали различий в 2 обследованных

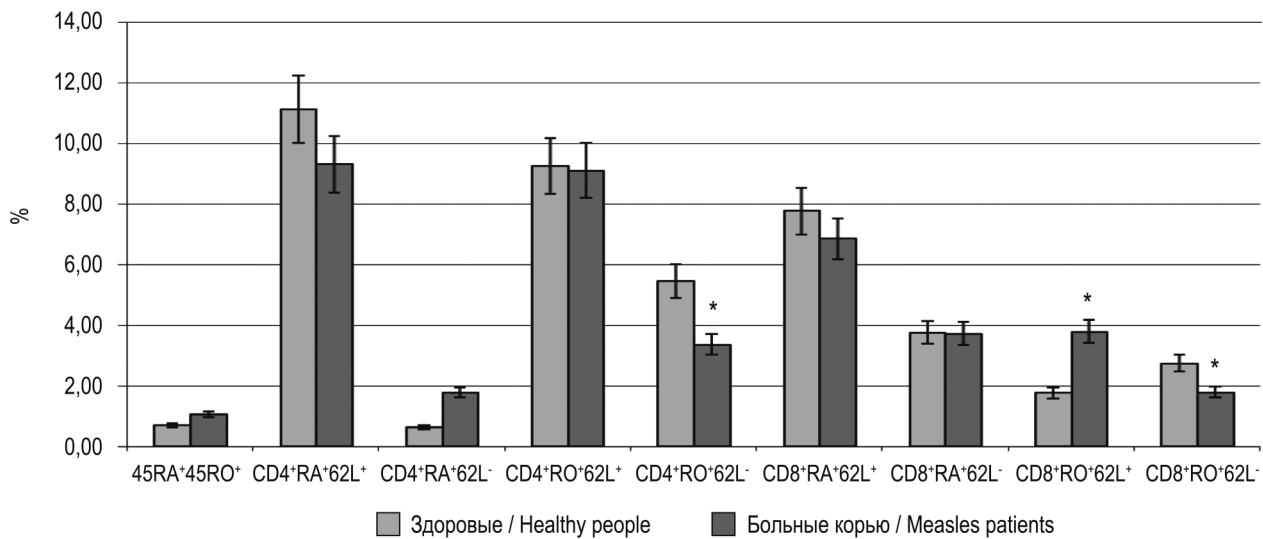


Рисунок 2. Субпопуляции наивных лимфоцитов и Т-клеток памяти у больных корью по сравнению со здоровыми
 Примечание. * – $p < 0,05$.

Figure 2. Subsets of naive lymphocytes and memory T cells in measles patients compared with healthy ones

Note. *, $p < 0.05$.

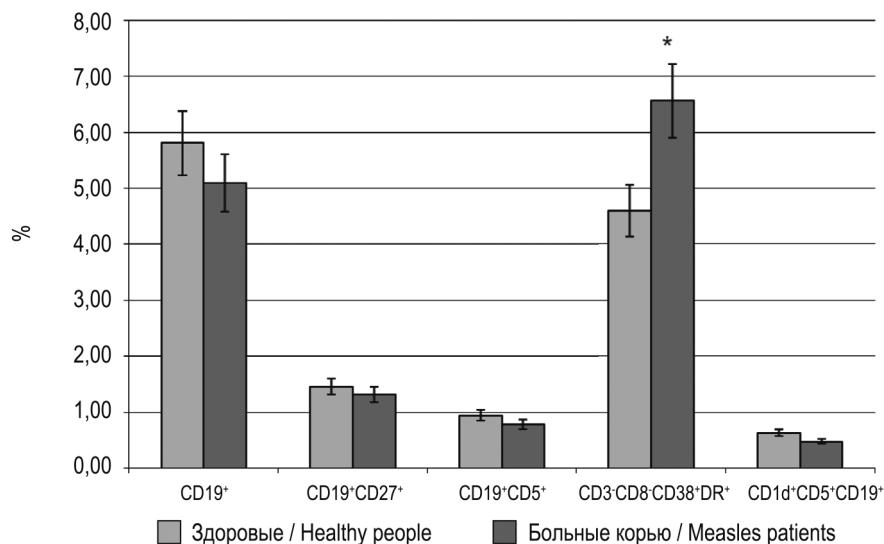


Рисунок 3. Сравнение субпопуляций В-клеточного звена в крови здоровых и больных корью

Примечание. * – $p < 0,05$.

Figure 3. Comparison of the B cell subsets in the blood of healthy and measles patients

Note. *, $p < 0.05$.

группах. Только субпопуляция плазмобластов (CD3*CD8*CD38*HLA-DR+) в группе больных корью (6,56%) значительно превышала соответствующий параметр группы здоровых – 4,59% ($p < 0,05$).

В таблице 2 представлены результаты определения содержания цитокинов в плазме крови больных корью по сравнению с группой здоровых. В группе больных корью оказались значительно повышены провоспалительные цитокины. Так, IL-1 и IL-23 были повышены в 2 раза, IL-6 и IL-31 превышали уровень контрольной группы

в 3 раза, а TNF – в 10 раз ($p < 0,001$). Цитокины-маркеры основных субпопуляций хелперов вели себя по-разному. Так, уровень $IFN\gamma$ (Th1-маркер) был снижен в 1,5 раза ($p < 0,05$), тогда как уровень маркеров Th2 – IL-4 и Th17 – IL-17A был повышен в 4 раза ($p < 0,001$). Цитокин-маркер Tfh – IL-21 был повышен в 2 раза ($p < 0,01$), а IL-10, продуцируемый Treg, был снижен в 1,5 раза ($p < 0,05$). В группе больных корью IL-25 был повышен в 2,9 раза, а IL-33 – в 1,7 раза ($p < 0,01$). Также и IL-22, производный субпопуляции Th22 и IL-17F у больных корью превышали уровень

ТАБЛИЦА 2. ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ КРОВИ БОЛЬНЫХ КОРЬЮ ПО СРАВНЕНИЮ СО ЗДОРОВЫМИ, Ме (Q_{0,25}-Q_{0,75})
TABLE 2. BLOOD CYTOKINE PROFILE OF MEASLES PATIENTS COMPARED WITH HEALTHY, Ме (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Цитокины Cytokines	Здоровые, пкг/мл Healthy people, pg/ml	Больные корью, пкг/мл Measles patients, pg/ml
IL-1 β	2,39 (2,14-2,73)	5,18 (4,51-5,81)
IL-6	7,22 (6,48-7,71)	23,18 (21,48-26,11)
TNF	1,16 (1,06-1,22)	10,32 (9,06-10,96)
IL-23	99,32 (92,08-108,50)	226,13 (201,44-244,97)
IL-31	5,71 (5,17-6,33)	15,96 (13,26-17,73)
IFN γ	13,03 (11,98-14,03)	8,28 (7,79-8,66)
IL-4	2,77 (2,53-3,01)	8,31 (7,71-8,76)
IL-17A	10,20 (9,03-10,90)	38,35 (35,40-40,90)
IL-21	7,89 (6,79-8,85)	16,57 (14,89-18,64)
IL-10	2,13 (1,92-2,31)	1,51 (1,30-1,68)
IL-25	1,87 (1,61-2,08)	5,37 (4,79-5,57)
IL-33	46,43 (43,68-49,65)	78,59 (75,27-81,98)
IL-22	12,22 (10,35-13,27)	25,16 (22,37-27,75)
IL-17F	44,23 (40,75-46,80)	103,64 (98,73-109,31)
sCD40L	340,34 (312,00-366,25)	160,97 (142,75-179,63)

здоровых в 2 раза ($p < 0,01$). Интересно, что в группе больных растворимый CD40L был снижен в 2 раза ($p < 0,01$).

Обсуждение

В результате проведенной работы было показано, что воздействие вируса кори на иммунитет проявились уже на уровне врожденного иммунитета. Так, в крови больных корью через 6 дней после появления сыпи оказались значимо повышены цитокины IL-1, IL-6, IL-23, IL-31 и TNF, относящиеся к ранним провоспалительным цитокинам и говорящие об активации клеток врожденного иммунитета. Ранее у детей, больных корью, также было показано повышение уровней IL-1, IL-6 и TNF [21], однако уровни IL-23 и IL-31 не были исследованы. Показано, что в процессе коревой инфекции возрастает активация NLRP3, необходимая для формирования инфламмосомы и созревания цитокинов семейства IL-1 [17]. Также была доказана активация дендритных клеток и макрофагов в ответ на вирус кори и повышение продукции цитокинов, индуцируемых NF κ B через связывание TLR2 с гемагглютинином вируса кори [33]. Выявленное нами повышение уровней провоспалительных цитокинов способствует активации клеток врожденного иммунитета и индукции адаптивного иммунного ответа на вирус кори.

Известно, что вирус кори поражает эпителиальные клетки слизистых и кожи [13]. Эпителиальные клетки сигнализируют о своем повреждении патогенами, продуцируя IL-25 и IL-33 [16, 28]. Являясь членом семейства IL-17

(другое его название IL-17E), IL-25 индуцирует эозинофилию и продукцию IgE, т.е. способствует Th2-типу иммунного ответа [9]. Интересно, что IL-33 является членом семейства IL-1. Он локализуется в ядре клеток и функционирует как гетерохроматин-ассоциированный транскрипционный репрессор. При процессировании его каспазами, он инактивируется при апоптозе, тогда как целая молекула, выделяясь при разрушении клеток, является алармином [6]. При этом IL-33 также склоняет тип иммунного ответа в сторону Th2 [15]. Оба этих цитокина оказались значимо повышены в группе больных корью по сравнению со здоровыми. Известно, что IL-22, производный субпопуляции Th22, принадлежит к семейству IL-10 и является одним из главных цитокинов, обеспечивающих гомеостаз и репарацию эпителиальных клеток [30]. В то же время IL-17F, синтезируемый эпителиальными клетками в ответ на инфицирование, активирует эпителиальные клетки и повышает защитные и барьерные функции этих клеток [22]. Оба эти цитокина оказались значимо повышены в группе больных корью. Воздействие вируса кори на эпителий и иммунную систему кожи является предметом серьезного изучения [19], однако нам не удалось найти исследования уровней этих цитокинов при кори в мировой литературе. Описанные выше данные, взятые вместе, свидетельствуют о том, что клетки эпителия активно участвуют в иммунном ответе на вирус кори. Будучи пораженными вирусом, они выделяют сигналы опасности (IL-25 и IL-33), индуцируя развитие адаптивного иммунитета, активизируют свои собственные за-

щитные способности через продукцию IL-17F и занимаются репарацией под действием IL-22.

Адаптивный иммунитет также подвергается атаке вирусов кори. В группе больных корью снижено количество Т-клеток, преимущественно за счет снижения Т-хелперов. Это снижение касается в основном наивных Т-клеток, тогда как Т-клетки памяти демонстрируют лишь тенденцию к снижению. Аналогичные данные были получены и другими авторами, что соответствует, по-видимому, описанной ранее лимфопении при коревой инфекции [8]. Видимо, обнаруженное нами значимое повышение субпопуляций CD4⁺, экспрессирующих PD-1 и CD4⁺CD57⁺ (такая экспрессия характерна для клеток в состоянии senescent и exhaustion) также вызвано повреждением вирусом Т-клеток и готовностью этих клеток уйти в апоптоз.

Количество В-клеток осталось неизменным, а повышение уровня НК-клеток оказалось не значимым. Интересно, что уровень субпопуляций В-клеток (V_m, V₁, V_{reg}) у больных корью не отличался от здоровых, хотя известно, что вирус кори активно заражает и наивные, и V_m [20]. Возможно, это связано с тем, что помимо заражения и уничтожения В-клеток, вирус кори стимулирует В-клеточный противовирусный иммунный ответ, что сопровождается клеточной пролиферацией. Поэтому на уровне всего пула В-клеток изменения не так заметны. О результатах такой стимуляции свидетельствует обнаруженное нами повышение уровня плазмобластов в крови больных. Однако исследование специфических V_m после коревой инфекции выявляет существенные потери в спектре, например, поствакцинальных V_m, которые были до заболевания корью и не выявлялись после. Эти потери столь существенны, что в мировой литературе этот феномен называют «иммунной амнезией» [7, 8].

Детальное исследование различных субпопуляций Т-клеток памяти позволило обнаружить значимое снижение субпопуляций T_{EMRO} как среди CD4⁺, так и CD8⁺ лимфоцитов. В то же время субпопуляция CD8⁺T_{CM} была значимо повышена в группе больных. Похожие изменения в этих субпопуляциях обнаруживались и ранее [18, 20]. По-видимому, эти изменения соответствуют эффекторной фазе развития иммунного ответа, характеризующейся активацией CD8⁺T_{CM} и миграцией субпопуляций T_{EMRO} в органы и ткани для разрешения воспаления. И именно из-за разнонаправленных изменений в уровнях разных субпопуляций Т-клеток памяти не удалось обнаружить значимого снижения на уровне всего пула клеток памяти, которые, как говорилось выше, поражаются вирусом кори. Похожие соотношения в субпопуляциях Т-клеток памяти были получены при изучении иммунного ответа на прививку против кори [3].

Нами были выявлены изменения в уровнях малых субпопуляций лимфоцитов и цитокинов-маркеров этих субпопуляций. Так, уровни субпопуляций T_{fh} и T_{reg} у больных корью, выявленные по поверхностным маркерам, значимо не отличались от группы здоровых. Однако IL-21, типичный для T_{fh}, был значимо повышен в 2 раза, а IL-10, характерный для T_{reg}, напротив, снижен в 1,5 раза. Одновременно была значимо повышена экспрессия регуляторной молекулы PD-1 на T_{reg}. Это говорит о повышении супрессорной активности T_{reg}, осуществляемой контактным способом. Интересно, что в крови больных корью было выявлено значимое снижение Th17, но при этом уровень их цитокина-маркера IL-17A был повышен в 4 раза, что значимо отличалось от группы здоровых. Эти различия говорят о вовлеченности и функциональной активности обсуждаемых субпопуляций, тогда как снижение численности в периферической крови может свидетельствовать о перераспределении той или иной субпопуляции из крови в ткани, где и происходит борьба с вирусом. Ранее было показано, что повышенный уровень IL-17 у больных корью по мере затухания инфекционного процесса снижается, а уровень IL-10, напротив, растет. Аналогичные изменения были выявлены и у привитых от этой инфекции [4, 27]. При сопоставлении уровней IFN γ /IL-4 оказалось, что этот индекс в группе здоровых составил 4,7, а в группе больных – 0,996, что явно свидетельствует о сдвиге типа иммунного ответа в сторону Th2. Сходные результаты были получены у детей, больных корью. Было выявлено повышение IFN γ , IL-2, IL-10 и IL-17 [21]. Ранее было показано, что превалирование в начале инфицирования Th1-типа иммунного ответа (повышение уровня IFN γ) быстро сменяется Th2-типом (повышение IL-4) [2, 12]. Понятно, что соотношение IFN γ /IL-4 постепенно снижается с течением времени от начала заболевания. Возможно, переключению типа иммунного ответа с Th1 на Th2 способствует также активная продукция поврежденными клетками эпителия IL-25 и IL-33, которые индуцируют продукцию цитокинов второго типа [9, 15].

В группе больных корью были выявлены повышенные уровни маркеров активации. Так, был значимо повышен уровень активированных Т-клеток (CD3⁺HLA-DR⁺) и субпопуляции CD8⁺CD38⁺, что свидетельствует об активном Т-клеточном ответе на инфекцию. Похожие данные были ранее получены нами при исследовании маркеров активации у детей, привитых против кори [5].

Обнаруженное нами снижение в группе больных растворимого CD40L, связано, по-видимому, с вовлечением в патогенез заболевания тромбоцитов [1], которые активно сорбируют эту молекулу и выделяют при необходимости.

Заключение

Таким образом, проведенные исследования показали, что в ответ на коревую инфекцию в организме больного идет несколько независимых, разнонаправленных процессов. С одной стороны, используя рецепторы CD150 (SLAM) и *nectin-4*, вирус кори атакует эпителиальные клетки слизистых и кожи и иммунокомпетентные клетки (дендритные клетки, макрофаги, различные субпопуляции наивных Т- и В-клеток и клеток памяти), оказывая цитопатическое действие

и приводя к лимфопении и избирательному снижению различных субпопуляций лимфоцитов. С другой стороны, вирус кори инициирует активацию как врожденного, так и адаптивного иммунитета, что приводит к продукции соответствующих цитокинов, экспрессии маркеров активации и увеличению субпопуляций клеток – эффекторов. Дальнейшие исследования иммунопатогенеза кори помогут понять причины формирования «иммунной амнезии», вакцинальных неудач и особенностей формирования и поддержания специфического противокорьевого иммунитета.

Список литературы / References

1. Малеев В.В., Лазарева Е.Н., Астрина О.С., Алешина Н.И., Цветкова Н.А., Вдовина Е.Т., Наврузова Л.Н. Современные аспекты нарушений сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза у больных корью // Русский медицинский журнал, 2019. Т. 27, № 10. С. 4-7. [Maleev V.V., Lazareva E.N., Astrina O.S., Aleshina N.I., Tsvetkova N.A., Vdovina E.T., Navruzova L.N. Abnormalities of vascular and platelet responses in measles: state-of-the-art. *Russkiy meditsinskiy zhurnal = Russian Medical Journal*, 2019, Vol. 27, no. 10, pp. 4-7. (In Russ.)]
2. Топтыгина А.П., Алешкин В.А. Продукция цитокинов у интактных детей и привитых вакциной «Приорикс» в ответ на стимуляцию антигенами вирусов кори и краснухи // Иммунология, 2011. Т. 32, № 4. С. 200-205. [Toptygina A.P., Aleshkin V.A. Production of cytokines in intact children and children vaccinated with Priorix vaccine in response to stimulation by measles and rubella virus antigens. *Immunologiya = Immunology*, 2011, Vol. 32, no. 4, pp. 200-205. (In Russ.)]
3. Топтыгина А.П., Семикина Е.Л., Алешкин В.А. Изменение количества Т клеток памяти в ответ на вакцинацию «Приорикс» // Российский иммунологический журнал, 2012. Т. 6 (15), № 3. С. 253-258. [Toptygina A.P., Semikina E.L., Alioshkin V.A. Changing of T-memory cell number after “Priorix” vaccination. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2012, Vol. 6 (15), no. 3, pp. 253-258. (In Russ.)]
4. Топтыгина А.П., Семикина Е.Л., Алешкин В.А. Регуляция иммунного ответа у детей, привитых против кори, краснухи и эпидемического паротита // Иммунология, 2012. Т. 33, № 4. С. 177-180. [Toptygina A.P., Semikina E.L., Alioshkin V.A. Immune response regulation in children vaccinated with Priorix. *Immunologiya = Immunology*, 2012, Vol. 33, no. 4, pp. 177-180. (In Russ.)]
5. Топтыгина А.П., Семикина Е.Л., Алешкин В.А. Экспрессия маркеров активации на лимфоцитах периферической крови детей, привитых и ревакцинированных «Приориксом» // Иммунология, 2016. Т. 37, № 4. С. 215-218. [Toptygina A.P., Semikina E.L., Aleshkin V.A. Markers of activation expression on the blood lymphocytes in children vaccinated with Priorix. *Immunologiya = Immunology*, 2016, Vol. 37, no. 4, pp. 215-218. (In Russ.)]
6. Cayrol C., Girard J.P. The IL-1-like cytokine IL-33 is inactivated after maturation by caspase-1. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2009, Vol. 106, pp. 9021-9026.
7. de Vries R.D., de Swart R.L. Measles immune suppression: Functional impairment or numbers game? *PLoS Pathog.*, 2014, Vol. 10, no. 12, e1004482. doi: 10.1371/journal.ppat.1004482.
8. de Vries R.D., McQuaid S., van Amerongen G., Yüksel S., Verburgh R.J., Osterhaus A.D., Duprex W.P., de Swart R.L. Measles immune suppression: lessons from the macaque model. *PLoS Pathog.*, 2012, Vol. 8, no. 8, e1002885. doi: 10.1371/journal.ppat.1002885.
9. Fort M.M., Cheung J., Yen D., Li J., Zurawski S.M., Lo S., Menon S., Clifford T., Hunte B., Lesley R., Muchamuel T., Hurst S.D., Zurawski G., Leach M.W., Gorman D.M., Rennick D.M. IL-25 induces IL-4, IL-5, and IL-13 and Th2-associated pathologies *in vivo*. *Immunity*, 2001, Vol. 15, pp. 985-995.
10. Gidroen K., Dodd C.N., Masclee G.M.C., de Ridder M.A.J., Weibel D., Mina M.J., Grenfell B.T., Sturkenboom M.C.J.M., van de Vijver D.A.M.C., de Swart R.L. Impact and longevity of measles-associated immune suppression: a matched cohort study using data from the THIN general practice database in the UK. *BMJ Open*, 2018, Vol. 8, no. 11, e021465. doi: 10.1136/bmjopen-2017-021465.
11. Griffin D.E. The immune response in measles: virus control, clearance and protective immunity. *Viruses*, 2016, Vol. 8, pp. 282-289.
12. Griffin D.E., Ward B.J., Juaregui E., Johnson R.T., Vaisberg A. Immune activation during measles: beta 2-microglobulin in plasma and cerebrospinal fluid in complicated and uncomplicated disease. *J. Infect. Dis.*, 1992, Vol. 166, pp. 1170-1173.
13. Gourru-Lesimple G., Mathieu C., Thevenet T., Guillaume-Vasselin V., Jegou J.F., Boer C.G., Tomczak K., Bloyet L.-M., Giraud C., Grande S., Goujon C., Cornu C., Horvat B. Measles virus infection of human keratinocytes: Possible link between measles and atopic dermatitis. *J. Dermatol. Sci.*, 2017, Vol. 86, no. 2, pp. 97-105.
14. Huang Y.H., Tsai K., Ma C., Vallance B.A., Priatel J.J., Tan R. SLAM-SAP signaling promotes differentiation of IL-17-producing T cells and progression of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol.*, 2014, Vol. 193, pp. 5841-5853.

