

Том 26, № 1. С. 1-98

2023

Официальный журнал
Российского Научного Общества Иммунологов

**РОССИЙСКИЙ
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ**



**RUSSIAN JOURNAL
OF IMMUNOLOGY**

Official Journal
of Russian Society of Immunology

Volume 26
Number 1

2023

РОССИЙСКОЕ НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО ИММУНОЛОГОВ
(РНОИ)

РОССИЙСКИЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

январь-март

2023, том 26

№. 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, ведущий 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. Энгельгарда 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

Полторах Александр – профессор, Школа биомедицинских наук имени Саклера, Университет Тафтса, 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 ФНКИ детской гематологии, онкологии и иммунологии, Москва, Россия

Руденский Александр – Медицинский Институт Говарда Хьюза, Чери 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

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.)

Данный материал распространяется по лицензии

Creative Commons Attribution 4.0 License.

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 медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова, заведующая лабораторией патогенеза и методов лечения инфекционных заболеваний, Москва, Россия

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

Глушков Андрей Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, директор Института экологии человека Федерального исследовательского Центра угля и углекислоты 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

Детярева 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

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

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

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

Топтыгина Анна Павловна – доктор медицинских наук, НИИ эпидемиологии и микробиологии имени 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

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 05.12.2022 г. Формат 60 x 90 1/8. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 12,25. Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.)

Заказ № 018

Напечатано в ООО «АРТЕМИДА».

199178, Санкт-Петербург, 8-я линия В.О., 83, корп. 1, Литер А

Тел.: (812) 950-10-99.

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

RUSSIAN SOCIETY OF IMMUNOLOGY
(RSI)

**RUSSIAN
JOURNAL OF IMMUNOLOGY**

**ROSSIYSKIY
IMMUNOLOGICHESKIY
ZHURNAL**

January-March

2023, volume 26

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Anna P. Poptygina – 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)

This material is distributed under

the Creative Commons Attribution 4.0 License.

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 05.12.2022. Print format 60 x 90 1/8. Offset printing.

Printed sheets 12.25. 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

Оригинальные статьи

Мальшев М.Е., Керимханов К.А., Иорданишвили А.К., Бумай А.О.

ИЗМЕНЕНИЯ МУКОЗАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПОЛОСТИ РТА ПРИ УТРАТЕ ЗУБОВ У БОЛЬНЫХ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА..... 7

Маркелова Е.В., Голицына А.А., Югай Ю.В., Первов Ю.Ю., Ковальчук В.К.

ОСОБЕННОСТИ МУКОЗАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА В РАЗВИТИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ II ТИПА..... 17

Поленок Е.Г., Гордеева Л.А., Мун С.А., Костянюк М.В., Антонов А.В., Вержбицкая Н.Е., Байрамов П.В., Колпинский Г.И., Вафин И.А., Глушков А.Н.

КООПЕРАТИВНОЕ УЧАСТИЕ ИДИОТИПИЧЕСКИХ И АНТИИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ В СТЕРОИД-ЗАВИСИМОМ ХИМИЧЕСКОМ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ..... 27

Аверьянов А.В., Антонов А.В., Животовский А.С., Костянюк М.В., Вафин И.А., Колпинский Г.И., Глушков А.Н.

ОСОБЕННОСТИ ОБРАЗОВАНИЯ IgA-АНТИТЕЛ, СПЕЦИФИЧНЫХ К БЕНЗО[А]ПИРЕНУ И СТЕРОИДНЫМ ГОРМОНАМ, У ЖЕНЩИН С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ И РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ..... 41

Кузник Б.И., Смоляков Ю.Н., Шаповалов К.Г., Терешков П.П., Коннов В.А., Чалисова Н.И.

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ СОСТОЯНИЯ ИММУННОГО СТАТУСА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ БАЗОВОЙ ТЕРАПИИ И ТИМАЛИНА У ТЯЖЕЛОБОЛЬНЫХ COVID-19..... 49

Краткие сообщения

Пашина О.А., Пашкова Т.М., Карташова О.Л., Морозова Н.В.

АНТИЦИТОКИНОВАЯ АКТИВНОСТЬ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA* И ИХ СПОСОБНОСТЬ К ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОПОДОБНЫХ ВЕЩЕСТВ..... 57

Блинова Е.А., Галдина В.А., Сухова Н.М., Демина Д.В.

ЭКСПРЕССИЯ PD-1 НА ПОПУЛЯЦИЯХ Т-КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ..... 63

Барило А.А., Смирнова С.В., Беленюк В.Д., Савченко А.А., Борисов А.Г.

К ВОПРОСУ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АЛЛЕРГОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ АТОПИИ *IN VITRO*..... 69

Садовский И.С., Круглова О.С., Савченко А.А., Собко Е.А., Каспаров Э.В., Демко И.В., Борисов А.Г.

КОМПЛЕКСНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ С ПОСТКОВИДНЫМ СИНДРОМОМ..... 77

Случай из практики

Толстых А.В., Попова Л.Ю., Альбакасова А.А., Усенкова Н.Н.

АУТОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫЙ СИНДРОМ..... 87

Правила для авторов..... 95

Авторский указатель..... 95

Предметный указатель..... 98

CONTENTS

Original articles

Malyshev M.E., Kerimkhanov C.A., Iordanishvili A.K., Bumai A.O.

CHANGES IN MUCOSAL IMMUNITY OF ORAL CAVITY UPON TOOTH LOSS IN PATIENTS WITH PERIODONTAL DISEASES 7

Markelova E.V., Golitsyna A.A., Yugay Yu.V., Pervov Yu.Yu., Kovalchuk V.K.

FEATURES OF MUCOSAL IMMUNITY IN THE DEVELOPMENT OF PERIODONTAL DISEASES IN PATIENTS WITH TYPE II
DIABETES MELLITUS 17

Polenok E.G., Gordeeva L.A., Mun S.A., Kostyanko M.V., Antonov A.V., Verzhbitskaya N.E., Bairamov P.V., Kolpinskiy G.I.,
Vafin I.A., Glushkov A.N.

COOPERATION OF IDIOTYPIC AND ANTI-IDIOTYPIC ANTIBODIES AT THE STEROID-DEPENDENT CHEMICAL
CARCINOGENESIS 27

Averianov A.V., Antonov A.V., Zhivotovskiy A.S., Kostyanko M.V., Vafin I.A., Kolpinskiy G.I., Glushkov A.N.

INCIDENCE OF IgA ANTIBODIES SPECIFIC TO BENZO[A]PYRENE AND STEROID HORMONES IN WOMEN WITH
COLORECTAL CANCER AND BREAST CANCER 41

Kuznik B.I., Smolyakov Yu.N., Shapovalov K.G., Tereshkov P.P., Konnov V.A., Chalisova N.I.

PROGNOSIS OF IMMUNE STATE FOLLOWING BASIC THERAPY AND THYMALIN TREATMENT IN PATIENTS
WITH SEVERE COVID-19 INFECTION 49

Short communications

Pashinina O.A., Pashkova T.M., Kartashova O.L., Morozova N.V.

ANTICYTOKINE ACTIVITY OF *CANDIDA* SPP. AND THEIR ABILITY TO PRODUCE CYTOKINE-LIKE SUBSTANCES 57

Blinova E.A., Galdina V.A., Suchova N.M., Demina D.V.

PD-1 EXPRESSION ON T CELL SUBSETS FROM PERIPHERAL BLOOD OF PATIENTS WITH ALLERGIC DISEASES 63

Barilo A.A., Smirnova S.V., Belenyuk V.D., Savchenko A.A., Borisov A.G.

ISSUES OF SPECIFIC *IN VITRO* ALLERGOLOGICAL DIAGNOSIS OF ATOPIC CONDITIONS 69

Sadovskiy I.S., Kruglova O.S., Savchenko A.A., Sobko E.A., Kasparov E.V., Demko I.V., Borisov A.G.

COMPLEX INFLAMMATION INDEXES IN PATIENTS WITH POST-COVID SYNDROME 77

Clinical case

Tolstykh A.V., Popova L.Yu., Albakasova A.A., Usenkova N.N.

AUTOINFLAMMATORY UNDIFFERENTIATED SYNDROME 87

Instructions to Authors 95

Author index 95

Subject index 98

ИЗМЕНЕНИЯ МУКОЗАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПОЛОСТИ РТА ПРИ УТРАТЕ ЗУБОВ У БОЛЬНЫХ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА

Мальшев М.Е.^{1,2}, Керимханов К.А.³, Иорданишвили А.К.⁴,
Бумай А.О.^{1,2}

¹ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

² ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, Россия

³ Стоматологическая клиника ООО «Арт Класс» СК», Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова», Санкт-Петербург, Россия

Резюме. У людей пожилого и старческого возраста встречается частичная или полная утрата зубов, основной причиной которой является хронический генерализованный пародонтит. При этом влияние присутствия/отсутствия зубов и сохраняющегося при их существовании пародонта, как фактора баланса в ротовой полости, в том числе и местного иммунитета слизистых оболочек, практически не освещается в литературе. В исследовании изучено изменение местного иммунитета полости рта при утрате естественных зубов. Под наблюдением находилось 45 человек пожилого возраста, которые были разделены на 3 группы исследования (без воспалительной патологии пародонта (1), с пародонти- том (2) и хроническими периапикальными воспалительными процессами при отсутствии воспаления в тканях пародонта (3)). С целью санации полости рта, перед предстоящим зубным протезированием, пациентам 2-й и 3-й групп исследования было выполнено удаление всех зубов на верхней и нижней челюстях. Показатели местного иммунитета полости рта в слюнной жидкости пациентов оценивали перед хирургической санацией полости рта (до удаления зубов) и спустя 30-35 суток после удаления последнего зуба. Исследовали содержание в слюне секреторного иммуноглобулина А (sIgA) и про- воспалительных (интерлейкина-1 β (IL-1 β), интерлейкина-6 (IL-6), интерлейкина-8 (IL-8), фактора некроза опухоли- α (TNF α)) и противовоспалительных (рецепторного антагониста интерлейкина-1 (RAIL), интерлейкина-4 (IL-4), интерлейкина-10 (IL-10)), а также содержания в слюне противомикробных пептидов (кателицидина LL-37 и альфа-дефензинов 1-3 (HNP1-3)). Установлено, что развитие воспаления при тяжелых воспалительных заболеваниях пародонта, в частности хроническом генерализованном пародонтите, приводящем к необходимости удаления зубов для санации полости рта, характеризуется функциональной недостаточностью секреторного иммунитета слизистых ротовой полости, связанной со снижением секреции секреторного иммуноглобулина А и противомикробных пептидов нейтрофильного происхождения, а также сдвигом цитокинового баланса в слюне

Адрес для переписки:

Мальшев Михаил Евгеньевич
ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский
институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе»
192242, Россия, Санкт-Петербург, ул. Будапештская, 3.
Тел.: 8 (812) 384-46-68.
Факс: 8 (812) 384-46-46.
E-mail: malyshev1972@yandex.ru

Address for correspondence:

Mikhail E. Malyshev
St. Petersburg I. Dzhanelidze Research Institute
of Emergency Medicine
192242, Russian Federation, St. Petersburg,
Budapeshtskaya str., 3.
Phone: +7 (812) 384-46-68.
Fax: +7 (812) 384-46-46.
E-mail: malyshev1972@yandex.ru

Образец цитирования:

М.Е. Мальшев, К.А. Керимханов, А.К. Иорданишвили,
А.О. Бумай «Изменения мукозального иммунитета
полости рта при утрате зубов у больных
с заболеваниями пародонта» // Российский
иммунологический журнал, 2023. Т. 26, № 1. С. 7-16.
doi: 10.46235/1028-7221-1151-CIM

© Мальшев М.Е. и соавт., 2023
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

M.E. Malyshev, C.A. Kerimkhanov, A.K. Iordanishvili,
A.O. Bumai "Changes in mucosal immunity of oral cavity
upon tooth loss in patients with periodontal diseases", Russian
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2023, Vol. 26, no. 1, pp. 7-16.
doi: 10.46235/1028-7221-1151-CIM

© Malyshev M.E. et al., 2023
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.46235/1028-7221-1151-CIM

в сторону повышения продукции провоспалительных цитокинов. Удаление зубов как первопричины воспаления и основы поддержания биопленки дисбиотического микробиома приводит к устранению воспаления и восстановлению иммунного баланса в ротовой полости.

Ключевые слова: секреторный иммунитет, утрата зубов, заболевания пародонта, слюна, иммуноглобулин, цитокины, антимикробные белки

CHANGES IN MUCOSAL IMMUNITY OF ORAL CAVITY UPON TOOTH LOSS IN PATIENTS WITH PERIODONTAL DISEASES

Malyshev M.E.^{a, b}, Kerimkhanov C.A.^c, Iordanishvili A.K.^d, Bumai A.O.^{a, b}

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

^b St. Petersburg I. Dzhanelidze Research Institute of Emergency Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

^c Dental Clinic "Art Class" SK" LLC, St. Petersburg, Russian Federation

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

Abstract. Partial or complete loss of teeth occurs in elderly and senile people, caused, mainly, by chronic generalized periodontitis. At the same time, the impact of presence or absence of persisting teeth and periodontium, is practically not covered in the literature as a factor of balance in the oral cavity, including local immunity of the mucous membranes. Our work concerned the changes in local immunity of the oral cavity occurring with the loss of natural teeth. We have observed 45 elderly people who were divided into 3 study groups, i.e., without inflammatory periodontal pathology (1), with periodontitis (2) and with chronic periapical inflammatory processes in the absence of periodontal inflammation (3). In order to sanitize oral cavity before the upcoming dental prosthetics, the patients of study groups 2 and 3 underwent extraction of all teeth in the upper and lower jaws. Indices of local immunity of the oral cavity in the salivary fluid of patients were assessed before surgical sanitation of the oral cavity (before the teeth extraction) and 30-35 days after removal of the last tooth. We have measured the salivary levels of secretory immunoglobulin A (sIgA) as well as pro-inflammatory cytokines, i.e., interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), tumor necrosis factor- α (TNF α), and anti-inflammatory cytokines, e.g., receptor antagonist of interleukin-1 (RAIL), interleukin-4 (IL-4), interleukin-10 (IL-10)), as well as contents of antimicrobial peptides in saliva (catelicidin LL-37 and alphadefensins 1-3 (HNPI-3)). We have found that the development of inflammation in severe inflammatory periodontal diseases, in particular, chronic generalized periodontitis requiring tooth extraction for oral cavity sanitation is characterized by functional insufficiency of secretory immunity of the oral mucosa associated with decreased secretion of secretory immunoglobulin A and antimicrobial peptides of neutrophilic origin, as well as a shift in the salivary cytokine balance towards increased production of pro-inflammatory cytokines. Removal of teeth, as the main source of inflammation and the basis for maintenance of dysbiotic microbiome biofilm leads to elimination of inflammation and the restoration of immune balance in the oral cavity.

Keywords: secretory immunity, tooth loss, parodontal diseases, saliva, immunoglobulin, cytokines, antimicrobial proteins

Введение

С возрастом люди теряют естественные зубы в следствии основных стоматологических заболеваний. У людей пожилого и старческого возраста встречается частичная или полная утрата зубов, основной причиной которой является хронический генерализованный пародонтит (ХГП) [2]. В настоящее время заболевания пародонта, особенно ХГП, представляют собой растущую проблему общественного здравоохранения, от которой страдают около 750 миллионов человек во всем мире [16]. Ожидается, что бремя ХГП будет продолжать расти по мере старения населения мира [5, 21]. Воспалительные заболевания пародонта

предотвратимы и обратимы на ранних стадиях, но могут прогрессировать до тяжелых форм ХГП, отличающихся выраженной воспалительной резорбцией костной ткани альвеолярных отростков (частей) челюстей и разрушением связочного аппарата, поддерживающих зуб [3]. Причина воспалительных заболеваний пародонта сводится к бактериальному воздействию на ткани пародонта при многочисленных факторах риска, включая курение, нездоровое питание (например, западную диету с высоким содержанием сахара и насыщенных жиров), плохую гигиену полости рта, гормональные изменения, стресс, различные лекарства и плохо управляемые сопутствующие заболевания (например, сахарный

диабет 2-го типа), в то время как немодифицируемые факторы риска включают возраст, пол и генетику [1, 18]. Заболевания пародонта, если их не лечить, могут иметь местные и/или системные последствия, приводя к ухудшению состояния полости рта и системного здоровья и качества жизни. Основная связь хронических воспалительных заболеваний пародонта с другими хроническими системными заболеваниями, вероятно, связана с различными патогенетическими механизмами влияния одонтогенной инфекции на организм человека [3], в том числе с распространением пародонтопатогенов в кровоток, высвобождением эндотоксинов и связанной с этим несбалансированной воспалительной реакцией на пародонтопатогены. Возникающий в результате избыток оральных патогенов может вызвать воспаление хозяина и иммунную дисрегуляцию либо непосредственно через бактериемию/эндотоксемию/пиофагию, либо через системную диффузию медиаторов воспаления, или косвенно, путем изменения микробного состава кишечника [7, 9].

В основном исследовании были сосредоточены на дисбактериозе микробиома полости рта как на возможном патофизиологическом механизме, связывающем заболевания пародонта и потерю зубов. Дисбиотический микробиом полости рта может вызывать локальное и системное воспаление в связи с нарушениями иммунной регуляции [4]. При этом влияние присутствия/отсутствия зубов и сохраняющегося при их существовании пародонта, как фактора баланса в ротовой полости, в том числе и местного иммунитета слизистых оболочек, практически не освещается в литературе.

Цель работы — изучить изменения местного иммунитета полости рта при утрате естественных зубов у пациентов с заболеваниями пародонта.

Материалы и методы

Под наблюдением находилось 45 (13 мужчин и 32 женщины) чел. в возрасте от 61 до 74 лет, которые были разделены на 3 группы исследования. У всех пациентов в полости рта отсутствовали пломбы и зубные протезы, гигиена полости рта была удовлетворительной.

В 1-й контрольной группе (15 чел., 4 мужчины и 11 женщин) стоматологический статус характеризовался частичной потерей естественных зубов. Воспалительная патология пародонта и слизистой оболочки полости рта у них не определялась, т. е. имел место дистрофический процесс в тканях пародонта (пародонтоз) или редуцированный пародонт (пародонт после лечения).

Во 2-й группе (15 чел., 5 мужчин и 10 женщин) пациенты при частичной утрате зубов на обеих

челюстях страдали ХГП тяжелой степени. С целью санации полости рта, перед предстоящим зубным протезированием, им было показано удаление всех зубов на верхней и нижней челюстях.

В 3-й группе (15 чел., 4 мужчин и 11 женщин) пациенты при частичной утрате зубов на обеих челюстях страдали хроническими периапикальными воспалительными процессами (хронический гранулематозный периодонтит, хронический гранулирующий периодонтит) при отсутствии острого, хронического или обострения хронического воспалительного процесса в тканях пародонта. У них было отмечено дистрофическое течение патологии пародонта (пародонтоз) или состояние пародонта после комплексного лечения ХГП (редуцированный пародонт). Для санации полости рта перед стоматологическим ортопедическим лечением пациентам этой группы исследования также было показано удаление всех зубов на верхней и нижней челюстях.

Показатели местного иммунитета полости рта в слюнной жидкости пациентов оценивали перед хирургической санацией полости рта (до удаления зубов) и спустя 30–35 суток после удаления последнего зуба, т. е. при полной потере зубов на верхней и нижней челюстях.

Забор нестимулированной слюны проводили утром с 9:00 до 10:00. Для этого в течение последующих 10–15 минут больной собирал слюну в сухую пробирку в количестве около 7 мл. Содержание в слюне секреторного иммуноглобулина А (sIgA) и провоспалительных (интерлейкина-1 β (IL-1 β), интерлейкина-6 (IL-6), интерлейкина-8 (IL-8), фактора некроза опухоли- α (TNF α)) и противовоспалительных (рецепторного антагониста интерлейкина-1 (RAIL), интерлейкина-4 (IL-4), интерлейкина-10 (IL-10)) цитокинов определяли методом иммуноферментного анализа с использованием наборов фирмы «Вектор-Бест» (Россия). Оценку содержания в слюне противомикробных пептидов (кателицидина LL-37 и альфа-дефензинов-1–3 (HNP1–3)) проводили с помощью ИФА-наборов фирмы Hycult biotech (Нидерланды).

Статистическую обработку проводили с применением программы Statistica for Windows версии 7.0. Достоверность различий средних величин независимых выборок подвергали оценке при помощи непараметрического критерия Манна–Уитни при отличии от нормального распределения показателей. Проверку на нормальность распределения оценивали при помощи критерия Шапиро–Уилка. Для статистического сравнения долей с оценкой достоверности различий применяли критерий Пирсона χ^2 с учетом поправки Мантеля–Хензеля на правдоподобие. Для всех критериев и тестов критический уровень значи-

мости принимался равным 5%, различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Результаты исследования показали, что удаление зубов приводило к существенным изменениям показателей секреторного иммунитета полости рта. Местный ответ антител в ротовой полости зависит как от системного (IgG), так и от иммунитета слизистых оболочек (секреторный IgA, sIgA). IgG в ротовой полости главным образом происходит из кровообращения путем пассивной утечки через эпителий десневой борозды или пародонтального кармана, в то время как sIgA продуцируется локально в слюнных железах активированными В-клетками, которые мигрировали из лимфоидных тканей, ассоциированных со слизистой оболочкой (MALT). Изменение количества sIgA в смешанной слюне позволяет

определить состояние местного иммунитета полости рта, также контролировать динамику лечения [6].

Уровень секреторного IgA в слюнной жидкости пациентов с как с пародонтитом (0,88 (0,78-1,06) г/л), так и с периодонтитом (0,91 (0,80-1,14) г/л), был достоверно ($p < 0,05$) ниже, чем у контрольной группы (1,71 (1,23-2,14) г/л). Через месяц после удаления зубов наблюдали тенденцию к повышению показателей sIgA в обеих опытных группах (2-я группа – (1,15 (0,98-1,29) г/л), 3-я группа – (1,12 (0,93-1,19) г/л), при этом оставаясь достоверно ниже показателей контрольной группы.

Развитие воспаления при заболеваниях пародонта ассоциировано с изменениями уровня цитокинов в слюне пациентов. Дисбаланс в системе цитокинов может привести к развитию неэффективного воспаления и недостаточности регенеративных процессов. Результаты исследования

ТАБЛИЦА 1. КОНЦЕНТРАЦИЯ ПРОВосПалИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В СЛЮНЕ У БОЛЬНЫХ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА ДО И ПОСЛЕ УДАЛЕНИЯ ЗУБОВ, n (ЧЕЛ.)

TABLE 1. CONCENTRATION OF PRO-INFLAMMATORY CYTOKINES IN SALIVA IN PATIENTS WITH DENTURE STOMATITIS, n (PEOPLE)

Группы Groups	IL-1 β (пг/мл) IL-1 β (pg/mL)	IL-6 (пг/мл) IL-6 (pg/mL)	IL-8 (пг/мл) IL-8 (pg/mL)	TNF α (пг/мл) TNF α (pg/mL)
№ 1. Контрольная No. 1. Control n = 15	15,3 (10,5-19,1)	17,5 (11,5-22,5)	413 (190-536)	18,6 (14,3-21,8)
№ 2. С пародонтитом (до удаления зубов) No. 2. With periodontitis (before tooth extraction) n = 15	35,6 (21,9-42,3)*	65,7 (42,5-79,4)*	815 (550-1017)*	41,8 (25,9-56,5)*
№ 2. С пародонтитом (после удаления зубов, через 1 мес.) No. 2. With periodontitis (after tooth extraction, after 1 month) n = 15	26,9 (17,4-32,3)* ¹	21,9 (15,7-29,4) ¹	408 (250-516) ¹	21,8 (15,4-26,5) ¹
№ 3. С периодонтитом (до удаления зубов) No. 3. With periodontitis (before tooth extraction) n = 15	25,1 (19,5-31,0)*	27,4 (17,5-34,3)	615 (415-850)*	20,6 (17,2-22,4)
№ 3. С периодонтитом (после удаления зубов, через 1 мес.) No. 3. With periodontitis (after tooth extraction, after 1 month) n = 15	16,9 (10,5-19,3) ^{1,2}	18,9 (12,5-21,5)	358 (150-516) ¹	18,8 (13,8-20,5)

Примечание. * – $p < 0,05$ достоверно по сравнению с контрольной группой по U-критерию Манна–Уитни. ¹ – $p < 0,05$ достоверно по сравнению с пациентами до лечения. ² – $p < 0,05$ достоверно по сравнению с группой 2.

Note. *, $p < 0.05$ significantly compared to the control group according to the Mann–Whitney U test. ¹, $p < 0.05$ is significant compared to patients before treatment. ², $p < 0.05$ is significant compared to group 2.

концентрации провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α) в слюне пациентов приведены в таблице 1.

IL-1 β , TNF α и IL-6 являются основными медиаторами развития местной воспалительной реакции и острофазового ответа в ответ на внедрение патогена. IL-8 считается основным хемоаттрактантом нейтрофильных гранулоцитов к очагу воспаления. Мы наблюдали достоверное повышение всех провоспалительных цитокинов в группе с пародонтитом по сравнению с контрольной группой, тогда как у пациентов с периодонтитом отмечалось повышение только IL-1 β и IL-8. Через 1 месяц после удаления зубов уровни провоспалительных цитокинов в обеих контрольных группах снижались до уровня контроля, кроме IL-1 β , который оставался достоверно выше ($p < 0,05$) у пациентов с пародонтитом по сравнению с контролем.

Содержание противовоспалительных цитокинов (RAIL, IL-4, IL-10) приведены в таблице 2.

В исследовании было отмечено достоверной разницы между группами больных по содержанию в слюне рецепторного антагониста IL-1, а также IL-4. Тогда как, уровень в слюне основного противовоспалительного цитокина (IL-10) был достоверно выше ($p < 0,05$) в обеих опытных группах по сравнению с контрольной до удаления зубов. После удаления зубов мы наблюдали снижение уровня IL-10 в слюне больных с заболеваниями пародонта обеих групп до уровня контроля.

Для оценки антимикробного потенциала слюны у пожилых пациентов с заболеваниями пародонта был выбран ряд противомикробных пептидов, которые обычно связаны с полостью рта (табл. 3).

ТАБЛИЦА 2. КОНЦЕНТРАЦИЯ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА ДО И ПОСЛЕ УДАЛЕНИЯ ЗУБОВ, n (ЧЕЛ.)

TABLE 2. CONCENTRATION OF ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES IN SALIVA IN PATIENTS WITH DENTURE STOMATITIS, n (PEOPLE)

Группы Groups	RAIL (нг/мл) RAIL (pg/mL)	IL-4 (нг/мл) IL-4 (pg/mL)	IL-10 (нг/мл) IL-10 (pg/mL)
№ 1. Контрольная No. 1. Control n = 15	2,7 (1,4-3,1)	6,5 (5,5-10,3)	14,6 (9,9-18,1)
№2. С пародонтитом (до удаления зубов) No. 2. With periodontitis (before tooth extraction) n = 15	2,5 (1,4-3,3)	7,5 (5,5-12,3)	26,9 (18,8-33,1)*
№ 2. С пародонтитом (после удаления зубов, через 1 мес.) No. 2. With periodontitis (after tooth extraction, after 1 month) n = 15	2,4 (1,5-3,1)	8,9 (6,7-10,2)	17,5 (12,4-22,5)
№ 3. С периодонтитом (до удаления зубов) No. 3. With periodontitis (before tooth extraction) n = 15	3,5 (2,1-3,9)	7,9 (6,3-10,1)	21,8 (17,9-24,2)*
№ 3. С периодонтитом (после удаления зубов, через 1 мес.) No. 3. With periodontitis (after tooth extraction, after 1 month) n = 15	2,9 (1,5-3,4)	8,1 (6,9-9,8)	17,0 (13,1-20,5)

Примечание. * – $p < 0,05$ достоверно по сравнению с контрольной группой по U-критерию Манна–Уитни.

Note. *, $p < 0.05$ significantly compared to the control group according to the Mann–Whitney U test.

ТАБЛИЦА 3. КОНЦЕНТРАЦИЯ ПРОТИВОВОМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ В СЛЮНЕ У БОЛЬНЫХ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА ДО И ПОСЛЕ УДАЛЕНИЯ ЗУБОВ, n (ЧЕЛ.)

TABLE 3. CONCENTRATION OF ANTIMICROBIAL PEPTIDES IN SALIVA IN PATIENTS WITH DENTURE STOMATITIS, n (PEOPLE)

Группы Groups	Кателицидин LL-37 (нг/мл) Cathelicidin LL-37 (ng/mL)	HNP 1-3 (нг/мл) HNP 1-3 (ng/mL)
№ 1. Контрольная No. 1. Control n = 15	31,5 (19,7-42,4)	30,6 (19,9-38,2)
№ 2. С пародонтитом (до удаления зубов) No. 2. With periodontitis (before tooth extraction) n = 15	51,5 (37,7-70,8)*	17,5 (13,1-22,1)*
№ 2. С пародонтитом (после удаления зубов, через 1 мес.) No. 2. With periodontitis (after tooth extraction, after 1 month) n = 15	40,5 (31,5-52,9)	31,2 (22,2-43,4)
№ 3. С периодонтитом (до удаления зубов) No. 3. With periodontitis (before tooth extraction) n = 15	52,2 (40,7-63,4)*	28,7 (19,2-35,4)
№ 3. С периодонтитом (после удаления зубов, через 1 мес.) No. 3. With periodontitis (after tooth extraction, after 1 month) n = 15	43,4 (32,5-58,4)	29,1 (18,2-34,5)

Примечание. См. примечание к таблице 2.

Note. As for Table 2.

Кателицидин LL-37 показал значительно повышенные уровни у пациентов с заболеваниями пародонта до удаления зубов ($p < 0,05$). Необходимо отметить, что содержание альфа-дефензинов 1-3 (HNP 1-3) в группе с пародонтитом было достоверно ниже, чем в контрольной группе. Удаление зубов привело к нормализации показателей противомикробных пептидов в слюне.

Обсуждение

Полость рта является домом для примерно 700 видов бактерий, которые вместе составляют микробиом полости рта. Микробиом полости рта состоит из уникальной и разнообразной экосистемы микробных организмов, которые метаболически и физически взаимодействуют. Такие взаимодействия приводят к формированию сложных сообществ биопленок, в которых физико-химические градиенты создают отдельные ниши для микроорганизмов с различными

метаболическими потребностями [23]. Когда сложная экосистема биопленки ротовой полости нарушается, возникает микробный дисбактериоз [19]. Это нарушение динамики микробного сообщества играет важную роль в этиологии гингивита, его прогрессировании и развитии ХГП. Последний также характеризуется нарушением иммунной регуляции и воспалением, а также повышенной представленностью пародонтальных патогенов, которые двунаправленно способствуют друг другу и вместе вызывают разрушение опорных структур зуба, включая периодонтальную связку (PDL) и альвеолярную кость [11]. Продолжающееся накопление над- и поддесневых сообществ полимикробных биопленок вызывает стойкий иммунный ответ хозяина в периодонте [17]. Этот воспалительный процесс можно обратить вспять, если удалить микробную биопленку, а воспаление ограничить поражением эпителия десны и соединительной ткани. Однако воспалительный процесс ста-

новится необратимым, если накопление биопленки сохраняется и приводит к поражению более глубоких тканей пародонта, например, к углублению десневой борозды, разрушению PDL (периодонтальной циркулярной связки) и утрате альвеолярной кости, после чего заболевание прогрессирует от гингивита до пародонтита. Можно предположить, что удаление зуба, как основы биопленки дисбиотического микробиома и причины хронического пародонтального очага инфекции, должно привести к снижению воспаления и восстановления иммунного баланса в ротовой полости.

Ведущая роль в системе местного иммунитета слизистых отводится секреторному IgA, основным источником которого являются околоушные железы. sIgA образуется при взаимодействии плазматических клеток, синтезирующих IgA, и секреторного компонента, синтез которого осуществляют эпителиальные клетки протоков слюнных желез. Дефицит sIgA в секретах обуславливает склонность к часто повторяющимся воспалительным процессам, поэтому определение концентрации sIgA в слюне является важным тестом, характеризующим состояние местного иммунитета полости рта [8]. В нашем исследовании снижение концентрации секреторного IgA в слюнной жидкости наблюдали у пациентов как с пародонтитом, так и с периодонтитом. При этом удаление зубов способствовало восстановлению нормальных показателей sIgA в слюне в обеих опытных групп.

Распознавание пародонтопатогенов иммунокомпетентными клетками приводит к активации провоспалительного ответа в полости рта. Основные провоспалительные цитокины (TNF α и IL-1 β), продуцируемые клетками моноцитарного ряда, активируют острую воспалительную реакцию хозяина, способствуют повышению экспрессии молекул адгезии на эндотелиальных клетках сосудов, а кроме того, способствуют разрушению тканей пародонта, активируя остеокласты, ответственные за резорбцию кости. В нашем исследовании нами отмечено повышение уровня IL-1 β у больных с заболеваниями пародонта и периодонта, тогда как концентрация TNF α отмечалась только в группе с пародонтитом. Присутствие патогенов в пародонтальном кармане вызывает секрецию хемокинов эпителиальными клетками, которые привлекают нейтрофилы из системного кровотока в эпителий соединения [12]. IL-8 является основным хемоаттрак-

тантом для нейтрофилов к очагу воспаления, впоследствии индуцируя нейтрофил-зависимую защиту слизистой оболочки против пародонтопатогенов. В нашем исследовании, уровни IL-8 у больных с заболеваниями пародонта до удаления зубов были достоверно выше, чем в группе сравнения. Защитные протеолитические ферменты нейтрофилов разрушают эпителий, тем самым способствуя инвазии патогенов глубже в эпителиальные ткани и в собственную пластинку, усиливая разрушение тканей и резорбцию кости. Нейтрофилы считаются важными противогрибковыми клетками; они рано попадают в очаги инфекции и способны уничтожить патоген как за счет фагоцитоза, так и за счет продукции активных форм кислорода. Более того, среди иммунологических изменений, наблюдаемых при старении, нейтрофилы становятся функционально неполноценными, особенно при заражении инфекционными агентами [15]. Кроме того, считается, что разрушение тканей при ХГП обусловлено экспансией клеток Th17 в зависимости от интерлейкинов IL-6 и IL-23 из-за изменений в структуре микробного сообщества [10]. Уровень IL-6 в нашем исследовании у больных с пародонтитом был достоверно выше, чем в контрольной группе и группе с периодонтитами.

Также у больных с заболеваниями пародонта выявлено достоверное повышение в слюне основного противовоспалительного цитокина — IL-10 ($p < 0,05$). Этот цитокин может регулировать разрушение тканей. В частности, установлено, что прогрессирование экспериментальных заболеваний пародонта связано с экспрессией цитокинов врожденного иммунитета: IL-10 был связан с повышенной экспрессией тканевых ингибиторов металлопротеиназ (ТИМП-1, ТИМП-2 и ТИМП-3) и остеопротегерина (OPG), а также со сниженной экспрессией матриксных металлопротеиназ (MMPs) и рецепторного активатора лиганда ядерного фактора карраВ (RANKL) [14].

Удаление зубов привело к нормализации цитокинового баланса, снижению как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов, и, в конечном итоге, к снижению воспаления.

Слюнная жидкость содержит несколько типов антимикробных пептидов, включая гистатины, дефенсины и кателицидин. Через эпителий десневой борозды или пародонтального кармана нейтрофилы мигрируют в пародонт. Нейтрофи-

лы составляют большинство иммунных клеток, представленных в десневой щели в норме, составляя 95% лейкоцитов [22].

Противомикробные пептиды — это катионные пептиды с широким спектром антимикробной активности. Дефенсины и кателицидин LL-37 относятся к ключевым компонентам антимикробной защиты слизистой оболочки. LL-37 является единственным представителем семейства антимикробных пептидов кателицидинов у человека. Нейтрофилы и эпителиальные клетки синтезируют и секретируют белок hCAP18, который является проформой LL-37 [20]. Слюнный LL-37 может происходить из больших слюнных желез, но также может происходить из эпителиальных клеток ротовой полости и/или из нейтрофилов тканей десны и жидкости десневой борозды. hCAP18 процессируется до LL-37 во внеклеточной реакции, катализируемой сериновой протеазой-3 или калликреином-5, для нейтрофилов и эпителиальных клеток соответственно. Дефенсины делятся на подсемейства α - и β -дефенсинов. Четыре типа α -дефенсинов [нейтрофильный пептид человека (HNP) 1-4] обнаруживаются преимущественно в нейтрофилах [13], тогда как β -дефенсины человека (hBD) в основном продуцируются эпителиальными клетками.

В нашем исследовании также отмечено повышение уровня кателицидина LL-37 в слюне больных с заболеваниями пародонта до удаления зубов. LL-37 проявляет активность как против грамположительных, так и против грамотрицательных бактерий, включая многие оральные патогены. Пептид проявляет свою противомикробную активность посредством различных механизмов. Важно отметить, что LL-37 не только

проявляет антибактериальную активность, но также модулирует защиту хозяина и врожденную иммунную систему [20]. При этом концентрация альфа-дефензинов (HNP 1-3) у больных с пародонтитом была достоверно ниже показателей других групп больных. Вероятно, низкие уровни содержания альфа-дефензинов могут свидетельствовать о снижении функциональной активности нейтрофилов у пожилых людей с пародонтитом, что может привести к более высокой восприимчивости к пародонтопатогенам. При этом удаление зубов у больных с заболеваниями пародонта привело к снижению уровня LL-37 и восстановлению концентрации HNP 1-3 в слюне у больных основных групп исследования, т. е. 2 и 3.

Заключение

Резюмируя вышеизложенное, можно заключить, что развитие воспаления при тяжелых воспалительных заболеваниях пародонта, в частности ХГП, приводящем к необходимости удаления зубов для санации полости рта, характеризуется функциональной недостаточностью секреторного иммунитета слизистых ротовой полости, связанной со снижением секреции секреторного иммуноглобулина А и противомикробных пептидов нейтрофильного происхождения, а также сдвигом цитокинового баланса в слюне в сторону повышения продукции провоспалительных цитокинов. Удаление зубов, как первопричины воспаления и основы поддержания биопленки дисбиотического микробиома, приводит к устранению воспаления и восстановлению иммунного баланса в ротовой полости.

Список литературы / References

1. Грудянов А.И. Заболевания пародонта. М.: МИА, 2022. 416 с. [Grudyanov A.I. Periodontal diseases. Moscow: MIA, 2022. 416 p. (In Russ.)]
2. Иорданишвили А.К. Гериатрическая стоматология. СПб.: Человек, 2019. 348 с. [Iordanishvili A.K. Geriatric dentistry. St. Petersburg: Chelovek, 2019. 348 p. (In Russ.)]
3. Иорданишвили А.К. Пародонтология. СПб.: Человек, 2020. 220 с. [Iordanishvili A.K. Periodontology. St. Petersburg: Chelovek, 2020. 220 p. (In Russ.)]
4. Керимханов К.А., Мальшев М.Е., Иорданишвили А.К. Особенности микробиоты и мукозального иммунитета при пользовании съемными зубными протезами // Институт стоматологии, 2022. Т. 94, № 1. С. 25-27. [Kerimkhanov K.A., Malyshev M.E., Iordanishvili A.K. Features of microbiota and mucosal immunity when using removable dentures. *Institut stomatologii = Institute of Dentistry*, 2022, Vol. 94, no. 1, pp. 25-27. (In Russ.)]

5. Комаров Ф.И., Шевченко Ю.Л., Иорданишвили А.К. Долгожительство: ремарки к патологии зубов и пародонта // Пародонтология, 2017. № 2. С. 13-15. [Komarov F.I., Shevchenko Yu.L., Iordanishvili A.K. Longevity: remarks to the pathology of the teeth and periodontal. *Parodontologia = Periodontology*, 2017, no. 2, pp. 13-15. (In Russ.)]
6. Лобейко В.В., Иорданишвили А.К., Малышев М.Е. Возрастная характеристика иммунологических показателей слюны у взрослых людей // Кубанский научный вестник, 2015. Т. 150, № 1. С. 74-79. [Lobeyko V.V., Iordanishvili A.K., Malyshev M.E. Age characteristics of immunological parameters of saliva in adults. *Kubanskiy nauchnyy vestnik = Kuban Scientific Bulletin*, 2015, Vol. 150, no. 1, pp. 74-79. (In Russ.)]
7. Малышев М.Е., Лобейко В.В., Иорданишвили А.К. Иммунные показатели слюны у лиц разного возраста, проживающих в Санкт-Петербурге и Ленинградской области // Успехи геронтологии, 2015. Т. 28, № 2. С. 294-298. [Malyshev M.E., Lobeyko V.V., Iordanishvili A.K. Immune parameters of saliva in persons of different age residing in St. Petersburg and Leningrad region. *Uspekhi Gerontologii = Advances in Gerontology*, 2015, Vol. 28, no. 2, pp. 294-298. (In Russ.)]
8. Малышев М.Е., Лобейко В.В., Иорданишвили А.К., Малышев М.Е. Показатели секреторного иммунитета слюны у пациентов с различными заболеваниями слюнных желез // Курский научно-практический вестник. Человек и его здоровье, 2015. № 1. С. 40-47. [Malyshev M.E., Lobeyko V.V., Iordanishvili A.K., Malyshev M.E. Indicators of secretory immunity of saliva in patients with various diseases of the salivary glands. *Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik. Chelovek i ego zdorovye = Kursk Scientific and Practical Bulletin. Man and his Health*, 2015, Vol. 1, pp. 40-47. (In Russ.)]
9. Cardoso E.M., Reis C., Manzanares-Céspedes M.C. Chronic periodontitis, inflammatory cytokines, and interrelationship with other chronic diseases. *Postgrad. Med.*, 2018, Vol. 130, pp. 98-104.
10. Dutzan N., Kajikawa T., Abusleme L., Greenwell-Wild T., Zuazo C.E., Ikeuchi T., Brenchley L., Abe T., Hurabielle C., Martin D., Morell R.J., Freeman A.F., Lazarevic V., Trinchieri G., Diaz P.I., Holland S.M., Belkaid Y., Hajishengallis G., Moutsopoulos N.M. A dysbiotic microbiome triggers T_H17 cells to mediate oral mucosal immunopathology in mice and humans. *Sci. Transl. Med.*, 2018, Vol. 10, no. 463, eaat0797. doi: 10.1126/scitranslmed.aat0797.
11. Ebersole J.L., Dawson D.R., Morford L.A., Peyyala R., Miller C.S., González O.A. Periodontal disease immunology: 'Double indemnity' in protecting the host. *Periodontol.* 2000, 2013, Vol. 62, no. 1, pp. 163-202.
12. Fujita T., Yoshimoto T., Kajiya M., Ouhara K., Matsuda S., Takemura T., Akutagawa K., Takeda K., Mizuno N., Kurihara H. Regulation of Defensive Function on Gingival Epithelial Cells Can Prevent Periodontal Disease. *Jpn Dent. Sci. Rev.*, 2018; Vol. 54, no. 2, pp. 66-75.
13. Ganz T., Selsted M.E., Szklarek D., Harwig S.S., Daher K., Bainton D.F., Lehrer R.I. Defensins. Natural peptide antibiotics of human neutrophils. *J. Clin. Invest.*, 1985, Vol. 76, no. 4, pp. 1427-1435.
14. Garlet G.P., Cardoso C.R., Silva T.A., Ferreira B.R., Avila-Campos M.J., Cunha F.Q. Cytokine pattern determines the progression of experimental periodontal disease induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* through the modulation of MMPs, RANKL, and their physiological inhibitors. *Oral Microbiol. Immunol.*, 2006, Vol. 21, no. 1, pp. 12-20
15. Gasparoto T.H., Vieira N.A., Porto V.C., Campanelli A.P., Lara V.S. Ageing exacerbates damage of systemic and salivary neutrophils from patients presenting Candida-related denture stomatitis. *Immun. Ageing*, 2009, Vol. 6, 3. doi:10.1186/1742-4933-6-3.
16. GBD 2016 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990-2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. 2016. *Lancet*, 2017, Vol. 390, no. 10100, pp. 1211-1259.
17. Hajishengallis G. The inflammophilic character of the periodontitis-associated microbiota. *Mol. Oral Microbiol.*, 2014, Vol. 29, no. 6, pp. 248-257.
18. Hajishengallis G., Chavakis T. Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities. *Nat. Rev. Immunol.*, 2021, Vol. 21, no. 7, pp. 426-440.
19. Hajishengallis G., Lamont R.J. Beyond the red complex and into more complexity: The Polymicrobial Synergy and Dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Mol. Oral Microbiol.*, 2012, Vol. 27, no. 6, pp. 409-419.
20. Hancock R.E.W., Haney E.F., Gill E.E. The immunology of host defence peptides: beyond antimicrobial activity. *Nat. Rev. Immunol.*, 2016, Vol. 16, no. 5, pp. 321-334.
21. Nazir M., Al-Ansari A., Al-Khalifa K., Alhareky M., Gaffar B., Almas K. Global prevalence of periodontal disease and lack of its surveillance. *Sci. World J.*, 2020, 2146160. doi: 10.1155/2020/2146160.

22. Rijkschroeff P., Jansen I.D.C., van der Weijden F.A., Keijser B.J.F., Loos B.G., Nicu E.A. Oral polymorphonuclear neutrophil characteristics in relation to oral health: A cross-sectional, observational clinical study. *Int. J. Oral. Sci.*, 2016, Vol. 8, no. 3, pp. 191-198.
23. Rosan B., Lamont R.J. Dental plaque formation. *Microbes Infect.*, 2000, Vol. 2, no. 13, pp. 1599-1607.

Авторы:

Мальшев М.Е. — д.б.н., профессор кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»; заведующий городской лабораторией иммуногенетики и серодиагностики ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, Россия

Керимханов К.А. — врач — стоматолог-ортопед стоматологической клиники ООО «Арт Класс» СК», Санкт-Петербург, Россия

Иорданишвили А.К. — д.м.н., профессор кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова», Санкт-Петербург, Россия

Бумай А.О. — старший преподаватель кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»; заместитель заведующего по оперативной работе ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Malyshev M.E., PhD, MD (Biology) Professor, Department of Facial and Maxillar Surgery, and Surgical Dentistry, St. Petersburg State University; Head, City Laboratory of Immunogenetics and Serodiagnostics, St. Petersburg I. Dzhanelidze Research Institute of Emergency Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Kerimkhanov K.A., Orthopedic Dentist, Dental Clinic "Art Class" SK" LLC, St. Petersburg, Russian Federation

Iordanishvili A.K., PhD, MD (Medicine) Professor, Department of Facial and Maxillar Surgery, and Surgical Dentistry, S. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation

Bumai A.O., Senior Lecturer, Department of Facial and Maxillar Surgery, and Surgical Dentistry, St. Petersburg State University; Deputy Chief for Surgery, St. Petersburg I. Dzhanelidze Research Institute of Emergency Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

ОСОБЕННОСТИ МУКОЗАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА В РАЗВИТИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ II ТИПА

Маркелова Е.В.¹, Голицына А.А.¹, Югай Ю.В.², Первов Ю.Ю.¹,
Ковальчук В.К.¹

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

² ООО «МЦ Ультрадент», г. Владивосток, Россия

Резюме. Хронический генерализованный пародонтит занимает одно из ведущих мест в структуре стоматологических заболеваний. Воспалительные заболевания пародонта являются одним из наиболее распространенных осложнений сахарного диабета. Важную роль в прогрессировании пародонтита у больных сахарным диабетом II типа играют нарушения иммунной системы, которые влияют на опорно-удерживающий комплекс зуба. Воспаление тканей пародонта, протекающее на фоне нарушений углеводного обмена, характеризуется более тяжелым течением, что ухудшает состояние и качество жизни пациентов с сахарным диабетом II типа, приводя к потере зубов. В связи с этим большой интерес представляют иммунологические аспекты формирования пародонтальной патологии в условиях нарушений углеводного обмена.

Цель исследования – сравнительная характеристика локальных уровней TNF α , TNF β , IFN γ , IL-1 β , IL-12, IL-17A у пациентов с пародонтитом при нарушении углеводного обмена (сахарный диабет II типа) и без него, а также у пациентов с сахарным диабетом II типа без признаков пародонтита.

Проведено обследование 127 больных, в возрасте от 30 до 59 лет. Пациенты были распределены на 3 группы следующим образом: I группа – пациенты, страдающие пародонтитом различной степени тяжести, без выявленной сопутствующей патологии, 47 человек; II группа – пациенты, страдающие сахарным диабетом II типа и пародонтитом различной степени тяжести, 49 человек; III группа – пациенты, страдающие сахарным диабетом II типа без признаков пародонтита, 30 человек. Контрольную группу составили практически здоровые добровольцы (30 человек), сопоставимые по возрасту и полу. В качестве материала исследования использовались слюна пациентов. Уровни TNF α , TNF β , IFN γ , IL-1 β , IL-12, IL-17A определяли методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа с применением специфических реактивов R&D Diagnostics Inc. (США).

Установлено достоверное увеличение уровней IL-1 β , TNF α , IFN γ и IL-17A у пациентов всех групп в сравнении с контролем. При этом концентрация IFN γ , IL-1 β , IL-17A повышалась с увеличением

Адрес для переписки:

Голицына Анна Александровна
ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ
690062, Россия, г. Владивосток, ул. Ильичева, 4, кв. 52.
Тел.: 8 (924) 255-59-99.
E-mail: camerelle@yandex.ru

Address for correspondence:

Anna A. Golitsyna
Pacific State Medical University
690062, Russian Federation, Vladivostok,
Ilyichev str., 4, apt 52.
Phone: +7 (924) 255-59-99.
E-mail: camerelle@yandex.ru

Образец цитирования:

Е.В. Маркелова, А.А. Голицына, Ю.В. Югай,
Ю.Ю. Первов, В.К. Ковальчук «Особенности
мукозального иммунитета в развитии заболеваний
пародонта у пациентов с сахарным диабетом II типа»
// Российский иммунологический журнал, 2023. Т. 26,
№ 1. С. 17-26.
doi: 10.46235/1028-7221-1165-FOM

© Маркелова Е.В. и соавт., 2023
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

E.V. Markelova, A.A. Golitsyna, Yu.V. Yugay, Yu.Yu. Pervov,
V.K. Kovalchuk "Features of mucosal immunity in the
development of periodontal diseases in patients with type II
diabetes mellitus", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2023, Vol. 26, no. 1, pp. 17-26.
doi: 10.46235/1028-7221-1165-FOM

© Markelova E.V. et al., 2023
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-1165-FOM

степени тяжести пародонтита у пациентов обеих групп. Выявлено снижение TNF β в слюне пациентов практически всех групп, вне зависимости от степени тяжести пародонтита. Зафиксировано статистически значимое повышение уровней IL-12 (субъединицы p40) в слюне, обследованных II и III групп по сравнению с контрольными значениями и группой без сахарного диабета.

Ключевые слова: мукозальный иммунитет, цитокины, пародонтит, сахарный диабет

FEATURES OF MUCOSAL IMMUNITY IN THE DEVELOPMENT OF PERIODONTAL DISEASES IN PATIENTS WITH TYPE II DIABETES MELLITUS

Markelova E.V.^a, Golitsyna A.A.^a, Yugay Yu.V.^b, Pervov Yu.Yu.^a, Kovalchuk V.K.^a

^a Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

^b MC Ultradent LLC, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. Chronic generalized periodontitis takes one of the leading places in the structure of dental diseases. Inflammatory periodontal disease is one of the most common complications of diabetes. An important role in the progression of periodontitis in type II diabetes mellitus (T2DM) belongs to disorders of the immune system that affect the supportive/retaining complex of the tooth. Inflammation of periodontal tissues which occurs in the patients with carbohydrate metabolism disorders is characterized by a more severe course, which worsens the condition and quality of life of patients with T2DM thus leading to tooth loss. In this regard, the immunological aspects of developing periodontal pathology under conditions of carbohydrate metabolism disorders are of great interest. Purpose of our study included comparative assessment of local TNF α , TNF β , IFN γ , IL-1 β , IL-12, IL-17A levels in patients with periodontitis with and without carbohydrate metabolism disorders (type II diabetes mellitus), as well as in patients with type II diabetes mellitus without signs of periodontitis.

127 patients were examined, aged 30 to 59 years. The patients were divided into 3 groups, i.e., group I included patients suffering from periodontitis of varying severity without known comorbidities (47 persons); Group II consisted of patients with T2DM and periodontitis of varying severity (49 persons); Group III included patients with T2DM without symptoms of periodontitis (30 persons). The control group consisted of 30 practically healthy volunteers, matched to the patients for age and sex. Saliva specimens were used for laboratory studies. The levels of TNF α , TNF β , IFN γ , IL-1 β , IL-12, IL-17A were determined by ELISA sandwich technique, with specific reagents purchased from R&D Diagnostics Inc (USA).

A significant increase in the IL-1 β , TNF α , IFN γ and IL-17A levels was found in patients of all groups compared with controls. At the same time, the increased concentrations of IFN γ , IL-1 β , IL-17A correlated with increase in periodontitis severity in the patients of both groups. Decreased TNF β levels in saliva samples were revealed in the patients from almost all groups, regardless of the periodontitis severity. Significantly increased levels of IL-12 (p40 subunit) were recorded in saliva of the persons from group II and III when compared with controls and the group without diabetes mellitus.

Keywords: mucosal immunity, cytokines, periodontitis, diabetes mellitus

Введение

Мукозальный иммунитет — это сложное взаимодействие между врожденными и адаптивными механизмами иммунной системы, зависящее от анатомического строения органов. При повреж-

дении слизистой оболочки, с проникновением в организм патогенных микроорганизмов и/или интенсивным синтезом и секрецией цитокинов, возникают системные иммунные реакции с вовлечением всего организма в воспалительный процесс [4].

Генерализованный пародонтит, приводящий к потере зубов, является одной из важных проблем современной стоматологии [2]. Большую роль в воспалительных заболеваниях пародонта играет сахарный диабет, усугубляющий течение пародонтита и характеризующийся более тяжелым и неблагоприятным течением [3]. Многочисленными исследованиями установлено двустороннее отягощение состояния пациентов. С одной стороны, нарушение метаболизма при сахарном диабете приводит к дисфункции эндотелия, субклинического воспаления, вызванного высоким уровнем провоспалительных цитокинов, макрофагов, фиброзом внеклеточного матрикса. Эти метаболические нарушения, имея системный характер, способствуют структурным и функциональным нарушениям в периферических тканях, в том числе и тканях пародонта [5]. С другой стороны, наличие пародонтита ведет к увеличению уровня гликемии, путем увеличения резистентности к инсулину. Такие изменения в полости рта вызывают осложнения в диабете, оказывая влияние на общее состояние больного [8].

В связи с этим актуальной остается проблема изучения патогенеза, в том числе роли изменений мукозального иммунитета, для поиска новых методов диагностики у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом и сопутствующим сахарным диабетом II типа.

Цель исследования – сравнительная характеристика локальных уровней TNF α , TNF β , IFN γ , IL-1 β , IL-12, IL-17A у пациентов с пародонтитом при нарушении углеводного обмена (сахарный диабет II типа) и без него, а также у пациентов с сахарным диабетом II типа без признаков пародонтита.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 127 больных, в возрасте от 30 до 59 лет. Все пациенты были распределены по полу, из них преобладали женщины 82 чел. (65%), мужчины составляли 45 чел. (35%). Средний возраст женщин составил – 48,53 \pm 1,1 лет, мужчин – 51,29 \pm 1,3 лет. Пациенты были распределены на 3 группы следующим образом:

I группа – пациенты, страдающие пародонтитом различной степени тяжести, без выявленной сопутствующей патологии, 47 человек (29 жен-

щин (62%) и 18 мужчин (38%) молодого и среднего возраста).

II группа – пациенты, страдающие сахарным диабетом II типа и пародонтитом различной степени тяжести, 49 человек (37 женщин (75%) и 12 мужчин (25%) молодого и среднего возраста);

III группа – пациенты, страдающие сахарным диабетом II типа без признаков пародонтита, 30 человек (14 женщин (47%) и 16 мужчин (53%) молодого и среднего возраста).

Контрольную группу составили практически здоровые добровольцы (30 человек), сопоставимые по возрасту и полу.

В качестве материала исследования использовались слюна пациентов. Уровни TNF α , TNF β , IFN γ , IL-1 β , IL-12, IL-17A определяли методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа с применением специфических реактивов R&D Diagnostics Inc. (США). Учет результатов производили с помощью иммуноферментного анализатора Multiscan (Финляндия). Расчеты количества TNF α , TNF β , IFN γ , IL-1 β , IL-12, IL-17A проводили путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы. Количество исследуемых цитокинов выражали в пг/мл. Статистическая обработка материала проведена с использованием программы SPSS v22 с применением непараметрических методов.

Результаты

В приведенной таблице 1 представлены уровни исследованных показателей (TNF α , TNF β , IFN γ , IL-1 β , IL-12, IL-17A) в слюне пациентов, распределенных по группам.

При анализе исследуемых цитокинов в слюне установлено достоверное увеличение уровней IL-1 β , TNF α , IFN γ и IL-17A у пациентов всех групп в сравнении с контролем (табл. 1). А также зафиксировано статистически значимое повышение уровней IL-12 (субъединицы p40) в слюне, обследованных II и III групп по сравнению с референсными значениями и группой без сахарного диабета, что привело к снижению коэффициента IL-12p70/IL-12p40 в 2 раза, тогда как у обследованных с пародонтитом без сопутствующих нарушений углеводного обмена содержание субтипов IL-12 и их соотношение не отличалось от референсных значений. Не выявлено суще-

ственного влияния степени тяжести пародонтита на показатели IL-12, при этом соотношение его субтипов было более низким ($p < 0,05$) у пациентов с сахарным диабетом (табл. 2).

Нами задокументировано снижение содержания TNF β в слюне у пациентов с сахарным диабетом как в группе с пародонтитом, так и без него (табл. 1).

При анализе показателей исследованных цитокинов в слюне пациентов, в зависимости от

степени тяжести пародонтита, выявлен ряд закономерностей: концентрация IFN γ , IL-1 β , IL-17A повышалась с увеличением степени тяжести пародонтита у пациентов обеих групп. Определена корреляция IL-1 β ($r = 0,86$; $p < 0,001$) и TNF α ($r = 0,72$; $p < 0,01$) в группе пациентов с пародонтитом и сопутствующим сахарным диабетом II типа (табл. 2). При этом уровень этих цитокинов в слюне пациентов с сахарным диабетом без пародонтита хотя и был выше, чем в контрольной

ТАБЛИЦА 1. УРОВНИ ИССЛЕДОВАННЫХ ЦИТОКИНОВ В СЛЮНЕ ПАЦИЕНТОВ, Ме ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

TABLE 1. LEVELS OF STUDYED CYTOKINES IN SALIVATION OF PATIENTS, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Показатели, пг/мл Indicators, pg/mL		Группа контроля Control group (n = 30)	1-я группа Больные с пародонтитом 1 st group Patients with periodontitis n = 47 (1)	2-я группа Больные с пародонтитом и сахарным диабетом 2-го типа 2 nd group Patients with periodontitis and diabetes 2 nd type n = 49 (2)	3-я группа Больные сахарным диабетом без признаков пародонтита 3 rd group Patients with diabetes mellitus without signs of periodontitis n = 30 (3)
TNF α		4,62 (2,16-5,59)	16,05*** (8,51-26,10)	66,75*** (29,36-90,76) $p_1-p_2 < 0,001$	16,67*** (14,24-17,95) $p_2-p_3 < 0,001$
TNF β		9,59 (8,28-10,05)	7,07* (5,10-8,37)	5,69** (4,21-7,96)	6,0* (3,12-8,00)
IFN γ		12,21 (11,11-13,67)	197,85*** (174,65-291,06) $p_1-p_3 < 0,001$	198,22*** (185,16-286,54)	65,245*** (59,24-70,82) $p_2-p_3 < 0,001$
IL-1 β		76,44 (75,26-77,45)	86,88* (65,10-116,12)	252,75*** (209,28-268,75) $p_1-p_2 < 0,001$	110,62** (67,30-124,86) $p_2-p_3 < 0,001$
IL-12	p 40	47,32 (40,30-50,51)	37,20 (22,82-54,51) $p_1-p_3 < 0,001$	78,80*** (68,74-91,02) $p_1-p_2 < 0,001$	65,65** (50,13-88,71) $p_2-p_3 < 0,05$
	p 70	12,59 (10,70-20,11)	10,45 (12,31-20,72)	12,51 (8,74-17,55)	9,43 (1,12-29,75)
IL-12 p70/p40		0,26 (0,20-0,40)	0,22 (0,15-0,32)	0,15* (0,10-0,23)	0,14* (0,09-0,19)
IL-17A		10,85 (10,040-1,771)	96,87*** (87,54-111,71) $p_1-p_3 < 0,05$	74,29*** (65,17-86,84) $p_1-p_2 < 0,001$	68,96*** (63,88-73,87)

Примечание. Статистическая достоверность различий с контрольной группой: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$; p_1-p_3 – статистическая достоверность различий между группами пациентов.

Note. Statistical significance of differences with the control group: *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$; p_1-p_3 , statistical significance of differences between groups of patients.