15. Humphreys N.E., Xu D., Hepworth M.R., Liew F.Y., Grecis R.K. IL-33, a potent inducer of adaptive immunity to intestinal nematodes. *J. Immunol.*, 2008, Vol. 180, pp. 2443-2449.
16. Hurst S.D., Muchamuel T., Gorman D.M., Gilbert J.M., Clifford T., Kwan S., Menon S., Seymour B., Jackson C., Kung T.T., Brieland J.K., Zurawski S.M., Chapman R.W., Zurawski G., Coffman R.L. New IL-17 family members promote Th1 or Th2 responses in the lung: *in vivo* function of the novel cytokine IL-25. *J. Immunol.*, 2002, Vol. 169, pp. 443-453.
17. Komune N., Ichinohe T., Ito M., Yanagi Y. Measles virus V protein inhibits NLRP3 inflammasome-mediated interleukin-1beta secretion. *J. Virol.*, 2011, Vol. 85, pp. 13019-13026.
18. Laksono B.M., de Vries R.D., Verburgh R.J., Visser E.G., de Jong A., Fraaij P.L.A., Ruijs W.L.M., Nieuwenhuijse D.F., van den Ham H.J., Koopmans M.P.G. Studies into the mechanism of measles-associated immune suppression during a measles outbreak in the Netherlands. *Nat. Commun.*, 2018, Vol. 9, pp. 4944-4954.
19. Laksono B.M., Fortugno P., Nijmeijer B.M., de Vries R.D., Cordisco S., Kuiken T., Geijtenbeek T.B.H., Duprex W.P., Brancati F., de Swart R.L. Measles skin rash: Infection of lymphoid and myeloid cells in the dermis precedes viral dissemination to the epidermis. *PLoS Pathog.*, 2020, Vol. 16, no. 10, e1008253. doi: 10.1371/journal.ppat.1008253.
20. Laksono B.M., Grosserichter-Wagener C., de Vries R.D., Langeveld S.A.G., Brem M.D., van Dongen J.J.M., Katsikis P.D., Koopmans M.P.G., van Zelm M.C., de Swart R.L. *In vitro* measles virus infection of human lymphocyte subsets demonstrates high susceptibility and permissiveness of both naive and memory B-cells. *J. Virol.*, 2018, Vol. 92, e00131-18. doi: 10.1128/JVI.00131-18.
21. Lin W.-H.W., Nelson A.N., Ryon J.J., Moss W.J., Griffin D.E. Plasma cytokines and chemokines in Zambian children with measles: innate responses and association with HIV-1 coinfection and in-hospital mortality. *J. Infect. Dis.*, 2017, Vol. 215, pp. 830-839.
22. Matsuzaki G., Umemura M. Interleukin-17 family cytokines in protective immunity against infections: role of hematopoietic cell-derived and non-hematopoietic cell-derived interleukin-17s. *Microbiol. Immunol.*, 2018, Vol. 62, Iss. 1, pp. 1-13.
23. Mina M.J., Metcalf C.J., de Swart R.L., Osterhaus A.D., Grenfell B.T. Long-term measles-induced immunomodulation increases overall childhood infectious disease mortality. *Science*, 2015, Vol. 348, pp. 694-699.
24. Moss W.J. Measles. *Lancet*, 2017, Vol. 390, pp. 2490-2502.
25. Moss W.J., Ryon J.J., Monze M., Griffin D.E. Differential regulation of interleukin (IL)-4, IL-5, and IL-10 during measles in Zambian children. *J. Infect. Dis.*, 2002, Vol. 186, pp. 879-887.
26. Muhlebach M.D., Mateo M., Sinn P.L., Pruffer S., Uhlig K.M., Leonard V.H., Navaratnarajah C.K., Frenzke M., Wong X.X., Sawatsky B., Ramachandran S., McCray P.B. Jr, Cichutek K., von Messling V., Lopez M., Cattaneo R. Adherens junction protein nectin-4 is the epithelial receptor for measles virus. *Nature*, 2011, Vol. 480, pp. 530-533.
27. Nelson A.N., Putnam N., Hauer D., Baxter V.K., Adams R.J., Griffin D.E. Evolution of T cell responses during measles virus infection and RNA clearance. *Sci. Rep.*, 2017, Vol. 7, no. 1, 11474. doi: 10.1038/s41598-017-10965-z.
28. Sanada S., Hakuno D., Higgins L.J., Schreiter E.R., McKenzie A.N.J., Lee R.T. IL-33 and ST2 comprise a critical biomechanically induced and cardioprotective signaling system. *J. Clin. Invest.*, 2007, Vol. 117, pp. 1538-1549.
29. Schwartzberg P.L., Mueller K.L., Qi H., Cannons J.L. SLAM receptors and SAP influence lymphocyte interactions, development and function. *Nat. Rev. Immunol.*, 2009, Vol. 9, pp. 39-46.
30. Wolk K., Witte E., Warszawska K., Sabat R. Biology of interleukin-22. *Semin. Immunopathol.*, 2010, Vol. 32, pp. 17-31.
31. World Health Organization. Worldwide measles deaths from 2016 to 2019. Available at: <https://www.who.int/ru/news/item/12-11-2020-worldwide-measles-deaths-climb-50-from-2016-to-2019-claiming-over-207-500-lives-in-2019> (Date of application 11.08.2021).
32. Yurchenko M., Shlapatska L.M., Romanets O.L., Ganshevskiy D., Kashuba E., Zamoshnikova A., Ushenin Y.V., Snopok B.A., Sidorenko S.P. CD150-mediated Akt signalling pathway in normal and malignant B cells. *Exp. Oncol.*, 2011, Vol. 33, pp. 9-18.
33. Zilliox M.J., Moss W.J., Griffin D.E. Gene expression changes in peripheral blood mononuclear cells during measles virus infection. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2007, Vol. 14, pp. 918-923.

Авторы:

Топтыгина А.П. — д.м.н., ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории цитокинов ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора; профессор кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Андреев Ю.Ю. — аспирант лаборатории цитокинов ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия

Authors:

Toptygina A.P., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Head of Laboratory of Cytokines, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology; Professor, Department of Immunology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Andreev Yu. Yu., PhD Student, Laboratory of Cytokines, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

Поступила 17.08.2021
Принята к печати 13.02.2022

Received 17.08.2021
Accepted 13.02.2022

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПУЛА РЕГУЛЯТОРНЫХ CD4⁺T-ЛИМФОЦИТОВ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ, КОИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСОМ ГЕПАТИТА С

Сайдакова Е.В., Королевская Л.Б., Шмагель К.В.

Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр, Уральское отделение Российской академии наук», г. Пермь, Россия

Резюме. Коинфекция ВИЧ и вирусом гепатита С (ВГС) приводит к развитию выраженного системного воспаления, что ассоциировано с увеличением риска патологий печени, почек и сердечно-сосудистой системы, а также ростом смертности от СПИД-ассоциированных болезней и заболеваний, неассоциированных со СПИД. Функция контроля над системным воспалением в значительной мере принадлежит одной из субпопуляций CD4⁺T-клеток – регуляторным T-лимфоцитам. Экспрессируя различные функциональные молекулы регуляторные CD4⁺T-клетки ограничивают активность иммунцитов, и предотвращают развитие избыточных воспалительных реакций и аутоиммунных заболеваний. Вместе с тем, в литературе отсутствуют данные о размере отдельных функционально активных субпопуляций регуляторных CD4⁺T-клеток у ВИЧ/ВГС-коинфицированных больных. Цель – оценить размер функционального пула регуляторных CD4⁺T-лимфоцитов у ВИЧ/ВГС-коинфицированных больных, получающих антиретровирусную терапию.

Обследованы две группы ВИЧ-позитивных пациентов: 1) ВИЧ/ВГС-коинфицированные субъекты (n = 21); 2) ВИЧ-моноинфицированные больные (n = 22). В контрольную группу вошли добровольные доноры крови без ВИЧ и ВГС инфекций (n = 23). Регуляторные CD4⁺T-лимфоциты идентифицировали методом многоцветной проточной цитометрии по экспрессии маркеров CD3, CD4, CD25, CD127 и FoxP3. Функциональные субпопуляции регуляторных CD4⁺T-клеток выявляли по экспрессии молекул CD39, GARP, LAP, и CD71. Рассчитывали относительное и абсолютное количество супрессорных CD4⁺T-лимфоцитов в каждой субпопуляции. Концентрацию TGF-β1 в плазме крови обследованных лиц устанавливали методом иммуноферментного анализа.

В периферической крови ВИЧ/ВГС-коинфицированных пациентов по сравнению со здоровыми субъектами было в два раза снижено абсолютное количество регуляторных CD4⁺T-лимфоцитов, что не сопровождалось уменьшением относительной численности этих клеток. Несмотря на дефицит, численность функционально активных CD39-позитивных, GARP/LAP-позитивных и CD71-позитивных супрессоров у ВИЧ/ВГС-коинфицированных лиц оставалась на уровне, характерном

Адрес для переписки:

Сайдакова Евгения Владимировна
Институт экологии и генетики микроорганизмов
Уральского отделения Российской академии наук
614081, Россия, г. Пермь, ул. Голева, 13.
Тел.: 8 (905) 861-16-75.
E-mail radimira@list.ru

Address for correspondence:

Saidakova Evgeniya V.
Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms
614081, Russian Federation, Perm, Goleva str., 3.
Phone: 7 (905) 861-16-75.
E-mail: radimira@list.ru

Образец цитирования:

Е.В. Сайдакова, Л.Б. Королевская, К.В. Шмагель
«Функциональное состояние пула регуляторных CD4⁺T-лимфоцитов ВИЧ-инфицированных пациентов, коинфицированных вирусом гепатита С» // Российский иммунологический журнал, 2022. Т. 25, № 1. С. 73-82.
doi: 10.46235/1028-7221-1083-FSO

© Сайдакова Е.В. и соавт., 2022

For citation:

E.V. Saidakova, L.B. Korolevskaya, K.V. Shmagel
“Functional state of regulatory CD4⁺T cell pool in HIV/hepatitis C virus coinfecting subjects”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2022, Vol. 25, no. 1, pp. 73-82.
doi: 10.46235/1028-7221-1083-FSO

DOI: 10.46235/1028-7221-1083-FSO

для ВИЧ-моноинфицированных и здоровых людей. Относительное количество функционально активных регуляторных CD4⁺T-лимфоцитов было увеличено в крови у ВИЧ/ВГС-коинфицированных больных по сравнению с ВИЧ-моноинфицированными (CD39⁺, GARP⁺LAP⁺) и здоровыми (CD39⁺, GARP⁺LAP⁺, CD71⁺) субъектами.

У ВИЧ/ВГС-коинфицированных больных, получающих антиретровирусную терапию, пул регуляторных CD4⁺T-лимфоцитов насыщен клетками, обладающими высокой супрессорной способностью. Однако абсолютное количество функционально активных регуляторных CD4⁺T-клеток находится на уровне, характерном для здоровых лиц, что, по-видимому, является недостаточным для контроля над системным воспалением, формируемым при ВИЧ/ВГС-коинфекции.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, вирусный гепатит С, регуляторные T-лимфоциты, CD39, GARP, LAP, CD71

FUNCTIONAL STATE OF REGULATORY CD4⁺T CELL POOL IN HIV/HEPATITIS C VIRUS COINFECTED SUBJECTS

Saidakova E.V., Korolevskaya L.B., Shmagel K.V.

Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Affiliation of Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Abstract. Coinfection with HIV and hepatitis C virus (HCV) leads to development of systemic inflammation associated with increased risk for liver, kidney and cardiovascular diseases, as well as higher mortality from AIDS-associated and non-AIDS-associated illnesses. To a large extent, systemic inflammation is controlled by regulatory T lymphocytes, a subset of CD4⁺ T cells. While expressing various functional molecules, regulatory CD4⁺T cells limit functional activity of immunocytes and prevent the development of excessive inflammatory reactions and autoimmune diseases. At the same time, there are no available data in literature concerning the sizes of certain functionally active regulatory CD4⁺T cell subsets in HIV/HCV coinfecting patients. Our aim was to estimate the size of functional pool of the regulatory CD4⁺T lymphocytes in HIV/HCV coinfecting patients receiving antiretroviral therapy.

Two groups of HIV-positive patients were examined: 1) HIV/HCV coinfecting subjects (n = 21); 2) HIV mono-infected patients (n = 22). The control group included voluntary blood donors without HIV and HCV infections (n = 23). Regulatory CD4⁺T lymphocytes were identified by multicolor flow cytometry based on the expression of the following markers: CD3, CD4, CD25, CD127, and FoxP3. Functional subsets of regulatory CD4⁺T cells were discerned by the expression of CD39, GARP, LAP, and CD71 molecules. Relative and absolute counts of suppressor CD4⁺T lymphocytes were calculated for each subset. TGF-β1 concentrations in blood plasma were determined with ELISA technique.

Absolute counts of regulatory CD4⁺T lymphocytes in peripheral blood of HIV/HCV coinfecting patients proved to be twice lower than in healthy subjects, while being not accompanied by a decrease in relative frequency of these cells. Despite their deficiency, the number of functionally active CD39-positive, GARP/LAP-positive, and CD71-positive suppressor cells in HIV/HCV coinfecting persons remained at the level found in HIV-monoinfected and healthy people. The frequency of functionally active regulatory CD4⁺T lymphocytes was increased in HIV/HCV coinfecting patients compared with HIV-monoinfected (CD39⁺, GARP⁺LAP⁺) and healthy (CD39⁺, GARP⁺LAP⁺, CD71⁺) subjects.

In HIV/HCV coinfecting patients receiving antiretroviral therapy, the pool of regulatory CD4⁺T lymphocytes is rich in cells possessing high suppressive capacity. However, the absolute number of functionally active regulatory CD4⁺T cells remain at the level corresponding to healthy individuals, thus, apparently, is not sufficient to control the systemic inflammation developing in HIV/HCV coinfection.

Keywords: HIV infection, viral hepatitis C, regulatory T cells, CD39, GARP, LAP, CD71

Работа выполнена в рамках государственного задания «Механизмы регуляции иммунной системы», номер гос. регистрации темы АААА-А19-119112290007-7.

Введение

В России более половины ВИЧ-положительных лиц коинфицированы вирусом гепатита С (ВГС) [1, 2]. При проведении антиретровирусной терапии (АРТ) коинфекция ВГС препятствует эффективному восстановлению численности CD4⁺T-лимфоцитов в крови больных [24]. Более того, коинфекция ВГС увеличивает риск развития цирроза печени, а также патологий почек и сердечно-сосудистой системы [7]. Таким образом, коинфекция ВГС отягощает состояние зараженных ВИЧ больных и повышает смертность от СПИД-ассоциированных болезней и заболеваний, неассоциированных со СПИД.

Важной особенностью ВИЧ/ВГС-коинфекции, отличающей ее от ВИЧ-моноинфекции, является повышенный уровень хронической иммунной активации и системного воспаления [25]. Это обусловлено воздействием ВГС на гепатоциты, нарушением печеночного барьера и, как следствие, усилением микробной транслокации [8]. Клетками, отвечающими за контроль над иммунной активацией, являются регуляторные CD4⁺T-лимфоциты (Treg) [17]. Как и другие CD4⁺T-клетки, Treg могут быть инфицированы ВИЧ [19]. При ВИЧ-инфекции развивается дефицит регуляторных T-лимфоцитов [26], однако, согласно ряду работ, супрессорные клетки могут сохранять функциональность [5] и способность к активной пролиферации [29].

Регуляторные T-лимфоциты обычно идентифицируют по фенотипу CD3⁺CD4⁺CD25⁺CD127^{low}FoxP3⁺ [16]. Вместе с тем, Treg могут экспрессировать и другие молекулы, которые отражают функциональный статус клеток и их способность к иммуносупрессии. Так, регуляторные T-лимфоциты, экспрессирующие молекулы GARP и LAP, продуцируют противовоспалительный цитокин TGF- β , подавляющий иммунные реакции [20]. Treg, несущие на поверхности экто-нуклеотидазы CD39 и CD73, предотвращают активацию эффекторных клеток, стимулируемых пуринергическими молекулами, такими как внеклеточный аденозинтрифосфат (АТФ) [6]. CTLA-4-положительные Treg снижают экспрессию молекул CD80/CD86 на антигенпрезентирующих клетках, ограничивая доступ эффекторных клеток к коактивирующим сигналам [22]. Регуляторные T-лимфоциты, экспрессирующие

гранзим В, запускают апоптоз в эффекторных клетках, подавляя иммунный ответ [12]. Регуляторные T-лимфоциты, экспрессирующие рецептор трансферрина 1 (CD71), чаще всего находятся в состоянии пролиферации [29]. Данные о функциональном состоянии Treg при ВИЧ/ВГС-коинфекции на сегодняшний день отсутствуют.

Цель исследования – оценить размер функционального пула регуляторных CD4⁺T-лимфоцитов у ВИЧ/ВГС-коинфицированных больных, получающих антиретровирусную терапию.

Материалы и методы

План исследования был одобрен этическим комитетом Пермского краевого центра по борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями (рег. № комитета IRB00008964). Письменное информированное согласие было получено от каждого участника исследования. Обследованы три группы: 1) ВИЧ/ВГС-коинфицированные больные (ВИЧ⁺ВГС⁺; n = 21); 2) ВИЧ-моноинфицированные пациенты (ВИЧ⁺ВГС⁻; n = 22); 3) добровольные доноры крови без ВИЧ и ВГС инфекций (контроль – К; n = 23). Все ВИЧ-инфицированные субъекты принимали АРТ более двух лет (вирусная нагрузка ВИЧ < 50 копий/мл). Схема терапии включала два нуклеозидных ингибитора обратной транскриптазы в комбинации с бустированным ритонавиром ингибитором протеазы либо ненуклеозидным ингибитором обратной транскриптазы. Пациенты, получавшие интерферонотерапию или антивирусные препараты прямого действия, были исключены из исследования.

Периферическую кровь (30 мл) забирали из локтевой вены в пробирки типа Vacutainer, обработанные этилендиаминтетрауксусной кислотой. Вирусная нагрузка ВИЧ и ВГС в плазме крови больных была определена методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием коммерческих наборов Versant HIV 1 RNA 3.0 assay b (Bayer, Германия) и «ОТ-ГЕПАТОГЕН С количественный» (ДНК-технологии; Россия). Концентрация TGF- β 1 в плазме крови обследованных была установлена с использованием коммерческого набора для иммуноферментного анализа (R&D Systems, США). Активность аспартат аминотрансферазы (АСТ) и аланин аминотрансферазы (АЛТ) оценивали кинетическим методом на анализаторе Konelab 20 (Thermo Scientific, Финляндия) наборами Thermo Fisher (США). Мононуклеарные клетки получали при центрифугировании (400 g, 40 мин) двукратно разведенной DPBS (Gibco, США) периферической крови в градиенте плотности

«Диаколла-1077» («Диаэм», Россия). Выделенные клетки собирали, дважды отмывали DPBS и подсчитывали в камере Горяева. Мононуклеарные лейкоциты подвергали программируемому замораживанию до -80°C в среде, содержащей 90% инактивированной теплом эмбриональной телячьей сыворотки (Gibco, США) и 10% диметилсульфоксида (MP Biochemicals, США), после чего переносили в жидкий азот для длительного хранения.

Регуляторные Т-лимфоциты и их функциональные субпопуляции определяли в пуле замороженных мононуклеарных лейкоцитов с использованием проточного цитофлуориметра Fortessa (BD Biosciences, США), меченных флуорофорами моноклональных антител (CD3 AF700, CD25 BUV395, CD127 BV786, CD39 BV711, CD71 BV421 (BD, США); CD45RA BV650, GARP PE-Cy7, LAP APC (BioLegend, США); CD4 Qdot605 (Invitrogen, США); FoxP3 PE (Thermo Fischer Scientific, США)) и флуоресцентного красителя Live/Dead Aqua (Invitrogen, США). Регуляторные Т-лимфоциты идентифицировали по фенотипу

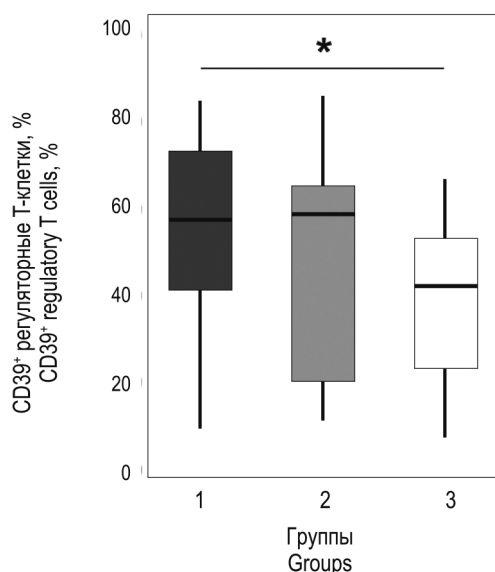


Рисунок 1. Относительное количество CD39-позитивных клеток в пуле регуляторных Т-лимфоцитов у ВИЧ/ВГС-коинфицированных и ВИЧ-моноинфицированных больных

Примечание. Группы обследованных: 1 – ВИЧ/ВГС-коинфицированные больные; 2 – ВИЧ-моноинфицированные пациенты; 3 – здоровые добровольцы. * – $p < 0,05$ (U-критерий Манна–Уитни).

Figure 1. Frequency of CD39-positive regulatory T lymphocytes in HIV/HCV coinfected and HIV monoinfected patients

Note. Groups: 1, HIV/HCV coinfected patients; 2, HIV monoinfected subjects; 3, healthy controls. *, $p < 0.05$ (Mann–Whitney U test).

$\text{CD3}^+\text{CD4}^+\text{CD25}^+\text{CD127}^{\text{low}}\text{FoxP3}^+$. Гейт для регуляторных Т-клеток, экспрессирующих CD39, GARP, LAP или CD71, устанавливали с использованием соответствующих FMO (fluorescence minus one) контролей.

Полученные данные представлены в виде медиан и интерквартильных размахов – $\text{Me} (Q_{0,25}-Q_{0,75})$. Статистическая значимость различий между группами определена с использованием U-критерия Манна–Уитни. Корреляционный анализ проведен по методу Спирмена. Статистические расчеты выполнены в программе Statistica 6.0.

Результаты

Группы обследованных лиц были сопоставимы по возрасту и полу (табл. 1). ВИЧ/ВГС-коинфицированные и ВИЧ-моноинфицированные больные не имели различий по продолжительности ВИЧ-инфекции, тяжести иммунодефицита, длительности АРТ и эффективности терапии, обусловленной подавлением репликации ВИЧ. Основным путем передачи ВИЧ-моноинфекции был половой путь, ВИЧ/ВГС-коинфекции – парентеральный путь, связанный с употреблением инъекционных наркотиков. При ВИЧ/ВГС-коинфекции неконтролируемая вирусная нагрузка ВГС коррелировала с показателями повреждения печени ($R_{\text{ВГС-АСТ}} = 0,788$ $p < 0,001$; $R_{\text{ВГС-АЛТ}} = 0,793$ $p < 0,001$).

У ВИЧ/ВГС-коинфицированных больных абсолютное количество регуляторных Т-лимфоцитов было в два раза ниже соответствующего показателя здоровых субъектов ($p < 0,001$; табл. 2). При этом мы не обнаружили различий в численности Treg между ВИЧ/ВГС-коинфицированными и ВИЧ-моноинфицированными пациентами ($p > 0,05$). Важно отметить, что процентное содержание регуляторных Т-лимфоцитов в пуле CD4^+ Т-клеток ВИЧ/ВГС-коинфицированных больных не имело статистически значимых отличий от соответствующих показателей ВИЧ-моноинфицированных и здоровых лиц ($p > 0,05$).

Численность CD39-позитивных Treg в крови ВИЧ/ВГС-коинфицированных больных составила 18,9/мкл; ВИЧ-моноинфицированных пациентов – 16,3/мкл; здоровых субъектов – 20,9/мкл. Различия между группами были статистически незначимыми ($p > 0,05$). При этом процентное содержание CD39-позитивных клеток в пуле Treg у ВИЧ/ВГС-коинфицированных больных было выше, чем у неинфицированных лиц ($p < 0,05$; рис. 1).