ТАБЛИЦА 2. УРОВНИ ЦИТОКИНОВ В СЛЮНЕ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ У ПАЦИЕНТОВ, РАСПРЕДЕЛЕННЫХ НА ПОДГРУППЫ, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ПАРОДОНТИТА, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 2. LEVELS OF SALIVA CYTOKINES IN PERIODONTAL PATIENTS, DISTRIBUTED INTO SUBGROUPS, DEPENDING ON THE SEVERITY OF PERIODONTITIS, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели, пг/мл Indicators, pg/mL	Группа контроля Control group (n = 30)	1-я группа Больные с пародонитом 1 st group Patients with periodontitis n = 47				2-я группа Больные с пародонитом и сахарным диабетом 2 nd group Patients with periodontitis and diabetes n = 49			3-я группа Больные сахарным диабетом без признаков пародонита 3 rd group Patients with diabetes mellitus without signs of periodontitis n = 30
		Легк. ст. 1 Mild severity 1 n = 14	Сред. ст. 2 Moderate severity 2 n = 21	Тяж. ст. 3 Severe severity 3 n = 12	Легк. ст. 4 Mild severity 4 n = 13	Сред. ст. 5 Moderate severity 5 n = 21	Тяж. ст. 6 Severe severity 6 n = 15		
TNFα	4,62 (2,16-5,59)	12,28*** (8,51-16,05)	8,15*** (7,95-42,87)	24,25*** (20,68-49,38) p ₁ -p ₃ < 0,01 p ₂ -p ₃ < 0,05	29,36*** (21,46-45,16) p ₁ -p ₄ < 0,01	54,02*** (29,32-76,45) p ₁ -p ₅ < 0,001 p ₂ -p ₅ < 0,001 p ₃ -p ₅ < 0,01 p ₄ -p ₅ < 0,01	97,17*** (88,935-119,860) p ₁ -p ₆ < 0,001 p ₂ -p ₆ < 0,001 p ₃ -p ₆ < 0,01 p ₄ -p ₆ < 0,01 p ₅ -p ₆ < 0,001	16,67*** (14,24-17,95) p ₁ -p ₇ < 0,05 p ₃ -p ₇ < 0,01 p ₄ -p ₇ < 0,001 p ₅ -p ₇ < 0,001 p ₆ -p ₇ < 0,001	
TNFβ	9,59 (8,28-10,05)	6,56 (3,00-9,97)	7,07* (5,79-8,37)	6,31* (4,85-8,93)	4,21** (2,02-6,22) p ₂ -p ₄ < 0,05 p ₃ -p ₄ < 0,05	5,68* (4,98-8,10)	6,10* (5,76-7,80)	6,0* (3,12-8,00) p ₄ -p ₇ < 0,05	
IFNγ	12,21 (11,11-13,67)	166,12*** (116,65-188,45) p ₁ -p ₂ < 0,001	242,74*** (184,67-312,22) p ₂ -p ₃ < 0,05	287,985*** (285,38-294,05) p ₁ -p ₃ < 0,001	182,58*** (164,61-187,25) p ₂ -p ₄ < 0,001 p ₃ -p ₄ < 0,01	218,96*** (192,96-286,54) p ₁ -p ₅ < 0,001	286,12*** (256,055-296,525) p ₁ -p ₆ < 0,001 p ₂ -p ₆ < 0,05 p ₄ -p ₆ < 0,001	65,245*** (59,24-70,82) p ₁ -p ₇ < 0,001 p ₂ -p ₇ < 0,001 p ₃ -p ₇ < 0,01 p ₄ -p ₇ < 0,01 p ₅ -p ₇ < 0,001 p ₆ -p ₇ < 0,001	
IL-1β	76,44 (75,26-77,45)	63,12 (58,19-68,48) p ₁ -p ₂ < 0,001	93,90** (76,88-105,25) p ₂ -p ₃ < 0,001	139,275*** (116,12-151,89) p ₁ -p ₃ < 0,001	206,75*** (196,14-209,28) p ₁ -p ₄ < 0,001 p ₂ -p ₄ < 0,001 p ₃ -p ₄ < 0,01	254,75*** (224,06-268,11) p ₁ -p ₅ < 0,001 p ₂ -p ₅ < 0,001 p ₃ -p ₅ < 0,001 p ₄ -p ₅ < 0,01	270,12*** (260,565-280,160) p ₁ -p ₆ < 0,001 p ₂ -p ₆ < 0,001 p ₃ -p ₆ < 0,001 p ₄ -p ₆ < 0,01 p ₅ -p ₆ < 0,05	110,62 (67,30-124,86) p ₁ -p ₇ < 0,001 p ₃ -p ₇ < 0,05 p ₄ -p ₇ < 0,001 p ₅ -p ₇ < 0,001 p ₆ -p ₇ < 0,001	

Таблица 2 (окончание)
Table 2 (continued)

Показатели, пг/мл Indicators, pg/mL	Группа контроля Control group (n = 30)	1-я группа Больные с пародонтитом 1 st group Patients with periodontitis n = 47			2-я группа Больные с пародонтитом и сахарным диабетом 2-го типа 2 nd group Patients with periodontitis and diabetes 2 nd type n = 49			3-я группа Больные сахарным диабетом без признаков пародонтита 3 rd group Patients with diabetes mellitus without signs of periodontitis n = 30
		Легк. ст. 1 Mild severity 1 n = 14	Сред. ст. 2 Moderate severity 2 n = 21	Тяж. ст. 3 Severe severity 3 n = 12	Легк. ст. 4 Mild severity 4 n = 13	Сред. ст. 5 Moderate severity 5 n = 21	Тяж. ст. 6 Severe severity 6 n = 15	
IL-12	p 40	47,32 (40,30-50,51)	44,35 (31,90-57,41)	27,95 (10,52-54,51)	72,51* (67,62-89,60) p ₁ -p ₄ < 0,05 p ₂ -p ₄ < 0,05 p ₃ -p ₄ < 0,05	80,81*** (68,71-90,82) p ₁ -p ₅ < 0,05 p ₂ -p ₅ < 0,01 p ₃ -p ₅ < 0,01	87,91*** (77,82-97,25) p ₁ -p ₆ < 0,01 p ₂ -p ₆ < 0,01 p ₃ -p ₆ < 0,01	65,65** (50,13-88,71) p ₁ -p ₇ < 0,01 p ₂ -p ₇ < 0,001 p ₃ -p ₇ < 0,01 p ₆ -p ₇ < 0,05
	p 70	12,59 (10,70-20,11)	10,22 (2,62-17,52)	17,45 (11,61-10,32)	8,72* (7,21-11,70)	12,63 (8,44-18,52)	12,22 (7,71-27,42)	9,3 (1,12-29,75)
IL-17A	IL-12 p70p40	0,26 (0,20-0,40)	0,29 (0,18-0,50)	0,26 (0,12-0,19)	0,125* (0,06-0,20)	0,15* (0,07-0,19)	0,12* (0,08-0,20)	0,14* (0,09-0,19)
	IL-17A	10,85 (10,04-11,71)	89,88*** (85,37-95,79) p ₁ -p ₂ < 0,05	125,24*** (118,91-138,71) p ₁ -p ₃ < 0,01	64,69*** (59,96-67,09) p ₁ -p ₄ < 0,05 p ₂ -p ₄ < 0,01 p ₃ -p ₄ < 0,01	70,35*** (66,04-79,69) p ₁ -p ₅ < 0,05 p ₂ -p ₅ < 0,05 p ₃ -p ₅ < 0,01	89,03*** (79,64-95,16) p ₁ -p ₆ < 0,05 p ₃ -p ₆ < 0,01 p ₄ -p ₆ < 0,05 p ₅ -p ₆ < 0,05	68,96*** (63,88-73,87) p ₁ -p ₇ < 0,05 p ₂ -p ₇ < 0,001 p ₃ -p ₇ < 0,001 p ₆ -p ₇ < 0,001

Примечание. Статистическая достоверность различий с контрольной группой: * – p < 0,05; ** – p < 0,01; *** – p < 0,001; p₁-p₇ – статистическая достоверность различий между группами пациентов.

Note. Statistical significance of differences with the control group: *, p < 0.05; **, p < 0.01; ***, p < 0.001; p₁-p₇, statistical significance of differences between groups of patients.

группе, но их содержание в 1,5-4 раза было меньше, чем у пациентов II группы.

Установлено снижение TNF β в слюне пациентов практически всех групп, вне зависимости от степени тяжести пародонтита. Только при легкой степени тяжести у пациентов без нарушений углеводного обмена его уровень не отличался от референсных значений (табл. 2).

Обсуждение

Согласно современной концепции, цитокины играют большую роль в регуляции иммунного ответа, в том числе при развитии хронического генерализованного пародонтита. Повреждение тканей пародонта и альвеолярной кости возникает вследствие дисбаланса между про- и противовоспалительным пулом [6]. Провоспалительные цитокины вызывают подавление нормального процесса регенерации фибробластами соединительной ткани, нарушают тканевую репарацию [4].

Важную роль в этом процессе играет фактор некроза опухолей (TNF), который проявляет свои функции даже при незначительном повышении концентрации [7]. В аналогичных исследованиях было установлено, что наибольшее разрушающее действие на ткани пародонта оказывают IL-1 β и TNF α [12]. В литературе имеются и другие данные о локальном повышении провоспалительных цитокинов TNF α , IL-1 β при генерализованном пародонтите [9]. Нами подтверждены результаты этих исследований и определена особая роль при TNF α усугублении тяжести пародонтита у пациентов с сахарным диабетом II типа.

Не достаточно изучена роль провоспалительного цитокина IFN γ в воспалительных заболеваниях пародонта. Имеется ряд противоречивых данных. Так, T.G. Wilson и соавт. (2006) в своих исследованиях установили, что экспрессия IFN γ значительно выше у лиц с пародонтитом, чем у клинически здоровых людей [22]. Однако, согласно данным Г.М. Барер и соавт. (2005), в сыворотке крови десен наблюдается резкое снижение показателей IFN γ [1]. Д.В. Шмидт и соавт. (2008) также отметили снижение уровня IFN γ в 2,5 раза по сравнению с группой сравнения, объясняя это действием гингипина (продукт *P. gingivalis*), который разрушает IL-12, являющегося индуктором синтеза IFN γ . Обосновывая это тем, что патогенные микроорганизмы вызывают ослабление

функции фагоцитов [9], тогда как IFN γ усиливает эффективность фагоцитоза, вызывает стимуляцию макрофагов и прайминг полиморфноядерных лейкоцитов [20, 21]. Необходимо отметить, что Н. Kobayaashi и соавт. (2011) не установили связи между продукцией IFN γ и состоянием тканей пародонта, которое они оценивали по глубине пародонтальных карманов и степени резорбции костной ткани [14]. В нашем исследовании задокументирована локальная гиперпродукция IFN γ . Его уровень в слюне пациентов с пародонтитом обеих групп был выше в 10 раз по сравнению с референсными значениями и в 3 раза по сравнению с пациентами III группы (с сахарным диабетом II типа без пародонтита). Установлена прямая корреляция содержания IFN γ со степенью тяжести пародонтита. Это свидетельствует о повреждающем действии IFN γ при его гиперпродукции.

Несмотря на то, что IL-12 усиливает противоинфекционную защиту и является ключевым фактором в потенцировании клеточно-опосредованного иммунного ответа, о его роли в патогенезе генерализованного пародонтита имеются лишь одиночные публикации [17]. Так, Sanchez-Hernandez P.E. (2011) говорил об увеличении уровня IL-12 в десневой жидкости, не детализируя, о каком субтипе идет речь [19]. Нами установлено относительное увеличение IL-12p40, продукция которого усиливается, по нашему мнению, компенсаторно для поляризации иммунного ответа по T2 типу, однако этот механизм не срабатывает, о чем свидетельствует гиперпродукция IFN γ . Возможно, этот факт связан с дисбалансом в системе интерферонов на уровне слизистых ротовой полости, что требует дополнительных исследований.

Важная роль в регуляции иммунной, эндокринной, кровяной и нервной систем отводится IL-17, который продуцируется нейтрофилами, эозинофилами, макрофагами, CD4⁺T-клетками [10]. Основной функцией IL-17 является стимуляция макрофагов и нейтрофилов в месте воспаления, увеличение активности TNF α , IL-1 β и IFN γ [11, 18], а также экспрессии выработки простагландина E2 [13]. Доказано, что IL-17 обладает синергизмом с TNF α [15]. Также установлено, что он усиливает дифференцировку остеобластов в зрелые остеокласты [16]. Однако роль IL-17 в патогенезе пародонтита на фоне сахарного диабета остается мало изученной. Нами установлена

локальная гиперпродукция IL-17A у пациентов с пародонтитом как по сравнению с референсными значениями, так и с пациентами с сахарным диабетом. Выявлена прямая корреляция уровня IL-17A в слюне с увеличением степени тяжести пародонтита у пациентов обеих основных групп. Определена прямая сильная корреляция IL-17A с TNF α и с IFN γ . Эти факты свидетельствуют в пользу синергического действия этих провоспалительных цитокинов.

Заключение

Таким образом, дисбаланс в системе цитокинов с усилением локальной продукции IL-1 β , TNF α , IL-17A и IFN γ вносит существенный вклад в патогенез генерализованного пародонтита, особенно у пациентов с нарушением углеводного обмена. Следует отметить, что особую роль при усилении степени тяжести пародонтита у пациентов с сахарным диабетом II типа играет IL-1 β .

Список литературы / References

1. Богомолов М.В. Пародонтит как неспецифическое осложнение сахарного диабета. Подходы к профилактике // Российский медицинский журнал, 2011. № 13. С. 828-831. [Bogomolov M.V. Periodontitis as a nonspecific complication of diabetes mellitus. Prevention approaches. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal = Medical Journal of the Russian Federation*, 2011, no. 13, pp. 828-831. (In Russ.)]
2. Голицына А.А., Югай Ю.В., Первов Ю.Ю., Климкина Т.Н., Ковальчук В.К. Состояние мукозального иммунитета у пациентов с пародонтитом // Тихоокеанский медицинский журнал, 2017. № 4. С. 60-62. [Golitsyna A.A., Yugai Yu.V., Pervov Yu.Y., Klimkina T.N., Kovalchuk V.K. The state of mucosal immunity in patients with periodontitis. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2017, no. 4, pp. 60-62. (In Russ.)]
3. Даурова Ф.Ю., Льянова Д.К., Дроздова Г.А., Тарасова Т.В. Влияние противовоспалительной терапии на цитокиновый профиль больных пародонтитом на фоне сахарного диабета // Российский стоматологический журнал, 2013. № 2. С. 12-13. [Daurova F.Yu., Lyanova D.K., Drozdova G.A., Tarasova T.V. The effect of anti-inflammatory therapy on the cytokine profile of patients with periodontitis on the background of diabetes mellitus. *Rossiyskiy stomatologicheskii zhurnal = Russian Dental Journal*, 2013, no. 2, pp. 12-13. (In Russ.)]
4. Козлов В.А., Савченко А.А., Кудрявцев И.В., Козлов И.Г., Кудлай Д.А., Продеус А.П., Борисов А.Г. Клиническая иммунология. Красноярск: Поликор, 2020. 386 с. [Kozlov V.A., Savchenko A.A., Kudryavtsev I.V., Kozlov I.G., Kudlay D.A., Prodeus A.P., Borisov A.G. Clinical immunology]. Krasnoyarsk: Polikor, 2020. 386 p.
5. Крючков Д.Ю., Романенко И.Г., Джерелей А.А., Горобец С.М. Эффективность метформина в снижении выраженности дисбаланса про- и противовоспалительных цитокинов у пациентов с генерализованным пародонтитом в сочетании с преддиабетом // Крымский терапевтический журнал, 2020. № 4. С. 62-67. [Kryuchkov D.Yu., Romanenko I.G., Jerelei A.A., Gorobets S.M. The effectiveness of metformin in reducing the severity of the imbalance of pro- and anti-inflammatory cytokines in patients with generalized periodontitis in combination with prediabetes. *Krymskiy terapevticheskiy zhurnal = Crimean Therapeutic Journal*, 2020, no. 4, pp. 62-67. (In Russ.)]
6. Крючков Д.Ю., Романенко И.Г., Джерелей А.А., Горобец С.М. Оценка показателей системного воспаления у больных генерализованным пародонтитом, имеющих высокий риск развития сахарного диабета // Крымский терапевтический журнал, 2021. № 4. С. 49-54. [Kryuchkov D.Yu., Romanenko I.G., Jerelei A.A., Gorobets S.M. Evaluation of indicators of systemic inflammation in patients with generalized periodontitis who have a high risk of developing diabetes mellitus. *Krymskiy terapevticheskiy zhurnal = Crimean Therapeutic Journal*, 2021, no. 4, pp. 49-54. (In Russ.)]
7. Кулаков А.А., Зорина О.А., Борискина Щ.А. Роль защитных факторов организма в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта // Стоматология, 2010. № 6. С. 72-77. [Kulakov A.A., Zorina O.A., Boriskina S.A. The role of protective factors of the body in the pathogenesis of inflammatory periodontal diseases. *Stomatologiya = Dentistry*, 2010, no. 6, pp. 72-77. (In Russ.)]
8. Прозорова Н.В., Мамыкин К.Е. Оценка влияния гигиены полости рта на состояние тканей пародонта у больных сахарным диабетом // Вестник Новгородского государственного университета, 2015. № 2. С. 86-88. [Prokhorova N.V., Mamukin K.E. Evaluation of the effect of oral hygiene on the condition of periodontal tissues in patients with diabetes mellitus. *Vestnik Novgorodskogo gosudarstvennogo universiteta = Bulletin of Novgorod State University*, 2015, no. 2, pp. 86-88. (In Russ.)]
9. Шмидт Д.В., Шмагель К.В., Мозговая Л.А., Беляева О.В. Состояние местного иммунитета у больных с хроническим генерализованным пародонтитом // Стоматология, 2008. № 4. С. 33-38. [Schmidt D.V., Shmagel K.V., Mozgovaya L.A., Belyaeva O.V. The state of local immunity in patients with chronic generalized periodontitis. *Stomatologiya = Dentistry*, 2008, no. 4, pp. 33-38. (In Russ.)]

10. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 752 с. [Yarilin A.A. Immunology]. Moscow: GEOTAR-Media, 2010. 752 p.
11. Beklen A., Ainola M., Hukkanen M., Gürkan C., Sorsa T., Konttinen Y.T. MMPs, IL-1, and TNF are regulated by IL-17 in periodontitis. *J. Dent. Res.*, 2007, Vol. 86, no. 4, pp. 347-351.
12. de Freitas M.N., Imbronito A.V., Neves A.C., Nunes F.D. Analysis of IL-1 and TNF- α gene polymorphism in Brazilian patients with generalized aggressive periodontitis. *Eur. Cytokine Netw.*, 2010, Vol. 18, pp. 142-147.
13. Eklund C.M. Proinflammatory cytokines in CRP baseline regulation. *Adv. Clin. Chem.*, 2009, Vol. 48, pp. 111-136.
14. Kobayaashi H., Nagasawa T., Aramaki M. Individual diversities in interferon gamma production by human peripheral blood mononuclear cells stimulated with periodontopathic bacteria. *J. Periodontol. Res.*, 2011, Vol. 35, no. 6, pp. 319-328.
15. Lester S.R., Bain J.L., Johnson R.B., Serio F.G. Gingival concentrations of interleukin-23 and -17 at healthy sites and at sites of clinical attachment loss. *J. Periodontol.*, 2007, Vol. 78, no. 8, pp. 1545-1550.
16. Lubberts E. The IL-23-IL-17 axis in inflammatory arthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2015, Vol. 11, no. 7, pp. 415-429.
17. Reichert S., Machulla H.K.G., Klapproth J. Interferon-gamma and interleukin-12 gene polymorphisms and their relation to aggressive and chronic periodontitis and key periodontal pathogens. *J. Periodontol.*, 2010, Vol. 79, no. 8, pp. 1434-1443.
18. Ruddy M.J., Shen F., Smith J.B., Sharma A., Gaffen S.L. Interleukin-17 regulates expression of the CXC chemokine LIX/CXCL5 in osteoblasts: implications for inflammation and neutrophil recruitment. *J. Leukoc. Biol.*, 2004, Vol. 76, no. 1, pp. 135-144.
19. Sánchez-Hernandez P.E., Zamora-Perez A.L., Fuentes-Lerma M., Robles-Gomez C., Mariaud-Schmidt R.P., Guerrero-Velazquez C. IL-12 and IL-18 levels in serum and gingival tissue in aggressive and chronic periodontitis. *Oral Dis.*, 2011, Vol. 17, pp. 522-529.
20. Seymour G.J., Gemmell E. Cytokines in periodontal disease: where to from here? *J. Acta Odontol. Scand.*, 2001, Vol. 59, no. 3, pp. 167-173.
21. Swain S.D., Rohn T.T., Quinn M.T. Neutrophil priming in host defense: Role of oxidants as priming agents. *Antioxid. Redox Signal.*, 2002, Vol. 4, no. 1, pp. 69-83.
22. Wilson T.G., Kornman K. Fundamentals of periodontics. Tokyo: Quintessence Publishing Co, 2006. 564 p.

Авторы:

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

Голицына А.А. — ассистент Института стоматологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Authors:

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

Golitsyna A.A., Assistant Professor, Institute of Dentistry, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Югай Ю.В. — врач — стоматолог-хирург ООО «МЦ
Ультрадент», г. Владивосток, Россия

Yugay Yu.V., Dental Surgeon, MC Ultradent LLC, Vladivostok,
Russian Federation

Первов Ю.Ю. — д.м.н., доцент, директор Института
стоматологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский
государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток,
Россия

Pervov Yu. Yu., PhD, MD (Medicine), Associate Professor,
Director, Institute of Dentistry, Pacific State Medical
University, Vladivostok, Russian Federation

Ковальчук В.К. — д.м.н., профессор кафедры гигиены
ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Kovalchuk V.K., PhD, MD (Medicine), Professor, Department
of Hygiene, Pacific State Medical University, Vladivostok,
Russian Federation

Поступила 05.07.2022
Принята к печати 08.11.2022

Received 05.07.2022
Accepted 08.11.2022

КООПЕРАТИВНОЕ УЧАСТИЕ ИДИОТИПИЧЕСКИХ И АНТИИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ В СТЕРОИД-ЗАВИСИМОМ ХИМИЧЕСКОМ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

Поленок Е.Г.¹, Гордеева Л.А.¹, Мун С.А.¹, Костянко М.В.², Антонов А.В.³, Вержбицкая Н.Е.³, Байрамов П.В.³, Колпинский Г.И.^{4,5}, Вафин И.А.⁶, Глушков А.Н.¹

¹ Институт экологии человека ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», г. Кемерово, Россия

² Институт фундаментальных наук ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», г. Кемерово, Россия

³ ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер имени М.С. Раппопорта», г. Кемерово, Россия

⁴ ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет», г. Кемерово, Россия

⁵ ГАУЗ «Клинический консультативно-диагностический центр», г. Кемерово, Россия

⁶ ГКУЗ «Кузбасский центр крови», г. Кемерово, Россия

Резюме. Положительный опыт применения селективных модуляторов эстрогеновых рецепторов (ER) для профилактики рака молочной железы (ER⁺ РМЖ) и перспектива разработки новых иммунологических средств защиты человека от химических канцерогенов окружающей среды предполагают дальнейшее изучение механизмов регуляции взаимодействия экзогенных и эндогенных факторов канцерогенеза у человека. Цель исследования — выявить особенности содержания идиотипических антител против бензо[а]пирена, эстрадиола и прогестерона (IgA₁-Bp, IgA₁-E2 и IgA₁-Pg) в кооперации с антиидиотипическими антителами, специфичными к эстрадиолу и прогестерону (IgG₂-E2 и IgG₂-Pg), в сыворотке крови больных ER⁺/PR⁺ РМЖ I стадии в сравнении со здоровыми женщинами. Идиотипические антитела исследовали у 402 здоровых женщин в постменопаузе и у 475 больных РМЖ с помощью ELISA, используя конъюгаты Bp, E2 и Pg с бычьим сывороточным альбумином в качестве адсорбированных антигенов. Антиидиотипические антитела исследовали выборочно у 184 здоровых женщин и 274 больных РМЖ с помощью ELISA, используя моноклональные антитела против E2 и Pg в качестве адсорбированных антигенов. Высокие значения индивидуальных соотношений IgA₁-Bp/ IgA₁-Pg > 1 и IgA₁-E2/IgA₁-Pg > 1 обнаружены у 42,1% и 48,5% у здоровых женщин и у 71,1% и 78,1% больных РМЖ (p < 0,0001, OR = 5,9 и OR = 3,8 соответственно). Высокие уровни IgG₂-E2 > 4 выявлены у 23,4% здоровых женщин и 41,2% больных РМЖ (p = 0,0001, OR = 2,3). Сочетание IgA₁-Bp/IgA₁-Pg ≤ 1 с IgG₂-E2 ≤ 4 и IgG₂-Pg > 2 встречалось у здоровых женщин чаще, чем у боль-

Адрес для переписки:

Мун Стелла Андреевна
Институт экологии человека
650065, Россия, г. Кемерово, Ленинградский пр., 10.
Тел.: 8 (3842) 57-50-79.
E-mail: stellamun@yandex.ru

Address for correspondence:

Stella A. Mun
Institute of Human Ecology
650065, Russian Federation, Kemerovo,
Leningradsky ave., 10.
Phone: +7 (3842) 57-50-79.
E-mail: stellamun@yandex.ru

Образец цитирования:

Е.Г. Поленок, Л.А. Гордеева, С.А. Мун, М.В. Костянко, А.В. Антонов, Н.Е. Вержбицкая, П.В. Байрамов, Г.И. Колпинский, И.А. Вафин, А.Н. Глушков «Кооперативное участие идиотипических и антиидиотипических антител в стероид-зависимом химическом канцерогенезе» // Российский иммунологический журнал, 2023. Т. 26, № 1. С. 27-40. doi: 10.46235/1028-7221-1177-COI

© Поленок Е.Г. и соавт., 2023

Эта статья распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

E.G. Polenok, L.A. Gordeeva, S.A. Mun, M.V. Kostyanko, A.V. Antonov, N.E. Verzhbitskaya, P.V. Bairamov, G.I. Kolpinskiy, I.A. Vafin, A.N. Glushkov "Cooperation of idiotypic and anti-idiotypic antibodies at the steroid-dependent chemical carcinogenesis", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2023, Vol. 26, no. 1, pp. 27-40. doi: 10.46235/1028-7221-1177-COI

© Polenok E.G. et al., 2023

The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-1177-COI

ных РМЖ (29,3% против 5,8%, $p < 0,0001$, $OR = 0,1$). Комбинации $IgA_1\text{-Bp}/IgA_1\text{-Pg} > 1$ с $IgG_2\text{-E2} > 4$ или $IgG_2\text{-Pg} > 2$ обнаруживали чаще у больных, чем у здоровых (12,0% и 31,8% против 4,9% и 15,2% соответственно, $p = 0,01$ и $p = 0,001$, $OR = 2,7$ и $OR = 2,6$). Сочетание $IgA_1\text{-Bp}/IgA_1\text{-Pg} > 1$ с $IgG_2\text{-E2} > 4$ и $IgG_2\text{-Pg} > 2$ встречалось чаще у больных, чем у здоровых (23,4% против 9,8%, $p = 0,0003$, $OR = 2,8$). Такие же особенности обнаружены у здоровых женщин и больных РМЖ при анализе соотношения $IgA_1\text{-E2}/IgA_1\text{-Pg}$ в комбинациях с $IgG_2\text{-E2}$ и $IgG_2\text{-Pg}$. В то же время $IgA_1\text{-Bp}/IgA_1\text{-Pg} > 1$ и $IgA_1\text{-E2}/IgA_1\text{-Pg} > 1$ в комбинациях с $IgG_2\text{-E2} \leq 4$ + $IgG_2\text{-Pg} \leq 2$ обнаруживали чаще у здоровых (27,7% и 28,8%), чем у больных (19,7%, $p = 0,06$, и 17,9%, $p = 0,008$). Превышение уровней $IgA_1\text{-Bp}$ и $IgA_1\text{-E2}$ над уровнем $IgA_1\text{-Pg}$ в сочетании с высокими уровнями $IgG_2\text{-E2}$ и $IgG_2\text{-Pg}$ ассоциировано с ER^+/PR^+ РМЖ I стадии и может служить показанием для превентивного лечения РМЖ селективными модуляторами ER.

Ключевые слова: идиотипические антитела, антиидиотипические антитела, бензо[а]пирен, эстрадиол, прогестерон, рак

COOPERATION OF IDIOTYPIC AND ANTI-IDIOTYPIC ANTIBODIES AT THE STEROID-DEPENDENT CHEMICAL CARCINOGENESIS

Polenok E.G.^a, Gordeeva L.A.^a, Mun S.A.^a, Kostyanko M.V.^b,
Antonov A.V.^c, Verzhbitskaya N.E.^c, Bairamov P.V.^c, Kolpinskiy G.I.^{d,e},
Vafin I.A.^f, Glushkov A.N.^a

^a Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal chemistry, Kemerovo, Russian Federation

^b Institute of Fundamental Sciences, Kemerovo State University, Kemerovo, Russian Federation

^c Kuzbass M. Rappoport Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

^d Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation

^e Kemerovo Clinical Diagnostic Center, Kemerovo, Russian Federation

^f Kuzbass Center of Blood, Kemerovo, Russian Federation

Abstract. Immunological research of steroid-dependent chemical carcinogenesis in humans is based on positive experience in the clinical usage of selective estrogen receptor modulators and experimental design of immunological methods for human protection from environmental carcinogens. Our study aimed for research of idiotypic antibodies against benzo[a]pyrene, estradiol and progesterone ($IgA_1\text{-Bp}$, $IgA_1\text{-E2}$ and $IgA_1\text{-Pg}$), in connection with anti-idiotypic antibodies specific to estradiol and progesterone ($IgG_2\text{-E2}$ and $IgG_2\text{-Pg}$) in serum samples of postmenopausal healthy women (HW) and ER^+/PR^+ stage I breast cancer patients (BCP). Idiotypic antibodies were studied in 402 HW and 475 BCP using ELISA technique, with BP, E2 and Pg conjugated with bovine serum albumin as adsorbed antigens. The anti-idiotypic antibodies were studied using ELISA method and monoclonal antibodies against E2 and Pg as adsorbed antigens. High individual ratios of $IgA_1\text{-Bp}/IgA_1\text{-Pg} > 1$ and $IgA_1\text{-E2}/IgA_1\text{-Pg} > 1$ were revealed in 42.1% and 48.5% HW, and in 71.1% and 78.1% of BCP cases ($p < 0.0001$, $OR = 5.9$ and $OR = 3.8$, respectively). High $IgG_2\text{-E2} > 4$ levels were found in 23.4% HW and in 41.2% of BCP group ($p = 0.0001$, $OR = 2.3$). Combination of $IgA_1\text{-Bp}/IgA_1\text{-Pg} \leq 1$ with $IgG_2\text{-E2} \leq 4$ and $IgG_2\text{-Pg} > 2$ was more common in HW, than in BCP (29.3% vs 5.8%, $p < 0.0001$, $OR = 0.1$). Combinations of $IgA_1\text{-Bp}/IgA_1\text{-Pg} > 1$ with $IgG_2\text{-E2} > 4$ or with $IgG_2\text{-Pg} > 2$ were more frequent in BCP, than in HW (12.0% and 31.8% vs 4.9% and 15.2%, accordingly, $p = 0.01$, $OR = 2.7$ and $p = 0.001$, $OR = 2.6$), as well as combination of $IgA_1\text{-Bp}/IgA_1\text{-Pg} > 1$ with $IgG_2\text{-E2} > 4$ and $IgG_2\text{-Pg} > 2$ (23.4% vs 9.8%, $p = 0.0003$, $OR = 2.8$). Similar specific features were found in HW and BCP when studying $IgA_1\text{-E2}/IgA_1\text{-Pg}$ ratio with $IgG_2\text{-E2}$ and $IgG_2\text{-Pg}$. Nevertheless, high $IgA_1\text{-Bp}/IgA_1\text{-Pg} > 1$ or $IgA_1\text{-E2}/IgA_1\text{-Pg} > 1$ combined with low $IgG_2\text{-E2} \leq 4$ + $IgG_2\text{-Pg} \leq 2$ were revealed in HW (27.7% and 28.8%) more frequently, than in BCP (19.7%, $p = 0.06$ and 17.9%, $p = 0.008$). Excess of $IgA_1\text{-Bp}$ and $IgA_1\text{-E2}$ levels over $IgA_1\text{-Pg}$ in combination with high $IgG_2\text{-E2}$ and $IgG_2\text{-Pg}$ levels in HW is associated with ER^+/PR^+ BC stage I condition and may serve as a marker for preventive BC therapy by the targeted ER modulators.