Абсолютное количество GARP/LAP-позитивных регуляторных Т-клеток в крови ВИЧ+ВГС+

ТАБЛИЦА 1. КЛИНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИЧ/ВГС-КОИНФИЦИРОВАННЫХ И ВИЧ-МОНОИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. CLINICAL CHARACTERISTICS OF HIV/HCV COINFECTED AND HIV MONOINFECTED PATIENTS, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели Indicators	Коинфекция ВИЧ/ВГС HIV/HCV coinfection	ВИЧ-моноинфекция HIV monoinfection	Контроль Healthy control
Количество обследованных Number of patients	21	22	23
Возраст, лет Age, years	36 (33-40)	38 (33-42)	32 (28-39)
Мужчины, % Men, %	42,9	45,5	34,9
Парентеральный путь передачи ВИЧ-инфекции, % Parenteral HIV transmission route, %	95,2	4,5	–
Продолжительность ВИЧ- инфекции, лет HIV-infection duration, years	12,0 (5,0-15,5)	9,0 (6,0-13,0)	–
Длительность антиретровирусной терапии, лет Antiretroviral therapy duration, years	4,3 (3,3-6,8)	5,1 (3,3-6,9)	–
CD4 ⁺ T-клетки, клеток/мкл CD4 ⁺ T lymphocytes, cells/ μ l	461 (384-604)***	532 (424-652)***	885 (772-1262)
Вирусная нагрузка ВИЧ, копий/мл HIV viral load, copies/ml	< 50	< 50	–
Продолжительность ВГС- инфекции, лет HCV-infection duration, years	12,0 (5,0-15,5)	–	–
Вирусная нагрузка ВГС, копий/мл HCV viral load, copies/ml	47600 (5401-130000)	–	–
АСТ, ед/л AST, U/l	31 (25-45)### ***	18 (17-25)	16 (12-23)
АЛТ, ед/л ALT, U/l	55 (38-81)### ***	19 (16-36)	16 (13-23)

Примечание. АСТ – аспартат аминотрансфераза; АЛТ – аланин аминотрансфераза. ### – данные достоверно отличаются от группы ВИЧ-моноинфицированных пациентов ($p < 0,001$, U-критерий Манна–Уитни); *** – данные достоверно отличаются от группы контроля ($p < 0,001$, U-критерий Манна–Уитни).

Note. AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase. ###, the data are significantly different from the HIV monoinfected group ($p < 0.001$; Mann–Whitney U test); ***, the data are significantly different from the healthy control group ($p < 0.001$; Mann–Whitney U test).

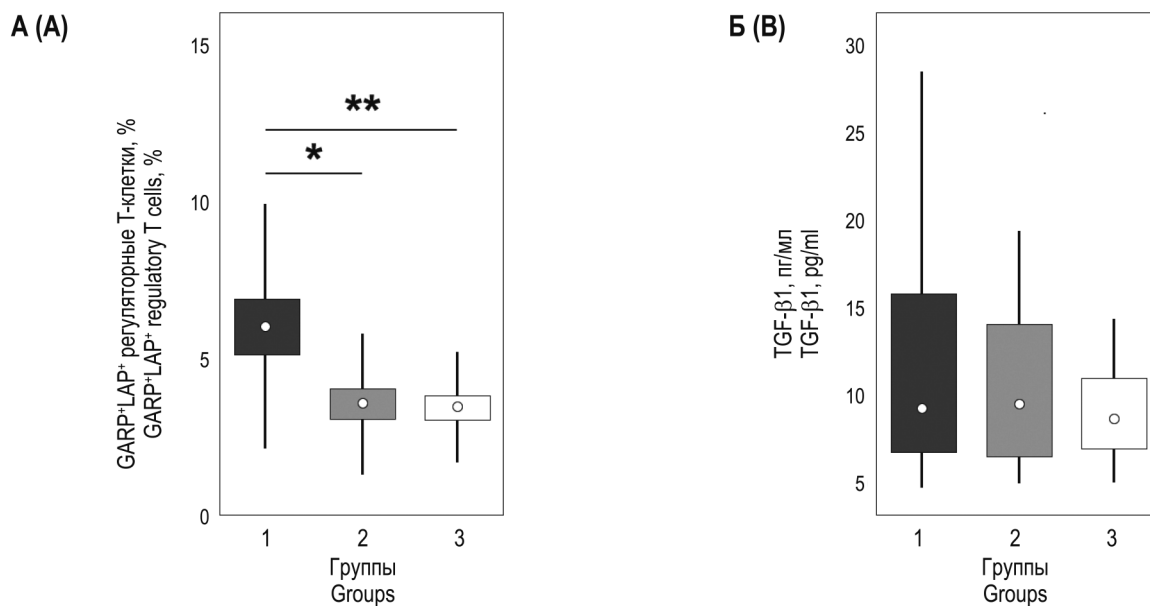


Рисунок 2. Относительное количество GARP/LAP-позитивных клеток в пуле регуляторных Т-лимфоцитов и содержание TGF-β1 в периферической крови у ВИЧ/ВГС-коинфицированных и ВИЧ-моноинфицированных больных

Примечание. А – доля GARP/LAP⁺ клеток среди регуляторных Т-лимфоцитов. Б – концентрация TGF-β1 в плазме крови обследованных. Группы обследованных лиц: 1 – ВИЧ/ВГС-коинфицированные больные; 2 – ВИЧ-моноинфицированные пациенты; 3 – здоровые добровольцы. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ (U-критерий Манна–Уитни).

Figure 2. Frequency of GARP/LAP-positive regulatory T cells and concentrations of TGF-β1 in the peripheral blood of HIV/HCV coinfecting and HIV monoinfected patients

Note. A, Frequency of GARP/LAP⁺ cells among regulatory T lymphocytes. B, TGF-β1 concentration in patients' blood plasma. Groups: 1, HIV/HCV coinfecting patients; 2, HIV monoinfected subjects; 3, healthy controls. *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$ (Mann–Whitney U test).

ТАБЛИЦА 2. КОЛИЧЕСТВО РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ В КРОВИ ВИЧ/ВГС-КОИНФИЦИРОВАННЫХ И ВИЧ-МОНОИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ, Ме (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 2. REGULATORY T CELL COUNTS IN HIV/HCV COINFECTED AND HIV MONOINFECTIONED SUBJECTS, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели Indicators	Коинфекция ВИЧ/ВГС HIV/HCV coinfection	ВИЧ-моноинфекция HIV monoinfection	Контроль Healthy control
Регуляторные Т-лимфоциты, клеток/мкл Regulatory T lymphocytes, cells/ μ l	31,5*** (26,5-51,8)	33,7*** (29,5-45,0)	63,2 (53,2-84,5)
Регуляторные Т-клетки, % Regulatory T cells, %	7,7 (6,0-8,4)	7,3 (5,1-8,4)	6,3 (5,0-7,7)

Примечание. *** – данные достоверно отличаются от группы контроля ($p < 0,001$, U-критерий Манна–Уитни).

Note. ***, the data are significantly different from the healthy control group ($p < 0.001$; Mann–Whitney U test).

больных составило 2,3/мкл; ВИЧ⁺ВГС⁻ пациентов – 1,3/мкл; здоровых субъектов – 2,4/мкл. Различия между ВИЧ/ВГС-коинфицированными больными и субъектами из двух групп сравнения не достигали уровня статистической значимости ($p > 0,05$). Важно отметить, что у

ВИЧ⁺ВГС⁺ больных по сравнению с ВИЧ⁺ВГС⁻ пациентами и здоровыми субъектами в пуле регуляторных Т-клеток было увеличено относительное количество GARP/LAP-позитивных лимфоцитов (рис. 2А), что может свидетельствовать об активной экспрессии TGF-β1 регуля-

ТАБЛИЦА 3. КОЛИЧЕСТВО ДЕЛЯЩИХСЯ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ В КРОВИ ВИЧ/ВГС-КОИНФИЦИРОВАННЫХ И ВИЧ-МОНОИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 3. CYCLING REGULATORY T CELL COUNTS IN HIV/HCV COINFECTED AND HIV MONOINFECTED SUBJECTS, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели Indicators	Коинфекция ВИЧ/ВГС HIV/HCV coinfection	ВИЧ-моноинфекция HIV monoinfection	Контроль Healthy control
CD71⁺ регуляторные Т-лимфоциты, клеток/мкл CD71 ⁺ regulatory T lymphocytes, cells/ul	6,6 (4,8-8,7)	6,3 (4,4-10,6)	6,1 (3,9-8,7)
CD71⁺ регуляторные Т-клетки, % CD71 ⁺ regulatory T cells, %	19,5*** (14,5-25,7)	18,7*** (14,2-24,5)	9,8 (7,1-13,8)

Примечание. *** – данные достоверно отличаются от группы контроля (p < 0,001, U-критерий Манна–Уитни).

Note. ***, the data are significantly different from the healthy control group (p < 0.001; Mann–Whitney U test).

торными Т-клетками. В то же время мы показали, что повышение относительного количества GARP/LAP-позитивных Treg не сопровождалось статистически значимым увеличением концентрации свободного TGF-β1 в плазме крови ВИЧ/ВГС-коинфицированных больных (рис. 2Б).

Установлено, что у ВИЧ/ВГС-коинфицированных пациентов дефицит общего числа регуляторных Т-лимфоцитов не влечет за собой изменение абсолютного количества пролиферирующих CD71⁺Treg (табл. 3). Вместе с тем, доля CD71-позитивных клеток среди Treg была увеличена в группе ВИЧ/ВГС-коинфицированных и ВИЧ-моноинфицированных больных по сравнению со здоровыми субъектами (p < 0,001).

Обсуждение

Коинфекция ВИЧ и ВГС характеризуется развитием выраженного системного воспаления, уровень которого значительно превосходит таковой у ВИЧ-моноинфицированных больных [25]. Вместе с тем, мало что известно о состоянии пула регуляторных Т-лимфоцитов, защищающих организм от избыточных иммунных реакций. В настоящей работе мы показали, что у ВИЧ/ВГС-коинфицированных субъектов развивается дефицит регуляторных Т-лимфоцитов. Низкая абсолютная численность Treg не отражается на процентном содержании супрессорных клеток и не сопровождается снижением абсолютного количества CD39-позитивных, GARP/LAP-позитивных или CD71-позитивных клеток-супрессоров. Сохранение численности этих функционально активных супрессорных клеток

приводит к росту их доли в пуле Treg у ВИЧ/ВГС-коинфицированных лиц.

Полученные данные представляются важными, так как каждая из изученных субпопуляций регуляторных Т-лимфоцитов принимает участие в контроле над активностью эффекторных клеток иммунитета. Так, экто-нуклеотидаза CD39, экспрессируемая на поверхности Treg, обезвреживает активирующую пуринергическую молекулу – внеклеточный АТФ, последовательно превращая его в аденозинмонофосфат, который затем расщепляется до аденозина [9]. В свою очередь, аденозин, формируемый экто-нуклеотидазами, оказывает противоположное АТФ действие: индуцирует противовоспалительные и иммуносупрессорные эффекты [23]. Дефицит относительного количества CD39-позитивных Treg был ранее отмечен у людей и животных, страдающих от аутоиммунных заболеваний [11, 13]. Повышение доли CD39⁺Treg у ВИЧ/ВГС-коинфицированных больных свидетельствует о значимой роли этих супрессорных клеток в противодействии эффектам системного воспаления.

Регуляторные Т-клетки, экспрессирующие GARP и LAP, секретируют противовоспалительный TGF-β1 [4], связывают его и транспортируют в сайты развития иммунного ответа, где цитокин паракринно угнетет функции эффекторных лимфоцитов [27]. GARP/LAP-позитивные Treg являются высокоактивными супрессорами, в связи с чем их адаптивный перенос рассматривается как перспективный подход к терапии аутоиммунных и аллергических заболеваний, а также к предотвращению развития реакции трансплантат против хозяина [21, 28]. Однако следует об-

ратить внимание на то, что GARP⁺LAP⁺Treg могут выступать в качестве негативного фактора: у пациентов, инфицированных ВГС, накопление в печени продуцентов TGF- β 1 ассоциировано с развитием фиброза и подавлением местных противовирусных реакций [15]. Вместе с тем, выявленное нами повышение относительного количества GARP/LAP-позитивных Treg у лиц, коинфицированных ВИЧ и ВГС, по-видимому, отражает активное участие этих клеток в контроле над системным воспалением.

Регуляторные Т-лимфоциты, экспрессирующие молекулу CD71, рассматриваются как делящиеся [29] и характеризуются большей функциональной активностью и жизнеспособностью, чем покоящиеся Treg [10]. Важно отметить, что регуляторные Т-лимфоциты вступают в активные фазы клеточного цикла вслед за конвенциональными Т-клетками для контроля над делением последних [3]. Экспериментальное уменьшение доли пролиферирующих Treg у животных с лимфопенией приводит к фатальным последствиям: развитию воспалительных аутоиммунных заболеваний и смерти [14, 18]. В настоящем исследовании мы выявили увеличение доли пролиферирующих Treg у всех ВИЧ-инфицированных лиц вне зависимости от наличия коинфекции ВГС. Повышение процентного содержания CD71⁺ регуляторных Т-лимфоцитов происходило на фоне Т-лимфопении и связанной с ней гомеостатической пролиферации конвенциональных CD4⁺Т-клеток. Можно сделать заключение, что у ВИЧ/ВГС-коинфицированных и

ВИЧ-моноинфицированных больных регуляторные Т-лимфоциты принимают активное участие в контроле над процессом регенерации пула CD4⁺Т-клеток.

Заключение

Таким образом, в настоящей работе мы показали, что у ВИЧ/ВГС-коинфицированных пациентов снижается абсолютное количество регуляторных Т-лимфоцитов. Однако, несмотря на развитие дефицита Treg, у ВИЧ/ВГС-коинфицированных лиц сохраняется численность функционально активных супрессорных клеток, что отражается в увеличении относительного количества CD71-позитивных, CD39-позитивных и GARP/LAP-позитивных Treg. Полученные данные позволяют сделать следующий вывод. У ВИЧ/ВГС-коинфицированных больных, получающих АРТ, пул регуляторных CD4⁺Т-лимфоцитов насыщен клетками, обладающими высокой супрессорной способностью. Однако абсолютное количество функционально активных супрессорных лимфоцитов остается на уровне, характерном для здоровых лиц, что, по-видимому, является недостаточным для контроля над системным воспалением, формируемым при ВИЧ/ВГС-коинфекции.

Благодарности

В работе было использовано оборудование ЦКП «Исследования материалов и вещества» ПФИЦ УрО РАН.

Список литературы / References

1. Стрыгин А.В., Кнышова Л.П., Доценко А.М. Оценка распространенности ВИЧ-ассоциированных заболеваний на территории Волгоградской области в 2012-2016 годах // Медицинский алфавит, 2017. Т. 4, № 38. С. 48-49. [Strygin A.V., Knyshova L.P., Docenko A.M. Prevalence of HIV-associated diseases in Volgograd region during years 2012-2016. *Meditinskiy alfavit = Medical Alphabet*, 2017, Vol. 4, no. 38, pp. 48-49. (In Russ.)]
2. Затолока П.А. Распространенность сопутствующей патологии у ВИЧ-инфицированных лиц // Медицинский журнал, 2017. Т. 3, № 61. С. 95-100. [Zatoloka P.A. Prevalence of concomitant pathology in HIV-infected individuals. *Meditinskiy zhurnal = Medical Journal*, 2017, Vol. 3, no. 61, pp. 95-100. (In Russ.)]
3. Akbar A.N., Vukmanovic-Stejic M., Taams L.S., Macallan D.C. The dynamic co-evolution of memory and regulatory CD4⁺ T cells in the periphery. *Nat. Rev. Immunol.*, 2007, Vol. 7, no. 3, pp. 231-237.
4. Andersson J., Tran D.Q., Pesu M., Davidson T.S., Ramsey H., O'Shea J.J., Shevach E.M. CD4⁺ FoxP3⁺ regulatory T cells confer infectious tolerance in a TGF-beta-dependent manner. *J. Exp. Med.*, 2008, Vol. 205, no. 9, pp. 1975-1981.
5. Angin M., Kwon D.S., Streeck H., Wen F., King M., Rezai A., Law K., Hongo T.C., Pyo A., Piechocka-Trocha A., Toth I., Pereyra F., Ghebremichael M., Rodig S.J., Milner Jr D.A., Richter J.M., Altfeld M., Kaufmann D.E., Walker B.D., Addo M.M. Preserved function of regulatory T cells in chronic HIV-1 infection despite decreased numbers in blood and tissue. *J. Infect. Dis.*, 2012, Vol. 205, no. 10, pp. 1495-1500.
6. Burnstock G., Boeynaems J.M. Purinergic signalling and immune cells. *Purinergic Signal*, 2014, Vol. 10, no. 4, pp. 529-564.

7. Chen T.Y., Ding E.L., Seage I., Kim A.Y. Meta-analysis: increased mortality associated with hepatitis C in HIV-infected persons is unrelated to HIV disease progression. *Clin. Infect. Dis.*, 2009, Vol. 49, no. 10, pp. 1605-1615.
8. de Oca Arjona M.M., Marquez M., Soto M.J., Rodriguez-Ramos C., Terron A., Vergara A., Arizcorreta A., Fernandez-Gutierrez C., Giron-González J.A. Bacterial translocation in HIV-infected patients with HCV cirrhosis: implication in hemodynamic alterations and mortality. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.*, 2011, Vol. 56, no. 5, pp. 420-427.
9. Deaglio S., Robson S.C. Ectonucleotidases as regulators of purinergic signaling in thrombosis, inflammation, and immunity. *Adv. Pharmacol.*, 2011, Vol. 61, pp. 301-332.
10. Gavin M.A., Clarke S.R., Negrou E., Gallegos A., Rudensky A. Homeostasis and anergy of CD4(+)CD25(+) suppressor T cells *in vivo*. *Nat. Immunol.*, 2002, Vol. 3, no. 1, pp. 33-41.
11. Gibson D.J., Elliott L., McDermott E., Tosetto M., Keegan D., Byrne K., Martin S.T., Rispens T., Cullen G., Mulcahy H.E., Cheifetz A.S., Moss A.C., Robson S.C., Doherty G.A., Ryan E.J. Heightened expression of CD39 by regulatory T lymphocytes is associated with therapeutic remission in inflammatory bowel disease. *Inflamm. Bowel Dis.*, 2015, Vol. 21, no. 12, pp. 2806-2814.
12. Gondek D.C., Lu L.F., Quezada S.A., Sakaguchi S., Noelle R.J. Cutting edge: contact-mediated suppression by CD4⁺CD25⁺ regulatory cells involves a granzyme B-dependent, perforin-independent mechanism. *J. Immunol.*, 2005, Vol. 174, no. 4, pp. 1783-1786.
13. Hamed F.N., Astrand A., Bertolini M., Rossi A., Maleki-Dizaji A., Messenger A.G., McDonagh A.J.G., Tazi-Ahnini R. Alopecia areata patients show deficiency of FOXP3⁺CD39⁺ T regulatory cells and clonotypic restriction of Treg TCRbeta-chain, which highlights the immunopathological aspect of the disease. *PLoS One*, 2019, Vol. 14, no. 7, e0210308. doi: 10.1371/journal.pone.0210308.
14. Kim J.M., Rasmussen J.P., Rudensky A.Y. Regulatory T cells prevent catastrophic autoimmunity throughout the lifespan of mice. *Nat. Immunol.*, 2007, Vol. 8, no. 2, pp. 191-197.
15. Langhans B., Kramer B., Louis M., Nischalke H.D., Hüneburg R., Staratschek-Jox A., Odenthal M., Manekeller S., Schepke M., Kalff J., Fischer H.P., Schultze J.L., Spengler U. Intrahepatic IL-8 producing Foxp3(+) CD4(+) regulatory T cells and fibrogenesis in chronic hepatitis C. *J. Hepatol.*, 2013, Vol. 59, no. 2, pp. 229-235.
16. Liu W., Putnam A.L., Xu-Yu Z., Szot G.L., Lee M.R., Zhu S., Gottlieb P.A., Kapranov P., Gingeras T.R., Fazekas de St Groth B., Clayberger C., Soper D.M., Ziegler S.F., Bluestone J.A. CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4⁺ T reg cells. *J. Exp. Med.*, 2006, Vol. 203, no. 7, pp. 1701-1711.
17. Lopez-Abente J., Correa-Rocha R., Pion M. Functional mechanisms of treg in the context of HIV infection and the janus face of immune suppression. *Front. Immunol.*, 2016, Vol. 7, 192. doi: 10.3389/fimmu.2016.00192.
18. McHugh R.S., Shevach E.M. Cutting edge: depletion of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells is necessary, but not sufficient, for induction of organ-specific autoimmune disease. *J. Immunol.*, 2002, Vol. 168, no. 12, pp. 5979-5983.
19. Moreno-Fernandez M.E., Zapata W., Blackard J.T., Franchini G., Chougnet C.A. Human regulatory T cells are targets for human immunodeficiency Virus (HIV) infection, and their susceptibility differs depending on the HIV type 1 strain. *J. Virol.*, 2009, Vol. 83, no. 24, pp. 12925-12933.
20. Nakamura K., Kitani A., Strober W. Cell contact-dependent immunosuppression by CD4(+)CD25(+) regulatory T cells is mediated by cell surface-bound transforming growth factor beta. *J. Exp. Med.*, 2001, Vol. 194, no. 5, pp. 629-644.
21. Noyan F., Lee Y.S., Zimmermann K., Hardtke-Wolenski M., Taubert R., Warnecke G., Knoefel A.K., Schulde E., Olek S., Manns M.P., Jaeckel E. Isolation of human antigen-specific regulatory T cells with high suppressive function. *Eur. J. Immunol.*, 2014, Vol. 44, no. 9, pp. 2592-2602.
22. Qureshi O.S., Zheng Y., Nakamura K., Attridge K., Manzotti C., Schmidt E.M., Baker J., Jeffery L.E., Kaur S., Briggs Z., Hou T.Z., Futter C.E., Anderson G., Walker L.S.K., Sansom D.M. Trans-endocytosis of CD80 and CD86: A molecular basis for the cell-extrinsic function of CTLA-4. *Science*, 2011, Vol. 332, no. 6029, pp. 600-603.
23. Ring S., Oliver S.J., Cronstein B.N., Enk A.H., Mahnke K. CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells suppress contact hypersensitivity reactions through a CD39, adenosine-dependent mechanism. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2009, Vol. 123, no. 6, pp. 1287-1296.
24. Santin M., Mestre M., Shaw E., Barbera M.J., Casanova A., Niubo J., Bolao F., Podzamczar D., Gudiol F. Impact of hepatitis C virus coinfection on immune restoration during successful antiretroviral therapy in chronic human immunodeficiency virus type 1 disease. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2008, Vol. 27, no. 1, pp. 65-73.
25. Shmagel K.V., Saidakova E.V., Shmagel N.G., Korolevskaya L.B., Chereshev V.A., Robinson J., Grivel J.C., Douek D.C., Margolis L., Anthony D.D., Lederman M.M. Systemic inflammation and liver damage in HIV/hepatitis C virus coinfection. *HIV Medicine*, 2016, Vol. 17, no. 8, pp. 581-589.
26. Simonetta F., Lecroux C., Girault I., Goujard C., Sinet M., Lambotte O., Venet A., Bourgeois C. Early and long-lasting alteration of effector CD45RA(-)Foxp3(high) regulatory T-cell homeostasis during HIV infection. *J. Infect. Dis.*, 2012, Vol. 205, no. 10, pp. 1510-1519.