Keywords: idiotypic antibodies, antiidiotypic antibodies, benzo[a]pyrene, estradiol, progesterone, cancer

Работа выполнена в рамках проекта VI.59.1.1 Программы фундаментальных научных исследований СО РАН (гос. задание № 0286-2022-0008).

Введение

Современная экспериментально обоснованная концепция химического канцерогенеза выделяет в процессе возникновения и развития опухоли три отдельных последовательных стадии: инициацию, промоцию и прогрессию [29]. Основными событиями названных стадий являются соответственно: образование ДНК-аддуктов с генотоксическими метаболитами химических канцерогенов; эпигеномная стимуляция митозов клеток-мишеней; увеличение количества мутаций в онкогенах и антионкогенах, инвазивный рост и метастазирование опухоли. Очевидно, что в естественных условиях у человека воздействие инициаторов и промоторов канцерогенеза происходит одновременно на протяжении длительного периода и продолжается в стадии прогрессии. Исследованию механизмов химического канцерогенеза на клеточном и межклеточном уровнях посвящены многочисленные работы.

В частности, ДНК-аддукты с наиболее распространенными канцерогенами, полициклическими ароматическими углеводородами (в основном, с бензо[а]пиреном, Вр), обнаружены в нормальных и опухолевых клетках у здоровых людей и больных раком молочной железы (РМЖ) [9, 37, 39], раком легкого [13, 22, 33], раком желудка и толстой кишки [6, 8, 25], раком предстательной железы [36, 38, 43]. Доказана роль генотоксических метаболитов эстрогенов в образовании ДНК-аддуктов и возникновении раков молочной железы и яичников, а также предстательной железы [12, 45, 46].

Наиболее изученными промоторами Вр-индуцированного канцерогенеза являются эстрогены [16, 27]. В частности, эстрадиол (Е2) повышал образование Вр-ДНК аддуктов в клетках РМЖ, экспрессирующих эстрогеновые рецепторы (ER) [26]. В свою очередь, некоторые метаболиты Вр проявляли эстрогеновую или антиэстрогеновую активность, связываясь с ER в клетках-мишенях [15, 24]. Напротив, прогестерон (Pg) угнетал эстроген-индуцированный рост ER⁺ эксплантов РМЖ и повышал антипролиферативные эффекты ER-антагонистов [30].

Поскольку ER экспрессируется во всех эпителиальных тканях организма, можно предположить, что Е2 способен принимать участие в инициации карциноматоза наряду с Вр, хотя совместное образование ДНК-аддуктов Вр и Е2 до сих пор не исследовалось. В любом случае, влияние стероидных гормонов на пролиферацию Вр-индуцированных ER⁺/PR⁺ клеток-мишеней не

вызывает сомнений. Поэтому исследование эндогенных факторов, регулирующих содержание стероидных гормонов в сыворотке крови и/или способных непосредственно связываться со стероидными рецепторами, представляет интерес для более полного понимания механизмов химического канцерогенеза.

Ранее обнаружили, что одновременное превышение уровней антител против Вр и Е2 над уровнями антител против Pg ($IgA_1\text{-Вр}/IgA_1\text{-Pg} > 1$ и $IgA_1\text{-Е2}/IgA_1\text{-Pg} > 1$) у здоровых женщин было ассоциировано с высоким риском РМЖ и сдвигом индивидуального соотношения Е2/Pg в сыворотке крови в сторону Е2 (иммуно-гормональный дисбаланс) [4]. Высокие значения Е2/Pg, ассоциированные с высоким риском РМЖ, оказались взаимосвязанными с высокими значениями индивидуальных соотношений антиидиотипических антител к Е2 и Pg ($IgG_2\text{-Е2}/IgG_2\text{-Pg} > 1$) [5]. Однако при этом не принимали в расчет стадии заболевания и статуса стероидных рецепторов в опухолевой ткани, а идиотипические и антиидиотипические антитела были исследованы по-отдельности. Между тем, изучение иммунологических механизмов стероид-зависимого химического канцерогенеза у человека на стадии инициации/промоции было бы корректнее выполнять путем сравнения контрольной группы здоровых людей с больными раком I стадии с ER⁺/PR⁺ опухолями, учитывая совместное участие указанных антител в возникновении опухолей. Наиболее перспективным объектом такого исследования представляется РМЖ со значительным массивом накопленных знаний о его этиопатогенезе и опыте гормоно-терапии, в том числе превентивной [31, 41].

Цель исследования – выявить особенности содержания идиотипических антител против бензо[а]пирена, эстрадиола и прогестерона ($IgA_1\text{-Вр}$, $IgA_1\text{-Е2}$ и $IgA_1\text{-Pg}$) в кооперации с антиидиотипическими антителами, специфичными к эстрадиолу и прогестерону ($IgG_2\text{-Е2}$ и $IgG_2\text{-Pg}$) у больных ER⁺/PR⁺ раком молочной железы I стадии в сравнении со здоровыми женщинами.

Материалы и методы

В настоящей работе были исследованы сыворотки крови 879 женщин в постменопаузе. В исследуемую группу были включены 475 женщин с первично установленным диагнозом «инвазивная карцинома молочной железы» I стадии с рецептор-положительным статусом опухоли (ER⁺/PR⁺), все женщины поступили на лечение в Кузбасский клинический онкологический диспансер г. Кемерово. Данные о наличии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в опухоли (ER⁺/-, PR⁺/-) у больных РМЖ были взяты из

журналов патологоанатомического отделения. Медиана возраста всех женщин с РМЖ составила 65 лет (интерквартильный размах 59-70). В группе сравнения вошли 402 условно здоровых женщин в постменопаузе без патологии молочной железы. Медиана возраста в этой группе составила 57 лет (интерквартильный размах 53-61).

У всех обследуемых женщин забиралась венозная кровь согласно этическим стандартам в соответствии с Хельсинкской декларацией (редакция 2013 г.) и в соответствии с «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 г. Все женщины предоставили информированное письменное согласие на участие в данном исследовании.

Идиотипические антитела класса А против Вр, Е2 и Рг (IgA₁-Вр, IgA₁-Е2 и IgA₁-Рг) определяли с помощью неконкурентного иммуноферментного анализа по описанной в работе [5] методике, где в качестве антигенов использовали конъюгаты Вр, Е2 и Рг с белком-носителем (бычьим сывороточным альбумином). Уровни антител к исследуемым гаптенам выражали в условных единицах [5]. Для каждого обследуемого были рассчитаны индивидуальные соотношения уровней антител IgA₁-Вр/IgA₁-Рг и IgA₁-Е2/IgA₁-Рг.

Антиидиотипические антитела против Е2 и Рг (IgG₂-Е2, IgG₂-Рг) определяли на коммерческих наборах «ИммуноФА-Эстрадиол» и «ИммуноФА-ПГ» («Иммунотех», Москва) с иммобилизованными на пластике моноклональными антителами против Е2 в Рг в качестве антигенов согласно методике [5]. Уровни антиидиотипических антител также выражали в условных единицах [5].

Концентрацию стероидных гормонов (Е2, Рг) определяли с помощью коммерческих наборов «ИммуноФА-Эстрадиол», «ИммуноФА-ПГ» («Иммунотех», Москва) согласно инструкции по применению.

Для обработки полученных данных использовали Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США). С помощью W-критерия Шапиро–Уилка определили ненормальный характер распределения качественных признаков и затем для выявления различий между исследуемыми группами использовали U-критерий Манна–Уитни для независимых выборок и непараметрический критерий χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность вариации. Критический уровень значимости принимался $p < 0,05$. Средние значения соотношения гормонов Е2/Рг представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$). Значения оптимальных порогов отсечения (cut-off value) уровней антител и индивидуальных соотношений антител были рассчитаны с помощью ROC-анализа [21]. Ассоциации анти-

тел с риском возникновения РМЖ оценивали с помощью показателя отношения шансов (OR) с доверительным интервалом (CI) при 95% уровне значимости.

Результаты

Результаты исследования идиотипических антител IgA₁-Вр, IgA₁-Е2 и IgA₁-Рг в сыворотке крови здоровых женщин и больных ER⁺/PR⁺ РМЖ I стадии представлены в таблице 1. Повышение уровней IgA₁-Вр и IgA₁-Е2 над уровнем IgA₁-Рг (позиции 1.1 и 1.2) у больных РМЖ встречались чаще, чем у здоровых женщин (71,1% и 78,1% против 42,1% и 48,5% соответственно, $p < 0,0001$). Эти особенности имели место только при одновременно высоких значениях индивидуальных соотношений IgA₁-Вр/IgA₁-Рг $> 1+$ IgA₁-Е2/IgA₁-Рг > 1 (позиция 2.4), у больных РМЖ 70,3%, у здоровых 31,1% ($p < 0,0001$, OR = 5,2). Другие комбинации указанных соотношений у больных РМЖ встречались реже, чем у здоровых (позиции 2.1 и 2.2; $p < 0,0001$, OR = 0,2-0,4) или с одинаковой частотой (позиция 2.3; OR = 1).

Индивидуальные значения соотношений идиотипических антител оказались взаимосвязанными. У здоровых женщин с IgA₁-Вр/IgA₁-Рг ≤ 1 низкие значения IgA₁-Е2/IgA₁-Рг ≤ 1 обнаруживали в 70%, а высокие IgA₁-Е2/IgA₁-Рг > 1 в 30%, в то время как у женщин с IgA₁-Вр/IgA₁-Рг > 1 низкие и высокие значения IgA₁-Е2/IgA₁-Рг соответственно в 25,9% и 74,1% ($p < 0,0001$). Аналогичные взаимосвязи обнаружены и у больных ER⁺/PR⁺ РМЖ I стадии ($p < 0,0001$, данные не приведены).

Из всего пула выше исследованных сывороток крови здоровых женщин и больных РМЖ случайным образом выбрали 458 образцов, в которых определили содержание антиидиотипических антител IgG₂-Е2 и IgG₂-Рг. Рассчитали пограничные значения уровней указанных антител (cut-off), по которым сравниваемые группы имели наибольшие различия. В таблице 2 приведены количества (n) и удельные веса (%) низких и высоких уровней IgG₂-Е2 и IgG₂-Рг в этих группах.

Оказалось, что низкие уровни IgG₂-Е2 ≤ 4 у здоровых женщин встречались чаще, чем у больных РМЖ (позиция 1.1; 76,6% против 58,8%), а высокие уровни IgG₂-Е2 > 4 соответственно реже (23,4% и 41,2%, $p = 0,0001$). Не обнаружили различия в удельных весах низких и высоких уровней IgG₂-Рг между сравниваемыми группами (позиция 1.2; $p = 0,49$).

Индивидуальные сочетания низких уровней IgG₂-Е2 и IgG₂-Рг (позиция 2.1) у здоровых женщин обнаруживали чаще, чем у больных РМЖ (32,1% против 21,2%, $p = 0,01$). Высокие уровни IgG₂-Е2 в комбинации с низкими или высокими

ТАБЛИЦА 1. ЧИСЛО (n) И ЧАСТОТА (%) ОБНАРУЖЕНИЯ НИЗКИХ (\leq) И ВЫСОКИХ ($>$) ЗНАЧЕНИЙ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ СООТНОШЕНИЙ ИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ IgA₁-Bp, IgA₁-E2 И IgA₁-Pg И ИХ КОМБИНАЦИЙ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ ER⁺/PR⁺ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ I СТАДИИ

TABLE 1. CASES NUMBERS (n) AND FREQUENCIES (%) OF THE LOW (\leq) AND HIGH ($>$) PERSONAL RATIOS OF IDIOTYPIC ANTIBODIES IgA₁-Bp, IgA₁-E2 AND IgA₁-Pg AND THEIR COMBINATIONS IN THE BLOOD SERUM OF HEALTHY WOMEN AND ER⁺/PR⁺ BREAST CANCER PATIENTS I STAGE

Соотношения антител и их комбинации Idiotypic antibodies ratios and their combinations	Здоровые женщины Healthy women n = 402	Больные РМЖ I стадии Breast cancer patients I stage ER ⁺ /PR ⁺ n = 475	χ^2 (p-value)	OR (95% CI)
	n/%	n/%		
1.1. IgA ₁ -Bp/IgA ₁ -Pg \leq 1 > 1	233/57,9 169/42,1	90/18,9 385/71,1	140,7 ($<$ 0,0001)	0,2 (0,1-0,2) 5,9 (4,4-8,0)
1.2. IgA ₁ -E2/IgA ₁ -Pg \leq 1 > 1	207/51,5 195/48,5	104/21,9 371/78,1	82,1 ($<$ 0,0001)	0,3 (0,2-0,4) 3,8 (2,8-5,1)
2.1. IgA ₁ -Bp/IgA ₁ -Pg \leq 1 + IgA ₁ -E2/IgA ₁ -Pg \leq 1	163/40,5	53/11,2	99,7 ($<$ 0,0001)	0,2 (0,1-0,3)
2.2. IgA ₁ -Bp/IgA ₁ -Pg \leq 1 + IgA ₁ -E2/IgA ₁ -Pg $>$ 1	70/17,4	37/7,8	17,9 ($<$ 0,0001)	0,4 (0,3-0,6)
2.3. IgA ₁ -Bp/IgA ₁ -Pg $>$ 1 + IgA ₁ -E2/IgA ₁ -Pg \leq 1	44/10,9	51/10,7	0,0 (0,99)	
2.4. IgA ₁ -Bp/IgA ₁ -Pg $>$ 1 + IgA ₁ -E2/IgA ₁ -Pg $>$ 1	125/31,1	334/70,3	132,7 ($<$ 0,0001)	5,2 (3,9-7,0)

ми уровнями IgG₂-Pg (позиции 2.2 и 2.4) встречались чаще у больных РМЖ (12,8% и 28,5%), чем у здоровых (5,4% и 17,9% соответственно, $p = 0,02$ и $p = 0,01$). По удельному весу комбинации IgG₂-E2 \leq 4 + IgG₂-Pg $>$ 2 (позиции 2.3) различия между группами были статистически не достоверными.

Обнаружили слабую взаимосвязь между уровнями указанных антиидиотипических антител у здоровых женщин. При низких значениях IgG₂-E2 \leq 4 низкие уровни IgG₂-Pg имели место в 41,8%, а высокие в 58,2%. В то время как при высоких значениях IgG₂-E2 $>$ 4 эти показатели составили 23,3% и 76,7% соответственно ($p = 0,04$). У больных РМЖ таких взаимосвязей не выявлено.

Между индивидуальными соотношениями идиотипических антител IgA₁-Bp/IgA₁-Pg и IgA₁-E2/IgA₁-Pg с одной стороны и уровнями антиидиотипических антител IgG₂-Pg, с другой стороны, обнаружили сильные взаимосвязи. У здоровых женщин с IgA₁-Bp/IgA₁-Pg \leq 1 высокие уровни IgG₂-Pg $>$ 2 встречались чаще, чем у женщин с IgA₁-Bp/IgA₁-Pg $>$ 1 (88,5% против

43,4%, $p < 0,0001$). Аналогичное сравнение здоровых женщин с низкими и высокими значениями IgA₁-E2/IgA₁-Pg показало схожие результаты (91,4% против 44,7%, $p < 0,0001$). Взаимосвязей IgG₂-E2 с IgA₁-Bp/IgA₁-Pg и IgA₁-E2/IgA₁-Pg не выявлено. У больных ER⁺/PR⁺ РМЖ I стадии такие взаимосвязи идиотипических и антиидиотипических антител отсутствовали.

Далее исследовали возможные индивидуальные комбинации низких и высоких значений соотношений идиотипических антител с низкими и высокими уровнями антиидиотипических антител в сравниваемых группах. По результатам, представленным в таблице 3 видно, что низкие значения IgA₁-Bp/IgA₁-Pg \leq 1 в комбинации с IgG₂-E2 \leq 4 и IgG₂-Pg $>$ 2 (позиция 1.3) у здоровых женщин встречались чаще, чем у больных РМЖ (29,3% против 5,8%, $p < 0,0001$). Во всех остальных случаях с IgA₁-Bp/IgA₁-Pg \leq 1 (позиции 1.1, 1.2, 1.4) различий между группами не было ($p > 0,05$). Также не обнаружили статистически достоверной разницы между здоровыми и больными женщинами с высоким соотношением IgA₁-Bp/IgA₁-Pg $>$ 1 в комбинации с одновремен-

ТАБЛИЦА 2. ЧИСЛО (n) И ЧАСТОТА (%) ОБНАРУЖЕНИЯ НИЗКИХ (\leq) И ВЫСОКИХ ($>$) УРОВНЕЙ АНТИИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ IgG₂-E2 И IgG₂-Pg И ИХ КОМБИНАЦИЙ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ ER⁺/PR⁺ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ I СТАДИИ

TABLE 2. CASES NUMBERS (n) AND FREQUENCIES (%) OF THE LOW (\leq) AND HIGH ($>$) LEVELS OF ANTIIDIOTYPIC ANTIBODIES IgG₂-E2 AND IgG₂-Pg AND THEIR COMBINATIONS IN THE BLOOD SERUM OF HEALTHY WOMEN AND ER⁺/PR⁺ BREAST CANCER PATIENTS I STAGE

Антиидиотипические антитела и их комбинации Antiidiotypic antibodies and their combinations	Здоровые женщины Healthy women n = 184	Больные РМЖ I стадии Breast cancer patients I stage ER ⁺ /PR ⁺ n = 274	χ^2 (p-value)	OR (95% CI)
	n/%	n/%		
1.1. IgG ₂ -E2 \leq 4 > 4	141/76,6 43/23,4	161/58,8 113/41,2	14,9 (0,0001)	0,4 (0,3-0,7) 2,3 (1,5-3,5)
1.2. IgG ₂ -Pg \leq 2 > 2	69/37,5 115/62,5	93/33,9 181/66,1	0,5 (0,49)	0,9 (0,6-1,3) 1,2 (0,8-1,7)
2.1. IgG ₂ -E2 \leq 4 + IgG ₂ -Pg \leq 2	59/32,1	58/21,2	6,3 (0,01)	0,6 (0,4-0,9)
2.2. IgG ₂ -E2 > 4 + IgG ₂ -Pg \leq 2	10/5,4	35/12,8	5,9 (0,02)	2,5 (1,2-5,3)
2.3. IgG ₂ -E2 \leq 4 + IgG ₂ -Pg > 2	82/44,6	103/37,6	1,9 (0,16)	
2.4. IgG ₂ -E2 > 4 + IgG ₂ -Pg > 2	33/17,9	78/28,5	6,1 (0,01)	1,8 (1,2-2,9)

но низкими уровнями IgG₂-E2 \leq 4 и IgG₂-Pg \leq 2 (позиция 2.1; p = 0,06). Напротив, высокие значения IgA₁-Bp/IgA₁-Pg > 1 в комбинации с высокими уровнями IgG₂-E2 или/и IgG₂-Pg (позиции 2.2, 2.3, 2.4) у больных ER⁺/PR⁺ РМЖ I стадии встречались чаще, чем у здоровых (12,0%, 31,8% и 23,4% против 4,9%, 15,2% и 9,8% соответственно, с уровнями статистической значимости p < 0,01).

Аналогичные результаты получены при анализе комбинаций IgA₁-E2/IgA₁-Pg с различными уровнями IgG₂-E2 и IgG₂-Pg (табл. 4). Низкие значения IgA₁-E2/IgA₁-Pg \leq 1 в комбинации с IgG₂-E2 \leq 4 + IgG₂-Pg > 2 (позиция 1.3) у здоровых женщин обнаруживали чаще, чем у больных (26,6% против 7,3%, p < 0,0001). Во всех остальных случаях с IgA₁-E2/IgA₁-Pg \leq 1 (позиции 1.1, 1.2, 1.4) различия между сравниваемыми группами отсутствовали. Высокие значения IgA₁-E2/IgA₁-Pg > 1 в комбинации с низкими уровнями IgG₂-E2 \leq 4 и IgG₂-Pg \leq 2 (позиция 2.1) у здоровых женщин встречались чаще, чем у больных (28,8% против 17,9%, p < 0,008). Напротив, все остальные сочетания низких и высоких уровней анти-

идиотипических антител в комбинации с высоким значением IgA₁-E2/IgA₁-Pg > 1 (позиции 2.2, 2.3 и 2.4) обнаруживали чаще у больных РМЖ (p < 0,05).

По результатам, предоставленным в таблицах 3 и 4, видно, что высокие риски возникновения ER⁺/PR⁺ РМЖ I стадии у здоровых женщин (OR > 2,0) ассоциированы с высокими значениями соотношений IgA₁-Bp/IgA₁-Pg > 1 или IgA₁-E2/IgA₁-Pg > 1 в комбинации с высоким уровнем IgG₂-E2 > 4 и/или IgG₂-Pg > 2. Соответствует ли повышение риска нарушениям баланса между содержанием в сыворотке крови E2 и Pg, как было показано ранее [4, 5]. Для ответа на этот вопрос измерили концентрации E2 и Pg в образцах с известными уровнями исследованных идиотипических и антиидиотипических антител и рассчитали индивидуальные соотношения E2/Pg. Предварительный анализ показал, что медианы E2/Pg у здоровых женщин с IgA₁-Bp/IgA₁-Pg > 1 и с IgA₁-E2/IgA₁-Pg > 1 значительно выше, чем у женщин с низкими значениями этих соотношений: 0,27 (0,11-0,37) и 0,28 (0,12-0,38) против

ТАБЛИЦА 3. ЧИСЛО (n) И ЧАСТОТА (%) ОБНАРУЖЕНИЯ КОМБИНАЦИЙ НИЗКИХ (\leq) И ВЫСОКИХ ($>$) ИНДИВИДУАЛЬНЫХ СООТНОШЕНИЙ ИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ IgA₁-Bp/IgA₁-Pg С НИЗКИМИ (\leq) И ВЫСОКИМИ ($>$) УРОВНЯМИ ИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ IgG₂-E2 И IgG₂-Pg У ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ ER⁺/PR⁺ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ I СТАДИИ

TABLE 3. CASES NUMBERS (n) AND FREQUENCIES (%) OF COMBINATIONS OF THE LOW (\leq) AND HIGH ($>$) INDIVIDUAL IDIOTYPIC ANTIBODIES RATIOS IgA₁-Bp/IgA₁-Pg WITH LOW (\leq) AND HIGH ($>$) ANTIIDIOTYPIC ANTIBODIES LEVELS IgG₂-E2 AND IgG₂-Pg IN HEALTHY WOMEN AND ER⁺/PR⁺ BREAST CANCER PATIENTS I STAGE

Комбинации соотношений идиотипических антител с антиидиотипическими антителами Combinations of idiotypic antibodies ratios with antiidiotypic antibodies	Здоровые женщины Healthy women n = 184	Больные РМЖ I стадии Breast cancer patients I stage ER ⁺ /PR ⁺ n = 274	χ^2 (p-value)	OR (95% CI)
	n/%	n/%		
1.1. IgA ₁ -Bp/IgA ₁ -Pg \leq 1 + IgG ₂ -E2 \leq 4 + IgG ₂ -Pg \leq 2	8/4,3	4/1,5	2,6 (0,11)	
1.2. IgA ₁ -Bp/IgA ₁ -Pg \leq 1 + IgG ₂ -E2 $>$ 4 + IgG ₂ -Pg \leq 2	1/0,5	2/0,7	0,1 (0,73)	
1.3. IgA ₁ -Bp/IgA ₁ -Pg \leq 1 + IgG ₂ -E2 \leq 4 + IgG ₂ -Pg $>$ 2	54/29,3	16/5,8	45,2 ($<$ 0,0001)	0,1 (0,1-0,3)
1.4. IgA ₁ -Bp/IgA ₁ -Pg \leq 1 + IgG ₂ -E2 $>$ 4 + IgG ₂ -Pg $>$ 2	15/8,2	14/5,1	1,2 (0,26)	
2.1. IgA ₁ -Bp/IgA ₁ -Pg $>$ 1 + IgG ₂ -E2 \leq 4 + IgG ₂ -Pg \leq 2	51/27,7	54/19,7	3,6 (0,06)	
2.2. IgA ₁ -Bp/IgA ₁ -Pg $>$ 1 + IgG ₂ -E2 $>$ 4 + IgG ₂ -Pg \leq 2	9/4,9	33/12,0	5,9 (0,01)	2,7 (1,2-5,7)
2.3. IgA ₁ -Bp/IgA ₁ -Pg $>$ 1 + IgG ₂ -E2 \leq 4 + IgG ₂ -Pg $>$ 2	28/15,2	87/31,8	15,1 (0,0001)	2,6 (1,6-4,2)
2.4. IgA ₁ -Bp/IgA ₁ -Pg $>$ 1 + IgG ₂ -E2 $>$ 4 + IgG ₂ -Pg $>$ 2	18/9,8	64/23,4	12,9 (0,0003)	2,8 (1,6-4,9)

0,10 (0,07-0,27) и 0,08 (0,06-0,18) соответственно ($p = 0,005$ и $p < 0,0001$). Медианы E2/Pg у здоровых женщин с низкими и высокими уровнями IgG₂-E2 не различались (0,25 и 0,29), а при высоких уровнях IgG₂-Pg $>$ 2 были ниже, чем при низких IgG₂-Pg \leq 2: 0,14 (0,08-0,31) против 0,31

(0,15-0,45), $p = 0,002$. У больных ER⁺/PR⁺ РМЖ I стадии медиана E2/Pg составила 0,27 (0,14-0,50).

Результаты сопоставления E2/Pg с рассчитанными выше значениями OR для высоких соотношений идиотипических антител в сочетании с разными уровнями антиидиотипических антител у здоровых женщин представлены в та-

ТАБЛИЦА 4. ЧИСЛО (n) И ЧАСТОТА (%) ОБНАРУЖЕНИЯ КОМБИНАЦИЙ НИЗКИХ (\leq) И ВЫСОКИХ ($>$) ИНДИВИДУАЛЬНЫХ СООТНОШЕНИЙ ИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ IgA₁-E2/IgA₁-Pg С НИЗКИМИ (\leq) И ВЫСОКИМИ ($>$) УРОВНЯМИ ИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ IgG₂-E2 И IgG₂-Pg У ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ ER⁺/PR⁺ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ I СТАДИИ

TABLE 4. CASES NUMBERS (n) AND FREQUENCIES (%) OF COMBINATIONS OF THE LOW (\leq) AND HIGH ($>$) INDIVIDUAL IDIOTYPIC ANTIBODIES RATIOS IgA₁-E2/IgA₁-Pg WITH LOW (\leq) AND HIGH ($>$) ANTIIDOTYPIC ANTIBODIES LEVELS IgG₂-E2 AND IgG₂-Pg IN HEALTHY WOMEN AND ER⁺/PR⁺ BREAST CANCER PATIENTS I STAGE

Комбинации соотношений идиотипических антител с антиидиотипическими антителами Combinations of idiotypic antibodies ratios with antiidiotypic antibodies	Здоровые женщины Healthy women n = 184	Больные РМЖ I стадии Breast cancer patients I stage ER ⁺ /PR ⁺ n = 274	χ^2 (p-value)	OR (95% CI)
	n/%	n/%		
1.1. IgA ₁ -E2/IgA ₁ -Pg \leq 1 + IgG ₂ -E2 \leq 4 + IgG ₂ -Pg \leq 2	6/3,3	9/3,3	0,1 (0,80)	
1.2. IgA ₁ -E2/IgA ₁ -Pg \leq 1 + IgG ₂ -E2 $>$ 4 + IgG ₂ -Pg \leq 2	0/0	3/1,1	0,7 (0,40)	
1.3. IgA ₁ -E2/IgA ₁ -Pg \leq 1 + IgG ₂ -E2 \leq 4 + IgG ₂ -Pg $>$ 2	49/26,6	20/7,3	30,7 ($<$ 0,0001)	0,2 (0,1-0,4)
1.4. IgA ₁ -E2/IgA ₁ -Pg \leq 1 + IgG ₂ -E2 $>$ 4 + IgG ₂ -Pg $>$ 2	15/8,2	22/8,0	0,02 (0,89)	
2.1. IgA ₁ -E2/IgA ₁ -Pg $>$ 1 + IgG ₂ -E2 \leq 4 + IgG ₂ -Pg \leq 2	53/28,8	49/17,9	6,9 (0,008)	0,5 (0,3-0,8)
2.2. IgA ₁ -E2/IgA ₁ -Pg $>$ 1 + IgG ₂ -E2 $>$ 4 + IgG ₂ -Pg \leq 2	10/5,4	32/11,7	4,4 (0,03)	2,3 (1,1-4,8)
2.3. IgA ₁ -E2/IgA ₁ -Pg $>$ 1 + IgG ₂ -E2 \leq 4 + IgG ₂ -Pg $>$ 2	33/17,9	83/30,3	8,2 (0,04)	2,0 (1,3-3,1)
2.4. IgA ₁ -E2/IgA ₁ -Pg $>$ 1 + IgG ₂ -E2 $>$ 4 + IgG ₂ -Pg $>$ 2	18/9,8	56/20,4	8,5 (0,04)	2,4 (1,3-4,2)

таблице 5. Оказалось, что при IgA₁-E2/IgA₁-Pg $>$ 1 и с IgA₁-E2/IgA₁-Pg $>$ 1 с низкими уровнями IgG₂-E2 \leq 4 и IgG₂-Pg \leq 2 (позиции 1.1 и 2.1), ассоциированных с низкими значениями OR (0,6 и 0,5 соответственно), показатели E2/Pg были характерны для больных РМЖ (Me = 0,31). При сочетании высоких значений указанных соотношений идиотипических антител и низкими

уровнями IgG₂-E2 \leq 4 и высокими уровнями IgG₂-Pg $>$ 2 (позиции 1.3 и 2.3) риск РМЖ высокий (OR = 2,6 и 2,3 соответственно), а показатели E2/Pg значительно ниже: Me = 0,10 (0,06-0,16) и Me = 0,14 (0,09-0,29). В остальных случаях (позиции 1.2, 1.4 и 2.2, 2.4) высокие значения OR (2,0-2,8) соответствуют высоким показателям E2/Pg (0,28-0,31).

ТАБЛИЦА 5. МЕДИАНЫ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ СООТНОШЕНИЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ЭСТРАДИОЛА И ПРОГЕСТЕРОНА (E2/Pg) В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И РИСКИ (OR) ER⁺/PR⁺ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН С ВЫСОКИМИ ИНДИВИДУАЛЬНЫМИ СООТНОШЕНИЯМИ IgA₁-Bp/IgA₁-Pg И IgA₁-E2/IgA₁-Pg В КОМБИНАЦИИ С НИЗКИМИ (≤) И ВЫСОКИМИ (>) УРОВНЯМИ АНТИИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ IgG₂-E2 И IgG₂-Pg

TABLE 5. MEDIANS OF INDIVIDUAL SERUM ESTRADIOL AND PROGESTERONE CONCENTRATION RATIOS (E2/Pg) AND ER⁺/PR⁺ BREAST CANCER RISK (OR) IN HEALTHY WOMEN WITH HIGH INDIVIDUAL IDIOTYPIC ANTIBODIES RATIOS IgA₁-Bp/IgA₁-Pg AND IgA₁-E2/IgA₁-Pg IN COMBINATION WITH LOW (≤) AND HIGH (>) ANTIIDYOTYPIC ANTIBODIES LEVELS IgG₂-E2 AND IgG₂-Pg

Комбинации соотношений идиотипических антител с антиидиотипическими антителами Combinations of idiotypic antibodies ratios with antiidiotypic antibodies	Здоровые женщины Healthy women	OR (95% CI)
	E2/Pg Me (Q _{0,25} -Q _{0,75})	
1.1. IgA ₁ -Bp/IgA ₁ -Pg > 1 + IgG ₂ -E2 ≤ 4 + IgG ₂ -Pg ≤ 2	0,31 (0,18-0,45)	0,6 (0,4-1,0)
1.2. IgA ₁ -Bp/IgA ₁ -Pg > 1 + IgG ₂ -E2 > 4 + IgG ₂ -Pg ≤ 2	0,31 (0,15-0,45)	2,7 (1,2-5,7)
1.3. IgA ₁ -Bp/IgA ₁ -Pg > 1 + IgG ₂ -E2 ≤ 4 + IgG ₂ -Pg > 2	0,10 (0,06-0,16)	2,6 (1,6-4,2)
1.4. IgA ₁ -Bp/IgA ₁ -Pg > 1 + IgG ₂ -E2 > 4 + IgG ₂ -Pg > 2	0,28 (0,17-0,53)	2,8 (1,6-4,9)
2.1. IgA ₁ -E2/IgA ₁ -Pg > 1 + IgG ₂ -E2 ≤ 4 + IgG ₂ -Pg ≤ 2	0,31 (0,21-0,43)	0,5 (0,3-0,8)
2.2. IgA ₁ -E2/IgA ₁ -Pg > 1 + IgG ₂ -E2 > 4 + IgG ₂ -Pg ≤ 2	0,31 (0,15-0,54)	2,3 (1,1-4,8)
2.3. IgA ₁ -E2/IgA ₁ -Pg > 1 + IgG ₂ -E2 ≤ 4 + IgG ₂ -Pg > 2	0,14 (0,09-0,29)	2,0 (1,3-3,1)
2.4. IgA ₁ -E2/IgA ₁ -Pg > 1 + IgG ₂ -E2 > 4 + IgG ₂ -Pg > 2	0,31 (0,25-0,53)	2,4 (1,3-4,2)

Обсуждение

Любая нормальная клетка, экспрессирующая стероидные рецепторы, может трансформироваться в злокачественную под действием генотоксических метаболитов в процессе инициации/

промоции при участии эндогенных и экзогенных стероидов. К последним относятся фитоэстрогены [7, 32] и гормоно-замещающие фармакологические средства [17, 19, 47], роль которых в канцерогенезе остается не вполне определенной ввиду противоречивости результатов онкоэпи-

демиологических исследований. Поэтому изучение факторов, влияющих на взаимодействие стероидных рецепторов с соответствующими лигандами, представляется перспективным, особенно в связи с опытом успешного применения селективных модуляторов эстрогеновых рецепторов (SERM) в профилактике РМЖ [31, 41]. Такие факторы могут служить дополнительными лабораторными предикторами риска возникновения гормоно-зависимых опухолей наряду, например, с секс-гормон связывающим глобулином [18]. Теоретически их можно рассматривать как потенциальные мишени целенаправленного антиканцерогенного воздействия в дополнение к известным средствам профилактики и лечения рака. Исследование иммунологических механизмов стероид-зависимого химического канцерогенеза у человека основан на экспериментально доказанных свойствах антител против химических канцерогенов модулировать их транспорт из окружающей среды и распределение по тканям организма [14, 23, 40]; антител против стероидных гормонов повышать их концентрацию в крови [10, 34, 35] и модулировать рост эстрогенчувствительных имплантированных опухолей у животных [11]; антиидиотипических антител, распознающих стероидные рецепторы, проявлять внегеномные эффекты на клетках-мишенях *in vitro* [42]. Кроме того, была показана эстрогенная активность натуральных аутоантител, специфичных к ER, на культивируемых ER⁺ клетках *in vitro* [44], в частности анти-ER антитела, выделенные из сыворотки крови больных РМЖ индуцировали пролиферацию ER⁺ клеток [28].

В настоящей работе приведен анализ идиотипических (первых) антител класса А против Вр, E2 и Pg в комплексе с антиидиотипическими (вторыми) антителами класса G, специфичным к E2 и Pg, в сыворотке крови здоровых женщин и больных ER⁺/PR⁺ РМЖ I стадии.

Обнаружили, что превалирование уровней IgA₁-Вр или IgA₁-E2 над уровнями IgA₁-Pg встречалось чаще у больных РМЖ (OR = 5,9 и OR = 3,8 соответственно). Высоким значениям индивидуальных соотношений IgA₁-Вр/IgA₁-Pg > 1 соответствовали высокие соотношения IgA₁-E2/IgA₁-Pg > 1 и наоборот (p < 0,0001). Повышение риска ER⁺/PR⁺ РМЖ (OR = 5,2) имело место только в случаях одновременного превалирования уровней IgA₁-Вр и IgA₁-E2 над уровнем IgA₁-Pg (такой иммунологический фенотип назван проканцерогенным). Очевидно, такой синергизм в ассоциации IgA₁-Вр и IgA₁-E2 с РМЖ при недостатке IgA₁-Pg отражает синергизм эффектов Вр и E2 в процессах инициации/промоции при ослабленном антипромотормом действии Pg. Это предположение частично подтверждается высоким значением индивидуальных соотношений гормонов E2/Pg, характерным для больных РМЖ в сыво-

ротке крови здоровых женщин с проканцерогенным иммунологическим фенотипом.

Высокие уровни IgG₂-E2 (но не IgG₂-Pg) встречались чаще у больных ER⁺/PR⁺ РМЖ I стадии, чем у здоровых (p < 0,0001). Однако соотношение гормонов E2/Pg в сыворотке крови здоровых женщин не зависело от уровней IgG₂-E2. В то же время при высоких уровнях IgG₂-Pg соотношении E2/Pg было значительно ниже характерного для больных РМЖ (p = 0,002). Низкое значение E2/Pg имело место только при сочетании высоких уровней IgG₂-Pg с низкими уровнями IgG₂-E2. Если уровни этих антиидиотипических антител были одновременно высокими, соотношение E2/Pg тоже было высоким. Полученный результат свидетельствует о взаимосвязанном участии IgG₂-E2 и IgG₂-Pg в регуляции гормонального баланса E2/Pg у здоровых женщин. У больных ER⁺/PR⁺ РМЖ I стадии соотношение гормонов E2/Pg было одинаково высоким при любой комбинации низких и высоких уровней IgG₂-E2 и IgG₂-Pg.

У здоровых женщин обнаружены взаимосвязи исследуемых идиотипических антител с IgG₂-Pg (но не с IgG₂-E2). Высокие уровни IgG₂-Pg чаще встречались при низких соотношениях IgA₁-Вр/IgA₁-Pg и IgA₁-E2/IgA₁-Pg, чем при высоких (p < 0,0001). Т. е. превышение уровней IgA₁-Pg над IgA₁-Вр или IgA₁-E2 было взаимосвязано с высокими уровнями IgG₂-Pg. У больных ER⁺/PR⁺ РМЖ I стадии такие ассоциации были статистически мало значимыми (p = 0,03).

Комбинации проканцерогенных соотношений идиотипических антител (IgA₁-E2/IgA₁-Pg > 1 и в меньшей степени IgA₁-Вр/IgA₁-Pg > 1) с протективным антиидиотипическим фенотипом (IgG₂-E2 ≤ 4 + IgG₂-Pg ≤ 2) были ассоциированы с низким риском ER⁺/PR⁺ РМЖ (OR = 0,6 и OR = 0,5). При этом средние значения соотношений гормонов E2/Pg оказались высокими, характерными для РМЖ (Me = 0,31). Это свидетельствует о том, что в отсутствии или малом количестве IgG₂-E2 и IgG₂-Pg вероятность возникновения ER⁺/PR⁺ РМЖ снижена, даже несмотря на выраженный гормональный дисбаланс в пользу E2.

Комбинации проканцерогенных соотношений идиотипических антител с высокими уровнями IgG₂-E2 и/или IgG₂-Pg были ассоциированы с высокими рисками ER⁺/PR⁺ РМЖ. Более того, при комбинациях IgA₁-Вр/IgA₁-Pg > 1 и IgA₁-E2/IgA₁-Pg > 1 с IgG₂-E2 ≤ 4 + IgG₂-Pg > 2 средние значения соотношения гормонов E2/Pg оказались значительно меньше характерных для РМЖ (Me = 0,10 и Me = 0,14 соответственно). Т. е. высокие уровни хотя бы одного из указанных антиидиотипических антител в комбинации с проканцерогенным идиотипическим иммунологическим фенотипом могут повышать риск возникновения ER⁺/PR⁺ РМЖ, даже несмотря на физиологическое соотношение гормонов ER/Pg.

В совокупности эти результаты подтверждают предположение о способности антиидиотипических антител IgG₂-E2 и IgG₂-Pg прямо воздействовать на клетки-мишени, экспрессирующие поверхностные рецепторы ER и PR, стимулируя их пролиферацию независимо от содержания в сыворотке E2 и Pg.

Превалирование уровней идиотипических антител IgA₁-Bp и IgA₁-E2 над уровнем IgA₁-Pg ассоциировано с высоким риском ER⁺/PR⁺ РМЖ только при высоких уровнях хотя бы одного из указанных антиидиотипических антител или их обоих.

Заключение

Настоящим исследованием расширены представления об особенностях взаимодействий в сети «стероидные гормоны, стероидные рецепторы, идиотипические антитела против химических канцерогенов и стероидных гормонов, антиидиотипические антитела к стероидным гормонам», характерных для РМЖ I стадии. Подтверждены ранее полученные результаты о синергизме идиотипических антител IgA₁-Bp и IgA₁-E2 при низких уровнях IgA₁-Pg в ассоциациях с РМЖ и гормональным дисбалансом E2/Pg у здоровых женщин. Обнаружено взаимное участие антиидиотипических антител IgG₂-E2 и IgG₂-Pg в регуляции гормонального баланса E2/Pg у здоровых женщин. Выявлена взаимосвязь исследуемых идиотипических антител с IgG₂-Pg у здоровых женщин. Получено косвенное подтверждение прямого участия антиидиотипических антител IgG₂-E2 и IgG₂-Pg в промоции канцерогенеза ER⁺/PR⁺ клеточек-мишеней, независимо от содержания стероидных гормонов в сыворотке крови.

Установлено, что превышение уровней IgA₁-Pg и IgG₂-Pg над уровнями IgA₁-Bp, IgA₁-E2 и IgG₂-E2 у здоровых женщин ассоциировано с низким риском возникновения ER⁺/PR⁺ РМЖ (протективные иммунологические фенотипы). Одновременно низкие уровни IgA₁-Pg, IgG₂-E2 и E2/Pg даже при высоких уровнях IgA₁-Bp и IgA₁-E2 так же ассоциированы с отсутствием или низким риском ER⁺/PR⁺ РМЖ. Превышение уровней IgA₁-Bp и IgA₁-E2 над уровнем IgA₁-Pg при высоких уровнях IgG₂-E2 и IgG₂-Pg или одного из них ассоциировано с высоким риском

ER⁺/PR⁺ РМЖ (проканцерогенные иммунологические фенотипы) и может служить показанием для превентивного применения известных модуляторов эстрогеновых рецепторов [31, 41], а в перспективе — вакцин, селективно стимулирующих секреторные иммунные реакции против химических канцерогенов [40], или пробиотиков, экспрессирующих антитела против химических канцерогенов [20].

Предполагается, что ограничение доступа Bp к клеткам-мишеням посредством такой активной или пассивной иммунизации приведет к снижению активности ферментов метаболизма Bp и E2 и количества их аддуктов с ДНК (торможение инициации); к угнетению образования сывороточных IgA₁-Bp и IgA₁-E2 и, как следствие, к превалированию уровней IgA₁-Pg и IgG₂-Pg (торможение промоции). Такой гипотетический механизм реформатирования проканцерогенного иммунологического фенотипа в протективный требует экспериментальных подтверждений и представляется перспективной задачей дальнейших исследований.

Кооперативное участие описанных в настоящей статье идиотипических и антиидиотипических антител в возникновении ER⁺/PR⁺ РМЖ очевидно имеет место и в патогенезе других канцероген-индуцированных стероид-зависимых злокачественных опухолей. Косвенными подтверждениями этого являются схожие особенности образования идиотипических антител к Bp, E2 и Pg и их взаимосвязи с содержанием E2 и Pg в сыворотке крови у больных раком легкого женщин и мужчин [1, 2, 3]. Это означает, что обнаружение проканцерогенного иммунологического фенотипа у здоровых людей может служить основанием для превентивного использования селективных антиканцерогенных иммунологических средств в комплексе с модуляторами ER.

Благодарности

Авторы благодарят академика Л.Н. Иванову за содействие в развитии выбранного направления исследований, а также сотрудников лаборатории иммунохимии ИЭЧ ФИЦ УУХ СО РАН Т.П. Аносову, М.П. Аносова, Е.А. Гурова, К.С. Чернокульскую за техническую поддержку настоящей работы.

Список литературы / References

1. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Костянко 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 immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2015, Vol. 9 (18), no. 3, pp. 343-349. (In Russ.)]
2. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Гордеева Л.А., Мун С.А., Костянко 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. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology, (Russia)*, 2018, Vol. 20, no. 6, pp. 927-934. (In Russ.) doi: 10.15789/1563-0625-2018-6-927-934.

3. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Мун С.А., Гордеева Л.А., Костянко 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., Kolpinsky 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.)]

4. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Мун С.А., Гордеева Л.А., Костянко М.В., Луценко В.А., Колпинский Г.И., Брежнева Е.В., Вафин И.А. Индивидуальный иммунологический фенотип и гормональный баланс у женщин в постменопаузе // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 1. С. 61-68. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Mun S.A., Gordeeva L.A., Kostyanko M.V., Lutsenko V.A., Kolpinskiy G.I., Brezhneva E.V., Vafin I.A. Immunological phenotype and hormonal balance in postmenopausal women. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2020, Vol. 23, no. 1, pp. 61-68. (In Russ.)]

5. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Мун С.А., Магарилл Ю.А., Гордеева Л.А., Луценко В.А., Колпинский Г.И., Костянко М.В., Вафин И.А. Влияние анти-антител к эстрадиолу и прогестерону на содержание гормонов в сыворотке крови здоровых женщин и больных раком молочной железы // Сибирский онкологический журнал, 2020. Т. 19, № 2. С. 62-69. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Mun S.A., Magarill Y.A., Gordeeva L.A., Lutsenko V.A., Kolpinskiy G.I., Kostyanko M.V., Vafin I.A. Effect of anti-antibodies to estradiol and progesterone on the concentration of hormones in the blood serum of healthy women and breast cancer patients. *Sibirskiy onkologicheskii zhurnal = Siberian Journal of Oncology*, 2020, Vol. 19, no. 2, pp. 62-69. (In Russ.)]

6. 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.

7. Albini A., Rosano C., Angelini G., Amaro A., Esposito A.J., Maramotti S., Noonan D.M., Pfeiffer U. Exogenous hormonal regulation in breast cancer cell by phytoestrogens and endocrine disruptors. *Curr. Med. Chem.*, 2014, Vol. 21, no. 9, pp. 1129-1145.

8. 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.

9. Ambrosone C.B., Abrams S.M., Gorlewska-Roberts K., Kadlubar F.F. Hair dye use, meat intake, and tobacco exposure and presence of carcinogen-DNA adducts in exfoliated breast ductal epithelial cells. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2007, Vol. 464, no. 2, pp. 169-175.

10. Bourtourault M., Shacoori V., Guerin J., Saiag B., Rault B. Effects of simultaneous active immunization against 17 beta-estradiol and testosterone on pituitary and ovarian activity in the rat. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 1991, Vol. 72, no. 3, pp. 273-284.

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

12. 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.

13. 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.

14. 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.

15. 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.

16. 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.

17. Chlebowski R.T., Anderson G.L., Aragaki A.K., Manson J.E., Stefanick M.L., Pan K., Barrington W., Kuller L.H., Simon M.S., Lane D., Johnson K.C., Rohan T.E., Gass M.L.S., Cauley J.A., Paskett E.D., Sattari M., Prentice R.L. Association of menopausal hormone therapy with breast cancer incidence and mortality during long-term follow-up of the women's health initiative randomized clinical trials. *JAMA*, 2020, Vol. 324, no. 4, pp. 369-380.

18. Dimou N.L., Papadimitriou N., Gill D., Christakoudi S., Murphy N., Gunter M.J., Travis R.C., Key T.J., Fortner R.T., Haycock P.C., Lewis S.J., Muir K., Martin R.M., Tsilidis K.K. Sex hormone binding globulin and risk of breast cancer: a Mendelian randomization study. *Int. J. Epidemiol.*, 2019, Vol. 48, no. 3, pp. 807-816.

19. Falk R.T., Manson J.E., Barnabei V.M., Anderson G.L., Brinton L.A., Rohan T.E., Cauley J.A., Chen C., Coburn S.B., Pfeiffer R.M., Reding K.W., Sarto G.E., Wentzensen N., Chlebowski R.T., Xu X., Trabert B. Estrogen

metabolism in menopausal hormone users in the women's health initiative observational study: Does it differ between estrogen plus progestin and estrogen alone? *Int. J. Cancer*, 2019, Vol. 144, no. 4, pp. 730-740.

20. 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.

21. Greiner M., Pfeiffer D., Smith R.D. Principles and practical application of the receiver operating characteristic analysis for diagnostic test. *Prev. Vet. Med.*, 2000, Vol. 45, pp. 23-41.

22. 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.

23. 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.

24. Hirose T., Morito K., Kizu R., Toriba A., Hayakawa K., Ogawa S., Inoue S., Muramatsu M., Masamune Y. Estrogenic/antiestrogenic activities of benzo[a]pyrene monohydroxy derivatives. *J. Health Sci.*, 2001, Vol. 47, no. 6, pp. 552-558.

25. 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.

26. 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.

27. 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.

28. 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. *Oncoimmunology*, 2016, Vol. 5, no. 2, e1074375. doi: 10.1080/2162402X.2015.1074375.

29. McCreery M.Q., Balmain A. Chemical carcinogenesis models of cancer: back to the future. *Annu. Rev. Cancer Biol.*, 2017, Vol. 1, pp. 295-312.

30. 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.

31. Nelson H.D., Fu R., Zakher B., Pappas M., McDonagh M. Medication use for the risk reduction of primary breast cancer in women: updated evidence report and systematic review for the US preventive services task force. *JAMA*, 2019, Vol. 322, no. 9, pp. 868-886.

32. Patisaul H.B., Jefferson W. The pros and cons of phytoestrogens. *Front. Neuroendocrinol.*, 2010, Vol. 31, no. 4, pp. 400-419.

33. Peluso M., Munnia A., Hoek G., Krzyzanowski M., Veglia F., Airoidi 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., Trichopoulou 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., Janson 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.

34. 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.

35. Rosenberg M., Amir D., Folman Y. The effect of active immunization against progesterone on plasma concentrations of total and free progesterone, estradiol-17β and LH in the cyclic ewe. *Theriogenology*, 1987, Vol. 28, no. 4, pp. 417-426.

36. 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.

37. Rundle A., Tang D., Hibshoosh H., Estabrook A., Schnabel F., Cao W., Grumet S., Perera F.P. The relationship between genetic damage from polycyclic aromatic hydrocarbons in breast tissue and breast cancer. *Carcinogenesis*, 2000, Vol. 21, no. 7, pp. 1281-1289.

38. 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.

39. 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.

40. 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.

41. Sestak I. Preventative therapies for healthy women at high risk of breast cancer. *Cancer Manag. Res.*, 2014, Vol. 6, pp. 423-430.

42. Sömjen D., Kohen F., Lieberherr M. Nongenomic effects of an anti-idiotypic antibody as an estrogen mimetic in female human and rat osteoblasts. *J. Cell. Biochem.*, 1997, Vol. 65, no. 1, pp. 53-66.

43. 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.
44. Tassignon J., Haeseleer F., Borkowski A. Natural antiestrogen receptor autoantibodies in man with estrogenic activity in mammary carcinoma cell culture: study of their mechanism of action; evidence for involvement of estrogen-like epitopes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1997, Vol. 82, no. 10, pp. 3464-3470.
45. 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. 99, Pt A, pp. 56-60.
46. Yang L., Zahid M., Liao Y., Rogan E.G., Cavalieri E.L., Davidson N.E., Yager J.D., Visvanathan K., Groopman J.D., Kensler T.W. Reduced formation of depurinating estrogen-DNA adducts by sulforaphane or KEAP1 disruption in human mammary epithelial MCF-10A cells. *Carcinogenesis*, 2013, Vol. 34, no. 11, pp. 2587-2592.
47. Zeng Z., Jiang X., Li X., Wells A., Luo Y., Neapolitan R. Conjugated equine estrogen and medroxyprogesterone acetate are associated with decreased risk of breast cancer relative to bioidentical hormone therapy and controls. *PLoS ONE*, 2018, Vol. 13, no. 5, e0197064. doi: 10.1371/journal.pone.0197064.

Авторы:

Поленок Е.Г. – к.фарм.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии, Институт экологии человека ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», г. Кемерово, Россия

Гордеева Л.А. – к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммуногенетики, Институт экологии человека ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», г. Кемерово, Россия

Мун С.А. – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики, Институт экологии человека ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», г. Кемерово, Россия

Костянко М.В. – ведущий инженер кафедры органической химии, Институт фундаментальных наук ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», г. Кемерово, Россия

Антонов А.В. – заведующий отделением опухолей молочной железы ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер имени М.С. Раппопорта», г. Кемерово, Россия

Верзбицкая Н.Е. – к.м.н., врач-патологоанатом ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер имени М.С. Раппопорта», г. Кемерово, Россия

Байрамов П.В. – заведующий патологоанатомическим отделением ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер имени М.С. Раппопорта», г. Кемерово, Россия

Колпинский Г.И. – д.м.н., профессор кафедры лучевой диагностики и лучевой терапии с курсом онкологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет»; главный врач ГАУЗ «Клинический консультативно-диагностический центр», г. Кемерово, Россия

Вафин И.А. – главный врач ГКУЗ «Кузбасский центр крови», г. Кемерово, Россия

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

Authors:

Polenok E.G., PhD (Pharmacy), Leading Research Associate, Laboratory of Immunochemistry, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Kemerovo, Russian Federation

Gordeeva L.A., PhD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Immunogenetics, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Kemerovo, Russian Federation

Mun S.A., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Immunogenetics, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Kemerovo, Russian Federation

Kostyanko M.V., Leading Engineer, Department of Organic Chemistry, Institute of Fundamental Sciences, Kemerovo State University, Kemerovo, Russian Federation

Antonov A.V., Chief, Breast Cancer Department, Kuzbass M. Rappoport Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

Verzhbitskaya N.E., PhD (Medicine), Clinical Pathologist, Pathology Department, Kuzbass M. Rappoport Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

Bairamov P.V., Head, Pathology Department, Kuzbass M. Rappoport Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

Kolpinskiy G.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Radiology, Radiotherapy and Oncology, Kemerovo State Medical University; Main Physician, Kemerovo Clinical Diagnostic Center, Kemerovo, Russian Federation

Vafin I.A., Main Physician, Kuzbass Center of Blood, Kemerovo, Russian Federation

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, Kemerovo, Russian Federation

ОСОБЕННОСТИ ОБРАЗОВАНИЯ IgA-АНТИТЕЛ, СПЕЦИФИЧНЫХ К БЕНЗО[А]ПИРЕНУ И СТЕРОИДНЫМ ГОРМОНАМ, У ЖЕНЩИН С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ И РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Аверьянов А.В.¹, Антонов А.В.², Животовский А.С.², Костянко М.В.³,
Вафин И.А.⁴, Колпинский Г.И.⁵, Глушков А.Н.¹

¹ Институт экологии человека ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского
отделения Российской академии наук», г. Кемерово, Россия

² ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер», г. Кемерово, Россия

³ Институт фундаментальных наук ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет»,
г. Кемерово, Россия

⁴ ГКУЗ «Кузбасский центр крови», г. Кемерово, Россия

⁵ ГАУЗ «Клинический консультативно-диагностический центр», г. Кемерово, Россия

Резюме. Образование аддуктов химических канцерогенов с ДНК является пусковым звеном канцерогенеза. Аддукты метаболитов бензо[а]пирена с ДНК обнаружены в нормальных и опухолевых клетках у здоровых женщин и больных раком молочной железы и колоректальным раком. Аддукты метаболитов эстрадиола обнаружены у здоровых женщин и больных раком молочной железы. Эти низкомолекулярные вещества в составе макромолекулярных комплексов индуцируют синтез специфических антител. Ранее нами выявлены особенности образования специфических антител против бензо[а]пирена (IgA-Bp), эстрадиола (IgA-Es) и прогестерона (IgA-Pg) у больных раком молочной железы. Цель настоящего исследования – выявить предполагаемые особенности образования IgA-Bp, IgA-Es, IgA-Pg у женщин в постменопаузе, больных колоректальным раком, в сравнении со здоровыми и больными раком молочной железы. С помощью неконкурентного иммуноферментного анализа исследовали содержание этих антител в сыворотке крови здоровых женщин (n = 401), больных колоректальным раком (n = 219) и раком молочной железы (n = 1469), используя конъюгаты Bp, Es и Pg с бычьим сывороточным альбумином в качестве адсорбированных антигенов. У больных колоректальным раком по сравнению со здоровыми чаще встречаются высокие значения IgA-Bp > 3 (75% против 37%, p < 0,0001, OR = 5,0), а также индивидуальные соотношений антител: IgA-Bp/IgA-Es > 1 (82% против 41%, p < 0,0001, OR = 6,5); IgA-Bp/IgA-Pg > 1,5 (77% против 20%, p < 0,0001, OR = 13,4); IgA-Es/IgA-Pg > 1 (89% против 48%, p < 0,0001, OR = 8,7). У больных раком молочной железы по сравнению со здоровыми чаще встречались высокие уровни IgA-Bp > 3 (45% против 37%, p < 0,004,

Адрес для переписки:

Аверьянов Антон Викторович
Институт экологии человека
650065, Россия, г. Кемерово, Ленинградский пр., 10.
Тел.: 8 (3842) 57-50-79.
E-mail: Averianov_AV@mail.ru

Address for correspondence:

Anton V. Averianov
Institute of Human Ecology
650065, Russian Federation, Kemerovo,
Leningradsky ave., 10.
Phone: +7 (3842) 57-50-79.
E-mail: Averianov_AV@mail.ru

Образец цитирования:

А.В. Аверьянов, А.В. Антонов, А.С. Животовский,
М.В. Костянко, И.А. Вафин, Г.И. Колпинский,
А.Н. Глушков «Особенности образования IgA-антител,
специфичных к бензо[а]пирену и стероидным гормонам,
у женщин с колоректальным раком и раком молочной
железы» // Российский иммунологический журнал, 2023.
Т. 26, № 1. С. 41-48.
doi: 10.46235/1028-7221-1090-IOI

© Аверьянов А.В. и соавт., 2023
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.V. Averianov, A.V. Antonov, A.S. Zhivotovskiy,
M.V. Kostyanko, I.A. Vafin, G.I. Kolpinskiy, A.N. Glushkov
“Incidence of IgA antibodies specific to benzo[a]pyrene
and steroid hormones in women with colorectal cancer and
breast cancer”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2023, Vol. 26, no. 1, pp. 41-48.
doi: 10.46235/1028-7221-1090-IOI

© Averianov A.V. et al., 2023
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-1090-IOI

OR = 1,4), а также соотношения IgA-Bp/IgA-Es > 1 (57% против 41%, $p < 0,0001$, OR = 1,9), IgA-Bp/IgA-Pg > 1,1 (71% против 36%, $p < 0,0001$, OR = 4,4) и IgA-Es/IgA-Pg > 1,1 (71% против 41%, $p < 0,0001$, OR = 3,5). У больных колоректальным раком по сравнению с больными раком молочной железы чаще встречались высокие значения IgA-Bp > 3 (75% против 45%, $p < 0,0001$), IgA-Es > 3 (53% против 39%, $p < 0,0001$) и IgA-Pg > 2 (52% против 44%, $p = 0,025$), а также соотношения IgA-Bp/IgA-Es > 1 (82% против 57%, $p < 0,0001$, OR = 50,8); IgA-Bp/IgA-Pg > 1,5 (77% против 49%, $p < 0,0001$); IgA-Es/IgA-Pg > 1,1 (85% против 71%, $p < 0,0001$). Очевидно высокие уровни сывороточных IgA-Bp отражают образование большого количества аддуктов ДНК-Bp в клетках мишенях у больных колоректальным раком по сравнению со здоровыми женщинами и больными раком молочной железы вследствие непосредственного воздействия Bp пищи на эпителий толстой кишки. Иммуноанализ IgA-Bp, IgA-Es и IgA-Pg предлагается использовать для диагностики индивидуальных рисков возникновения колоректального рака у женщин в постменопаузе. Наиболее информативными маркером риска колоректального рака являются индивидуальные соотношения уровней IgA-Bp/IgA-Pg > 1,5.