27. Stockis J., Colau D., Coulie P.G., Lucas S. Membrane protein GARP is a receptor for latent TGF-beta on the surface of activated human Treg. *Eur. J. Immunol.*, 2009, Vol. 39, no. 12, pp. 3315-3322.

28. Wang H., Song H., Pham A.V., Cooper L.J., Schulze J.J., Olek S., Tran D.Q. Human LAP(+)GARP(+) FOXP3(+) regulatory T cells attenuate xenogeneic graft versus host disease. *Theranostics*, 2019, Vol. 9, no. 8, pp. 2315-2324.

29. Younes S.A., Talla A., Pereira Ribeiro S., Saidakova E.V., Korolevskaya L.B., Shmagel K.V., Shive C.L., Freeman M.L., Panigrahi S., Zweig S., Balderas R., Margolis L., Douek D.C., Anthony D.D., Pandiyan P., Cameron M., Sieg S.F., Calabrese L.H., Rodriguez B., Lederman M.M. Cycling CD4⁺ T cells in HIV-infected immune nonresponders have mitochondrial dysfunction. *J. Clin. Invest.*, 2018, Vol. 128, no. 11, pp. 5083-5094.

Авторы:

Сайдакова Е.В. — д.б.н., заведующая лабораторией молекулярной иммунологии Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр, Уральское отделение Российской академии наук», г. Пермь, Россия

Королевская Л.Б. — к.м.н., научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр, Уральское отделение Российской академии наук», г. Пермь, Россия

Шмагель К.В. — д.м.н., заведующий лабораторией экологической иммунологии Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр, Уральское отделение Российской академии наук», г. Пермь, Россия

Authors:

Saidakova E.V., PhD, MD (Biology), Head, Laboratory of Molecular Immunology, Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Affiliation of Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Korolevskaya L.B., PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Environmental Immunology, Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Affiliation of Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Shmagel K.V., PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory of Environmental Immunology, Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Affiliation of Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Поступила 16.08.2021

Отправлена на доработку 11.02.2022

Принята к печати 13.02.2022

Received 16.08.2021

Revision received 11.02.2022

Accepted 13.02.2022

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ В ГЕНЕ *eNOS* С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ У ЖИТЕЛЕЙ ПЕРМСКОГО КРАЯ

Гаврилова Т.В.¹, Кинкулькина А.Р.^{2,3}, Авагян А.С.^{2,3}, Свитич О.А.^{2,3}

¹ ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера»
Министерства здравоохранения РФ, г. Пермь, Россия

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

³ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва,
Россия

Резюме. Известно, что глаукома носит прогрессирующее течение и занимает ведущее место среди причин снижения зрения и слепоты. Ведущим этиологическим фактором является повышенное внутриглазное давление. Но в ряде случаев прогрессирование заболевания наблюдается и при нормальных значениях офтальмотонуса. Ранняя диагностика глаукомы позволит проводить своевременную терапию, что в свою очередь уменьшит вероятность развития осложнений и замедлит прогрессирование нейрооптикопатии. По данным литературы, патогенез первичной открытоугольной глаукомы связывают с оксидом азота NO, дисбалансом между эндотелий-продуцируемыми вазоконстрикторами и вазодилататорами, основными из которых является эндотелин-1 и оксид азота. Снижение уровня последнего в сочетании с гиперпродукцией эндотелина-1 связывают с развитием и прогрессированием ряда заболеваний органа зрения, в том числе глаукоматозной атрофии зрительного нерва. Поскольку оксид азота продуцируется эндотелиальной NO-синтазой (*eNOS*), можно предположить, что *eNOS* участвует в патогенезе нейродегенеративных изменений при первичной открытоугольной глаукоме. Однако, несмотря на многочисленные исследования, посвященные патогенезу глаукомы, особенности факторов врожденного иммунного ответа остаются недостаточно изученными.

Целью исследования стал поиск ассоциации полиморфных маркеров (*C774T*, *T786C*, *Glu298Asp*) гена *eNOS* с риском возникновения первичной открытоугольной глаукомы среди жителей Пермского края.

В качестве материала использовалась периферическая кровь пациентов с первичной открытоугольной глаукомой (основная группа) и катарактой без глаукомы (группа сравнения). Из сопутствующей патологии чаще всего встречалась гипертоническая болезнь. Из крови пациентов сначала была выделена ДНК, потом проводили реакцию ПЦР-РВ с использованием наборов для определения полиморфных маркеров *C774T*, *T786C*, *Glu298Asp* в гене *eNOS*.

Таким образом, у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой была проанализирована распространенность полиморфных вариантов генов врожденного иммунитета *T786C*, *C774T* и *Glu298Asp*

Адрес для переписки:

Свитич Оксана Анатольевна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»
105064, Россия, Москва, Малый Казенный пер., 5а, стр. 1.
Тел./факс: 8 (495) 917-49-00.
E-mail: mech.inst@mail.ru

Address for correspondence:

Svitich Oksana A.
I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera
105064, Russian Federation, Moscow, Maly Kasennyi lane,
5a, bldg 1.
Phone/fax: 7 (495) 917-49-00.
E-mail: mech.inst@mail.ru

Образец цитирования:

Т.В. Гаврилова, А.Р. Кинкулькина, А.С. Авагян, О.А. Свитич «Ассоциация полиморфных маркеров в гене *eNOS* с риском развития первичной открытоугольной глаукомы у жителей Пермского края» // Российский иммунологический журнал, 2022. Т. 25, № 1. С. 83-92.
doi: 10.46235/1028-7221-1081-ABP

© Гаврилова Т.В. и соавт., 2022

For citation:

T.V. Gavrilova, A.R. Kinkulkina, A.S. Avakyan, O.A. Svitich "Association between polymorphic *eNOS* gene markers and risk of primary open-angle glaucoma in the Perm Region population", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2022, Vol. 25, no. 1, pp. 83-92.
doi: 10.46235/1028-7221-1081-ABP

DOI: 10.46235/1028-7221-1081-ABP

гена *eNOS*. Среди маркеров *C774T* и *Glu298Asp* не выявлено достоверных различий в распределении генотипов и аллелей гена *eNOS*. Установлено повышение частоты встречаемости гомозиготного генотипа ТТ; снижение встречаемости аллеля С по полиморфному локусу *T786C* гена *eNOS*, а также тенденция к снижению встречаемости генотипов ТС и СС. Гипертоническая болезнь усиливала негативное влияние повышенного внутриглазного давления на глаукомную оптическую нейропатию.

Изученные изменения генотипов и аллелей гена *eNOS* могут рассматриваться в качестве факторов, повышающих вероятность возникновения первичной открытоугольной глаукомой и прогнозирования тяжести течения заболевания.

Ключевые слова: глаукома, иммунная привилегированность органа зрения, полиморфизм генов, врожденный иммунитет, эндотелиальная NO-синтаза

ASSOCIATION BETWEEN POLYMORPHIC *eNOS* GENE MARKERS AND RISK OF PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA IN THE PERM REGION POPULATION

Gavrilova T.V.^a, Kinkulkina A.R.^{b, c}, Avakyan A.S.^{b, c}, Svitich O.A.^{b, c}

^a E. Wagner State Medical University, Perm, Russian Federation

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

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

Abstract. Glaucoma is widely known to have a progressive course and occupy a leading place among the causes of vision loss and blindness. Increased intraocular pressure is the key harmful factor among the causes of glaucoma occurrence. In some cases, however, the progressive disease is also observed at normal values of ophthalmic tonus. Early diagnosis of glaucoma will allow for timely therapy, which in turn will reduce the risk of complications and prevent neuroopticopathy progression. According to the literature data, the pathogenesis of primary open-angle glaucoma is associated with nitric oxide (NO), due to imbalance between endothelium-produced vasoconstrictors and vasodilators, especially, endothelin-1 and nitric oxide. Decreased NO level combined with endothelin-1 hyperproduction is associated with development and progression of a number of ocular disorders including glaucomatous atrophy of the optic nerve. Since nitric oxide is produced by endothelial NO-synthase (*eNOS*), one may assume that *eNOS* is involved in pathogenesis of neurodegenerative changes in primary open-angle glaucoma. However, despite numerous studies on the pathogenesis of glaucoma, the distinct factors of innate immune response remain poorly studied. The purpose of the present study was a search for association between polymorphic markers (*C774T*, *T786C*, *Glu298Asp*) of the *eNOS* gene and the risk of primary open-angle glaucoma among the Perm Region residents.

Peripheral blood of patients with primary open-angle glaucoma (the main group) and cataract without glaucoma (a comparison group) was used as initial biomaterial. In comparison group, arterial hypertension was most often encountered as concomitant pathology. Genomic DNA was first isolated from the blood samples, followed by rt-PCR using reagent kits for determining *C774T*, *T786C*, *Glu298Asp* polymorphic markers in the *eNOS* gene.

The prevalence of polymorphic variants of the innate immunity genes *T786C*, *C774T* and *Glu298Asp* of the *eNOS* gene was analyzed in patients with primary open-angle glaucoma. There were no significant differences in the distribution of genotypes and alleles of *eNOS* gene for the *C774T* and *Glu298Asp* polymorphic markers. An increased frequency of homozygous TT genotype was found, along with decreased occurrence of C allele at the polymorphic *T786C* locus of the *eNOS* gene, as well as a trend for decreased frequency of the TC and CC genotypes. Arterial hypertension potentiated the negative effect of increased intraocular pressure upon the glaucoma-associated optic neuropathy. Conclusions. The studied changes in genotypes and allelic frequencies of *eNOS* gene may be regarded as risk factors that increase probability of the primary open-angle glaucoma and predict severity of the disease.

Keywords: glaucoma, eye, immunoprivileged site, gene polymorphism, innate immunity, NO synthase, endothelial

Введение

Глаз – это иммунно-привилегированный орган, в котором из-за локальных особенностей иммунитета в норме не развиваются воспалительные реакции, приводящие к повреждению тканей глаза, а также, как следствие, к снижению или потере зрительных функций [1].

В настоящее время выделен ряд факторов, обеспечивающих иммунную привилегированность глаза, которые условно делятся на пассивные и активные [3, 16]. К пассивным факторам относят особенности иммуноморфологии, включающие наличие гематоофтальмического барьера, недостаточность афферентного лимфатического дренажа и недостаточность экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС) I и II классов на тканях глаза. К активным факторам относят конститутивную экспрессию на поверхности интраокулярных клеток ряда мембранных молекул, в том числе молекулы апоптоза Fas-лиганда (Fas-L), ингибиторов активации комплемента (CD59, MCP, DAF) и иммуносупрессивное микроокружение тканей глаза [3, 7, 11, 16, 18, 21].

По данным литературы, известно, что нарушения баланса иммунологических факторов в глазу могут привести к развитию патологии этого органа, в том числе глаукоме, катаракте [2].

Известно, что глаукома занимает ведущие позиции среди причин неизлечимой слепоты и является важной медико-социальной проблемой. По данным ВОЗ, в мире сейчас более 100 млн человек страдают глаукомой, из них 5,2 млн человек слепые на оба глаза вследствие этого заболевания, что составляет 13,5% от всех случаев потери зрения [10, 21].

Процент заболеваемости глаукомой постоянно растет. По прогнозам ВОЗ, число больных глаукомой в мире возрастет к 2040 году до 111,8 млн человек. В России, по разным оценкам, число больных глаукомой составляет от 750 тысяч до 1,3 млн [10].

Глаукома, согласно общепринятой классификации, бывает открытоугольной и закрытоугольной. Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) представляет собой наиболее распространенный тип глаукомы, на долю которого приходится три четверти всех случаев заболевания [9].

Основным фактором риска развития глаукомы является повышенное внутриглазное давление (ВГД). Однако это не объясняет, по какой причине у пациентов развивается глаукома, в то время как их ВГД находится в норме [5]. В связи с этим в последнее время глаукому изучают с точки зрения иммунопатогенеза.

Среди иммунологических факторов, которые могут играть ключевую роль при глаукоме – факторы врожденного иммунитета, обеспечивающие первую линию защиты организма. Повышенное ВГД запускает иммунные реакции, включающие вспомогательные иммунные клетки, что ведет к активации микроглии, а также инфильтрации макрофагов/моноцитов. На сегодняшний день основные воспалительные сигналы, приводящие к глаукоматозной нейродегенерации, остаются неизвестными [2, 14].

В последние годы доказана важная роль в патогенезе глаукомы нейровоспалительных процессов, опосредованных астроцитами, микроглией, эндотелиальными клетками, а также факторами врожденного иммунного ответа [17].

Окислительный стресс уже давно считается одним из основных факторов, лежащих в основе патофизиологии заболеваний глаз, в том числе глаукомы [4, 6]. Генетические факторы подтверждают эту теорию. За последнее десятилетие было идентифицировано около 40 полиморфизмов в генах, белковые продукты которых связаны с риском развития патологии.

Патогенез ПОУГ связывают с влиянием оксида азота (NO). В норме его действие связано с вазодилатирующим эффектом, улучшением кровотока, перфузии зрительного нерва и усилением оттока внутриглазной жидкости, с другой стороны – его участием в регуляции окислительного стресса и цитотоксического влияния свободных радикалов на ганглиозные клетки сетчатки. Поскольку NO продуцируется эндотелиальной NO-синтазой (eNOS), можно предположить, что eNOS участвует в патогенезе нейродегенеративных изменений при ПОУГ [8, 12, 19, 20]. В последние годы активно изучаются полиморфные варианты гена eNOS, по многим данным литературы найдены взаимосвязи между полиморфизмами этого гена и возникновением заболеваний глаз, в том числе глаукомы [3, 13].

Несмотря на большое количество исследований в области окислительного стресса и врожденного иммунитета, некоторые вопросы остаются без ответа. По этой причине **целью настоящего исследования** было изучение ассоциации полиморфных маркеров гена *eNOS* с риском развития первичной открытоугольной глаукомы у жителей Пермского края.

Материалы и методы

Для исследования ассоциации полиморфных маркеров в генах были изучены данные 188 пациентов в возрасте от 39 до 89 лет. Из них основную группу составили 90 человек, у которых была диагностирована первичная открытоугольная глаукома. При этом у 80 человек этой группы была

диагностирована катаракта различной степени зрелости; сопутствующее заболевание (гипертоническая болезнь) было у 67 человек. Группу сравнения составили 98 человек, у которых была диагностирована возрастная катаракта различной степени зрелости и отсутствовали признаки глаукомы, при этом гипертоническая болезнь в качестве сопутствующей патологии была у 54 человек. Все пациенты были жителями Пермского края и проходили лечение в Центре микрохирургии глаза Пермской краевой клинической больницы по поводу катаракты или глаукомы. Всем больным при поступлении в стационар разъяснялась суть проводимого исследования, ими подписывалось добровольное согласие на участие в нем. В качестве материала использовалась периферическая кровь, из которой набором К-СОРБ, фирмы «Синтол» (Россия) по протоколу была выделена ДНК, потом проводили полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с использованием наборов для определения полиморфных маркеров *T786C*, *C774T*, *Glu 298 Asp* в гене *eNOS* фирмы «Синтол» (Россия).

Для описания количественных переменных использовали среднее со стандартным отклонением ($M \pm SD$) и медиану с межквартильным размахом — $Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$. Сравнение групп по возрасту проводилось с помощью u -критерия Манна–Уитни, сравнение групп по частоте гендерного распределения, а также по частоте встречаемости аллелей проводилось с помощью критерия хи-квадрат.

Распределение аллелей и генотипов по группам описывалось с помощью процентных долей. Распределение долей генотипов проверялось с помощью критерия хи-квадрат.

Анализ взаимосвязи генотипов и наличия глаукомы у пациентов проводили с помощью бинарной логистической регрессии. Результаты описаны с помощью отношения шансов (ОШ) и 95% доверительного интервала для ОШ (ДИ). ОШ равное единице показывает равенство сравниваемых шансов. Если доверительный интервал ОШ включает единицу, то отсутствует статистически значимая связь между генотипом и наличием глаукомы у пациента. Для анализа совместного действия генотипов на наличие глаукомы использовался байесовский подход к построению логистической регрессии.

При оценке результатов статистически значимыми считали результаты при значениях $p < 0,05$. Анализ и визуализацию полученных данных проводили с использованием компьютерной программы для статистической обработки данных — статистического пакета для социальных наук SPSS (Statistical Package for the Social Science).

Результаты

Средний возраст пациентов основной группы составил 71 ± 7 лет (медиана 70 лет, 66–73 года), из них 50% — пациенты женского пола и 50% — мужского. Средний возраст в группе сравнения составил 69 ± 9 лет (медиана 69 лет, 64–75 лет), из них 58% — пациенты женского пола и 42% — мужского. Статистически значимые различия между основной группой и группой сравнения по возрасту и по соотношению мужского и женского пола выявлены не были ($p = 0,36$ и $p = 0,42$ соответственно).

Для пациентов обеих групп проводилось генотипирование полиморфизмов *Glu298Asp*, *C774T*, *T786C* по гену *eNOS*. Результаты анализа представлены в таблице 1.

При анализе частоты встречаемости аллелей гена *eNOS* по полиморфному локусу *T786C* в основной группе были выявлены процентные доли аллелей: 67,5% для аллеля Т и 32,5% для аллеля С. В группе сравнения эти процентные доли составили 43,31,3% для аллеля Т и 31,5% для аллеля С. У пациентов с глаукомой наблюдалось достоверное снижение встречаемости аллеля С по сравнению с контрольной группой ($p = 0,013$), по частоте встречаемости аллеля Т статистически значимых отличий не выявлено ($p > 0,05$). На рисунке 1 представлено распределение долей аллелей для основной группы и для группы сравнения.

При исследовании распределения генотипов по полиморфному локусу *T786C* гена *eNOS* в основной группе доля гомозигот по аллелю Т составила 57,9%, доля гомозигот по аллелю С составила 11,4% и доля гетерозигот составила 30,7%. Распределение генотипов для группы сравнения составило 38,5% для ТТ, 16,7% для ТС и 44,8% для СС. Соответствие равновесию Харди–Вайнберга также не было нарушено. В группе пациентов с ПОУГ установлено достоверное повышение частоты встречаемости гомозиготного генотипа ТТ по сравнению с контрольной группой ($p = 0,039$). При этом шанс развития ПОУГ в 2,12 раза выше по сравнению с контрольной группой (95% ДИ: 1,18–3,81), различия были статистически значимыми. Кроме того, у пациентов с ПОУГ выявлена тенденция к снижению встречаемости генотипов ТС и СС гена *eNOS* (*T786C*) по сравнению с контрольной группой ($p > 0,05$). На рисунке 2 представлено распределение генотипов для основной группы и для группы сравнения.

При анализе распределения аллелей по полиморфному локусу *C774T* гена *eNOS* в основной группе были выявлены процентные доли аллелей: 66,1% для аллеля Т и 33,9% для аллеля С. В группе сравнения эти процентные доли составили: 65% для аллеля Т и 35% для аллеля С. По ча-

ТАБЛИЦА 1. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ ГЕНОТИПОВ И АЛЛЕЛЕЙ ПО ПОЛИМОРФНЫМ ЛОКУСАМ ГЕНА eNOS

TABLE 1. DISTRIBUTION OF FREQUENCIES OF GENOTYPES AND ALLELES BY POLYMORPHISM OF THE eNOS GENE

Полиморфизм Polymorphism	Генотип/ аллель Genotype/ allele	Группы Group		
		Пациенты с ПОУГ Patients with POAG	Группа сравнения Control group	
T786C	ТТ	0,58	0,38	$\chi^2 = 6,478$ $p = 0,039$
	СС	0,11	0,17	$\chi^2 = 1,130$ $p = 0,301$
	ТС	0,31	0,45	$\chi^2 = 3,464$ $p = 0,071$
	Т	0,68	0,58	$\chi^2 = 1,130$ $p = 0,301$
	С	0,32	0,42	$\chi^2 = 6,471$ $p = 0,013$
C774T	ТТ	0,08	0,08	$\chi^2 = 0,392$ $p = 0,838$
	СС	0,53	0,49	
	ТС	0,39	0,43	
	Т	0,48	0,65	$\chi^2 = 0,644$ $p = 0,456$
	С	0,52	0,35	
Glu298Asp	ТТ	0,48	0,47	$\chi^2 = 0,008$ $p = 0,967$
	СС	0,12	0,13	
	ТС	0,4	0,4	
	Т	0,63	0,63	$\chi^2 = 0,04$ $p = 1$
	С	0,37	0,37	

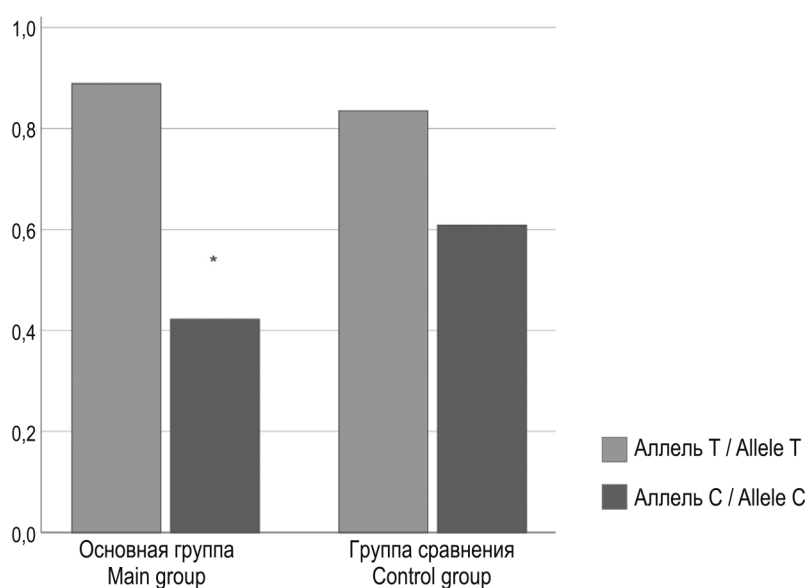


Рисунок 1. Распределение долей аллелей полиморфизма T786C в группах

Figure 1. Distribution of allele shares T786C polymorphism in groups

стоте встречаемости аллелей основная группа и группа сравнения статистически значимо не различались ($p > 0,05$). На рисунке 3 представлено распределение долей аллелей для основной группы и для группы сравнения.

При анализе распределения генотипов по полиморфному локусу *C774T* гена *eNOS* у пациентов с ПОУГ выявлено снижение встречаемости генотипа *ТС*, по генотипам *СС* и *ТТ* различий не было. Полученные данные по распределению частот генотипов и аллелей оказались статистически недостоверными ($p > 0,05$). На рисунке 4 представлено соотношение пациентов в основной группе и группе сравнения для каждого генотипа *C774T* гена *eNOS*.

В ходе анализа полиморфного варианта *Glu298Asp* также было выявлено отсутствие ста-

стистически значимых различий между основной группой и группой сравнения по частотам встречаемости аллелей ($p > 0,05$). И в основной группе, и в группе сравнения частота встречаемости аллеля *С* составила 32%, а аллеля *Т* составила 68%. Распределение аллелей по группам представлено на рисунке 5.