Ключевые слова: антитела, бензо[а]пирен, эстрадиол, прогестерон, рак толстой кишки, рак молочной железы

INCIDENCE OF IgA ANTIBODIES SPECIFIC TO BENZO[A]PYRENE AND STEROID HORMONES IN WOMEN WITH COLORECTAL CANCER AND BREAST CANCER

Averianov A.V.^a, Antonov A.V.^b, Zhivotovskiy A.S.^b, Kostyanko M.V.^c, Vafin I.A.^d, Kolpinskiy G.I.^e, Glushkov A.N.^a

^a Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Kemerovo, Russian Federation

^b Kuzbass Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

^c Kemerovo State University, Kemerovo, Russian Federation

^d Kuzbass Center of Blood, Kemerovo, Russian Federation

^e Kuzbass Clinical Diagnostic Center, Kemerovo, Russian Federation

Abstract. Formation of DNA adducts of chemical carcinogens is a trigger for carcinogenesis. Adducts of benzo[a]pyrene metabolites and estradiol metabolites with DNA have been found in normal and tumor cells in healthy women and patients with breast and colorectal cancer. These low-weight compounds in macromolecular complexes induce the synthesis of specific antibodies. Previously, the presence of specific antibodies against benzo[a]pyrene (IgA-Bp), estradiol (IgA-Es) and progesterone (IgA-Pg) was revealed in breast cancer patients. The aim of this study is to identify the putative features of the IgA-Bp, IgA-Es, and IgA-Pg formation in postmenopausal women with colorectal cancer, in comparison with healthy and breast cancer patients. Using a noncompetitive enzyme-linked immunosorbent assay, the content of these antibodies was studied in the blood serum of healthy women ($n = 401$), patients with colorectal cancer ($n = 219$) and breast cancer ($n = 1469$) using conjugates of Bp, Es, and Pg with bovine serum albumin as adsorbed antigens. When compared with healthy people, the patients with colorectal cancer exhibited higher incidence of IgA-Bp > 3 (75% vs 37%, $p < 0.0001$, OR = 5.0), as well as more common levels of individual antibody ratios: IgA-Bp/IgA-Es > 1 (82% vs 41%, $p < 0.0001$, OR = 6.5); IgA-Bp/IgA-Pg > 1.5 (77% vs 20%, $p < 0.0001$, OR = 13.4); IgA-Es/IgA-Pg > 1 (89% vs 48%, $p < 0.0001$, OR = 8.7). In breast cancer patients, compared with healthy people, high IgA-Bp values (> 3) were more common (45% vs 37%, $p < 0.004$, OR = 1.4), as well as increased IgA-Bp/IgA-Es ratio > 1 (57% vs 41%, $p < 0.0001$, OR = 1.9), IgA-Bp/IgA-Pg > 1.1 (71% vs 36%, $p < 0.0001$, OR = 4.4) and IgA-Es/IgA-Pg > 1.1 (71% vs 41%, $p < 0.0001$, OR = 3.5). In patients with colorectal cancer, compared with patients with breast cancer we have found higher incidence of increased IgA-Bp values (> 3) (75% vs 45%, $p < 0.0001$), IgA-Es > 3 (53% vs 39%, $p < 0, 0001$), and of IgA-Pg > 2 (52% vs 44%, $p = 0.025$), as well as IgA-Bp/IgA-Es > 1 (82% vs 57%, $p < 0.0001$, OR = 50.8); IgA-Bp/IgA-Pg > 1.5 (77% vs 49%, $p < 0.0001$); IgA-Es/IgA-Pg > 1.1 (85% vs 71%, $p < 0.0001$). The apparently high serum IgA-Bp levels reflect the formation of DNA-Bp adducts at large scale in target cells in colorectal cancer compared with healthy women and breast cancer patients, due to direct exposure of colon epithelium to Bp from food. Immunoassay for IgA-Bp, IgA-Es and IgA-Pg is proposed for assessing individual risk of colorectal cancer in postmenopausal women. The ratios of IgA Bp/IgA-Pg levels > 1.5 represent the most informative marker of individual risk for colorectal cancer.

Keywords: antibodies, benzo[a]pyrene, estradiol, progesterone, colorectal cancer, breast cancer

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) и колоректальный рак (КРР) входят в пятерку наиболее распространенных злокачественных опухолей у женщин в мире и в России [3]. Одной из основных причин, вызывающих неопластические изменения в тканях, является воздействие химических канцерогенов, полициклических ароматических углеводородов (ПАУ), в частности бензо[а]пирена (Вр). Метаболиты химических канцерогенов образуют аддукты с ДНК и тем самым инициируют трансформацию нормальных клеток в злокачественные [4]. Аддукты метаболитов Вр с ДНК обнаруживаются в нормальных и опухолевых клетках у здоровых женщин и больных КРР и РМЖ. [5, 8, 10, 12]. Кроме того, инициаторами канцерогенеза могут быть генотоксические метаболиты эстрадиола (Es). Их аддукты с ДНК были выявлены у здоровых женщин и больных РМЖ [15, 17].

Низкомолекулярные ПАУ и стероидные гормоны и их метаболиты не распознаются иммунной системой, однако в составе аддуктов с высокомолекулярными соединениями они становятся гаптенами и могут индуцировать синтез специфических антител. Были обнаружены ассоциации антител к Вр, Es и прогестерону (Pg), с РМЖ и раком легкого у женщин [1]. Выявлены взаимосвязи между содержанием в сыворотке стероидных гормонов и уровнями указанных антител [2]. Специфические иммунные реакции на химические канцерогены окружающей среды и эндогенные сывороточные гормоны у больных КРР оставались неизученными.

Цель настоящего исследования — выявить предполагаемые особенности образования антител класса А, специфичных к Вр, Es, Pg (IgA-Вр, IgA-Es, IgA-Pg) у женщин в постменопаузе больных КРР, в сравнении со здоровыми и больными РМЖ.

Материалы и методы

В исследование включены 219 женщин в постменопаузе, с установленным диагнозом аденокарциномы толстого кишечника. Из них с диагнозом: рак прямой кишки — 59%, с диагнозом рак толстого кишечника — 41%. Пациентов с первой стадией — 22%, со второй — 36%, с третьей — 23%, с четвертой — 19%. Средний возраст больных КРР составил 66 ± 7 лет. Во вторую исследуемую группу вошли 1469 женщин с диагнозом рак молочной железы (РМЖ). Пациенты с первой стадией — 38%, со второй — 42%, с третьей — 18%, с четвертой — 2%. Средний возраст больных РМЖ составил 64 ± 8 . Женщины обеих групп проходили лечение в Областном клиническом онко-

логическом диспансере г. Кемерово. Диагноз в каждом случае был подтвержден гистологически. В группу сравнения была включена 401 здоровая женщина в постменопаузе со средним возрастом 57 ± 6 лет. Письменное согласие на забор периферической крови было получено от всех женщин, принимавших участие в исследовании, согласно установленным по Хельсинкской декларацией 1975 г. и утвержденным Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 этическим нормам.

Исследование проводили с помощью неконкурентного иммуноферментного анализа, описанного в предыдущих работах [1], используя конъюгаты соответствующих соединений с бычьим сывороточным альбумином в качестве адсорбированного антигена и антитела против IgA человека, меченные пероксидазой хрена, в качестве проявляющего агента.

Статистический анализ результатов проводили с помощью Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США). Для подтверждения ненормального распределения данных использовался критерий Шапиро—Уилка. Статистически значимые различия между группами определяли с помощью U-критерия Манна—Уитни, log-регрессией и критерием χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность вариации, при уровне значимости $p < 0,05$. Для определения пороговых значений уровней АТ (cut-off) был проведен ROC-анализ [9]. Ассоциации исследуемых IgA с КРР и РМЖ оценивали с помощью величины отношения шансов (OR) с доверительным интервалом (CI) при 95% уровне значимости.

Результаты

Рассчитаны медианы уровней исследуемых антител и их индивидуальных соотношений (IgA-Вр/IgA-Es, IgA-Вр/IgA-Pg, IgA-Es/IgA-Pg) в сравниваемых группах. Результаты представлены в таблице 1.

У больных КРР медианы уровней IgA-Вр и IgA-Es оказались статистически значимо выше, а IgA-Pg ниже, чем у здоровых женщин. Индивидуальные соотношения IgA-Вр/IgA-Es, IgA-Вр/IgA-Pg, IgA-Es/IgA-Pg у больных КРР превышали значимо контрольные показатели. Аналогичные различия были выявлены при сравнении больных РМЖ со здоровыми женщинами (за исключением уровней IgA-Es, $p = 0,13$).

Все перечисленные значения уровней исследуемых антител и их индивидуальных соотношений у больных КРР превышали таковые у больных РМЖ.

Не обнаружено статистически значимых различий по всем исследуемым канцерогенным между больными разных стадий опухолевого

ТАБЛИЦА 1. МЕДИАНЫ УРОВНЕЙ IgA К Bp, Es И Pg И ИХ СООТНОШЕНИЙ У ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ КРП И РМЖ

TABLE 1. MEDIAN LEVELS OF IgA TO Bp, Es AND Pg AND THEIR RATIOS IN HEALTHY WOMEN AND PATIENTS WITH CRC AND BREAST CANCER

Антитела Antibody	1. Здоровые женщины 1. Healthy women n = 401	2. Больные КРП 2. CRC patients n = 219	3. Больные РМЖ 3. Breast cancer patients n = 1469	p_{1-2}	p_{1-3}	p_{2-3}
	Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)	Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)	Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)			
IgA-Bp	2,35 (1,5-3,8)	4,47 (3-6)	2,78 (1,5-3,7)	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
IgA-Es	2,67 (1,6-4,2)	3,12 (2,1-4,9)	2,52 (1,5-4,1)	0,001	0,13	< 0,0001
IgA-Pg	2,7 (1,6-4,5)	2,05 (1,3-3,1)	1,81 (1,6-4,5)	< 0,0001	< 0,0001	0,02
IgA-Bp/IgA-Es	0,92 (0,7-1,2)	1,39 (1,1-1,7)	1,09 (0,6-1,2)	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
IgA-Bp/IgA-Pg	0,88 (0,6-1,4)	1,97 (1,5-2,9)	1,48 (0,5-1,3)	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
IgA-Es/IgA-Pg	0,97 (0,7-1,4)	1,55 (1,3-2,0)	1,38 (0,7-1,4)	< 0,0001	< 0,0001	0,0001

ТАБЛИЦА 2. ЧИСЛО (n) И ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ (%) ВЫСОКИХ УРОВНЕЙ IgA К Bp, Es, Pg И ИХ СООТНОШЕНИЙ У ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ КРП

TABLE 2. NUMBERS (n) AND FREQUENCIES (%) OF HIGH LEVELS OF IgA TO Bp, Es, Pg AND THEIR RATIOS IN HEALTHY WOMEN AND PATIENTS WITH CRC

	Здоровые женщины Healthy women n = 401 n/%	Больные КРП CRC patients n = 219 n/%	χ^2 (p)	ОШ (95% ДИ) OR (95% CI)
IgA-Bp > 3	149/37	164/75	79,2 (< 0,0001)	5,0 (3,5-7,3)
IgA-Es > 3	179/45	116/53	3,6 (0,06)	1,4 (1,0-1,9)
IgA-Pg > 2	252/63	114/52	6,4 (0,01)	0,6 (0,5-0,9)
IgA-Bp/IgA-Es > 1	163/41	179/82	95 (< 0,0001)	6,5 (4,4-9,7)
IgA-Bp/IgA-Pg > 1,5	79/20	168/77	189,7 (< 0,0001)	13,4 (9,0-20,0)
IgA-Es/IgA-Pg > 1	194/48	195/89	98,5 (< 0,0001)	8,7 (5,4-13,8)

ТАБЛИЦА 3. ЧИСЛО (n) И ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ (%) ВЫСОКИХ УРОВНЕЙ IgA К Bp, Es, Pg И ИХ СООТНОШЕНИЙ У ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ РМЖ

TABLE 3. NUMBERS (n) AND FREQUENCIES (%) OF HIGH LEVELS OF IgA TO Bp, Es, Pg AND THEIR RATIOS IN HEALTHY WOMEN AND BREAST CANCER PATIENTS

	Здоровые женщины Healthy women n = 401 n/%	Больные РМЖ Breast cancer patients n = 1469 n/%	χ^2 (p)	ОШ (95% ДИ) OR (95% CI)
IgA-Bp > 3	149/37	664/45	8,0 (0,004)	1,4 (1,1-1,8)
IgA-Es > 2	259/65	912/62	0,7 (0,38)	0,9 (0,7-1,1)
IgA-Pg > 2	252/63	649/44	43,2 (< 0,0001)	0,5 (0,4-0,6)
IgA-Bp IgA-Es > 1	163/41	834/57	32,3 (< 0,0001)	1,9 (1,5-2,4)
IgA-Bp/IgA-Pg > 1,1	146/36	1050/71	166,5 (< 0,0001)	4,4 (3,5-5,5)
IgA-Es/IgA-Pg > 1,1	164/41	1042/71	122,8 (< 0,0001)	3,5 (2,8-4,4)

ТАБЛИЦА 4. ЧИСЛО (n) И ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ (%) ВЫСОКИХ УРОВНЕЙ IgA К Bp, Es И Pg И ИХ СООТНОШЕНИЙ У ЖЕНЩИН С КРР ИЛИ РМЖ

TABLE 4. NUMBERS (n) AND FREQUENCIES (%) OF HIGH LEVELS OF IgA TO Bp, Es AND Pg AND THEIR RATIOS IN WOMEN WITH CRC OR BREAST CANCER

	Больные КРР CRC patients n = 219 n/%	Больные РМЖ Breast cancer patients n = 1469 n/%	χ^2 (p)
IgA-Bp ≤ 3	54/25	805/55	68,49 (< 0,0001)
IgA-Bp > 3	164/75	664/45	
IgA-Es ≤ 2	46/21	557/38	
IgA-Es 2-3	56/26	338/23	24,88 (< 0,0001)
IgA-Es > 3	116/53	574/39	
IgA-Pg ≤ 2	104/48	820/56	
IgA-Pg > 2	114/52	649/44	5,04 (0,025)
IgA-Bp/IgA-Es ≤ 1	39/18	635/43	50,80 (< 0,0001)
IgA-Bp/IgA-Es > 1	179/82	834/57	
IgA-Bp/IgA-Pg ≤ 1,1	14/6	419/29	68,78 (< 0,0001)
IgA-Bp/IgA-Pg 1,1-1,5	36/17	335/23	
IgA-Bp/IgA-Pg > 1,5	168/77	715/49	
IgA-Es/IgA-Pg ≤ 1	24/11	341/23	19,14 (< 0,0001)
IgA-Es/IgA-Pg 1-1,1	9/4	86/6	
IgA-Es/IgA-Pg > 1,1	185/85	1042/71	

процесса, ни у пациенток с КРР, ни у пациенток с РМЖ (данные не представлены). С помощью множественной log-регрессии установили отсутствие зависимости уровней исследуемых антител и их индивидуальных соотношений от возраста во всех исследуемых группах (данные не представлены).

Используя ROC-анализ, рассчитаны пороговые значения уровней исследуемых антител и их индивидуальных соотношений, по которым больные КРР и РМЖ имели наиболее значимые различия со здоровыми женщинами (cut-off). Полученные результаты представлены в таблицах 2 и 3.

Аналогичные результаты получены при сравнении больных РМЖ со здоровыми женщинами с максимальным различием по индивидуальным соотношениям IgA-Vp/IgA-Pg > 1,1 (OR = 4,4).

При сравнении больных КРР и РМЖ выяснилось следующее (табл. 4).

Высокие уровни всех исследуемых антител и их индивидуальные соотношения встречались у больных КРР статистически значимо чаще, чем у больных РМЖ. Минимальные различия были характерны для IgA-Pg > 2 (52% против 44%, $p = 0,025$), максимальные – для IgA-Vp > 3 (75% против 45%, $p < 0,0001$) и для IgA-Vp/IgA-Pg > 1,5 (77% против 49%, $p < 0,0001$).

Обсуждение

Превышение средних уровней IgA-Vp в сыворотке крови больных КРР по сравнению с таковыми у здоровых женщин свидетельствует со всей очевидностью о формировании аддуктов метаболитов Vp с макромолекулами при канцерогенезе толстой кишки, как и было показано ранее [8, 12]. По-видимому, такие аддукты при инициации злокачественной трансформации эпителиальных клеток толстой кишки образуются в больших количествах, на что указывает значительное превышение частоты обнаружения высоких уровней IgA-Vp по сравнению с нормой.

Кроме того, средние уровни IgA-Vp у больных КРР и частота обнаружения высоких уровней этих антител были достоверно выше, чем у больных РМЖ. Эти особенности иммунной реакции на канцерогены окружающей среды можно объяснить тем, что полициклические ароматические углеводороды, поступающие в желудочно-кишечный тракт с пищей, воздействуют на слизистую толстой кишки непосредственно, а на эпителий молочной железы опосредованно, через циркулирующую кровь.

Средние уровни и частота обнаружения IgA-Es и IgA-Pg превышал таковые как у здоровых женщин, так и у больных РМЖ. Ранее образование

аддуктов метаболитов эндогенных стероидов с ДНК и другими макромолекулами организма при КРР не исследовалось. Поэтому пока не представляется возможным сопоставить процесс индукции канцерогенеза под действием стероидных гормонов со специфическими иммунными реакциями на эти соединения.

Значительное превышение уровней IgA-Vp над уровнями IgA-Es и IgA-Pg у больных КРР отражается в высоких значениях средних их индивидуальных соотношений IgA-Vp/IgA-Es и IgA-Vp/IgA-Pg, частота обнаружения которых выше, чем у здоровых женщин и у больных РМЖ. Поэтому иммуноанализ указанных антител и расчет их соотношений может служить маркером персонального риска возникновения КРР. Показатели OR для IgA-Vp/IgA-Es > 1 и IgA-Vp/IgA-Pg > 1,5 составляют, соответственно, 6,5 (4,4-9,7) и 13,4 (9,0-20,0) с $p < 0,0001$.

Неясным остается вопрос об участии исследуемых антител в канцерогенезе толстого кишечника. В модельных экспериментах *in vitro* показано, что антитела против Vp, имитирующие сывороточные антитела *in vivo*, усиливают транспорт Vp и его метаболитов из апикального компартмента монослоя эпителиальных клеток кишечника линии Caco-2 в базолатеральный компартмент (из просвета кишечника в циркулирующую кровь) [6]. Исходя из этого, можно предположить, что обнаруженные нами IgA-Vp, циркулирующие в сыворотке крови, способствуют проникновению Vp из пищи в клетки эпителия толстой кишки и образованию генотоксических метаболитов и тем самым стимулируют инициацию канцерогенеза.

Ранее было обнаружено, что повышение уровней сывороточных IgA-Vp взаимосвязано с повышением уровня IgA-Es и содержанием Es в сыворотке крови у здоровых женщин в постменопаузе [7]. С этим феноменом связывают повышение риска возникновения РМЖ, основываясь на известных данных о стимуляции пролиферации клеток молочной железы под действием Es [13] и о повышении концентрации Es в сыворотке крови после иммунизации животных Es и Pg, конъюгированных с белком носителем [14]. Однако при КРР Es и Pg, по мнению некоторых авторов, играет протективную роль [11, 16]. Если у здоровых женщин при высоких уровнях IgA-Vp повышается содержание в сыворотке IgA-Es и Es, стимулирующего малигнизацию нормальных клеток молочной железы и угнетающего канцерогенез в толстой кишке, можно предположить, что IgA-Es усиливают проканцерогенное действие IgA-Vp в первом случае и угнетают во втором. Возможно, это является одной из причин того, что заболеваемость КРР меньше, чем РМЖ.

Заключение

Иммуноанализ сывороточных IgA-Вр, IgA-Еs и IgA-Рg может найти практическое применение в диагностике индивидуальных рисков возникновения не только РМЖ, но и КРР у женщин в постменопаузе, особенно при интенсивной экспозиции к полициклическим ароматическим углеводородам, содержащимся в пище и в питьевой воде.

Целесообразно продолжить исследование иммунологических реакций на канцерогенны окружающей среды и эндогенные сывороточные гор-

моны у больных КРР, а именно определить роль антител класса G, специфичных к Вр, Es и Рg и соответствующих антиидиотипических антител, участвующих в иммуногормональных взаимодействиях: антитело, анти-антитело, гормон, рецептор.

Благодарность

Авторы выражают искреннюю признательность академику РАН Л.Н. Ивановой за советы в выборе направления исследования иммунологических механизмов химического канцерогенеза у человека.

Список литературы / References

1. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Гордеева Л.А., Мун С.А., Костянко 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. 139-146. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Gordeeva L.A., Moon S.A., Kostyanko M.V., Antonov A.V., Titov V.A., Verzhbitskaya N.E., Vafin I.A. Immunological imbalance in breast and lung cancer in postmenopausal women. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2018, Vol. 20, no. 6, pp. 139-146. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2018-6-927-934.
2. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Мун С.А., Гордеева Л.А., Костянко М.В., Луценко В.А., Колпинский Г.И. Индивидуальный иммунологический фенотип и гормональный баланс у женщин в постменопаузе // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 1. С. 61-68. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Moon S.A., Gordeeva L.A., Kostyanko M.V., Lutsenko V.A., Kolpinsky G.I. Individual immunological phenotype and hormonal balance in postmenopausal women. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2020, Vol. 23, no. 1, pp. 61-68. (In Russ.)]
3. Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность). М.: Гельветика, МНИОИ им. П.А. Герцена, 2020. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://glavonco.ru/cancer_register/Забол_2019_Электр.pdf. [Malignant neoplasms in Russia in 2019 (morbidity and mortality)]. Moscow: Helvetika, P. Herzen Research Institute of Oncology, 2020. [Electronic resource]. Access mode: https://glavonco.ru/cancer_register/Забол_2019_Электр.pdf.
4. Худoley В.В. Канцерогены: характеристики, закономерности, механизмы действия. СПб.: НИИ химии СПбГУ, 1990. 419 с. [Khudoley V.V. Carcinogens: characteristics, patterns, mechanisms of action. St. Petersburg: Research Institute of Chemistry]. St. Petersburg: Research Institute of Chemistry, St. Petersburg State University, 1990. 419 p.
5. Agudo A., Peluso M., Munnia A., Luján-Barroso L., Barricarte A., Amiano P., Navarro C., Sánchez M.-J., Quirós J.R., Ardanaz E. Aromatic DNA adducts and breast cancer risk: a case-cohort study within the EPIC-Spain. *Carcinogenesis*, 2017, Vol. 38, Iss. 7, pp. 691-698.
6. 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. Exp. Ther.*, 2005, Vol. 313, no. 2, pp. 640-646.
7. 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.
8. 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.
9. Hajian-Tilaki K. Receiver Operating Characteristic (ROC) curve analysis for medical diagnostic test evaluation. *Caspian J. Intern. Med.*, 2013, Vol. 4, no. 2, pp. 627-635.
10. Harris D.L., Washington M.K., Hood D.B., Roberts L.J. II, Ramesh A. Dietary fat-influenced development of colon neoplasia in ApcMin mouse exposed to benzo(a)pyrene. *Toxicol. Pathol.*, 2009, Vol. 37, no. 7, pp. 938-946.
11. Hogan A.M., Collins D., Baird A.W., Winter D.C. Estrogen and gastrointestinal malignancy. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2009, Vol. 307, no. 1-2, pp. 19-24.
12. Jamin E.L., Riu A., Douki T., Debrauwer L., Cravedi J-P., Zalko D., Audebert M. Combined genotoxic effects of a polycyclic aromatic hydrocarbon (B(a)P) and an heterocyclic amine (PhIP) in relation to colorectal carcinogenesis. *PLoS One*, 2013, Vol. 8, no. 3. doi: 10.1371/journal.pone.0058591.
13. 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., Michelle Pugh M., Raj G.V., Brown G.B., D'Santos C., Robinson J.L.L.,

Silva G., Launchbury R., Perou C.M., Sting J., Caldas C., Tilley W.D., Carroll J.S. Progesterone receptor modulates ER α action in breast cancer. *Nature*, 2015, Vol. 523, no. 7560, pp. 313-317.

14. 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.

15. Santen R.J., Yue W., Wang J-P. Estrogen metabolites and breast cancer. *Steroids*, 2015, Vol. 99, Pt A, pp. 61-66.

16. Sasso C.S., Santiano F.E., Arboccó F.C.V., Zyla L.E., Semino S.N., Guerrero-Gimenez M.E., Creydt V.P., Fontana C.M.L., Carón R.W. Estradiol and progesterone regulate proliferation and apoptosis in colon cancer. *Endocr. Connect.*, 2019, Vol. 8, no. 3, pp. 217-229.

17. Yu F.-L. 17 β -Estradiol epoxidation as the molecular basis for breast cancer initiation and prevention. *Asia Pacific J. Clin. Nutr.*, 2002, Vol. 11, Suppl. 7, pp. 460-466.

Авторы:

Аверьянов А.В. — ведущий инженер-биолог лаборатории иммунохимии, Институт экологии человека ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», г. Кемерово, Россия

Антонов А.В. — заведующий отделением № 5 ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер», г. Кемерово, Россия

Животовский А.С. — к.м.н., заведующий отделением № 6 ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер», г. Кемерово, Россия

Костянюк М.В. — ведущий инженер кафедры органической и физической химии, Институт фундаментальных наук ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», г. Кемерово, Россия

Вафин И.А. — главный врач ГКУЗ «Кузбасский центр крови», г. Кемерово, Россия

Колпинский Г.И. — главный врач ГАУЗ «Клинический консультативно-диагностический центр», г. Кемерово, Россия

Глушков А.Н. — д.м.н., профессор, директор Института экологии человека ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», г. Кемерово, Россия

Authors:

Averianov A.V., Biological Engineer, Laboratory of Immunochemistry, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Kemerovo, Russian Federation

Antonov A.V., Head, Department No. 5, Kuzbass Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

Zhivotovskiy A.S., PhD (Medicine), Head, Department No. 6, Kuzbass Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

Kostyanko M.V., Leading Engineer, Department of Organic and Physical Chemistry, Kemerovo State University, Kemerovo, Russian Federation

Vafin I.A., Chief Physician, Kuzbass Center of Blood, Kemerovo, Russian Federation

Kolpinskiy G.I., Chief Physician, Kuzbass Clinical Diagnostic Center, Kemerovo, Russian Federation

Glushkov A.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Director, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Kemerovo, Russian Federation

Поступила 06.10.2021

Отправлена на доработку 06.01.2022

Принята к печати 08.11.2022

Received 06.10.2021

Revision received 06.01.2022

Accepted 08.11.2022

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ СОСТОЯНИЯ ИММУННОГО СТАТУСА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ БАЗОВОЙ ТЕРАПИИ И ТИМАЛИНА У ТЯЖЕЛОБОЛЬНЫХ COVID-19

Кузник Б.И.^{1,2}, Смоляков Ю.Н.^{1,2}, Шаповалов К.Г.^{1,3}, Терешков П.П.¹, Коннов В.А.¹, Чалисова Н.И.^{4,5}

¹ ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, г. Чита, Россия

² Инновационная клиника «Академия здоровья», г. Чита, Россия

³ ГУЗ «Городская клиническая больница № 1», г. Чита, Россия

⁴ АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», Санкт-Петербург, Россия

⁵ ФГБУН «Институт физиологии имени Павлова» Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. При новой коронавирусной инфекции COVID-19 наблюдаются значительные изменения со стороны клеточного и гуморального иммунитета. А в случае тяжелого течения развивается «цитокиновый шторм», сопровождаемый значительным повышением уровня провоспалительных цитокинов, нередко сменяемый супрессией иммунного ответа. При этом прогнозирование иммунного статуса является актуальнейшей задачей, позволяющей своевременно корректировать используемую терапию.

Цель — выявление возможности прогнозирования сдвигов в состоянии иммунной системы на шестой день заболевания COVID-19 при использовании стандартной терапии и при добавлении в схему лечения иммунокорректора тималина.

Исследование проведено на 87 пациентах с тяжелым течением COVID-19. Все пациенты были разделены на 2 группы: 1 — контроль (базовая схема лечения), и 2 — (базовая схема лечения и тималин, 10 мг, 1 раз в сутки в течение 5 суток, внутримышечно). Оценка тяжести течения COVID-19 и базовая схема лечения пациентов соответствовали актуальной версии временных методических рекомендаций Минздрава РФ «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции COVID-19». Лабораторные исследования: общий анализ крови, показатели иммунограммы с расчетом соотношения отдельных видов лейкоцитов, — проводили в динамике на 1-е и 6-е сутки наблюдения. Статистический анализ выполнен с помощью скриптов специализированного языка статистического анализа R (<http://cran.r-project.org>) версии 4.1.3. Анализ динамики показателей крови реализован методом бинарной классификации. С помощью ROC-анализа производилась классификация изменений исследуемых показателей клеточного иммунитета.

Установлено, что при базовой терапии тяжелобольных COVID-19 не наступало восстановления иммунного статуса на 6-й день от начала лечения. При этом с оценкой «слабо» можно лишь говорить о вероятном прогнозировании увеличения числа WBC и MON, уменьшения CD4⁺, NK и CD8⁺perNK

Адрес для переписки:

Чалисова Наталья Иосифовна
ФГБУН «Институт физиологии имени Павлова»
Российской академии наук
199034, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6.
Тел.: 8 (921) 764-73-50.
E-mail: ni-chalisova@mail.ru

Address for correspondence:

Natalia I. Chalisova
Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences
199034, Russian Federation, St. Petersburg,
Makarov emb., 6.
Phone: +7 (921) 764-73-50.
E-mail: ni-chalisova@mail.ru

Образец цитирования:

Б.И. Кузник, Ю.Н. Смоляков, К.Г. Шаповалов, П.П. Терешков, В.А. Коннов, Н.И. Чалисова «Прогнозирование состояния иммунного статуса при использовании базовой терапии и тималина у тяжелобольных COVID-19» // Российский иммунологический журнал, 2023. Т. 26, № 1. С. 49-56. doi: 10.46235/1028-7221-1209-POI

© Кузник Б.И. и соавт., 2023
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

B.I. Kuznik, Yu.N. Smolyakov, K.G. Shapovalov, P.P. Tereshkov, V.A. Konnov, N.I. Chalisova "Prognosis of immune state following basic therapy and thymalin treatment in patients with severe COVID-19 infection", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2023, Vol. 26, no. 1, pp. 49-56. doi: 10.46235/1028-7221-1209-POI

© Kuznik B.I. et al., 2023
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-1209-POI

а также соотношения $CD4^+/CD8^+$. Добавлении к базовой терапии тималина в значительной степени сопровождается нормализацией иммунограммы, и при этом с оценкой «отлично» можно прогнозировать увеличение числа T-LIM, в том числе $CD4^+$ и B-LIM, а с оценкой «хорошо» – повышение общего числа LIM, а также $CD8^+$, HLA- $CD3^+DR^+$ и NK.

Полученные данные у тяжелобольных COVID-19 позволяют с большой долей вероятности прогнозировать изменения иммунного статуса, а, следовательно, и течения заболевания.

Ключевые слова: COVID-19, ROC-анализ, иммунный статус, T-лимфоциты, тималин, прогноз

PROGNOSIS OF IMMUNE STATE FOLLOWING BASIC THERAPY AND THYMALIN TREATMENT IN PATIENTS WITH SEVERE COVID-19 INFECTION

Kuznik B.I.^{a, b}, Smolyakov Yu.N.^{a, b}, Shapovalov K.G.^{a, c}, Tereshkov P.P.^a, Konnov V.A.^a, Chalisova N.I.^{d, e}

^a Chita State Medical Academy, Chita, Russian Federation

^b Innovation Clinic “Health Academy”, Chita, Russian Federation

^c State Clinical Hospital No. 1, Chita, Russian Federation

^d St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, St. Petersburg, Russian Federation

^e Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Significant changes in cellular and humoral immunity are observed in new coronavirus infection (COVID-19). The “cytokine storm” develops in cases of severe clinical course, being accompanied by significantly increased levels of pro-inflammatory cytokines, often associated with suppression of immune response. At the same time, the prediction of the immune status is an urgent task, thus allowing timely correction of current therapy. The aim of our research was to evaluate predictive capability for the immune system changes on the 6th day of COVID-19 disease when using standard therapy, or with addition of immunocorrector thymalin to the treatment regimen. A retrospective study was conducted in 87 patients with severe COVID-19. All patients were divided into 2 groups, i.e., (1) controls who received basic treatment; (2) basic treatment supplied with thymalin (10 mg, intramuscular injections daily for 5 days). Assessment of severity and clinical course of COVID-19, and basic treatment regimen for the patients corresponded to current version of the interim Guidelines from the Ministry of Health of the Russian Federation “Prevention, diagnosis and treatment of a new coronavirus infection COVID-19”. Laboratory studies included complete blood counts, immunogram parameters with the calculation of the ratio of certain types of leukocytes were performed on the 1st and 6th days of observation. Statistical evaluation was made using scripts of the specialized statistical analysis language R (<http://cran.r-project.org>) version 4.1.3. The blood parameters were evaluated using the binary classification method. The changes in parameters of cellular immunity were classified by means of ROC-analysis.

We have found that the basic therapy of severely ill COVID-19 patients was not followed by recovery of immune status on the 6th day from the start of treatment. At marginal level, one can only suggest a probable prediction of increase in WBC and MON counts, a decrease in $CD4^+$, NK and $CD8^+perNK$, as well as the $CD4^+/CD8^+$ ratio. Addition of thymalin to the basic therapy is largely accompanied by the normalization of immunogram parameters. At the same time, it is possible to predict, with “excellent” rating, an increased number of T-LIM, including $CD4^+$ and B-LIM, and, with “good” rating, an increase in the total numbers of LIM, as well as $CD8^+$, HLA- $CD3^+DR^+$ and NK cells. The data obtained in severe cases of COVID-19 make it possible to predict changes in immune status, and, hence, the course of the disease, at a high degree of probability.

Keywords: COVID-19, ROC-analysis, immune status, T lymphocytes, thymalin, prognosis

Введение

Известно, что в процессе развития новой коронавирусной инфекции COVID-19, независимо от штамма SARS-CoV2, ее вызвавшего, наблюдаются значительные изменения со стороны клеточного и гуморального иммунитета. У тяжелобольных COVID-19 развивается так называемый «Цитокиновый шторм», характеризующийся в основном резким увеличением концентрации провоспалительных цитокинов (IL- α и IL- β , IL-6, IL-8, TNF α и др.), который у значительной

части больных способен перейти в депрессию иммунного ответа [2, 10, 11, 14, 20, 25]. Вместе с тем, от сдвигов в иммунной системе во многом зависит тяжесть течения и исход COVID-19. Показано, что при возникновении «цитокинового шторма» развивается эндотелиальная дисфункция, сопровождаемая воспалительными изменениями эндотелия, что не только может привести к тромбозу мелких и крупных кровеносных сосудов, но и развитию полиорганной недостаточности – ПОН [4, 13, 22, 23].

В терапии среднетяжелых и тяжелых форм COVID-19 в настоящее время применяются различные иммунокорректоры, в том числе иммуномодулятор широкого спектра действия, комплекс полипептидов с ММ до 10 000, выделенный из вилочковой железы – тималин [3, 7, 15, 16, 17]. Тималин, как известно, не только способствует нормализации клеточного и гуморального иммунитета при самых различных патологических состояниях, но и ликвидирует наличие тромбозопасных состояний [4, 8, 15]. Однако до сих пор не разработаны методы, которые позволяли бы предвидеть, какие изменения произойдут в иммунной системе, а, следовательно, и возможный исход заболевания COVID-19 при использовании тималина.

В то же время решение поставленных задач классификации исследуемых показателей делает необходимым выбирать пороговое значение анализируемого параметра для отнесения наблюдений (пациентов) к рассматриваемым в поставленной задаче классам. С этой целью мы решили воспользоваться ROC-кривой, применяемой для представления результатов двоичной классификации и оценки эффективности классификации. ROC-кривая показывает зависимость правильно классифицированных положительных от количества неверно классифицированных отрицательных исходов. При этом чаще используют относительные показатели чувствительности (доля правильно классифицированных положительных исходов) и специфичности (доля правильно классифицированных отрицательных исходов). В биомедицинских исследованиях ROC-анализ чаще всего применяется для решения задач оценки прогностических моделей (бинарной логистической регрессии, дискриминантного анализа). Однако задачи классификации не ограничиваются прогностическими (оценкой наступления результата по признаку, исследованному до его наступления), но могут выполнять роль диагностических (оценкой скрытого результата по признаку, исследованному после его наступления) и лечебных (оценкой эффективности лечебных процедур по признаку, определяемому до и после лечения). В связи с приведенными сведениями нами выделялись два результирующих класса: до лечения (1-й день) и после лечения (6-й день).

Целью настоящего исследования явилось выявление возможности прогнозирования сдвигов в состоянии иммунной системы на шестой день заболевания COVID-19 при использовании стандартной терапии и при добавлении в схему лечения иммунокорректора тималина.

Материалы и методы

Выполнено ретроспективное исследование у 87 пациентов с COVID-19, течение которого соответствовало критериям тяжелого течения

коронавирусной инфекции в соответствии с актуальной версией временных методических рекомендаций Минздрава РФ «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции COVID-19». Все пациенты были разделены на 2 группы: 1 – контроль (базовая схема лечения – соответствовала актуальной версии временных методических рекомендаций Минздрава РФ «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции COVID-19» – <https://стопкоронавирус.рф/fo/ofdoc/who>), куда вошло 44 человека в возрасте $62 \pm 13,4$ г, и 2 – (базовая схема лечения и тималин, 10 мг, 1 раз в сутки в течение 5 суток, внутримышечно) включала 43 больных в возрасте $61,3 \pm 10,1$ г. Для принятия решения о применении тималина дополнительно к базовой терапии принимались во внимание клинические критерии тяжелого течения COVID-19, снижение числа лейкоцитов $< 3,0 \times 10^9/\text{л}$, числа лимфоцитов $< 0,75 \times 10^9/\text{л}$. Все лабораторные исследования, включая общий анализ крови и показатели иммунограммы, проводили перед введением препаратов и на 6-е сутки от начала их применения. В исследование не включались пациенты с тромбоцитопенией, повышением уровня трансаминаз, почечной недостаточностью, исходными иммунодефицитами, онкопатологией.

Все больные находились на лечении в моностанции на базе ГУЗ «Городская клиническая больница № 1» г. Читы в июне-августе 2020 г. Госпитализация всех включенных в исследование лиц проводилась с 6-го по 10-й дни с момента появления симптомов заболевания. Все проводимые мероприятия соответствовали этическим стандартам, разработанным на основе Хельсинкской декларации всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2008 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266. Получено положительное решение локального этического комитета ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия МЗРФ протокол № 102 от 15.05.2020. На использование в лечении тималина оформлялось информированное добровольное согласие пациента.

Подсчет общего числа лейкоцитов, лимфоцитов и моноцитов производили на гемоанализаторе PENTRA-80 Horiba ABX Diagnostics (США). Содержание субпопуляций лимфоцитов (Т-лимфоциты, В-лимфоциты, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD3^+HLA-DR$, NKT, $CD8^+perNKT$) определяли методом проточной цитофлуометрии на анализаторе Beckman Coulter (США), используя набор для мультиплексного анализа LEGENDplex™ HU Immune Checkpoint Panel 1 Beckman Coulter (США). Исследования показателей крови про-

ведены на 1-й и 6-й дни терапии в контроле или на следующий день после отмены тималина. При этом общепринятая терапия осуществлялась до конца пребывания больного в стационаре.

Статистический анализ выполнен с помощью скриптов специализированного языка статистического анализа R (<http://cran.r-project.org>) версии 4.1.3 [20]. Анализ динамики показателей крови выполнен методом бинарной классификации. В качестве детерминируемых классов выступили состояния пациента до лечения (1-й день) и после цикла терапии (6-й день). Классифицирующая способность каждого показателя крови определялась методом ROC анализа. При построении ROC-кривой происходит изменение величины (порога) исследуемого показателя крови, при принятии решения о принадлежности к классу и на заданном пороге по экспериментальным данным рассчитывается чувствительность и специфичность оценки. Цикл ROC-анализа начинается с 0% чувствительности и 100% специфичности, заканчивается при 100% чувствительности, 0% специфичности. В ходе этой процедуры строится ROC-кривая и определяется точка баланса чувствительности/специфичности, в которой эти показатели максимальны.

Полученная в этой точке величина исследуемого признака может считаться оптимальным порогом, выше (или ниже, в зависимости от направления изменения признака) которого проявляется влияние исследуемой терапии. Расчет показателя площади под кривой AUC (Area Under Curve) проводился методом численного интегрирования по правилу Симпсона [24]. Экспертная шкала классификации принималась в следующем виде: 90-100% – отличная; 80-90% – хорошая; 70-80% – приемлемая; 60-70% – слабая; 50-60% – неудовлетворительная [6, 9, 12, 18]. Показатели AUC представлены в рамках 95% доверительных интервалов. Пороговые точки нанесены непосредственно на ROC-кривые.

Результаты

Наши наблюдения показали, что в контроле сдвиги в исследуемых показателях общего анализа крови и иммунограммы на 6-й день терапии практически не изменяются. С оценкой «слабо» можно лишь говорить о возможном прогнозировании увеличения числа WBC и MON, уменьшении CD4⁺, NK и CD8⁺perNK (рис. 1, 2), а также соотношения CD4⁺/CD8⁺, (рис. 1, 2). Лишь коли-

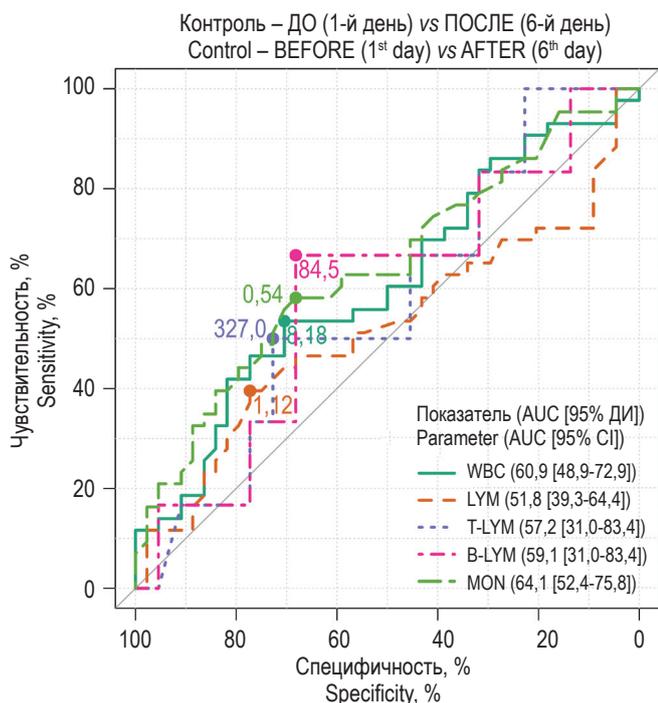


Рисунок 1. ROC-кривые оценки изменения лейкоцитарного пула при использовании традиционной схемы лечения

Примечание. Легенда содержит тип линии, название отображаемого параметра, рассчитанную площадь под кривой (AUC) и ее 95% доверительный интервал.

Figure 1. ROC curves used for evaluation of changes in leukocyte pool when using conventional therapeutic schedule

Note. The legend contains the type of line, name of the parameter, estimated area under the curve (AUC), and 95% confidence interval.

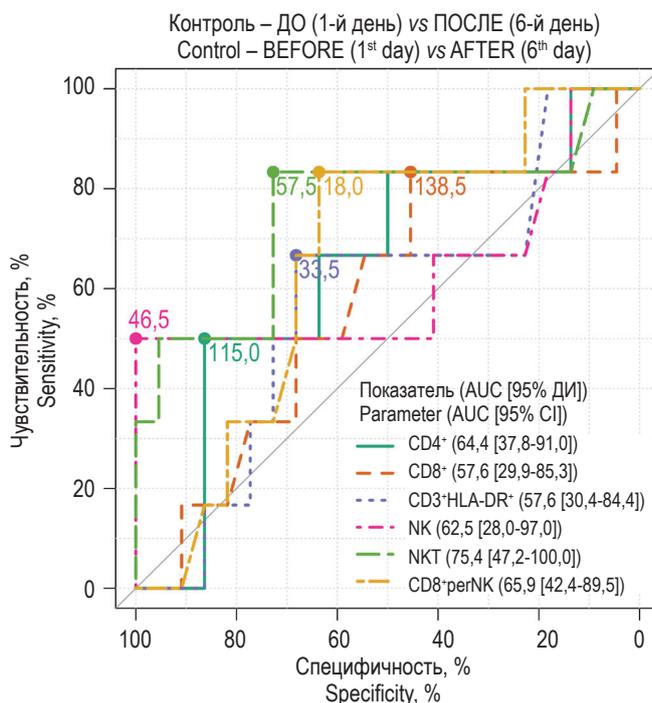


Рисунок 2. ROC-кривые оценки изменения Т-клеток при использовании традиционной схемы лечения

Примечание. См. примечание к рисунку 1.

Figure 2. ROC curves used for evaluation of changes in T cells when using conventional therapeutic schedule

Note. As for Figure 1.

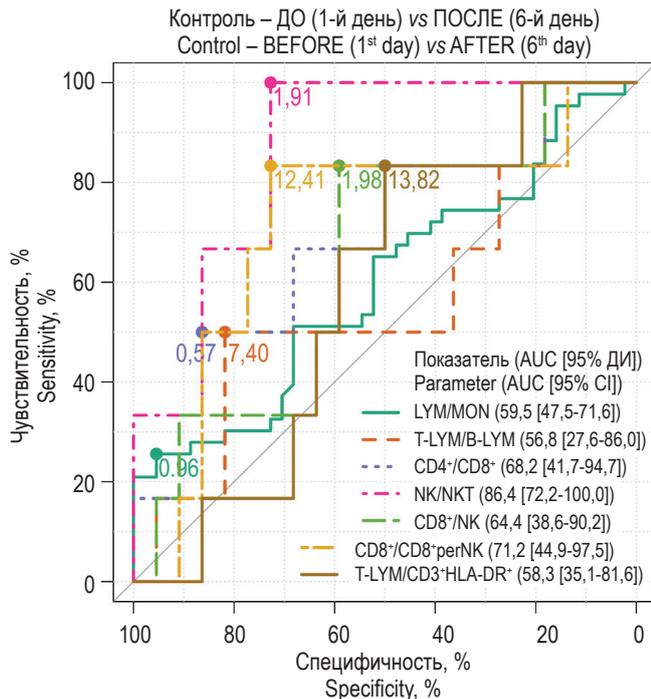


Рисунок 3. ROC-кривые оценки изменения клеточных соотношений при использовании традиционной схемы лечения

Примечание. См. примечание к рисунку 1.

Figure 3. ROC curves used for evaluation of the cell ratios when using conventional therapeutic schedule

Note. As for Figure 1.

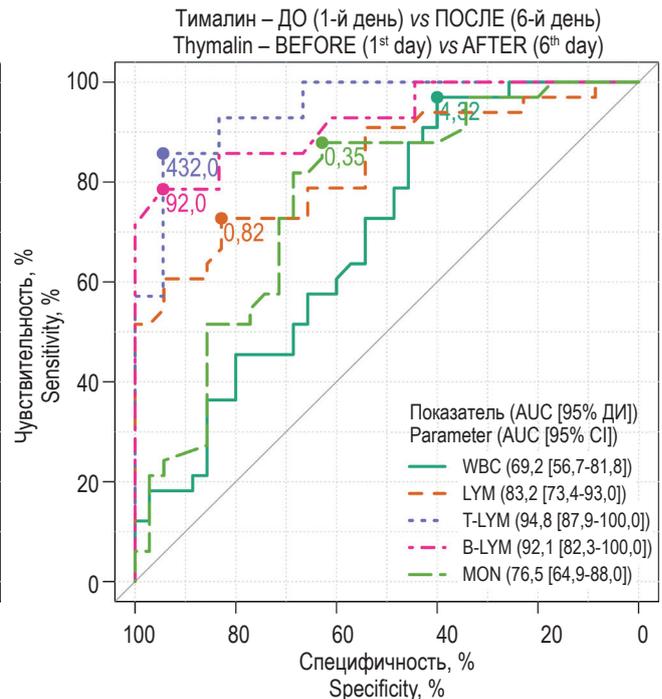


Рисунок 4. ROC-кривые оценки изменения лейкоцитарного пула при использовании тималина

Примечание. См. примечание к рисунку 1.

Figure 4. ROC curves used for evaluation of changes in leukocyte pool when using thymalin therapy

Note. As for Figure 1.

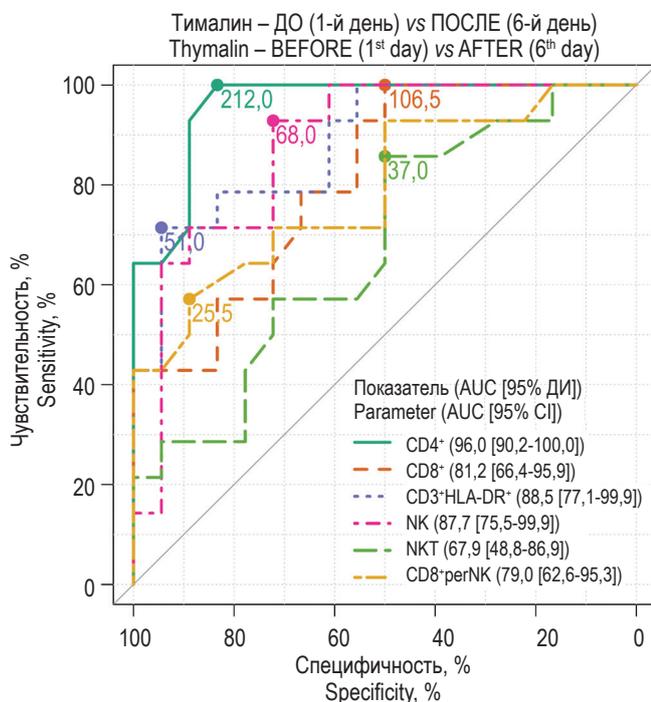


Рисунок 5. ROC-кривые оценки изменения Т-клеток при использовании тималина

Примечание. См. примечание к рисунку 1.

Figure 5. ROC curves used for evaluation of changes in T cell pool when using thymalin therapy

Note. As for Figure 1.

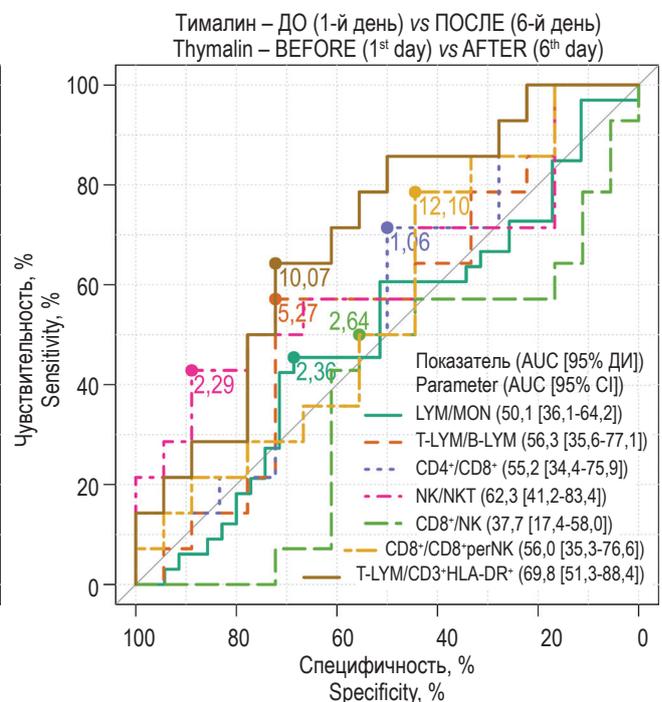


Рисунок 6. ROC-кривые оценки изменения клеточных соотношений при использовании тималина

Figure 6. ROC curves used for evaluation of cell ratios when using thymalin therapy

чество NKT на 6-й день в контроле уменьшалось с оценкой «удовлетворительно».

При исследовании соотношения отдельных видов лейкоцитов с оценкой «слабо» можно было прогнозировать увеличение $CD4^+/CD8^+$ и уменьшение $CD8^+/NK$, с оценкой «удовлетворительно» увеличение $CD8^+/CD8^+perNK$ и с оценкой «хорошо» NK/NKT (рис. 3).

Таким образом при базовой терапии сдвиги в исследуемых показателях общего анализа крови, иммунограммы и соотношения отдельных видов лейкоцитов не существенны и не способны оказать значительного влияния на результаты лечения тяжело больных COVID-19.

Иное наблюдается при использовании тималина (рис. 4, 5). Так, на 6-й день (на следующие сутки после его отмены) можно с оценкой «отлично» прогнозировать увеличение числа T-LIM, в том числе $CD4^+$ и B-LIM, а с оценкой «хорошо» – повышение общего числа LIM, а также $CD8^+$, $HLA-CD3^+DR^+$ и NK. С оценкой «удовлетворительно» можно строить прогнозы возрастания числа MON, $CD8^+perNKT$. Наконец, с оценкой «слабо» можно судить об увеличении WBC и NK-клеток.

Исследование соотношения отдельных видов лимфоцитов и их субпопуляций при использовании тималина на 6-й день показало, что с оценкой «слабо» можно лишь прогнозировать увеличение NK/NKT и уменьшение T-LYM/ $CD3^+HLA-DR^+$ (рис. 6).

Следовательно, соотношение отдельных популяций и субпопуляций лимфоцитов не может играть существенной роли в предсказании сдвигов в иммунограмме на 6-й день при использовании тималина.

Обсуждение

Одной из важнейших задач терапии COVID-19 является ликвидация «цитокинового шторма», приводящая к нормализации состояния клеточного и гуморального иммунитета [1, 7, 10, 22, 25]. Отсюда невольно возникает предположение, что исследования, направленные на прогнозирование иммунного статуса, позволят не только предвидеть исход заболевания, но и своевременно вмешиваться в тактику терапии.

Список литературы / References

1. Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Линькова Н.С. COVID-19: влияние на иммунитет, систему гемостаза и возможные пути коррекции // Успехи физиологических наук, 2020. Т. 51, № 4. С. 51-63. [Kuznik B.I., Khavinson V.Kh., Linkova N.S. COVID-19: effect on immunity, homeostasis system and the correction possible ways. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk = Advances in Physiological Sciences*, 2020, Vol. 51, no. 4, pp. 51-63. (In Russ.)]
2. Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Лукьянов С.А., Шаповалов К.Г., Смоляков Ю.Н., Терешков П.П., Шаповалов Ю.К., Коннов В.А., Зайцев Д.Н., Маген Э. Влияние тоцилизумаба и тималина на системное воспаление у больных COVID-19 // Врач, 2020. Т. 31, № 11. С. 87-96. [Kuznik B.I., Khavinson V.Kh., Lukyanov S.A., Shapovalov K.G., Smolyakov Yu.N., Tereshkov P.P., Shapovalov Yu.K., Konnov V.A., Zaitsev D.N., Magen E.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что при базовой терапии тяжелобольных COVID-19 не прогнозировалась тенденция и не наступало восстановление иммунного статуса на 6-й день от начала применяемого лечения, что в значительной степени является причиной затяжного, неблагоприятного течения пневмонии при COVID-19 и фактором развития тромботических осложнений.

При добавлении к базовой терапии пятидневного курса тималина можно с большой долей вероятности с оценками «отлично», прогнозировать увеличение числа T-LIM, в том числе $CD4^+$ и B-LIM, а с оценкой «хорошо» – повышение общего числа LIM, а также $CD8^+$, $HLA-CD3^+DR^+$ и NK. С оценкой «удовлетворительно» можно строить прогнозы возрастания числа MON и $CD8^+perNKT$.

Как показывают многочисленные исследования [2, 7, 14, 15, 16, 17], иммунокорректор тималин, используемый в терапии COVID-19, как правило, способствует нормализации не только клеточного и гуморального иммунитета, но и системы гемостаза, за счет чего и наступает улучшение состояния больных, снижение летальности, уменьшение частоты тромботических и других осложнений. Полученные прогностические сведения о возможных изменениях основных показателей иммунограммы в результате применения тималина во многом могут определить дальнейшую тактику терапии больных с тяжелым течением COVID-19 и иных вирусных инфекций.

Выводы

1. При базовой терапии тяжелобольных COVID-19 по исходным показателям общего анализа крови, иммунограммы и соотношению различных видов лейкоцитов на шестой день лечения нельзя прогнозировать сдвиги в иммунограмме и возможный исход патологического процесса.

2. В случае присоединения к базовой терапии пятидневного курса тималина можно с высокой долей вероятности говорить о том, как на шестой день изменятся показатели клеточного иммунитета, и на этом основании строить дальнейшую тактику терапии.

Tocilizumab and thymalin effect on the system inflammation in COVID-19 patients. *Vrach = Doctor*, 2020, Vol. 31, no. 11, pp. 87-96. (In Russ.)]

3. Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Смирнов В.С. Особенности патогенеза и течения covid-19 у лиц пожилого и старческого возраста // *Успехи геронтологии*, 2020, Т. 33, № 6. С. 1032-1042. [Kuznik B.I., Khavinson V.Kh., Smirnov V.S. Speciality of COVID-19 pathogenesis and course of disease in aged and old age. *Uspekhi gerontologii = Advances in Gerontology*, 2020, Vol. 3, no. 6, pp. 1032-1042. (In Russ.)]

4. Кузник Б.И., Васильев Н.В., Цыбиков Н.Н. Иммуногенез, гемостаз и неспецифическая резистентность организма. М.: Медицина 1989. 320 с. [Kuznik B.I., Vasiliev N.V., Tsybikov N.N. Immunogenesis, hemostasis and nonspecific resistance of the body]. Moscow: Meditsina, 1989. 320 p.

5. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Новый класс биологических регуляторов многоклеточных систем – цитомедины // *Успехи современной биологии*, 1983, Т. 96, № 6. С. 339-352. [Morozov V.G., Khavinson V.Kh. New class of biological regulators of multicellular systems – cytomedins. *Uspekhi sovremennoy biologii = Advances of Current Biology*, 1983, Vol. 96, no. 6, pp. 339-352. (In Russ.)]

6. Потапова Н.Л., Смоляков Ю.Н. Информативность ROC-анализа в определении предикторов тяжелой бронхиальной астмы у детей // *Забайкальский медицинский вестник*, 2021, № 3. С. 13-18. [Potapova N.L., Smolyakov Yu.N. Informational value of ROC analysis in the detection of predictors of long bronchial asthma in children. *Zabaykalskiy meditsinskiy vestnik = Transbaikal Medical Bulletin*, 2021, no. 3, pp. 13-18. (In Russ.)]

7. Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Рукавишников С.А., Линькова Н.С., Ахмедов Т.А., Башук В.В. Влияние тималина на показатели клеточного, гуморального иммунитета и качество жизни у пациентов пожилого возраста с COVID-19 // *Врач*, 2021, № 6. С. 51-54. [Khavinson V.Kh., Kuznik B.I., Rukavishnikova S.A., Linkova N.S., Akhmedov T.A. Thymalin effect on the index of cellular, humoral immunity and life quality in the aged patients. *Vrach = Doctor*, 2021, no. 6, pp. 51-54. (In Russ.)]

8. Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Рыжак Г.А. Пептидные геропротекторы – эпигенетические регуляторы физиологических функций организма. СПб.: РГПУ им. А.И. Герцена, 2014. 271 с. [Khavinson V.Kh., Kuznik B.I., Rizhak G.A. Peptide geroprotectors – epigenetic regulators of organism physiological functions]. St. Petersburg A. Herzen Russian State Pedagogical Institute, 2014. 271 p.

9. Ярцев С.С. Значение ROC-анализа для определения диагностической эффективности вентиляционных показателей у больных бронхиальной астмой // *Пульмонология*, 2021, № 6. С. 20-25. [Yartsev S.S. Mean of ROC analysis for detection of diagnostic effectiveness of ventilation rates in patients with bronchial asthma. *Pulmonologiya = Pulmonology*, 2021, no. 6, pp. 20-25. (In Russ.)]

10. Choi J.H., Lee Y.H., Kwon T.W., Ko S.G., Nah S.Y., Cho I.H. Can Panax ginseng help control cytokine storm in COVID-19? *J. Ginseng Res.*, 2022, Vol. 46, no. 3, pp. 337-347.

11. Hadid T., Kafri Z., Al-Katib A. Coagulation and anticoagulation in COVID-19. *Blood Rev.*, 2021, Vol. 47, 100761. doi: 10.1016/j.blre.2020.100761.

12. Hughes G., Kopetzky J., McRoberts N. Mutual Information as a performance measure for binary predictors characterized by both ROC curve and PROC curve analysis. *Entropy*, 2020, Vol. 22, no. 9, 938. doi: 10.3390/e22090938.

13. Joly B.S., Siguret V., Veyradier A. Understanding pathophysiology of hemostasis disorders in critically ill patients with COVID-19. *Intensive Care Med.*, 2020, Vol. 46, no. 8, pp. 1-4.

14. Khavinson V.K., Kuznik B.I., Trofimova S.V., Volchkov V.A., Rukavishnikova S.A., Titova O.N., Akhmedov T.A., Trofimov A.V., Potemkin V.V., Magen E. Results and prospects of using activator of hematopoietic stem cell differentiation in complex therapy for patients with COVID-19. *Stem Cell Rev. Rep.*, 2021, Vol. 17, no. 1, pp. 285-290.

15. Khavinson V.K., Kuznik B.I., Ryzhak G.A. Peptide bioregulators: A new class of geroprotectors. Report 2. The results of clinical trials. *Adv. Gerontol.*, 2014, Vol. 4, pp. 346-361.

16. Khavinson V., Linkova N., Dyatlova A., Kuznik B., Umnov R. Peptides: prospects for use in the treatment of COVID-19. *Molecules*, 2020, Vol. 25, no. 19, 4389. doi: 10.3390/molecules25194389.