При анализе частот генотипов было выявлено одинаковое распределение аллелей в обеих группах: для генотипа *ТТ* – 48%, для генотипа *СТ* – 39%, для генотипа *СС* – 13%.

В ходе сравнения генотипов для полиморфизма *Glu298Asp* гена *eNOS* были определены отношения шансов наличия глаукомы и соответствующие *p*-значения.

По данной выборке шансы наличия глаукомы для генотипов полиморфизма *Glu298Asp* стати-

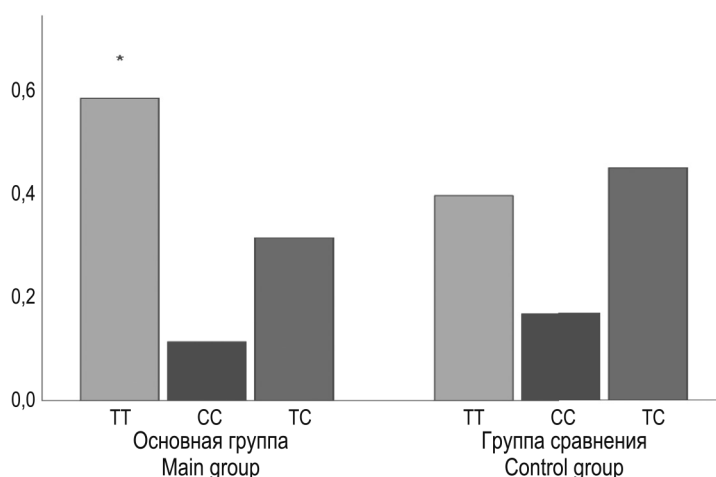


Рисунок 2. Ассоциация различных генотипов полиморфизма *T786C* с глаукомой

Figure 2. Association of different genotypes of *T786C* polymorphism with glaucoma

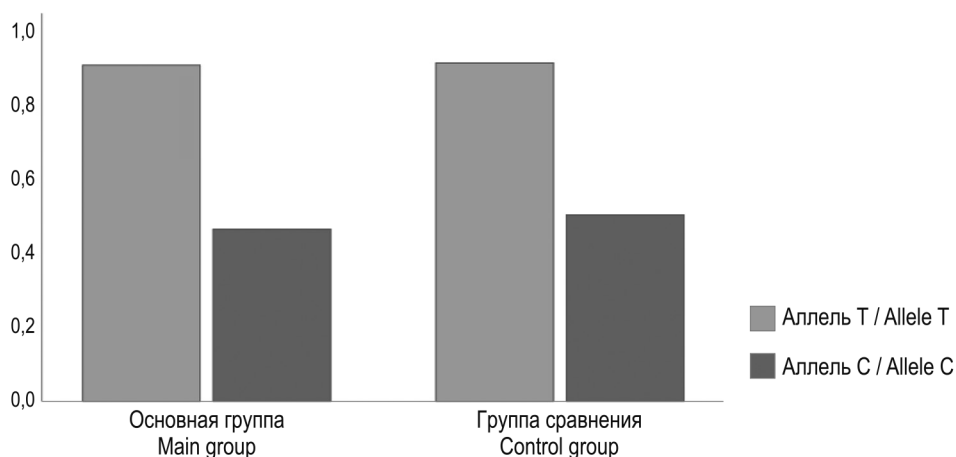


Рисунок 3. Распределение долей аллелей полиморфизма *C774T* в группах

Figure 3. Distribution of allele shares of *C774T* polymorphism in groups

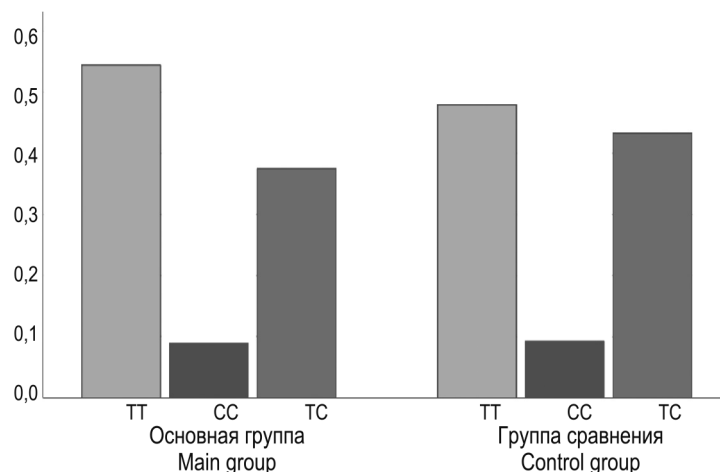


Рисунок 4. Ассоциация различных генотипов полиморфизма C774T с глаукомой

Figure 4. Association of various genotypes of C774T polymorphism with glaucoma

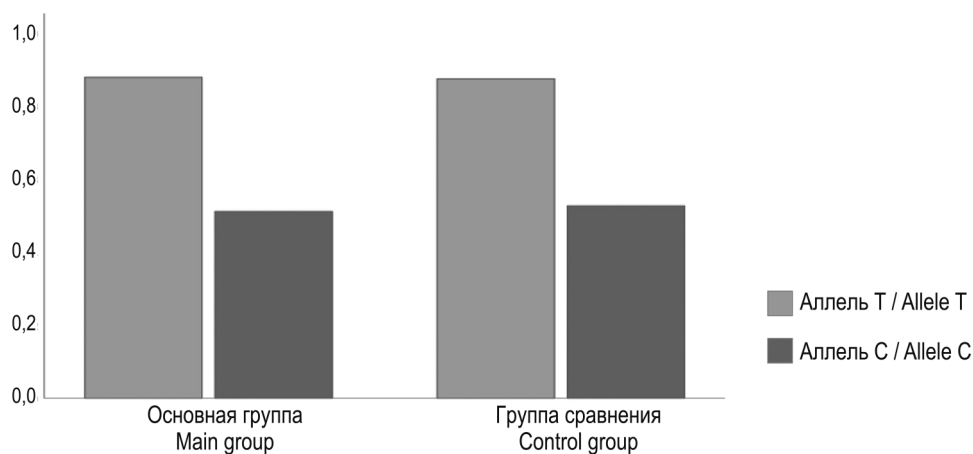


Рисунок 5. Распределение долей аллелей полиморфизма Glu298Asp в группах

Figure 5. Distribution of allele shares of Glu298Asp polymorphism in groups

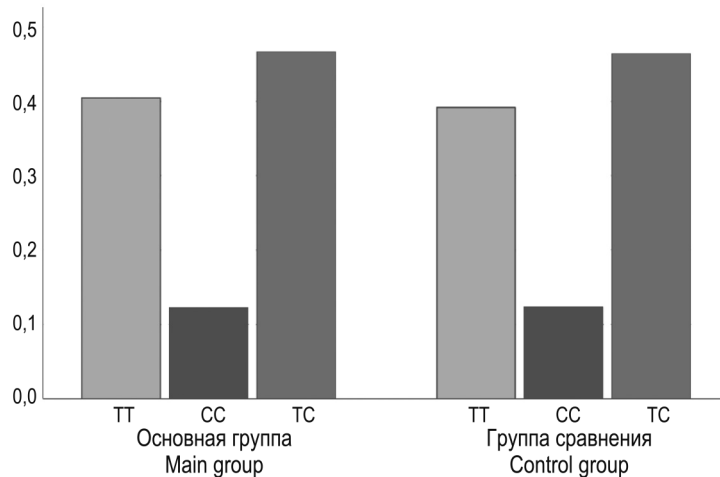


Рисунок 6. Ассоциация различных генотипов полиморфизма Glu298Asp с глаукомой

Figure 6. Association of various genotypes of Glu298Asp polymorphism with glaucoma

стически значимо не различались. При анализе распределения генотипов по полиморфному локусу *Glu298Asp* гена *eNOS* у пациентов с ПОУГ выявлено снижение встречаемости всех генотипов по сравнению с обследованными контрольной группы. Однако полученные данные по распределению частот генотипов и аллелей оказались статистически недостоверными ($p > 0,05$). На рисунке 6 представлено соотношение пациентов с глаукомой и без нее для каждого генотипа.

Обсуждение

По литературным данным известно, что эндотелиальная NO-синтаза участвует в патогенезе нейродегенеративных изменений при ПОУГ. В проведенном исследовании показано, что в группе пациентов с открытоугольной глаукомой генотип ТТ (по полиморфному локусу *T786C* гена *eNOS*) ассоциирован с риском развития глаукомы, в то время как аллель С (*T786C* гена *eNOS*)

играет протективную роль. Кроме того, выявлено совместное влияние генотипов ТТ по полиморфному локусу *T786C* гена *eNOS* и ТС по полиморфному локусу *Glu298Asp* гена *eNOS* на развитие первичной открытоугольной глаукомы у исследуемых больных. Гипертоническая болезнь усиливала негативное влияние повышенного внутриглазного давления на глаукомную оптическую нейропатию.

Заключение

По результатам проведенного исследования было показано, что прогностическими маркерами являются генотип ТТ по полиморфному локусу *T786C* гена *eNOS*, повышающий вероятность развития первичной открытоугольной глаукомы у жителей Пермского края, и аллель С (*T786C* гена *eNOS*), играя, наоборот, протективную роль при этом заболевании.

Список литературы / References

1. Астахов Ю.С., Тульцева С.Н., Титаренко А.И. Роль дисфункции эндотелия в патогенезе сосудистых заболеваний органа зрения // Региональное кровообращение и микроциркуляция, 2016. Т. 15, № 4. С. 60. [Astakhov Yu.S., Tultseva S.N., Titarenko A.I. The role of endothelial dysfunction in the pathogenesis of vascular diseases of the visual organ. *Regionalnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya = Regional Blood Circulation and Microcirculation*, 2016, Vol. 15, no. 4, p. 60. (In Russ.)]
2. Курышева Н.И., Царегородцева М.А. Роль дисфункции эндотелия в патогенезе глаукомы // Глаукома. Журнал НИИ ГБ РАМН, 2011. С. 58-63. [Kuryshcheva N.I., Tsaregorodtseva M.A. The role of endothelial dysfunction in the pathogenesis of glaucoma. *Glaukoma. Zhurnal NII GB RAMN = Glaucoma. Journal of the Research Institute of GB RAMS*, 2011, pp. 58-63. (In Russ.)]
3. Черешнев В.А., Шилов Ю.И., Черешнева М.В., Гаврилова Т.В., Усова В.В., Лобанова Н.Л. Изменения функции иммунной системы и их коррекция миелопептидами при проникающем ранении глаза // Российский иммунологический журнал, 2010. Т. 4 (13), № 3. С. 225-223. [Chereshnev V.A., Shilov Yu.I., Chereshneva M.V., Gavrilova T.V., Usova V.V., Lobanova N.L. Changes in the function of the immune system and their correction with myelopeptides in penetrating eye injury. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2010, Vol. 4 (13), no. 3, pp. 225-223. (In Russ.)]
4. Ayub H., Khan M.I., Micheal S., Akhtar F., Ajmal M., Shafique S., Benish Ali S.H., Hollander A.I., Ahmed A., Qamar R.I. Association of eNOS and HSP70 gene polymorphisms with glaucoma in Pakistani cohorts. *Mol. Vis.*, 2010, Vol. 16, pp. 18-25.
5. Chaiwang N., Poyomtip T. The association of toll-like receptor 4 gene polymorphisms with primary open angle glaucoma susceptibility: a meta-analysis. *Biosci. Rep.*, 2019, Vol. 39, no. 4, BSR20190029. doi: 10.1042/BSR20190029.
6. Charles M.M. Reactive oxygen species, oxidative stress, glaucoma and hyperbaric oxygen therapy. *J. Optom.*, 2018, Vol. 11, no. 1, pp. 3-9.
7. Evangelho K.T., Mogilevskaya M.H., Losada-Barragan M.T., Vargas-Sanchez J.K. Pathophysiology of primary open-angle glaucoma from a neuroinflammatory and neurotoxicity perspective: a review of the literature. *Int. Ophthalmol.*, 2019, Vol. 39, no. 1, pp. 259-271.
8. Iglesias A.I., Springelkamp H., Ramdas W.D., Klaver C.C.W., Willemsen R., van Duijn C.M. Genes, pathways, and animal models in primary open-angle glaucoma. *Eye*, 2015, Vol. 29, pp. 1285-1298.
9. Jeoung J.W., Kim D.M., Oh S., Lee J.S., Park S.S., Kim J.Y. The relation between endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and normal tension glaucoma. *J. Glaucoma* 2017, Vol. 26, no. 11, pp. 1030-1035.

10. Khaled A.A., Kondkar A.A., Kakarla V.C. An updated review on the genetics of primary open angle glaucoma. *Int. J. Mol. Sci.*, 2015, Vol. 16, no. 12, pp. 28886-28911.
11. Kosior-Jarecka E.N., Łukasik U.N., Wróbel-Dudzińska D.N., Kocki J.N., Bartosińska J.N., Witczak A.N., Chodorowska G.N., Mosiewicz J.N., Żarnowski T.N. Risk factors for normal and high-tension glaucoma in Poland in connection with polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase gene. *PLoS One*, 2016, Vol. 11, no. 1, e0147540. doi: 10.1371/journal.pone.0147540.
12. Mahabadi N.I., Foris L.A., Tripathy K. Open Angle glaucoma. StatPearls Publishing LLC, 2020.
13. Pandey R. Effect Of MET & MFR on primary open angle glaucoma in adult aged between 15-30 years. *Int. J. Adv. Res. Dev.*, 2017, Vol. 2, no. 1, pp. 14-17.
14. Reina-Torres E.N., Ieso M.N., Louis R.P., Overby D.R., Stamer W.D. The vital role for nitric oxide in intraocular pressure homeostasis. *Prog. Retin. Eye Res.*, 2021, Vol. 83, 100922. doi: 10.1016/j.preteyeres.2020.100922.
15. Rieck J. The Pathogenesis of glaucoma in the interplay with the immune system. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2013, Vol. 54, no. 3, pp. 2393-2409.
16. Silva T.M., Rocha A.V., Lacchini R.C., Marquesa C.R., Silva E.S., José-Santos E.T., Santosad F.R. Association of polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene with the risk of primary open angle glaucoma in a Brazilian population. *Gene*, 2012, Vol. 502, no. 2, pp. 142-146.
17. Soto I.N., Howel G.R. The complex role of neuroinflammation in glaucoma. *Cold Spring Harb. Perspect. Med*, 2014, Vol. 4, no. 8, a017269. doi: 10.1101/cshperspect.a017269.
18. Tsai T.N., Grotegut P.N., Reinehr S.N., Joachim S.C. Role of heat shock proteins in glaucoma. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, Vol. 20, no. 20, 5160. doi: 10.3390/ijms20205160.
19. Tsai T., Reinehr S., Maliha A.M., Joachim S.C. Immune mediated degeneration and possible protection in glaucoma. *Front. Neurosci.*, 2019, Vol. 13, 931. doi: 10.3389/fnins.2019.00931.
20. Williams P.A., Armstrong N.M., Howell G.R. Neuroinflammation in glaucoma: a new opportunity. *Exp. Eye Res.*, 2017, Vol. 157, pp. 20-27.
21. Xiang Y., Dong Y., Li X., Tang X. Association of common variants in eNOS gene with primary open angle glaucoma: a meta-analysis. *J. Ophthalmol.*, Vol. 2016, 1348347. doi: 10.1155/2016/1348347.

Авторы:

Гаврилова Т.В. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой офтальмологии ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения РФ, г. Пермь, Россия

Кинкулькина А.Р. — аспирант кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Института общественного здоровья имени Ф.Ф. Эрисмана ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет); младший научный сотрудник ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Authors:

Gavrilova T.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Ophthalmology, E. Wagner State Medical University, Perm, Russian Federation

Kinkulkina A.R., Postgraduate Student, Department of Microbiology, Virology and Immunology, F. Erismann Institute of Public Health, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); Junior Research Associate, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Авагян А.С. — студентка ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет); лаборант, лаборатория молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Свитич О.А. — д.м.н., член-корреспондент РАН, профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, директор Института общественного здоровья имени Ф.Ф. Эрисмана ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет); директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Avakyan A.S., Student, First Moscow State Medical University (Sechenov University); Laboratory Assistant, Laboratory of Molecular Immunology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Svitich O.A., PhD, MD (Medicine), Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Director, F. Erismann Institute of Public Health, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); Director, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Поступила 06.08.2021
Принята к печати 13.02.2022

Received 06.08.2021
Accepted 13.02.2022

СОСТОЯНИЕ КИЛЛЕРНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА У ВЗРОСЛЫХ ПАЦИЕНТОВ С ОБЩЕЙ ВАРИАБЕЛЬНОЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Прокопович С.С., Новикова И.А.

УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Республика Беларусь

Резюме. Проанализированы особенности субпопуляционного состава лимфоцитов киллерного кластера периферической крови методом проточной цитофлуориметрии в комплексе с клиническими проявлениями у 30 взрослых пациентов (12 мужчин и 18 женщин, средний возраст $37,5 \pm 12,3$ года) с установленным диагнозом общая переменная иммунологическая недостаточность. Все пациенты наблюдались в отделении иммунопатологии и аллергологии Государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека» (г. Гомель, Республика Беларусь). Диагноз верифицирован на основании клинико-лабораторных критериев, разработанных Европейским обществом по иммунодефицитам (European Society for Immunodeficiencies, Common Variable Immunodeficiency diagnostic criteria, 2020). Обследование пациентов проводилось в период очевидного отсутствия инфекционно-воспалительных заболеваний перед ежемесячным введением препаратов иммуноглобулинов. Контрольную группу составили 30 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту с когортой пациентов и не имеющих клинико-лабораторных признаков иммунологической недостаточности. Установлено, что у пациентов с общей переменной иммунологической недостаточностью снижено содержание в периферической крови НК-клеток ($CD3^+CD16^+CD56^+$) и $CD3^+CD8^+$ лимфоцитов ($p_{\%} = 0,009$, $p_{абс} = 0,03$ и $p_{\%, абс} < 0,001$ соответственно) с одновременным повышением количества Т-цитотоксических клеток и НКТ-лимфоцитов ($CD3^+CD8^+$; $p_{\%} = 0,02$, $p_{абс} = 0,009$ и $CD3^+CD16^+CD56^+$; $p_{\%} < 0,001$, $p_{абс} = 0,004$ соответственно). Выраженная лимфопения НК-клеток обратно взаимосвязана с количеством Т-киллеров ($r_{s\%} = -0,545$, $p = 0,03$), активированных Т-цитотоксических лимфоцитов ($CD3^+CD8^+CD38^+$; $r_{s\%} = -0,38$, $p = 0,04$) и прямо коррелирует с численностью $CD3^+CD8^+$ клеток ($r_{s\%} = 0,481$, $p = 0,008$). Также нами установлена взаимосвязь параметров киллерного кластера лимфоцитов ($CD3^+CD16^+CD56^+$, $CD3^+CD8^+$, $CD3^+CD16^+CD56^+$) с тяжестью клинических проявлений общей переменной иммунологической недостаточности. Максимально выраженные изменения киллерных субпопуляций отмечены у пациентов с сочетанным клиническим фенотипом «инфекционный синдром + аутоиммунный синдром» и «инфекционный синдром + аутоиммунный синдром + энтеропатия». Таким образом, выраженные изменения субпопуляций киллерных клеток в виде лимфопении НК-клеток и $CD3^+CD8^+$ лимфоцитов на фоне повышения количества НКТ-лимфоцитов и Т-киллеров связаны с более тяжелыми клиническими фенотипами общей переменной иммунологической недостаточности и прежде всего с развитием аутоиммунных процессов.

Ключевые слова: общая переменная иммунологическая недостаточность, лимфоциты, иммунофенотипический анализ, иммуноглобулин, клинический фенотип, взрослые пациенты

Адрес для переписки:

Прокопович Светлана Сергеевна
УО «Гомельский государственный медицинский университет»
246038, Республика Беларусь, г. Гомель,
ул. Свиридова, 61, кв. 29.
Тел.: +375 29 112 48 43.
Факс: +375 (232) 35 9838.
E-mail: prokopovich.s1983@gmail.com

Address for correspondence:

Prokopovich Svetlana S.
Gomel State Medical University
246038, Republic of Belarus, Gomel, Sviridov str., 61, apt 29.
Phone: +375 29 112 48 43.
Fax: +375 (232) 35 9838.
E-mail: prokopovich.s1983@gmail.com

Образец цитирования:

С.С. Прокопович, И.А. Новикова «Состояние киллерного звена иммунитета у взрослых пациентов с общей переменной иммунологической недостаточностью» // Российский иммунологический журнал, 2022. Т. 25, № 1. С. 93-98.
doi: 10.46235/1028-7221-1097-KCC

© Прокопович С.С., Новикова И.А., 2022

For citation:

S.S. Prokopovich, I.A. Novikova "Killer cell cluster immunity state in adult patients with common variable immunodeficiency", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2022, Vol. 25, no. 1, pp. 93-98.
doi: 10.46235/1028-7221-1097-KCC

DOI: 10.46235/1028-7221-1097-KCC

KILLER CELL CLUSTER IMMUNITY STATE IN ADULT PATIENTS WITH COMMON VARIABLE IMMUNODEFICIENCY

Prokopovich S.S., Novikova I.A.

Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus

Abstract. The subpopulation spectrum of killer cluster lymphocytes in peripheral blood was assessed by flow cytometry in combination, along with analysis of clinical manifestations in 30 adult patients (12 males and 18 females, mean age 37.5 ± 12.3 years) diagnosed with common variable immunodeficiency (CVID). All the patients were observed at the Department of Immunopathology and Allergology at the State Institution “Republican Scientific and Practical Center of Radiation Medicine and Human Ecology” (Gomel, Republic of Belarus). The diagnosis was based on clinical and laboratory criteria developed by the European Society for Immunodeficiencies, using Common Variable Immunodeficiency Diagnostic Criteria, 2020. The patients were examined in the apparent absence of infectious inflammatory disease, prior to monthly immunoglobulin injections. The control group consisted of 30 healthy subjects, comparable in age and sex with the patients’ cohort, free of clinical and laboratory signs of immunological insufficiency. The patients with CVID had a reduced content of NK cells ($CD3^-CD16^+CD56^+$) and $CD3^-CD8^+$ lymphocytes in peripheral blood ($p_{\%} = 0.009$, $r_{abs} = 0.03$ and $p_{\%, abs} < 0.001$ respectively), along with increase of T cytotoxic cells and NKT lymphocytes ($CD3^+CD8^+$; $p_{\%} = 0.02$, $r_{abs} = 0.009$ and $CD3^+CD16^+CD56^+$; $p_{\%} < 0.001$, $r_{abs} = 0.004$, respectively). Severe NK cell lymphopenia showed inverse correlation with the numbers of T cyclers ($r_{s\%} = -0.545$, $p = 0.03$), activated T cytotoxic lymphocytes ($CD3^+CD8^+CD38^+$; $r_{s\%} = -0.38$, $p = 0.04$), and directly correlated with $CD3^-CD8^+$ cell counts ($r_{s\%} = 0.481$, $p = 0.008$). We also revealed a correlation between the parameters of killer lymphocyte cluster ($CD3^-CD16^+CD56^+$, $CD3^-CD8^+$, $CD3^+CD16^+CD56^+$) and severity of clinical manifestations in CVID patients. The most pronounced changes in the killer cell subpopulations were observed in patients with a combined clinical phenotype “infection syndrome + autoimmune syndrome” and “infection syndrome + autoimmune syndrome + enteropathy”. Thus, the marked changes of killer cell subpopulations manifesting as decreased counts of NK cells and $CD3^-CD8^+$ lymphocytes, along with increased NKT lymphocytes and T killer numbers are associated with more severe clinical phenotypes of CVID and, above all, with development of autoimmune disorders.

Keywords: common variable immunodeficiency, lymphocytes, immunophenotypic analysis, immunoglobulin, clinical phenotype, adult patients

Исследование было выполнено на следующих базах: кафедра клинической лабораторной диагностики, аллергологии и иммунологии УО «Гомельский государственный медицинский университет» (ректор — д.м.н., доцент И.О. Стома); лаборатория клеточных технологий (заведующий лабораторией Н.И. Шевченко) и отделение иммунопатологии и аллергологии (заведующий отделением — к.б.н. А.П. Саливончик) ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека» (директор — д.м.н., доцент А.В. Рожко).

Введение

Общая переменная иммунологическая недостаточность (ОВИН) является наиболее частым первичным иммунодефицитом у взрослых [2, 6, 7]. Заболевание сопряжено с многочисленными изменениями параметров гуморального и клеточного иммунитета, включая, кроме нару-

шения дифференцировки В-лимфоцитов, различные количественные и функциональные дефекты Т-клеток и естественных киллеров. Так, продемонстрировано увеличение количества Т-цитотоксических лимфоцитов в крови пациентов на фоне снижения содержания Т-хелперов, Т-лимфоцитов памяти и регуляторных Т-клеток (Treg), повышение экспрессии молекул ранней и поздней активации на Т-лимфоцитах [1, 3, 10].

Известно, что клетки киллерного кластера, помимо непосредственного цитолитического действия, играют важную роль в регуляции механизмов естественной и специфической реактивности иммунной системы, которая осуществляется через рецепторные взаимодействия, секрецию цитокинов (TNF α , IFN γ , IL-10, IL-3, IL-8), хемокинов (MIP-1 α/β , RANTES, CCL22, XCL1, CXCL8), ростовых факторов (GM-CSF, G-CSF) [6, 8, 9]. Участие цитотоксических субпопуляций лимфоцитов в противоинфекционном и противоопухолевом иммунитете, а также в фор-

мировании хронического воспаления предполагает их важную роль в развитии таких серьезных осложнений первичных гуморальных иммунодефицитов, как аутоиммунный синдром и опухолевые заболевания.

Цель работы – охарактеризовать состояние киллерного звена лимфоцитов и установить взаимосвязь с клиническими фенотипами у пациентов с общей переменной иммунологической недостаточностью.

Материалы и методы

Проведен ретроспективный анализ клинико-иммунологических параметров 30 пациентов (12 мужчин и 18 женщин) с установленным диагнозом ОВИН. Средний возраст пациентов составил $37,5 \pm 12,3$ года. Все пациенты наблюдались в отделении иммунопатологии и аллергологии Государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека» (г. Гомель, Республика Беларусь). Диагноз верифицирован на основании клинико-лабораторных критериев, разработанных Европейским обществом по иммунодефицитам (European Society for Immunodeficiencies, Common Variable Immunodeficiency diagnostic criteria, 2020) [6].

У всех пациентов имелись в анамнезе инфекционные проявления вирусной и бактериальной природы: рецидивирующие инфекции ЛОР-органов – 30 человек (100%), пневмонии – 18 пациентов (60%), причем у 7 человек в сочетании с бронхоэктатической болезнью. Поражения кожи в виде пиодермии, дерматита, опоясывающего лишая наблюдались в 10 случаях (33,3%). У 11 пациентов (36,7%) инфекционный синдром (ИС) сочетался с аутоиммунным синдромом (АИС) в виде наличия таких проявлений, как аутоиммунная цитопения, ревматоидный артрит, аутоиммунный тиреоидит, алопеция. В 6 (20%) случаях наблюдались проявления лимфопролиферативного синдрома (ЛПС): увеличение периферических лимфатических узлов, лимфоидная гиперплазия кишечника, спленомегалия. Различные формы поражения желудочно-кишечного тракта (гастродуоденит, синдром раздраженного кишечника, хронический энтероколит, илеит) были выявлены в 16 случаях (53,3%). У 4 пациентов имелись злокачественные новообразования: аденокарцинома желудка (1 случай), лимфома (3 случая). Обследование пациентов с ОВИН проводилось в период очевидного отсутствия инфекционно-воспалительных заболеваний. Образцы крови забирались перед ежемесячным введением препаратов иммуноглобулинов.

Субпопуляции лимфоцитов периферической крови идентифицировали на проточном ци-

тофлуориметре BD FACS Canto II (США) с использованием наборов моноклональных антител линии IOTest фирм Beckman Coulter (France) и Becton Dickinson and Company (США), конъюгированных с флюорохромами. Содержание клеток киллерного кластера идентифицировали по экспрессии антигенов $CD3^+CD8^+$ (Т-киллеры), $CD3^+CD16^+CD56^+$ (NK-клетки), $CD3^+CD16^+CD56^+$ (NKT-лимфоциты), $CD3^+CD8^+CD45RO^+$ (Т-киллеры памяти), $CD3^+CD8^+CD38^+$ (активированные цитотоксические Т-лимфоциты). Дополнительно определяли субпопуляцию лимфоцитов $CD19^+IgD^+CD27^+$ (IgD-переключенные В-лимфоциты памяти), которая, как известно, используется как дополнительный диагностически значимый лабораторный критерий ОВИН [1, 2, 3, 7]. Содержание сывороточных иммуноглобулинов А, М, G оценивали иммунотурбидиметрическим методом на автоматическом биохимическом анализаторе Architec C8000.

Контрольную группу составили 30 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту с когортой пациентов и не имеющих клинико-лабораторных признаков иммунологической недостаточности. Клиническое исследование выполнено в соответствии этическими принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (64th WMA General Assembly, Fortaleza, Brazil, October, 2013)

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакетов прикладных программ StatSoft Statistica 13.0 (Trial-версия) и GraphPad Prism версии 9. Нормальность распределения числовых признаков проводилась с использованием критерия Shapiro-Wilk test. Принимая во внимание, что распределение числовых значений отличалось от закона нормального распределения, результаты исследования представлялись в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$). Проверка достоверности различий непараметрически распределенных величин производилась с использованием U-критерия Манна-Уитни. Для проведения корреляционного анализа использовался критерий Спирмена (r: коэффициент корреляции). Критический уровень нулевой гипотезы принимался при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Выявлено, что медианные значения содержания в крови пациентов с ОВИН лимфоцитов с киллерными функциями изменялись неоднородно. Так, количество NK-лимфоцитов ($CD3^+CD16^+CD56^+$) снижалось ($p_{\%} = 0,009$, $p_{abc} = 0,03$), тогда как содержание Т-киллеров и NKT-клеток, напротив, было повышенным в сравнении с контрольной группой ($p_{\%} < 0,001$, $p_{abc} = 0,004$ и $p_{\%} = 0,02$, $p_{abc} = 0,009$ соответственно) (рис. 1).

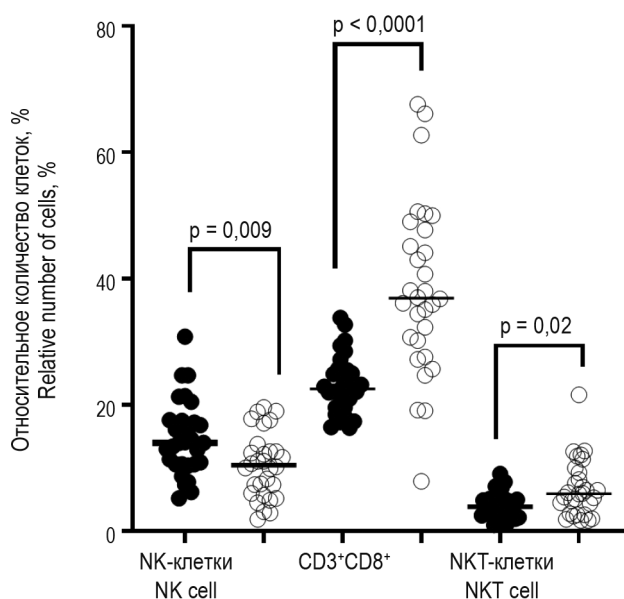


Рисунок 1. Содержание субпопуляций киллерных клеток у пациентов с ОВИН

Примечание. ● – контрольная группа, n = 30. ○ – пациенты с ОВИН, n = 30.

Figure 1. Contents of killer cell subpopulations in patients with CVID

Note. ●, control group, n = 30. ○, patients with CVID, n = 30.

Относительное количество циркулирующих НК-клеток было сопряжено с содержанием Т-цитотоксических лимфоцитов ($r_{s\%} = -0,545$, $p = 0,03$), но не NKT-лимфоцитов. В то же время у здоровых лиц с содержанием Т-киллеров достоверно коррелировали именно NKT ($r_{s\%} = 0,517$, $p = 0,003$), а не NK-лимфоциты.

Дефицит NK-лимфоцитов описан рядом авторов у пациентов с ОВИН и рассматривается как возможная причина их повышенной чувствительности к онкологическим заболеваниям [4, 5]. Тем не менее при индивидуальном анализе содержания НК-клеток в крови обследованных нами пациентов истощение пула NK (ниже нижней границы референтного диапазона) отмечалось только у 13 пациентов (43%; медианные значения 5,7% (4,5-7,4)). У остальных 17 человек (57%) содержание $CD3^+CD16^+CD56^+$ лимфоцитов находилось в пределах референтного диапазона здоровых лиц, хотя и тяготело к нижней границе нормы (медианные значения 12,6 % (11,4-17,7)).

Аналогичная неоднородность обнаруживалась и при анализе изменений количества Т-киллеров ($CD3^+CD8^+$). Увеличение относительного и абсолютного содержания $CD8^+$ Т-лимфоцитов в сравнении с контрольной группой обнаруживалось в 76,7% случаев ($n = 23$), что приводило к повышенным медианным значениям этих показателей у пациентов (36,8 % (30,2-47,7) vs 22,6% (19,6-25,5); $0,62 \times 10^9$ (0,43-0,88) vs $0,43 \times 10^9$ (0,35-0,56) (рис. 1). Только в данной подгруппе пациентов количество Т-киллеров было сопряжено

с содержанием НК-клеток ($CD3^+CD16^+CD56^+$) и $CD3^+CD8^+CD45RO^+$ (Т-киллеры памяти) ($r_{s\%} = -0,545$, $p = 0,03$; $r_{s\%} = 0,612$, $p = 0,009$ соответственно). У 7 пациентов (23,3%) количество Т-киллеров в крови не выходило за пределы референтных значений, и описанные корреляции становились статистически не значимыми.

Повышение содержания $CD3^+CD8^+$ лимфоцитов в периферической крови пациентов с ОВИН описано и другими исследователями [2, 3, 10]. Увеличение цитотоксического потенциала Т-лимфоцитов может быть связано с повышением количества терминально дифференцированных стареющих Т-клеток ($CD45RO^+$) на фоне истощения наивных Т-лимфоцитов ($CD45RA^+$, $CCR7^+$) в условиях длительной антигенной стимуляции, что в некоторой степени подтверждается и нашими исследованиями. Эффекторные Т-клетки памяти, как известно, имеют повышенную экспрессию $IFN\gamma$, перфорина и гранзима А и обладают высоким цитотоксическим потенциалом, что может способствовать формированию аутоиммунного воспаления.

Медианные значения содержания NKT-клеток ($CD3^+CD16^+CD56^+$) у пациентов с ОВИН оказались выше значений здоровых лиц (5,9% (2,8-9,3) vs 3,9% (2,6-5,1)). Известно, что NKT-клетки – это минорная субпопуляция лимфоцитов, одновременно экспрессирующих маркеры Т-лимфоцитов ($CD3$, $TCR\alpha\beta$), и естественных киллеров ($CD16$, $CD56$). По современным данным, $CD3^+CD16^+CD56^+$ лимфоциты повышают

активность иммунокомпетентных клеток при поражении организма вирусами и бактериями путем быстрого высвобождения смешанного профиля цитокинов Th1/Th2 (IL-2, IL-4, IL-10, IL-13, IFN γ , TNF α) и, следовательно, иммунореактивность в целом. С другой стороны, при длительной хронической антигенной стимуляции (например аутоиммунных реакциях и опухолях) НКТ-клетки проявляют преимущественно иммуносупрессивные свойства, индуцируя анергию Т-лимфоцитов и предотвращая чрезмерное повреждение тканей [8, 9, 10]. В наших исследованиях у пациентов с максимальными значениями CD3⁺CD16⁺CD56⁺ лимфоцитов выявлены отрицательные корреляции с содержанием Т-киллеров (CD3⁺CD8⁺; $r_{s\%} = -0,684$, $p = 0,007$) и количеством активированных Т-киллеров (CD3⁺CD8⁺CD38⁺; $r_{s\%} = -0,853$, $p < 0,001$). Это может свидетельствовать, что при ОВИН преобладающей является именно супрессорная активность данной субпопуляции клеток.

Интерес исследователей в настоящее время вызывает субпопуляция лимфоцитов с фенотипом CD3⁺CD8⁺. Предполагается, что это активированные НК с более высоким сродством к клеткам-мишеням [5]. У пациентов с ОВИН наблюдалось снижение количества CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов в периферической крови относительно контрольной группы (1,7% (1,2-2,5) vs 6,4% (5,2-8,3)). При этом следует отметить, что, в отличие от классических НК-лимфоцитов и Т-киллеров, лимфопения по CD3⁺CD8⁺ клеткам наблюдалась практически у всех пациентов (в 93,3% случаев). Количество CD3⁺CD8⁺ клеток коррелировало с содержанием НК-клеток ($r_{s\%} = 0,481$, $p = 0,008$), НКТ-лимфоцитов ($r_{s\%} = 0,427$, $p = 0,02$), активированных Т-киллеров (CD3⁺CD8⁺CD38⁺; $r_{s\%} = -0,376$, $p = 0,04$) и содержанием изотип-переключенных В-клеток памяти (CD19⁺IgD⁺CD27⁺, $r_{s\%} = 0,39$, $p = 0,02$). Известно, что сокращение пула CD19⁺IgD⁺CD27⁺ лимфоцитов рассматривается как один из патогенетически значимых признаков ОВИН и является отражением нарушения антиген-зависимой дифференцировки В-лимфоцитов на этапе их превращения в плазматические клетки [1, 2, 3, 7]. Возможно, минорная субпопуляция лимфоцитов с фенотипом CD3⁺CD8⁺ также участвует в регуляции процессов переключения В-клеток.

Таким образом, у пациентов с ОВИН продемонстрированы выраженные изменения количественного состава субпопуляций лимфоцитов киллерного кластера. При их сопоставлении с клиническими особенностями заболевания выявлено, что максимальные сдвиги параметров наблюдались у пациентов с сочетанным клиническим фенотипом «ИС+АИС+энтеропатия»

($n = 6$). В сравнении с пациентами с фенотипом «ИС+АИС» в этой группе отмечалась максимальная степень снижения количества НК-лимфоцитов и CD3⁺CD8⁺ клеток ($p = 0,02$ и $p = 0,04$ соответственно) на фоне повышения содержания НКТ-клеток ($p = 0,001$) и значительно-го увеличения числа активированных Т-киллеров (CD3⁺CD8⁺CD38⁺; $p = 0,009$). У пациентов с клиническим фенотипом «ИС+АИС» в отличие от пациентов только с инфекционным синдромом также наблюдалось более выраженное снижение НК-клеток ($p = 0,007$), тогда как по другим изученным киллерным субпопуляциям различий не выявлялось.

Также нами установлено, что у пациентов с ОВИН и ЛПС (6 человек) по сравнению с пациентами, не имеющими симптомов лимфопролиферации (24 пациента) содержание НК-клеток оказалось более низким (6,7% (4,9-10,2) vs 11,7% (7,4-17,1), $p = 0,04$).

Полученные результаты свидетельствуют, что выраженные изменения субпопуляций киллерных клеток в виде лимфопении НК-клеток и CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов на фоне повышения количества НКТ-лимфоцитов и Т-цитотоксических клеток связаны с более тяжелыми фенотипами ОВИН и прежде всего с развитием аутоиммунных процессов.

Выводы

1. У пациентов с ОВИН снижено содержание в периферической крови НК-клеток и CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов ($p_{\%} = 0,009$, $p_{abc} = 0,03$ и $p_{\%, abc} < 0,001$) с одновременным повышением количества Т-киллеров и НКТ-лимфоцитов ($p_{\%} = 0,02$, $p_{abc} = 0,009$ и $p_{\%, abc} < 0,001$, $p_{abc} = 0,004$ соответственно).

2. Выраженная лимфопения НК-клеток обратнo взаимосвязана с количеством Т-киллеров (CD3⁺CD8⁺; $r_{s\%} = -0,545$, $p = 0,03$), активированных Т-цитотоксических лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺CD38⁺; $r_{s\%} = -0,38$, $p = 0,04$) и прямо коррелирует с численностью CD3⁺CD8⁺ клеток ($r_{s\%} = 0,481$, $p = 0,008$).

3. Установлена взаимосвязь параметров киллерного кластера лимфоцитов (CD3⁺CD16⁺CD56⁺, CD3⁺CD8⁺, CD3⁺CD8⁺, CD3⁺CD16⁺CD56⁺) с тяжестью клинических проявлений ОВИН. Максимально выраженные изменения киллерных субпопуляций отмечены у пациентов с сочетанным клиническим фенотипом «инфекционный синдром + аутоиммунный синдром» и «инфекционный синдром + аутоиммунный синдром + энтеропатия».

Список литературы / References

1. Новикова И.А., Прокопович С.С., Саливончик А.П., Романива О.А. Клинико-иммунофенотипические аспекты общего переменного иммунодефицита у взрослых // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 1. С. 195-200. [Novikova I.A., Prokopovich S.S., Salivonchik A.P., Romaniva O.A. Clinical and immunophenotypic aspects of common variable immunodeficiency in adults. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2022, Vol. 24, no. 1, pp. 195-200. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-CAI-2185.
2. Ameratunga R., Woon S. Perspective: evolving concepts in the diagnosis and understanding of Common Variable Immunodeficiency Disorders (CVID). *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, 2020, Vol. 59, no. 1, pp. 109-121.
3. Cunningham-Rundles C. Common variable immune deficiency: dissection of the variable. *Immunol. Rev.*, 2019, Vol. 287, no. 1, pp. 145-161.
4. Ebbo M., Gerard L., Carpentier S., Vely F., Cypowyj S., Farnarier C., Vince N., Malphettes M., Fieschi C., Oksenhendler E., Schleinitz N., Vivier E. Low circulating natural killer cell counts are associated with severe disease in patients with common variable immunodeficiency. *EBioMedicine*, 2016, Vol. 6, pp. 222-230
5. Linsen L., Somers V., Stinissen P. Immunoregulation of autoimmunity by natural killer T cells. *Hum. Immunol.*, 2005, Vol. 66, no. 12, pp. 1193-1202.
6. Mormile I., Punziano A., Riolo C.A., Granata F., Williams M., Paulis A., Spadaro G., Rossi F.W. Common variable immunodeficiency and autoimmune diseases: a retrospective study of 95 adult patients in a single tertiary care center. *Front. Immunol.*, 2021, Vol. 12, 652487. doi: 10.3389/fimmu.2021.652487.
7. Tam J., Rautes J. Common variable immunodeficiency. *Am. J. Rhinol. Allergy*, 2013, Vol. 27, no. 4, pp. 260-265.
8. Vankaer L. NKT cells: T lymphocytes with innate effector functions. *Curr. Opin. Immunol.*, 2007, Vol. 19, no. 3, pp. 354-364.
9. Wehr C. Trying to understand NK cell function *in vivo* points towards a Severity Score for CVID Patients. *EBioMedicine*, 2016, Vol. 6, pp. 18-19.
10. Wong G., Huissoon A. T-cell abnormalities in common variable immunodeficiency: the hidden defect. *J. Clin. Pathol.*, 2016, Vol. 69, no. 8, pp. 672-676.

Авторы:

Прокопович С.С. — ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики, аллергологии и иммунологии УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Республика Беларусь

Новикова И.А. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой клинической лабораторной диагностики, аллергологии и иммунологии УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Республика Беларусь

Authors:

Prokopovich S.S., Assistant Professor, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Allergology and Immunology, Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus

Novikova I.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Allergology and Immunology, Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus

Поступила 12.01.2022
Принята к печати 13.02.2022

Received 12.01.2022
Accepted 13.02.2022

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО СТАТУСА, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ФОРМИРОВАНИЕМ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У РАБОТНИКОВ ПРЕДПРИЯТИЯ НЕФТЕДОБЫЧИ

Никоношина Н.А., Долгих О.В., Зайцева Н.В.

ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, Россия

Резюме. Артериальная гипертензия является актуальной проблемой здравоохранения в большинстве стран, обуславливая рост временной и стойкой нетрудоспособности, инвалидизации, а также смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в большинстве стран мира. Исследователями признается мультифакториальность природы артериальной гипертензии, при этом особое значение среди факторов риска имеют средовые детерминанты. Производственная среда предприятия нефтедобычи характеризуется более выраженным действием данных факторов в сравнении с окружающей средой, что может создать предпосылки для раннего развития нарушений процессов адаптации, функциональных изменений иммунной и гуморальной регуляции и, как следствие, повышенного риска развития сердечно-сосудистой патологии у лиц, занятых в добыче нефти. Целью работы являлось изучение особенностей иммунного статуса и гуморальных факторов риска развития артериальной гипертензии у работников предприятия нефтедобычи с установленными эпизодами повышения артериального давления. Для достижения поставленной цели был проведен сравнительный анализ показателей субпопуляционного состава лимфоцитов (CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD25⁺), а также маркеров апоптоза (CD3⁺CD95⁺, TNFR, p53, Вах, Annexin V-FITC+7AAD), фагоцитарной активности лейкоцитов (абсолютный фагоцитоз) и содержания сосудистых гуморальных факторов (оксида азота и гомоцистеина) у работников предприятия по добыче нефти, подвергающихся воздействию неблагоприятных производственных факторов. Группу наблюдения составили работники предприятия нефтедобычи с установленными эпизодами повышения артериального давления. Группу сравнения составили лица без клинических проявлений сердечно-сосудистой патологии. В результате проведенного клинико-лабораторного обследования работников предприятия нефтедобычи с установленными эпизодами повышения артериального давления выявлены функциональные изменения иммунной регуляции. Обследованный контингент отличается статистически значимым ($p < 0,05$) снижением содержания клеток субпопуляций CD3⁺CD4⁺ и CD3⁺CD25⁺ лимфоцитов на фоне повышения ($p < 0,05$) уровня регуляторных CD127 лимфоцитов относительно группы сравнения. У работников предприятия нефтедобычи с установленными эпизодами повышения артериального давления выявлено снижение ($p < 0,05$) фагоцитарной активности лейкоцитов периферической венозной крови по критерию абсолютного фагоцитоза. Установлены признаки угнетения ($p < 0,05$) апоптоза лимфоцитов, характеризующиеся снижением содержания CD95⁺, TNFR и p53 на фоне ($p < 0,05$) повышения уровня Вах

Адрес для переписки:

*Долгих Олег Владимирович
ФБУН «Федеральный научный центр медико-
профилактических технологий управления рисками
здоровью населения»
614045, Россия, г. Пермь, ул. Монастырская, 82.
Тел.: 8 (342) 236-39-30.
E-mail: oleg@fcrisk.ru*

Address for correspondence:

*Dolgikh Oleg V.
Federal Research Center for Medical and Preventive Health
Risk Management Technologies
614045, Russian Federation, Perm, Monastyrskaya str., 82.
Phone: 7 (342) 236-39-30.
E-mail: oleg@fcrisk.ru*

Образец цитирования:

*Н.А. Никоношина, О.В. Долгих, Н.В. Зайцева
«Особенности иммунного статуса, ассоциированные
с формированием артериальной гипертензии у
работников предприятия нефтедобычи» // Российский
иммунологический журнал, 2022. Т. 25, № 1. С. 99-104.
doi: 10.46235/1028-7221-381-FOI*

© Никоношина Н.А. и соавт., 2022

For citation:

*N.A. Nikonoshina, O.V. Dolgikh, N.V. Zaitseva "Features
of immunity associated with emerging arterial hypertension
in workers employed at oil-producing enterprise", Russian
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2022, Vol. 25, no. 1, pp. 99-104.
doi: 10.46235/1028-7221-381-FOI*

DOI: 10.46235/1028-7221-381-FOI

относительно группы сравнения. Однако содержание TNFR и p53 достоверно ($p < 0,05$) превышает референтный уровень независимо от наличия эпизодов повышения артериального давления. Развитие артериальной гипертензии (эпизоды повышения артериального давления) у работников предприятия нефтедобычи статистически значимо ($p < 0,05$) ассоциировано с повышенным уровнем гомоцистеина и оксида азота, избыточные концентрации которых индуцируют развитие дисфункции эндотелия, атерогенез и, как следствие, стойкое повышение артериального давления.

Ключевые слова: иммунная регуляция, артериальная гипертензия, производственные факторы, апоптоз, p53, оксид азота

FEATURES OF IMMUNITY ASSOCIATED WITH EMERGING ARTERIAL HYPERTENSION IN WORKERS EMPLOYED AT OIL-PRODUCING ENTERPRISE

Nikonoshina N.A., Dolgikh O.V., Zaitseva N.V.

Federal Research Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russian Federation

Abstract. Arterial hypertension is an urgent health problem worldwide causing an increase in temporary and permanent disability, invalidity and mortality due to cardiovascular diseases. Researchers recognize the multifactorial nature of arterial hypertension, but environmental factors are of particular potential importance. The working conditions at oil production enterprises are characterized by a more pronounced influence of these factors which may predispose for early development of disadaptation disorders, functional changes in immune and humoral regulation, and, finally, for increased risk of cardiovascular diseases in people engaged in oil production. The aim of the present work was to study the features of immunity and humoral risk factors of arterial hypertension in hypertensive employees at an oil-producing enterprise. To this purpose, a comparative analysis of lymphocyte subpopulations ($CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD25^+$), markers of apoptosis ($CD3^+CD95^+$, TNFR, p53, Bax, Annexin V-FITC+7AAD), phagocytic activity of leukocytes (absolute phagocytosis index), and the levels of vascular humoral factors (nitric oxide and homocysteine) was performed in employees of an oil production enterprise exposed to adverse production factors. The observational group consisted of employees with established episodes of increased blood pressure. A comparison group consisted of individuals without clinical manifestations of cardiovascular disease. As a result of the clinical and laboratory examination of employees at the oil-producing enterprise with arterial hypertension, some functional changes in immune regulation were revealed. This group was characterized by a significantly ($p < 0.05$) decreased $CD3^+CD4^+$, and $CD3^+CD25^+$ lymphocyte contents, along with increased levels of regulatory CD127 lymphocytes against the comparison group ($p < 0.05$). The workers at an oil production enterprise with arterial hypertension are characterized by decreased ($p < 0.05$) phagocytic activity of peripheral blood leukocytes using the criteria of absolute phagocytosis. We found some signs of inhibited lymphocyte apoptosis ($p < 0.05$), i.e., a decrease in $CD95^+$, TNFR, and p53 over the background values, as well as increased Bax levels over the comparison group ($p < 0.05$). However, the content of TNFR and p53 significantly ($p < 0.05$) exceeded the reference level, regardless of previous arterial hypertension episodes. Development of the high blood pressure episodes among the employees at oil-producing plant showed a significant association ($p < 0.05$) with elevated levels of homocysteine and nitric oxide concentrations which are known to induce endothelial dysfunction, atherogenesis and, hence, a persistent increase in blood pressure.

Keywords: immune regulation, arterial hypertension, industrial factors, apoptosis, p53, nitrogen oxide

Введение

Артериальная гипертензия является одной из наиболее распространенных патологий сердечно-сосудистой системы и представляет собой актуальную проблему здравоохранения в большинстве стран, обуславливая рост временной и стойкой нетрудоспособности, инвалидизации,

а также увеличение уровня смертности в большинстве стран мира [9]. Глобальная стратегия снижения сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности предполагает профилактику факторов риска и раннюю диагностику патологий. Исследователями признается мультифакторность патогенеза артериальной гипертензии,

при этом особое место среди факторов риска занимают средовые детерминанты [12]. Условия труда предприятий нефтедобывающей отрасли промышленности характеризуются наличием комплекса химических, физических и психофизиологических производственных факторов [2, 3], негативно воздействующих на состояние здоровья работников данной отрасли производства. Стоит отметить, что условия среды на производстве отличаются более выраженным действием данных факторов по сравнению с окружающей средой, что создает предпосылки для раннего развития нарушений адаптационных процессов, в том числе функциональных изменений иммунной и гуморальной регуляции и, как следствие, формированию повышенного риска развития хронических неинфекционных патологий, включая артериальную гипертензию, у лиц, занятых в добыче нефти [4, 7, 10].

Цель работы – изучение особенностей иммунного статуса у работников предприятия нефтедобычи, ассоциированных с развитием артериальной гипертензии.

Материалы и методы

Проведено обследование 133 мужчин – работников предприятия по добыче нефти, подвергающихся воздействию неблагоприятных производственных факторов. В группу наблюдения включены 77 человек с установленными эпизодами повышения артериального давления. Группу сравнения составили 56 человек без клинических проявлений сердечно-сосудистой патологии. Группы являются сопоставимыми по возрасту, этнической принадлежности и социальному статусу.

Анализ субпопуляционного состава лимфоцитов ($CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD25^+$), а также маркеров апоптоза ($CD3^+CD95^+$, TNFR, p53, Вах, Annexin V-FITC+7AAD) проводился методом проточной цитофлуориметрии на приборе FACSCalibur (Becton Dickinson, США) с использованием универсальной программы CellQuestPro.

Изучение фагоцитарной активности лейкоцитов венозной крови проводилось с использованием формализированных эритроцитов барана.

Определение содержания оксида азота и гомоцистеина проводилось методом иммуноферментного анализа (ИФА).

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0 (StatSoft, США). Результаты исследования представлены в виде среднего значения (M) и ошибки среднего (m) изученных показателей. Уровень достоверности различия полученных данных в обследованных группах оценивали с использованием па-

раметрического t -критерия Стьюдента с учетом нормального распределения переменных в сравниваемых группах. В случае отклонения от нормального распределения для сравнения данных использовали непараметрический U -критерий Манна–Уитни. Различия между группами считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В результате проведенного клинико-лабораторного исследования проб крови работников нефтедобывающего предприятия с установленными эпизодами повышения артериального давления выявлены функциональные изменения иммунной регуляции. В частности установлены достоверные ($p < 0,05$) изменения показателей CD-иммунограммы и регуляции апоптоза (табл. 1).

Анализ субпопуляционного состава лимфоцитов обследованного контингента позволил установить статистически значимое ($p < 0,05$) снижение содержания Т-хелперов ($CD3^+CD4^+$) и активированных лимфоцитов ($CD3^+CD25^+$) относительно группы сравнения. При этом группа наблюдения отличается достоверно ($p < 0,05$) повышенным уровнем как абсолютного, так и относительного содержания регуляторных Т-лимфоцитов ($CD127^-$). Выявленные изменения иммунной регуляции демонстрируют признаки угнетения клеточного звена иммунного ответа и запуска иммуносупрессивных реакций.

В результате исследования фагоцитарной активности лейкоцитов периферической венозной крови выявлены признаки ее угнетения по критерию абсолютного фагоцитоза ($p < 0,05$) относительно значения данного показателя в группе сравнения.

Результаты изучения экспрессии белков, регулирующих процесс апоптоза, демонстрируют статистически значимое ($p < 0,05$) снижение уровня экспрессии мембранного $CD95^+$ рецептора Т-лимфоцитов относительно группы сравнения. Уровни рецептора фактора некроза опухоли α TNFR и внутриклеточного регулятора апоптоза белка p53 достоверно снижены относительно аналогичных значений в группе сравнения, однако весь обследованный контингент характеризуется статистически значимым ($p < 0,05$) превышением референтных уровней данных показателей независимо от наличия «гипертензии» у лиц, занятых в добыче нефти.

Снижение экспрессии проапоптотических регуляторов в группе наблюдения реализуется на фоне статистически значимого повышения уровня антиапоптотического белка Вах относительно аналогичных значений в группе сравнения ($p < 0,05$). Значение процессов апоптоза в патогне-

ТАБЛИЦА 1. ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО СТАТУСА И ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГУМОРАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ СОСУДИСТОГО ТОНУСА, АССОЦИИРОВАННЫЕ С РАЗВИТИЕМ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У РАБОТНИКОВ ПРЕДПРИЯТИЯ НЕФТЕДОБЫЧИ

TABLE 1. FEATURES OF THE IMMUNE STATUS AND INDICATORS OF HUMORAL REGULATION OF VASCULAR TONE ASSOCIATED WITH THE DEVELOPMENT OF ARTERIAL HYPERTENSION IN EMPLOYEES OF AN OIL PRODUCTION ENTERPRISE

Показатель Parameter	Референтный уровень Reference level	Группа наблюдения Observation group (n = 77)	Группа сравнения Comparison group (n = 56)
Абсолютный фагоцитоз, у. е. Absolute phagocytosis, c. u.	0,964-2,988	2,384±0,085*	1,973±0,103
CD3⁺CD4⁺ лимфоциты, отн., % CD3 ⁺ CD4 ⁺ lymphocytes, relative, %	31-60	39,483±0,836*	45,500±2,523
CD3⁺CD4⁺ лимфоциты, абс., 10⁹/дм³ CD3 ⁺ CD4 ⁺ lymphocytes, absolute, 10 ⁹ /dm ³	0,41-1,59	0,903±0,104	0,986±0,146
CD3⁺CD25⁺ лимфоциты, отн., % CD3 ⁺ CD25 ⁺ lymphocytes, relative, %	5-12	8,043±0,645*	19,000±1,189
CD3⁺CD25⁺ лимфоциты, абс., 10⁹/дм³ CD3 ⁺ CD25 ⁺ lymphocytes, absolute, 10 ⁹ /dm ³	0,1-0,3	0,176±0,012*	0,365±0,091
CD3⁺CD95⁺ лимфоциты, отн., % CD3 ⁺ CD95 ⁺ lymphocytes, relative, %	15-25	17,826±1,366*	25,000±3,459
CD3⁺CD95⁺ лимфоциты, абс., 10⁹/дм³ CD3 ⁺ CD95 ⁺ lymphocytes, absolute, 10 ⁹ /dm ³	0,4-0,7	0,363±0,025*	0,427±0,079
CD127 лимфоциты, отн., % CD127 lymphocytes, relative, %	0,8-1,2	3,009±0,394*	1,918±0,315
CD127 лимфоциты, абс., 10⁹/дм³ CD127 lymphocytes, absolute, 10 ⁹ /dm ³	0,015-0,040	0,067±0,009*	0,035±0,011
Annexin V-FITC+7AAD позит.клетки, % Annexin V-FITC+7AAD positive cells, %	7-11	9,707±0,875*	12,495±0,955
p53, %	1,2-1,8	9,908±0,681***	16,325±1,686**
TNFR, %	1,0-1,5	4,115±0,395* **	14,020±1,425**
Вах, %	5-9	10,551±0,824*	5,495±0,848
Оксид азота, мкмоль/дм³ Nitric oxide, mkmol/ dm ³	39,0-116,8	161,235±4,070* **	146,808±6,020
Гомоцистеин, мкмоль/л Homocysteine, mkmol/l	4,60-12,44	9,017±0,924*	6,825±0,759

Примечание. * – различия между группами статистически значимы (p < 0,05); ** – различия с референтным уровнем статистически значимы (p < 0,05).

Note. *, differences between groups are statistically significant (p < 0.05); **, differences with the reference level are statistically significant (p < 0.05).

незе артериальной гипертензии неоднозначно и окончательно не определено, однако некоторыми авторами отводится важная роль пролиферативных и апоптотических процессов в развитии данного заболевания. Дисрегуляция апоптотических процессов ассоциируется с развитием фиброзных изменений сосудистой стенки, обуславливающих снижение ее эластичности, что приводит к стойкому повышению артериального давления с одновременным формированием атеросклеротического процесса. Кроме того, уменьшение просвета сосудов в результате гипертрофических и гиперпластических морфологических изменений

гладкомышечных клеток медиального слоя сосудистых стенок также способствует развитию артериальной гипертензии [5, 15].

Также у работников предприятия нефтедобычи с диагностированными эпизодами артериальной гипертензии установлены изменения уровней экспрессии сосудистых регуляторных факторов. Группа наблюдения характеризуется повышенным уровнем гомоцистеина по отношению к группе сравнения. Гипергомоцистеинемия является фактором повышенного риска развития АГ, так как избыточные концентрации гомоцистеина индуцируют повреждения эндотелия со-

судов путем активации перекисного окисления липопротеинов низкой плотности и угнетения репликации ДНК в эндотелиоцитах, а также активируют процессы тромбогенеза за счет воздействия на тромбоциты и плазменные факторы гемостаза [6, 13].

Кроме того, обследованный контингент отличается повышенным ($p < 0,05$) уровнем оксида азота (NO) относительно группы сравнения и референтного уровня. NO обладает вазодилаторным действием, угнетает процессы пролиферации гладкомышечных клеток, агрегацию и адгезию тромбоцитов и тем самым способствует снижению артериального давления.

Несмотря на то, что основной причиной дисфункции эндотелия является пониженный уровень продукции оксида азота, ослабление эндотелий-зависимой вазодилатации может быть ассоциировано с усиленным окислением NO во время его синтеза или транспорта к гладкомышечным клеткам одновременно с избыточным уровнем эндотелий-зависимых сосудосуживающих факторов, высвобождаемых с оксидом азота и противодействующих его сосудорасширяющему действию [1, 11]. Кроме того, повышение уровня оксида азота может возникать в результате избыточной активности индуцибельной NO-синтазы (iNOS) в гладкомышечных клетках сосудистой стенки. На ранних стадиях артериальной гипертензии оксид азота, синтезированный iNOS, ограничивает повышение артериально-

го давления, однако на поздних этапах развития сердечно-сосудистой патологии избыток NO угнетает активность эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) и приводит к повреждению клеток сосудистой стенки. Результатом снижения уровня продукции эндотелиального NO является угнетение эндотелий-зависимой релаксации сосудов, обуславливающее повышение артериального давления и развитие артериальной гипертензии [8].

Выводы

Таким образом, иммунный статус работников предприятия нефтедобычи с эпизодами АГ отличается статистически значимым ($p < 0,05$) снижением содержания CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD25⁺, CD95⁺ лимфоцитов на фоне повышения уровня CD127 клеток и белка Вах относительно группы сравнения. Содержание TNFR и p53 достоверно ($p < 0,05$) превышает референтный уровень в обоих обследованных в группах, однако у мужчин с эпизодами АГ наблюдается снижение ($p < 0,05$) данных показателей относительно группы лиц без клинических проявлений данной патологии. Установлено угнетение фагоцитарной активности лейкоцитов по критерию абсолютного фагоцитоза ($p < 0,05$). Кроме того, процесс формирования АГ у работников предприятия нефтедобычи достоверно ($p < 0,05$) ассоциирован с повышением продукции сосудистых факторов – гомоцистеина и оксида азота.

Список литературы / References

1. Гаврилюк Е.В., Конопля А.И., Караулов А.В. Роль иммунных нарушений в патогенезе артериальной гипертензии // Иммунология, 2016. № 1. С. 29-34. [Gavrilyuk Ye.V., Konoplya A.I., Karaulov A.V. The role of immune disorders in the pathogenesis of arterial hypertension. *Immunologiya = Immunologiya*, 2016, no. 1, pp. 29-34. (In Russ.)]
2. Галкин А.Ф., Хусаинова Р.Г. Оценка и ранжирование неблагоприятных производственных факторов на нефтегазовом предприятии Севера // Фундаментальные исследования, 2012. Т. 6, № 3. С. 637-641. [Galkin A.F., Khusainova R.G. Estimation and ranging of adverse production factors at the oil and gas enterprise of the North. *Fundamentalnye issledovaniya = Fundamental Research*, 2012, Vol. 6, no. 3, pp. 637-641. (In Russ.)]
3. Гимранова Г.Г., Каримова Л.К., Зотова Т.М., Бакирова А.Э., Яхина Р.Р. Профессиональные риски нарушения здоровья работающих при переработке нефти // Медицина труда и промышленная экология, 2009. № 11. С. 9-12. [Gimranova G.G., Karimova L.K., Zotova T.M., Bakirova A.E., Yakhina R.R. Occupational health risks of workers involved in oil refining. *Meditcina truda i promyshlennaya ekologiya = Occupational Health and Human Ecology*, 2009, no. 11, pp. 9-12. (In Russ.)]
4. Долгих О.В., Кривцов А.В., Старкова К.Г., Бубнова О.А., Отавина Е.А., Аликина И.Н., Безрученко Н.В., Гусельников М.А. Технологии иммуногенетических исследований для оценки воздействия внешних факторов на здоровье населения // Вестник ПГУ. Биология, 2016. № 4. С. 368-373. [Dolgikh O.V., Krivtsov A.V., Starkova K.G., Bubnova O.A., Otavina E.A., Alikina I.N., Bezruchenko N.V., Guselnikov M.A. Technologies of immunogenetic studies for evaluation of the environmental factors influencing the public health *Vestnik PGU. Biologiya = Bulletin of Perm University. Biology*, 2016, no. 4, pp. 368-373. (In Russ.)]
5. Искаков Е.Б. Распространенность факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний // Медицина и экология, 2017. № 3 (84). С. 17-24. [Iskakov E.B. Prevalence of risk factors for cardiovascular diseases. *Meditcina i ekologiya = Medicine and Ecology*, 2017, no. 3 (84), pp. 17-24. (In Russ.)]
6. Каражанова Л.К., Жунуспекова А.С. Гипергомоцистеинемия как фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний // Наука и здравоохранение, 2016. № 4. С. 129-144. [Karazhanova L.K., Zhunuspekova A.S. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for cardiovascular diseases. *Nauka i zdravookhranenie = Science and Healthcare*, 2016, no. 4, pp. 129-144. (In Russ.)]

7. Кузьмина Ю.М., Шубин М.В. Профессиональные риски нарушения здоровья работников нефтеперерабатывающей промышленности // Вестник Казанского технологического университета, 2011. № 19. С. 287-290. [Kuzmina M.Yu., Shubin M.V. Professional risks health of workers of the oil refining industry. *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta = Bulletin of Kazan Technological University*, 2011, no. 19, pp. 287-290. (In Russ.)]

8. Манухина Е.Б., Малышев И.Ю. Роль оксида азота в развитии и предупреждении дисфункции эндотелия // Вестник ВГМУ, 2003. № 2. С. 5-17. [Manukhina E.B., Malyshev I.Yu. Role of nitric oxide in the development and prevention of endothelial dysfunction. *Vestnik VGMU = Bulletin of Vitebsk State Medical University*, 2003, no. 2, pp. 5-17. (In Russ.)]

9. Benjamin E.J., Virani S.S., Callaway, C.W., Chamberlain A.M., Chang A.R., Cheng S., Chiuve S.E., Cushman M., Delling F.N., Deo R., de Ferranti S.D., Ferguson J.F., Fornage M., Gillespie C., Isasi C.R., Jiménez M.C., Jordan L.C., Judd S.E., Lackland D., Lichtman J.H., Lisabeth L., Liu S., Longenecker C.T., Lutsey P.L., Mackey J.S., Matchar D.B., Matsushita K., Mussolino M.E., Nasir K., O'Flaherty M., Palaniappan L.P., Pandey A., Pandey D.K., Reeves M.J., Ritchey M.D., Rodriguez C.J., Roth G.A., Rosamond W.D., Sampson U.K.A., Satou G.M., Shah S.H., Spartano N.L., Tirschwell D.L., Tsao C.W., Voeks J.H., Willey J.Z., Wilkins J.T., Wu J.H., Alger H.M., Wong S.S., Muntner P.; American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics-2018 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*, 2018, Vol. 137, no. 12, pp. e467-e492.

10. Duramad P., Holland N.T. Biomarkers of immunotoxicity for environmental and public health research. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2011, Vol. 8, no. 5, pp. 1388-1401.8

11. Lind L., Granstam S.O., Millgard J. Endothelium-dependent vasodilatation in hypertension: a review. *Blood Pressure*, 2000, Vol. 9, no. 1, pp. 4-15.

12. Mancia G., Fagard R., Narkiewicz K., Redón J., Zanchetti A., Böhm M., Christiaens T., Cifkova R., de Backer G., Dominiczak A., Galderisi M., Grobbee D.E., Jaarsma T., Kirchhof P., Kjeldsen S.E., Laurent S., Manolis A.J., Nilsson P.M., Ruilope L.M., Schmieder R.E., Sirnes P.A., Sleight P., Viigimaa M., Waeber B., Zannad F., Redon J., Dominiczak A., Narkiewicz K., Nilsson P.M., Burnier M., Viigimaa M., Ambrosioni E., Caulfield M., Coca A., Olsen M.H., Schmieder R.E., Tsioufis C., van de Borne P., Zamorano J.L., Achenbach S., Baumgartner H., Bax J.J., Bueno H., Dean V., Deaton C., Erol C., Fagard R., Ferrari R., Hasdai D., Hoes A.W., Kirchhof P., Knuuti J., Kolh P., Lancellotti P., Linhart A., Nihoyannopoulos P., Piepoli M.F., Ponikowski P., Sirnes P.A., Tamargo J.L., Tendera M., Torbicki A., Wijns W., Windecker S., Clement D.L., Coca A., Gillebert T.C., Tendera M., Rosei E.A., Ambrosioni E., Anker S.D., Bauersachs J., Hitij J.B., Caulfield M., de Buyzere M., de Geest S., Derumeaux G.A., Erdine S., Farsang C., Funck-Brentano C., Gerc V., Germano G., Gielen S., Haller H., Hoes A.W., Jordan J., Kahan T., Komajda M., Lovic D., Mahrholdt H., Olsen M.H., Ostergren J., Parati G., Perk J., Polonia J., Popescu B.A., Reiner Z., Rydén L., Sirenko Y., Stanton A., Struijker-Boudier H., Tsioufis C., van de Borne P., Vlachopoulos C., Volpe M., Wood D.A. ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J. Hypertens.*, 2013, Vol. 31, no. 7, pp. 1281-1357.

13. Sakao S., Tatsumi K., Voelkel N.F. Endothelial cells and pulmonary arterial hypertension: apoptosis, proliferation, interaction and transdifferentiation. *Respir. Res.*, 2009, Vol. 10, no. 1, 95. doi: 10.1186/1465-9921-10-95.

14. Škovierová H., Vidomanová E., Mahmood S., Sopková J., Drgová A., Červeňová T., Halašová E., Lehotský J. The molecular and cellular effect of homocysteine metabolism imbalance on human health. *Int. J. Mol. Sci.*, 2016, Vol. 17, no. 10, pp. 1733-1751.

15. Xu C., Lee S., Singh T.M., Sho E., Li X., Sho M., Masuda H., Zarins C.K. Molecular mechanisms of aortic wall remodeling in response to hypertension. *J. Vasc. Surg.*, 2001, Vol. 33, no. 3, pp. 570-578.

Авторы:

Никоношина Н.А. — младший научный сотрудник лаборатории иммунологии и аллергологии ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, Россия

Долгих О.В. — д.м.н., заведующий отделом иммунобиологических методов диагностики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, Россия

Зайцева Н.В. — д.м.н., академик РАН, научный руководитель ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, Россия

Authors:

Nikonoshina N.A., Junior Research Associate, Laboratory of Immunology and Allergology, Federal Research Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russian Federation

Dolgikh O.V., PhD, MD (Medicine), Head, Department of Immunobiological Diagnostic Methods, Federal Research Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russian Federation

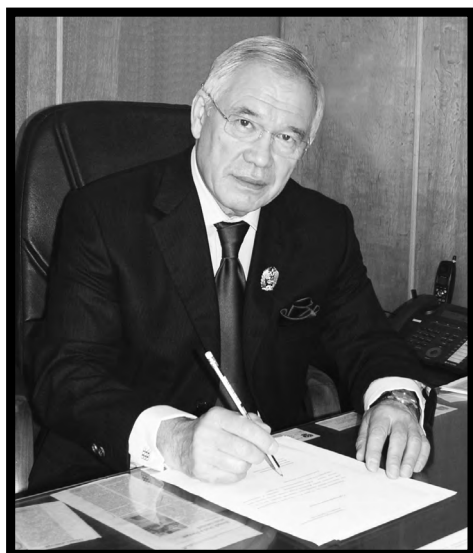
Zaitseva N.V., PhD, MD (Medicine), Full Member, Russian Academy of Sciences, Research Director, Federal Research Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russian Federation

Поступила 28.06.2020
Принята к печати 01.07.2020

Received 28.06.2020
Accepted 01.07.2020

ХАИТОВ РАХИМ МУСАЕВИЧ

(06.01.1944 – 11.03.2022)



Отечественная наука понесла тяжелую потерю. 11 марта 2022 г. скончался Рахим Мусаевич Хаитов – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации, научный руководитель ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, главный аллерголог-иммунолог Минздрава России, член бюро Отделения физиологии и фундаментальной медицины РАН, заведующий кафедрой клинической аллергологии и иммунологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России.

Р.М. Хаитов родился в 1944 г. в Самарканде. В 1967 г. он с отличием окончил Самаркандский медицинский институт, в стенах которого начал научную деятельность еще будучи студентом III курса. В 1968 г. защитил кандидатскую диссертацию, в 1972 г. – докторскую, которую подготовил в Москве, в Институте биофизики Минздрава СССР. В 1974 г. в отделе иммунологии Института биофизики организовал и возглавил лабораторию генетического контроля иммунного ответа.

Рахим Мусаевич стоял у истоков создания первого в нашей стране Института иммунологии Минздрава СССР. Он перешел в этот институт вместе с коллективом руководимой им лаборатории. В 1983 г. Р.М. Хаитов был назначен заместителем директора

Института иммунологии по научной работе, в 1988 г. стал директором Института иммунологии, который возглавлял до 2014 г. С 2014 г. Р.М. Хаитов был научным руководителем Института иммунологии.

В 1980 г. ему было присвоено звание профессора. В 1991 г. он был избран членом-корреспондентом РАН, в 1997 г. – действительным членом РАН, в 2006 г. – действительным членом РАН.

Р.М. Хаитов – ведущий специалист в области фундаментальной и клинической иммунологии и аллергологии. Работы академика Рахима Мусаевича оказали значительное влияние на развитие отечественной и мировой науки, он во многом способствовал становлению современной иммунологии в наиболее важных ее областях – фундаментальной, прикладной и общеобразовательной. Он внес значительный вклад в развитие фундаментальных и прикладных аспектов иммунологии, аллергологии, вакцинологии, иммуногенетики, биотехнологии. Он является автором и соавтором более 1000 научных работ, в том числе более 70 монографий, руководств и учебников по иммунологии, более 50 авторских свидетельств и Российских и международных патентов. Им разработаны новые методы диагностики, профилактики и лечения аллергий, опухолевых и инфекционных заболеваний, включая ВИЧ-инфекцию/СПИД, гепатиты, грипп, COVID-19 и др.

Труды Р.М. Хаитова внесли огромный вклад в развитие фундаментальных представлений об иммунной системе, в том числе о механизмах миграции и регуляции дифференцировки кровяных стволовых клеток, описаны механизмы регуляции со стороны тимуса и гипофиз-адреналовой системы (1990-2000). Открыты неизвестные ранее медиаторы костного мозга. Рахимом Мусаевичем были обнаружены и изучены неизвестные ранее субпопуляции клеток иммунной системы (2000-2010). На протеомном и молекулярно-генетическом уровнях исследована часть генома человека, осуществляющая регуляцию иммунного ответа. С разработкой этой проблемы связаны перспективы генодиагностики и персонализированной медицины, лечения онкологических, аутоиммунных, инфекционных и аллергических заболеваний (2010-2019). Логичным продолжением фундаментальных исследований академика Р.М. Хаитова стало создание новых принципов конструирования вакцинирующих препаратов с повышенными защитными свойствами – вакцин нового поколения. Эти препараты созданы, производятся и широко используются в клинической практике в России и за рубежом (вакцины против гриппа, брюшного тифа, дизентерии), подготовлены к производству принципиально новые препараты для лечения аллергий – вакцины против аллергических заболеваний (2010-2019). Для терапии нарушений иммунитета Р.М. Хаитовым и его сотрудниками создан ряд новых эффективных лекарств (полиоксидоний, тактивин, миелопид, иммуномакс и др.), широко используемых в практической медицине. В последние годы он активно работал в области разработки средств профилактики и лечения COVID-19.

Р.М. Хаитов вместе со своими учениками создали широкий спектр средств и изделий для диагностики инфекций, аллергий, иммунозависимых патологий, оценки и мониторинга иммунологического, аллергологического и иммуногенетического статусов людей, в т. ч. занятых на производстве с опасными условиями труда. Разработаны методы типирования генов иммунного ответа и оценки их функций. Созданы высокотехнологичные отечественные наборы реагентов и оборудование, позволяющее широко внедрять эти достижения в здравоохранение. В настоящее время эти реагенты и приборы применяются практически во всех субъектах Российской Федерации и за рубежом.

Под руководством Рахима Мусаевича проведены работы по оценке иммунного и аллергологического статуса больших контингентов взрослого и детского населения России и влияния на него неблагоприятных факторов физической, химической и биологической природы, создана иммунологическая карта страны. Были решены проблемы обеспечения иммунобезопасности работников вредных производств, предприятий по уничтожению ядерного и химического оружия, ракетного топлива, населения, проживающего вблизи таких объектов, зон экологического бедствия, ликвидаторов аварии на ЧАЭС и др.

Научная и научно-организаторская деятельность Р.М. Хаитова внесли важный вклад в становление и развитие иммунологической службы страны.

Он активно участвовал в создании первого в России Института иммунологии, который он возглавлял в течение 30 лет, и до последнего времени был научным руководителем этого института. Рахим Мусаевич долгие годы был главным аллергологом-иммунологом Минздрава России. По его инициативе на территории России была создана сеть лабораторий и центров клинической иммунологии, в номенклатуру врачебных и провизорских специальностей введена специальность «аллергология и иммунология».

С целью объединения в единое сообщество ученых и врачей-аллергологов и иммунологов в 1994 году Р.М. Хаитов создал Российскую ассоциацию аллергологов и клинических иммунологов (РААКИ), президентом которой он был до настоящего времени. Р.М. Хаитов представлял нашу страну в Совете национальных обществ Европейской академии аллергологии и клинической иммунологии (ЕААСИ) и Всемирной аллергологической организации (WAO).

Р.М. Хаитов вел большую научно-организационную работу. Он был членом рабочей группы по развитию спортивной медицины Совета при Президенте Российской Федерации по развитию физической культуры и спорта, членом Секции № 7 «Медицина и здравоохранение» Межведомственного совета по присуждению премий Правительства Российской Федерации в области науки и техники и членом этого Межведомственного совета. Р.М. Хаитов был председателем Экспертного совета РАН по иммунологии Отделения физиологических наук РАН и членом Экспертного совета РАН, членом секции № 1 КНТС Роскосмоса «Космическая биология и физиология», членом Центральной аттестационной комиссии Минздрава России, членом Научного совета Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине», входил в состав рабочей группы экспертов по вопросам иммунопрофилактики инфекционных болезней Минздрава России, был членом Научного совета Минздрава России, экспертом РАН и Российского научного фонда. Рахим Мусаевич возглавлял диссертационный совет по специальностям «иммунология» и «клиническая иммунология, аллергология». С 1988 по 2021 гг. он был главным редактором журнала «Иммунология», с 1997 по 2019 гг. – журнала «Физиология и патология иммунной системы. Иммунофармакогенетика». Р.М. Хаитов был председателем редакционного совета «Российского аллергологического журнала», членом редколлегий ряда отечественных и международных журналов: «Вестник Академии медицинских наук», «Медицина экстремальных ситуаций», «Аллергология и иммунология», «Имунопатология, аллергология, инфектология», «Цитокины и воспаление», «Медицинская иммунология», «Инфекция и иммунитет», «Сахарный диабет», «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение» и др., членом редколлегий информационных изданий по наукам о жизни Всероссийского института научной и технической информации РАН. Р.М. Хаитов входил в состав редакционных коллегий журналов AIDS, Cellular & Molecular Immunology, Self/Nonself.

Р.М. Хаитов уделял большое внимание вопросам образования и подготовки научных и медицинских кадров. Им создана большая научная школа, под его руководством выполнены и защищены 69 кандидатских диссертаций, 40 его учеников стали докторами наук. С 2005 г. Р.М. Хаитов возглавлял кафедру клинической аллергологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России.

Выполняя обязанности главного аллерголога-иммунолога Минздрава России, Рахим Мусаевич значительное внимание уделял совершенствованию аллергологической и иммунологической службы. По его инициативе специальность «аллергология и иммунология» была введена в номенклатуру врачебных и провизорских специальностей РФ, в различных регионах страны были созданы лаборатории и центры клинической иммунологии по оценке иммунного статуса населения, профилактике и борьбе со СПИДом. Важной частью организационной работы Р.М. Хаитова была постоянная забота об улучшении условий труда врачей – аллергологов-иммунологов, а также о повышении качества специализированной медицинской помощи населению.

Научные достижения и активная научно-организационная деятельность Р.М. Хаитова были отмечены премиями и правительственными наградами. В 1973 г. ему была присуждена премия Ленинского комсомола в области науки и техники, в 1979 г. – премия им. А.А. Богомольца, в 1995 г. – премия РАН им. И.И. Мечникова. В 2001 г. Рахиму Мусаевичу была присуждена Государственная премия РФ в области науки и техники за работу «Конъюгированные полимер-субъединичные иммуногены и вакцины», в 1996 г. – премия Правительства РФ в области науки и техники «За разработку, внедрение в промышленное производство и клиническую практику нового типа иммунокорректирующих лекарственных препаратов пептидной природы: тактивина и миелопида», в 2004 г. – премия Правительства РФ в области науки и техники за учебник «Иммунология», в 2012 г. – Государственная премия в области науки и технологий «За выдающиеся достижения в научном и практическом развитии отечественной иммунологии». Р.М. Хаитов награжден почетной грамотой Президента Российской Федерации (2015).

Академик РАН Р.М. Хаитов награжден орденом Трудового Красного Знамени, орденами Почета, «За заслуги перед Отечеством» III и IV степени, а также рядом отраслевых и зарубежных наград.

Светлая память о Рахиме Мусаевиче Хаитове сохранится в сердцах его коллег, учеников, близких людей.

ФЕДОСКОВА ТАТЬЯНА GERMANOVNA

(29.06.1964 – 25.03.2022)



25 марта 2022 года безвременно ушла из жизни Федоскова Татьяна Германовна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией молекулярных механизмов аллергии ФГБУ «ГНЦ Института иммунологии» ФМБА России, профессор кафедры иммунологии медико-биологического факультета ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, профессор кафедры аллергологии, иммунологии и адаптологии ФГАОУ ВО РУДН.

Татьяна Германовна родилась 29 июня 1964 году в Москве. В 1981 году поступила на педиатрический факультет 2-го Московского Государственного мед. института им. Н.И. Пирогова и успешно закончила его в 1987 г. В 1993 г. была принята в аспирантуру Института иммунологии по специальности «аллергология-иммунология». С 1996 года работала старшим, а затем ведущим научным сотрудником Научно-консультативного отделения Института иммунологии.

В 2008 г. Федоскова Татьяна Германовна успешно защитила докторскую диссертацию на тему «Аллергия к "нежалящим" насекомым (распространенность, клиническая характеристика, специфическая диагностика и аллерген-специфическая иммунотерапия)».

В 2016 году Татьяна Германовна возглавила лабораторию молекулярных механизмов аллергии Института иммунологии, где и работала до последних дней.

Татьяна Германовна вела большую научную, лечебно-консультативную и педагогическую работу. Она не просто принимала пациентов, она окружала их заботой и неусыпным наблюдением, она буквально вела их по жизни, обучая, как жить с аллергией, помогала решать возникающие проблемы, например, как родить ребенка при тяжелой астме. Область научных интересов Татьяны Германовны была чрезвычайно обширна – это все аспекты инсектной аллергии, включая разработку новых методов ее лечения; это изучение механизмов и способов терапии иммуноопосредованных заболеваний, с особым акцентом на изучение механизмов аллергии, бактериальная аллергия, аллергический риноконъюнктивит, бронхиальная астма, аллергодерматозы, аллерген-специфическая иммунотерапия, иммунодефициты, эпидемиология иммуноопосредованных заболеваний. У Татьяны Германовны зарегистрированы патенты «Средство и способ специфической иммунотерапии больных аллергическими заболеваниями, имеющих сенсибилизацию к укусам комаров», «Аллергоид из яда пчел для аллерген-специфической иммунотерапии больных с аллергическими реакциями на ужаливание пчелами и способ его получения», «Способ определения специфических IgE-антигенов к стафилококку в сыворотке крови больного аллергическими заболеваниями, имеющего гиперчувствительность к аллергенам стафилококка, с применением тест-системы для определения специфических IgE-антител к стафилококку, выделенная из стафилококка активная аллергенная субстанция (ААС) и способ диагностики стафилококковой аллергии». Татьяна Германовна является автором более 150 печатных работ по вопросам клинической иммунологии и аллергологии, включая 10 монографий и 4 руководства для практических врачей. Она была членом Российской ассоциации аллергологов и клинических иммунологов, Российского научного общества иммунологов, Европейской Академии аллергологов и клинических иммунологов, входила в состав редколлегий «Русского медицинского журнала», «Российского иммунологического журнала», журнала «Аллергология и иммунология», была главным редактором выпуска «Аллергология и иммунология» «Русского медицинского журнала». Кроме того, она была избрана членом президиума правления Российского научного общества иммунологов.

Татьяна Германовна награждена знаком отличия ФМБА «Ветеран атомной энергетики и промышленности», почетной грамотой Федерального медико-биологического агентства.

Татьяна Германовна была блестящим лектором. Ее лекции, выступления на конференциях, в СМИ всегда были интересны и эмоционально насыщены, она не просто излагала материал, она заставляла думать, решать сложные клинические задачи и врачей, и студентов.

Татьяна Германовна была человеком шедрым интеллектуально и душевно. Ее всегда отличал необыкновенный оптимизм, умение стойко переносить невзгоды, неистощимая энергия, хорошее чувство юмора, огромная доброжелательность к коллегам, пациентам, студентам, ко всем окружающим ее людям. Такой мы ее и заппомним.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Статьи представляются в редакцию через систему электронно-го издательства (<http://rusimmun.ru>) в соответствии с требованиями журнала «Российский иммунологический журнал» и «Инструкции 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 исследования, 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., Simbircev 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):

Сokolova 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, нарисованные 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 цвет-

ных иллюстраций; 2) при большом количестве иллюстративного материала (свыше 8 иллюстраций).

Подготовка статей

Для представления статьи авторы должны подтвердить нижеисследующие пункты. Рукопись может быть возвращена авторам, если она им не соответствует.

1. Направляя статью в журнал, авторы гарантируют, что поданные материалы не были ранее опубликованы полностью или по частям, в любой форме, в любом месте или на любом языке. Так же авторы гарантируют, что статья не представлена для рассмотрения и публикации в другом журнале. С момента принятия статьи к печати в журнале «Российский иммунологический журнал» приведенный в ней материал не может быть опубликован авторами полностью или по частям в любой форме, в любом месте и на любом языке без согласования с руководством журнала. Исключением может являться: 1) предварительная или последующая публикация материалов статьи в виде тезисов или короткого резюме; 2) использование материалов статьи как части лекции или обзора; 3) использование автором представленных в журнал материалов при написании диссертации, книги или монографии.

Воспроизведение всего издания или части любым способом запрещается без письменного разрешения издателей. Нарушение закона будет преследоваться в судебном порядке. Охраняется Законом РФ № 5351-1 «Об авторском праве и смежных правах» от 09.07.93 г.

2. Файл отправляемой статьи представлен в формате .doc, .docx, .rtf.

3. Помимо файла со статьей, предоставлены следующие файлы:

1) Файл с метаданными (при загрузке в систему ему присваивается имя «Метаданные»):

- Фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность автора, ответственного за дальнейшую переписку с редакцией (на русском и английском языках).

- Название учреждения, где работает ответственный автор (в русском и официально принятом английском вариантах).

- Почтовый адрес для переписки с указанием почтового индекса (на русском и английском языках).

- Телефон, факс (с указанием кода страны и города), e-mail.

- Фамилия и инициалы остальных соавторов, их ученые степени, ученые звания, должности.

- Полное название статьи, направляемой в редакцию.

- Количество страниц текста, количество рисунков, количество таблиц.

- Указать, для какого раздела журнала предназначена работа: оригинальные статьи, лекции, обзоры, «точка зрения», краткие сообщения, новые иммунологические методы, случаи из практики, дневник иммунолога, книжное обозрение.

- Дата отправления работы.

2) Отсканированная копия файла с метаданными подписанная всеми авторами (при загрузке в систему ему присваивается имя «Подписи авторов»)

3) Титульный лист (при загрузке в систему ему присваивается имя «Титульный лист»), по форме:

- название статьи (без использования каких-либо сокращений, на русском и английском языках);

- Фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность каждого из соавторов статьи (полностью, на русском и английском языках);

- подразделение и учреждение, в котором выполнялась работа (В случае, если авторами статьи являются сотрудники разных учреждений, то последние нумеруются по порядку, начиная с единицы, и соответствующая цифра размещается после фамилии автора, представляющего данное учреждение. Для маркировки авторов в англоязычной части статьи вместо цифр используются латинские буквы (a, b, c, d и т.д.);

- сокращенное название статьи для верхнего колонтитула (не более 35 символов, включая пробелы и знаки препинания, на русском и английском языках);

- не менее 6 ключевых слов на русском и английском языках (на русском и английском языках);

- адрес для переписки с указанием телефона, номера факса и адреса e-mail.

4) Резюме (при загрузке в систему ему присваивается имя «Резюме»). Предоставляется в виде одного абзаца без ссылок и

специфических сокращений. Объем – не менее 300 слов. Резюме в полном объеме представляется также в переводе на английский язык. В отдельных случаях, по решению редакционной коллегии, может быть затребован развернутый вариант резюме на английском языке.

5) Рисунки, если они есть – каждый отдельным файлом (при загрузке в систему каждому рисунку присваивается имя «Рисунок_Порядковый номер рисунка. Название рисунка»).

6) Файл в формате .doc, .docx, .rtf, 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, вначале 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 кельш 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

Авагян А.С.	83	Мальшев И.Ю.	7
Андреев Ю.Ю.	63	Марзанова С.Н.	37
Гаврилова Т.В.	83	Никоношина Н.А.	99
Глушков А.Н.	23	Новикова И.А.	93
Гринько Е.К.	37	Пашнина И.А.	47
Гурбанова Г.М.	55	Пихлак А.Э.	7
Долгих О.В.	99	Прокопович С.С.	93
Донецкова А.Д.	37	Рагимова Н.Д.	55
Зайцева Н.В.	99	Сайдакова Е.В.	73
Кинкулькина А.Р.	83	Свитич О.А.	83
Королевская Л.Б.	73	Топтыгина А.П.	63
Криволапова И.М.	47	Чернышева О.О.	7
Кузнецова Л.В.	7	Шмагель К.В.	73

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

антитела	24	общая переменная иммунологическая недостаточность	93
апоптоз	100	оксид азота	100
артериальная гипертензия	100	подагра	8
аутоиммунные заболевания	48	полиморфизм генов	84
взрослые пациенты	93	поражение центральной нервной системы	55
вирусный гепатит С	74	производственные факторы	100
ВИЧ-инфекция	74	проточная цитометрия	38
врожденный иммунитет	84	реактивная артропатия	48
гепатит С	48	регуляторные Т-лимфоциты	74
глаукома	84	системная красная волчанка	48
гомеостатическая пролиферация	38	стероидные гормоны	24
дети	48	субпопуляции лимфоцитов	64
иммунная привилегированность органа зрения	84	химические канцерогены	24
иммунная регуляция	100	циклофосфамид	38
иммуноглобулин	93	цитокиновый статус	55
иммунодиагностика	24	цитокины	48, 64
иммунологическая память	64	эндотелиальная NO-синтаза	84
иммунопрофилактика	24	ювенильный идиопатический артрит	48
иммунофенотипический анализ	93	В-лимфоциты	64
инфекционные заболевания	48	C57BL/6	38
инфламмосома	8	CD39	74
клинический фенотип	93	CD71	74
конверсия фенотипа	38	GARP	74
корреляционные связи	55	IL-1 β	8
корь	64	LAP	74
лимфопения	38	MSU	8
лимфоциты	93	p53	100
макрофаги	8	Т-лимфоциты	64
неонатальные судороги	55		