17. Kuznik B.I., Smolyakov Y.N., Shapovalov Y.K., Shapovalov K.G., Lukyanov S.A., Parts D.S. The state of microcirculatory hemodynamics in patients with moderate and severe COVID-19. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2021, Vol. 171, no. 4, pp. 453-457.

18. Obuchowski N.A., Bullen J.A. Receiver operating characteristic (ROC) curves: review of methods with applications in diagnostic medicine. *Phys. Med. Biol.*, 2018, Vol. 63, no. 7, 07TR01. doi: 10.1088/1361-6560/aab4b1.

19. Otfi H.M., Adiga B.K. Endothelial dysfunction in COVID-19. *Am. J. Med. Sci.*, 2022, Vol. 363, no. 4, pp. 281-287.

20. R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available at: <https://www.R-project.org> (Accessed May 15, 2022).

21. Ribes A., Vardon-Bounes F., Mémier V., Poette M., Au-Duong J., Garcia C., Minville V., Sié P., Bura-Rivière A., Voisin S., Payrastra B. Thromboembolic events and COVID-19. *Adv. Biol. Regul.*, 2020, Vol. 77, 100735. doi: 10.1016/j.jbior.2020.100735.

22. Sbirkov Y., Dzharov V., Todorova K., Hayrabedian S., Sarafian V. Endothelial inflammation and dysfunction in COVID-19. *Vasa*, 2022, Vol. 51, no. 2, pp. 62-70.

23. Seitz A., Ong P. Endothelial dysfunction in COVID-19: A potential predictor of long-COVID? *Int. J. Cardiol.*, 2022, Vol. 15, no. 349, pp. 155-156.

24. Tuah A.N., Ibrahim A.B., Dzulkifly S., Yusof F.M., Nor R.A., Ariffin R. Analysis of the Area Under a Curve (AUC) using C-programming: Trapezium and Simpson rules techniques. *J. ICT Educ.*, 2022, Vol. 9, no. 1, pp. 143-153.

25. Zanza C., Romenskaya T., Manetti A.C., Franceschi F., La Russa R., Bertozzi G., Maiese A., Savioli G., Volonnino G., Longhitano Y. Cytokine storm in COVID-19: Immunopathogenesis and therapy. *Medicina (Kaunas)*, 2022, Vol. 58, no. 2, 144. doi: 10.3390/medicina58020144.

Авторы:

Кузник Б.И. — д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ; Инновационная клиника «Академия здоровья», г. Чита, Россия

Смоляков Ю.Н. — к.м.н., доцент, заведующий кафедрой медицинской физики и информатики ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ; Инновационная клиника «Академия здоровья», г. Чита, Россия

Шапозалов К.Г. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ; ГУЗ «Городская клиническая больница №1», г. Чита, Россия

Терешков П.П. — к.м.н., заведующий лабораторией экспериментальной и клинической биохимии и иммунологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, г. Чита, Россия

Коннов В.А. — к.м.н., доцент кафедры анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, г. Чита, Россия

Чалисова Н.И. — д.б.н., профессор, ведущий научный сотрудник группы пептидной регуляции старения ФГБУН «Институт физиологии имени Павлова» Российской академии наук; ведущий научный сотрудник лаборатории онкогеронтологии отдела биogerонтологии АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Kuznik B.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Normal Physiology, Chita State Medical Academy; Innovation Clinic "Health Academy", Chita, Russian Federation

Smolyakov Yu.N., PhD (Medicine), Associate Professor, Head, Department of Medical Physic and Informatics, Chita State Medical Academy, Innovation Clinic "Health Academy", Chita, Russian Federation

Shapovalov K.G., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Anesthesiology, Reanimation and Intensive Therapy, Chita State Medical Academy; State Clinical Hospital No. 1, Chita, Russian Federation

Tereshkov P.P., PhD (Medicine), Head, Laboratory of Experimental and Clinical Biochemistry and Immunology, Chita State Medical Academy, Chita, Russian Federation

Konnov V.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Anesthesiology, Reanimation and Intensive Therapy, Chita State Medical Academy, Chita, Russian Federation

Chalisova N.I., PhD, MD (Biology), Professor, Leading Research Associate, Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences; Leading Research Associate, Laboratory of Oncogerontology of Biogerontology Department, St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, St. Petersburg, Russian Federation

АНТИЦИТОКИНОВАЯ АКТИВНОСТЬ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA* И ИХ СПОСОБНОСТЬ К ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОПОДОБНЫХ ВЕЩЕСТВ

Пашинина О.А., Пашкова Т.М., Карташова О.Л., Морозова Н.В.

ФГБУН «Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Резюме. Известно, что бактерии способны не только проявлять антицитокиновую активность (АЦА), т. е. секретировать внеклеточные соединения, инактивирующие/нейтрализующие различные цитокины, но и продуцировать в среду культивирования цитокиноподобные вещества (ЦПВ). Вместе с тем у грибов рода *Candida* способность к выделению подобных субстанций ранее не исследовалась. Цель исследования – определить наличие АЦА и способности к продукции ЦПВ у штаммов грибов рода *Candida*, выделенных из репродуктивного тракта условно здоровых беременных.

В эксперименте использовали 26 клинических штаммов *Candida* spp., выделенных из отделяемого влагалища. Выделение и видовую идентификацию грибов осуществляли на основании морфологических и биохимических критериев. АЦА в отношении IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A и TNF α проводили путем соинкубирования взвеси грибов с растворами соответствующих цитокинов в соотношении 1:1 в течение 1,5-2 часов. Определение концентрации цитокинов осуществляли методом ИФА с использованием наборов ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург). АЦА рассчитывали как процент инактивации цитокинов в опыте по сравнению с контролем и выражали в пг/мл, способность к продукции ЦПВ – процент продукции цитокинов в опыте по сравнению с контролем и выражали в пг/мл. Полученные данные подвергали статистической обработке.

У грибов рода *Candida* впервые обнаружены АЦА и способность к продукции ЦПВ. Установлены межвидовые различия грибов рода *Candida*: культуры *C. non-albicans* чаще обладали АЦА в отношении провоспалительных цитокинов; изоляты *C. albicans* достоверно чаще продуцировали вещества подобные провоспалительным цитокинам IL-8, IL-17A и TNF α . Выраженность АЦА в отношении IL-10 и экспрессия способности к продукции веществ подобных провоспалительным цитокинам IL-4 и IL-10 были достоверно выше у культур *C. non-albicans* видов.

Результаты исследования расширяют представление об арсенале биологических свойств грибов рода *Candida* и требуют дальнейшего изучения.

Ключевые слова: *Candida*, антицитокиновая активность, цитокиноподобные вещества

Адрес для переписки:

Пашинина Ольга Александровна
ФГБУН «Институт клеточного и внутриклеточного
симбиоза» Уральского отделения Российской
академии наук
460000, Россия, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11.
Тел.: 8 (3532) 77-44-63.
E-mail: labpersist@mail.ru

Address for correspondence:

Olga A. Pashinina
Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis,
Ural Branch, Russian Academy of Sciences
460000, Russian Federation, Orenburg, Pionerskaya str., 11.
Phone: +7 (3532) 77-44-63.
E-mail: labpersist@mail.ru

Образец цитирования:

О.А. Пашинина, Т.М. Пашкова, О.Л. Карташова,
Н.В. Морозова «Антицитокиновая активность
грибов рода *Candida* и их способность к продукции
цитокиноподобных веществ» // Российский
иммунологический журнал, 2023. Т. 26, № 1. С. 57-62.
doi: 10.46235/1028-7221-1150-AAO

© Пашинина О.А. и соавт., 2023
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

O.A. Pashinina, T.M. Pashkova, O.L. Kartashova,
N.V. Morozova "Anticytokine activity of *Candida* spp. and their
ability to produce cytokine-like substances", *Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal*, 2023,
Vol. 26, no. 1, pp. 57-62.
doi: 10.46235/1028-7221-1150-AAO

© Pashinina O.A. et al., 2023
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-1150-AAO

ANTICYTOKINE ACTIVITY OF *CANDIDA* SPP. AND THEIR ABILITY TO PRODUCE CYTOKINE-LIKE SUBSTANCES

Pashinina O.A., Pashkova T.M., Kartashova O.L., Morozova N.V.

Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Abstract. Bacteria are known both to exhibit anticytokine activity (ACA), i.e., to secrete extracellular compounds which inactivate / neutralize various cytokines, and to produce cytokine-like substances (CPV) released to the culture medium. At the same time, the ability of *Candida* to secrete such substances has not been previously studied. The purpose of our study was to determine the presence of ACA and the ability to produce CPV in *Candida* strains isolated from the reproductive tract of apparently healthy pregnant women.

The experimental series included 26 clinical strains of *Candida* spp. isolated from vaginal secretions. Isolation and identification of fungal species was based on morphological and biochemical criteria. ACA against IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A and TNF α were detected following 2-hour co-incubation of fungal suspensions with solutions of the distinct cytokines at a ratio of 1:1. Determination of the cytokine concentrations was carried out by ELISA using the "Cytokin" kits (St. Petersburg). ACA amounts were defined as the percentage of cytokine inactivation in experimental samples compared to the control expressed as pg/mL. Their ability to produce CPV was expressed as percentage of cytokine production in experimental specimens compared to the controls (pg/mL). The obtained data were subjected to statistical evaluation.

ACA of *Candida* spp. and their ability to produce CPV were revealed for the first time. with appropriate differences established between the studied *Candida* species, i.e., cultures of *C. non-albicans* showed ACA more often for the pro-inflammatory cytokines; *C. albicans* isolates showed more frequent production of the substances, similar to the pro-inflammatory cytokines IL-8, IL-17A, and TNF α . Expression of ACA against IL-10 and ability to produce the anti-inflammatory IL-4- and IL-10-like substances were significantly higher in the cultures of *C. non-albicans* species.

The results of these experiments expand our knowledge on the spectrum of *Candida* biological activities and require further study.

Keywords: *Candida*, anticytokine activity, cytokine-like substances

Введение

В настоящее время широко изучается способность бактерий к инактивации/нейтрализации различных видов цитокинов. Описаны распространенность и выраженность антицитокиновой активности (АЦА) в отношении про- и противовоспалительных цитокинов у условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, выделенных при инфекционно-воспалительных заболеваниях человека и животных [4, 5, 9, 12], у кишечной микрофлоры [2, 11], у пробиотических штаммов бифидо- и лактобактерий [8], а также грибов рода *Malassezia* [7]. Установлено, что бактерии, изолированные при инфекционно-воспалительных заболеваниях, могут также синтезировать цитокиноподобные вещества (ЦПВ) [3]. Однако у грибов рода *Candida* способность секретировать внеклеточные соединения, инактивирующие/нейтрализующие различные цитокины, и способность продуцировать в среду культиви-

рования цитокиноподобные вещества ранее не исследовалась.

Цель исследования – определить наличие антицитокиновой активности и способности к продукции цитокиноподобных веществ у штаммов грибов рода *Candida*, выделенных из репродуктивного тракта условно здоровых беременных.

Материалы и методы

В эксперименте использовано 26 клинических штаммов *Candida* spp. (16 штаммов *C. albicans* и 10 штаммов *C. non-albicans* видов), выделенных из отделяемого влагалища от условно-здоровых беременных в рамках проводимого скрининга. Выделение и идентификацию культур осуществляли на основании морфологических и биохимических свойств [10]. АЦА в отношении IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17 и TNF α проводили по модифицированной методике [1] путем соинкубирования взвеси дрожжеподобных грибов в физиологическом растворе с растворами соответствующих

цитокинов в соотношении 1:1 в течение 2 часов при 37 °С. После соинкубирования грибов с цитокинами реакцию останавливали на холоде, пробы центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 мин (+4 °С) и отбирали супернатанты. В качестве контроля использовали растворы цитокинов в физиологическом растворе. Конечная концентрация цитокинов в опытных и контрольных пробах составляла для IL-4 – 20 пг/мл, IL-6 – 50 пг/мл, IL-8 – 50 пг/мл, IL-10 – 50 пг/мл, IL-17A – 75 пг/мл, TNF α – 25 пг/мл.

Определение концентрации цитокинов в опытных и контрольных пробах проводили иммуноферментным методом с использованием реагентов ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург), результаты учитывали на фотометре StatFax 2100 (США) при длине волны 450 нм. Антицитокиновую активность (АЦА) выражали в процентах (%) инактивации цитокинов в опыте по сравнению с контролем, способность к продукции цитокинов рассчитывали как % продукции цитокинов в опыте по сравнению с контролем и переводили в пг/мл. Данные обработаны методами вариационной статистики [6].

Результаты и обсуждение

Полученные данные свидетельствуют о наличии у изученных штаммов грибов рода *Candida*

как антицитокиновой активности в отношении ряда изученных цитокинов (табл. 1), так и способности к продукции цитокиноподобных веществ (табл. 2).

Из таблицы 1 видно, что культуры *Candida* spp. характеризовались способностью к инактивации про- и противовоспалительных цитокинов. Наиболее часто штаммы *C. albicans* инактивировали IL-10 (62,5 \pm 12,1%), а культуры *C. non-albicans* – IL-6, IL-8 и TNF α (40,0 \pm 15,5%, 20,0 \pm 12,6% и 40,0 \pm 15,4% соответственно). У грибов разной видовой принадлежности отсутствовала АЦА в отношении IL-17A и IL-4.

При анализе выраженности АЦА *Candida* spp. отмечены высокие значения признака в отношении IL-10 (15,67 \pm 0,75 пг/мл). Выраженность антицитокиновой активности у *C. albicans* в отношении IL-6 (6,20 \pm 0,28 пг/мл) и IL-8 (9,05 \pm 0,64 пг/мл) достоверно превышала значения признака у *C. non-albicans* видов (5,35 \pm 0,55 пг/мл и 3,35 \pm 0,34 пг/мл соответственно; $p < 0,05$; $p < 0,001$). В то же время у них уровни АЦА в отношении TNF α (2,70 \pm 0,10 пг/мл) и IL-10 (17,7 \pm 1,81 пг/мл) были выше, чем у *C. albicans* (1,60 \pm 0,04 пг/мл и 13,60 \pm 1,07 пг/мл соответственно; $p < 0,001$; $p < 0,05$).

Таким образом, наиболее часто у изученных грибов разных видов регистрировалась АЦА в от-

ТАБЛИЦА 1. АНТИЦИТОКИНОВАЯ АКТИВНОСТЬ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA*

TABLE 1. ANTICYTOKINE ACTIVITY *CANDIDA* SPP.

Цитокины Cytokines	<i>C. albicans</i> (n = 16)	<i>C. non-albicans</i> (n = 10)	Всего Total (n = 26)
	Распространенность, % Prevalence, %		
IL-6	25,0 \pm 10,8	40,0 \pm 15,5*	30,8 \pm 9,1
IL-8	12,5 \pm 8,2	20,0 \pm 12,6	15,4 \pm 7,1
IL-17A	0	0	0
TNF α	25,0 \pm 10,8	40,0 \pm 15,4*	30,8 \pm 9,1
IL-4	0	0	0
IL-10	62,5 \pm 12,1*	40,0 \pm 15,5	53,8 \pm 9,8
Выраженность, пг/мл Expression, pg/mL			
IL-6	6,20 \pm 0,28*	5,35 \pm 0,55	5,78 \pm 0,19
IL-8	9,05 \pm 0,64**	3,35 \pm 0,34	6,20 \pm 0,28
IL-17A	0	0	0
TNF α	1,60 \pm 0,04	2,70 \pm 0,10**	2,16 \pm 0,09
IL-4	0	0	0
IL-10	13,60 \pm 1,07	17,70 \pm 1,81*	15,67 \pm 0,75

Примечание. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

Note. *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$.

ТАБЛИЦА 2. ПРОДУКЦИЯ ЦИТОКИНОПОДОБНЫХ ВЕЩЕСТВ ГРИБАМИ РОДА *CANDIDA*

TABLE 2. PRODUCTION OF CYTOKINE-LIKE SUBSTANCES BY *CANDIDA* SPP.

Цитокины Cytokines	<i>C. albicans</i> (n = 16)	<i>C. non-albicans</i> (n = 10)	Всего Total (n = 26)
	Распространенность, % Prevalence, %		
IL-6	50,0±12,5	40,0±15,4	46,2±9,8
IL-8	75,0±10,8	80,0±12,6	76,9±8,3
IL-17A	75,0±10,8	80,0±12,7	76,9±8,3
TNFα	62,5±12,1*	20,0±12,7	46,2±9,8
IL-4	75,0±10,8*	60,0±15,5	76,9±8,3
IL-10	25,0±10,8	50,0±12,5*	30,8±9,1
	Выраженность, пг/мл Expression, pg/mL		
IL-6	14,39±2,41	32,15±3,30***	23,27±1,69
IL-8	14,24±2,98**	4,11±0,26	9,17±2,08
IL-17A	7,04±0,62**	4,67±0,41	5,86±0,43
TNFα	1,95±0,07***	0,54±0,05	1,25±0,11
IL-4	2,80±0,17	4,32±0,52***	3,56±0,27
IL-10	6,18±0,20	11,90±1,22***	9,04±0,37

Примечание. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Note. *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$.

ношении IL-10 с высоким уровнем выраженности признака. В то же время штаммы *C. non-albicans* видов чаще обладали АЦА в отношении провоспалительных цитокинов IL-6 (40,0±15,5%), IL-8 (20,0±12,6%), TNFα (40,0±15,4%) по сравнению с культурами *C. albicans* (25,0±10,8%, 12,5±8,2% и 25,0±10,8% соответственно).

Большинство изученных изолятов *Candida* spp. продуцировали ЦПВ. Среди штаммов грибов разной видовой принадлежности отмечено максимальное число культур, продуцирующих вещества, подобные противовоспалительному цитокину IL-4 (76,9±8,3 пг/мл) и провоспалительным цитокинам IL-8 (76,9±8,3%) и IL17A (76,9±8,3%). Достоверно чаще у культур *C. albicans* регистрировалась способность к продукции веществ, подобных провоспалительным цитокинам TNFα (62,5±12,1%) и IL-4 (75,0±10,8%) ($p < 0,05$), а у изолятов *C. non-albicans* видов – противовоспалительному цитокину IL-10 (50,0±12,5%; $p < 0,05$).

Продукция веществ подобных противовоспалительным цитокинам IL-4 (4,32±0,52 пг/мл) и IL-10 (11,9±1,22 пг/мл) была достоверно выше у культур *C. non-albicans* видов ($p < 0,001$), тогда как среди изолятов *C. albicans* преобладали штаммы с более выраженной способностью к продукции веществ, подобных провоспалительным цитокинам

IL-8 (14,24±2,98 пг/мл), IL17A (7,04±0,62 пг/мл) и TNFα (1,95±0,07 пг/мл) ($p < 0,01$; $p < 0,001$).

Заключение

Впервые у грибов рода *Candida* определена АЦА в отношении ряда изученных цитокинов и установлены внутривидовые отличия: штаммы *C. non-albicans* видов чаще обладали способностью к инактивации провоспалительных цитокинов по сравнению с культурами *C. albicans*. Ранее эта способность была описана только у грибов рода *Malassezia* [7], изменяющих в условиях *in vitro* концентрацию цитокинов IL-4, IL-8 и IFNγ.

В то же время рядом авторов экспериментально установлено, что как грамположительные, так и грамотрицательные бактерии могут синтезировать ряд цитокинов [1, 4, 5, 9, 12]. Проведенными исследованиями показана способность грибов рода *Candida* к продукции ЦПВ. Среди штаммов разной видовой принадлежности отмечено максимальное число культур, продуцирующих вещества подобные противовоспалительному цитокину IL-4. Известно, что *C. albicans* индуцируют клетки супрессоры, подавляющие активность фагоцитоза с помощью IL-4 и IL-10 [13, 14]. Полученные нами результаты свидетельствуют о

том, что клетки грибов способны сами продуцировать ИЛ-4.

Полученные данные свидетельствуют о меж- и внутривидовой вариабельности уровней выраженности АЦА и способности к продукции ЦПВ у грибов рода *Candida*. При этом значение АЦА в отношении ИЛ-10 и экспрессия способности к продукции веществ подобных противовоспалительным

цитокинам ИЛ-4 и ИЛ-10 были достоверно выше у культур *C. non-albicans* видов.

Результаты исследования расширяют представление об арсенале биологических свойств грибов рода *Candida*, а патогенетическое значение выявленных свойств (антицитокиновая активность и продукция цитокиноподобных веществ) требует дальнейшего изучения.

Список литературы / References

1. Бухарин О.В., Перунова Н.Б., Чайникова И.Н., Иванова Е.В., Смолягин А.И. Антицитокиновая активность микроорганизмов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии, 2011. № 4. С. 56-61. [Bukharin O.V., Perunova N.B., Chainikova I.N., Ivanova E.V., Smolyagin A.I. Anticytokine activity of microorganisms. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2011, Vol. 4, pp. 56-61. (In Russ.)]
2. Бондаренко Т.А., Данилова Е.И., Чайникова И.Н., Челпаченко О.Е., Иванова Е.В., Перунова Н.Б., Никифоров И.А. Антипептидная активность кишечных микросимбионтов для оценки состояния кишечного гомеостаза // Российский иммунологический журнал, 2018. Т. 12 (21), № 3. С. 222-226. [Bondarenko T.A., Danilova E.I., Chainikova I.N., Chelpachenko O.E., Ivanova E.V., Perunova N.B., Nikiforov I.A. Antipeptide activity of intestinal microsymbionts for assessing the state of intestinal homeostasis. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2018, Vol. 12 (21), no. 3, pp. 222-226. (In Russ.)]
3. Зурочка А.В., Гриценко В.А., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Черешнев В.А. Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ) и его синтетические аналоги: иммунологические эффекты и клиническое применение. Екатеринбург: УрО РАН, 2021. 288 с. [Zurochka A.V., Gritsenko V.A., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Chereshev V.A. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) and its synthetic analogues: immunobiological effects and clinical application]. Yekaterinburg: Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 2021. 288 p.
4. Карташова О.Л., Пашкова Т.М., Пашина О.А., Морозова Н.В. Антицитокиновая активность и способность к продукции цитокиноподобных веществ стафилококков, выделенных из секрета предстательной железы у мужчин с симптомами урогенитальной инфекции // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 2. С. 257-260. [Kartashova O.L., Pashkova T.M., Pashinina O.A., Morozova N.V. Anticytokine activity and ability to produce cytokine-like substances of staphylococci isolated from prostate secretion in men with symptoms of urogenital infection. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2021, Vol. 24, no. 2, pp. 257-260. (In Russ.)]
5. Кочкина Е.Е., Сычёва М.В., Пашкова Т.М., Карташова О.Л. Антицитокиновая активность бактерий рода *Enterococcus*, выделенных от животных // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова, 2019. № 4 (57). С. 25-31. [Kochkina E.E., Sycheva M.V., Pashkova T.M., Kartashova O.L. Anticytokine activity of bacteria of the genus *Enterococcus* isolated from animals. *Vestnik Buryatskoy gosudarstvennoy selskokhozyaystvennoy akademii im. V.R. Filippova. = Bulletin of the V. Filippov Buryat State Agricultural Academy*, 2019, no. 4 (57), pp. 25-31. (In Russ.)]
6. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с. [Lakin G.F. Biometrics]. Moscow: Vysshaya shkola, 1990. 352 p.
7. Пашкова Т.М., Попова Л.П., Карташова О.Л., Акжигитов А.С. Факторы персистенции грибов рода *Malassezia*, выделенных от здоровых собак и собак с наружным отитом // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2015. № 4. С. 1-8. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-4/Articles/PTM-2015-4.pdf>. [Pashkova T.M., Popova L.P., Kartashova O.L., Akzhigitov A.S. Persistence factors of fungi of the genus *Malassezia* isolated from healthy dogs and dogs with otitis externa. *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2015, Vol. 4, pp. 1-8. [Electronic resource]. Access mode: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-4/Articles/PTM-2015-4.pdf>.
8. Перунова Н.Б., Иванова Е.В., Чайникова И.Н., Бондаренко Т.А. Антипептидная активность пробиотических штаммов бифидо и лактобактерий // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга, 2017. № 1. С. 98-99. [Perunova N.B., Ivanova E.V., Chainikova I.N., Bondarenko T.A. Antipeptide activity of probiotic strains of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*. *Gastroenterologiya Sankt-Peterburga = Gastroenterology of St. Petersburg*, 2017, no. 1, pp. 98-99. (In Russ.)]
9. Попова Л.П., Пашкова Т.М., Морозова Н.В., Кузьмин М.Д., Карташова О.Л. Антицитокиновая активность штаммов *E. coli*, выделенных из мочи при мочекаменной болезни // Российский иммунологический журнал, 2019. Т. 13, № 2-1. С. 474-476. [Popova L.P., Pashkova T.M., Morozova N.V., Kuzmin M.D., Kartashova O.L. Anticytokine activity of *E. coli* strains isolated from urine in urolithiasis. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2019, Vol. 13, no. 2-1, pp. 474-476. (In Russ.)]

10. Реброва Р.Н. Грибы рода *Candida* при заболеваниях негрибковой этиологии. М.: Медицина, 1989. 128 с. [Rebrova R.N. Fungi of the genus *Candida* in diseases of non-fungal etiology]. Moscow: Meditsina, 1989. 128 p.

11. Савастеева А.В., Иванова Е.В., Перунова Н.Б., Бондаренко Т.А., Чайникова И.Н. Видовая характеристика и факторы персистенции облигатно-анаэробных микроорганизмов кишечной микробиоты человека // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2013. № 3. С. 1-11. [Электронный ресурс]. Режим доступа: [http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2013-3/Articles/Savasteeva-soavt\(2013-3\).pdf](http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2013-3/Articles/Savasteeva-soavt(2013-3).pdf). [Savasteeva A.V., Ivanova E.V., Perunova N.B., Bondarenko T.A., Chainikova I.N. Species characteristics and persistence factors of obligate anaerobic microorganisms of the human intestinal microbiota. *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2013, Vol. 3, pp. 1-11. [Electronic resource]. Access mode: [http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2013-3/Articles/Savasteeva-soavt\(2013-3\).pdf](http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2013-3/Articles/Savasteeva-soavt(2013-3).pdf).

12. Сычева М.В., Пашкова Т.М., Карташова О.Л., Пашина О.А., Попова Л.П. Характеристика анти-цитокиновой активности энтерококков // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2015. № 3. С. 1-6. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-3/Articles/SMV-2015-3.pdf>. [Sycheva M.V., Pashkova T.M., Kartashova O.L., Pashinina O.A., Popova L.P. Characterization of anticytokine activity of enterococci. *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2015, Vol. 3, pp. 1-6. [Electronic resource]. Access mode: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-3/Articles/SMV-2015-3.pdf>.

13. Garner R.E., Childress A.M., Human G., Domer E. Characterization of *Candida albicans* mannan-induced, mannan-specific delayed hypersensitivity suppressor cells. *Infect. Immun.*, 1990, Vol. 58, pp. 2613-2620.

14. Hisatsune T., Nishijima K., Minai Y., Kohyama M., Kaminogawa S. Autoreactive CD8⁺T cell clones producing immune suppressive lymphokines IL-10 and interferon. *Cell. Immunol.*, 1994, Vol. 154, pp. 181-192.

Авторы:

Пашина О.А. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов ФГБУН «Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Пашкова Т.М. — д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов ФГБУН «Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Карташова О.Л. — д.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов ФГБУН «Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Морозова Н.В. — к.б.н., научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов ФГБУН «Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Authors:

Pashinina O.A., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Persistence and Symbiosis of Microorganisms, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Pashkova T.M., PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Persistence and Symbiosis of Microorganisms, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Kartashova O.L., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Leading Research Associate, Laboratory of Persistence and Symbiosis of Microorganisms, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Morozova N.V., PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Persistence and Symbiosis of Microorganisms, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

ЭКСПРЕССИЯ PD-1 НА ПОПУЛЯЦИЯХ Т-КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Блинова Е.А.¹, Галдина В.А.², Сухова Н.М.¹, Демина Д.В.¹

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и фундаментальной иммунологии»,
г. Новосибирск, Россия

² ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»,
г. Новосибирск, Россия

Резюме. В основе патогенеза аллергических заболеваний лежит активация Th2-звена иммунного ответа. Как известно, Т-клеточный ответ на антиген регулируется различными ко-стимуляторными и ингибиторными сигналами, к ингибиторным рецепторам относятся молекулы PD-1 и Tim-3. Взаимодействие рецептора PD-1 с его лигандами приводит к подавлению активации, пролиферации Т-клеток и продукции ими цитокинов. При хронических бактериальных и вирусных инфекциях повышенная экспрессия PD-1 и Tim-3 на Т-клетках является маркером клеточного «истощения», так как у позитивных по данным ингибиторным рецепторам клеткам снижена продукция цитокинов. Участие ко-ингибиторного рецептора PD-1 в патогенезе аллергических заболеваний изучено недостаточно, имеющиеся на сегодняшний день в литературе данные немногочисленны и противоречивы. Поэтому целью данного исследования стала оценка уровня экспрессии коингибиторных рецепторов PD-1 и Tim-3 на CD4⁺ и CD8⁺Т-клетках, а также экспрессии PD-1 на аллерген-специфических Th2A-клетках при аллергической бронхиальной астме (БА) и аллергическом рините (АР) вне сезона поллинозиса.

Для фенотипирования клеток периферической крови доноров и пациентов с аллергическими заболеваниями, оценки экспрессии маркеров PD-1, Tim-3 использовали метод проточной цитофлуориметрии. В исследование было включено 7 пациентов с аллергической БА вне обострения, 10 пациентов с АР и 14 здоровых индивидуумов без аллергии. Установлено, что в периферической крови пациентов с БА и АР число CD4⁺ и CD8⁺, экспрессирующих молекулу PD-1, находилось на уровне значений здоровых индивидуумов. Снижение CD4⁺ клеток, экспрессирующих Tim-3, наблюдалось только в группе пациентов с АР, что может быть связано как с отсутствием пыльцевых аллергенов, так и ремиссией заболевания. Содержание аллерген-специфических Th2A-клеток (CD4⁺CD45RO⁺CD27⁺CRTh2⁺CD161⁺) у пациентов с АР и БА было повышено относительно группы контроля, что говорит о патогенетической значимости данной популяции для аллергических заболеваний. Однако уровень экспрессии PD-1 на Th2A-клетках, так же как и на основных субпопуляциях Т-клеток был сопоставим с донорскими значениями. Что может предполагать, что PD-1 может выступать не только как маркер «истощения», как это было показано при хронических вирусных инфекциях, но и отражать

Адрес для переписки:

Блинова Елена Андреевна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
клинической и фундаментальной иммунологии»
630099, Россия, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.
Тел.: 8 (383) 227-01-35.
Факс: 8 (383) 222-70-28.
E-mail: blinovaelena-85@yandex.ru

Address for correspondence:

Elena A. Blinova
Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology
630099, Russian Federation, Novosibirsk,
Yadrintsevskaya str., 14.
Phone: +7 (383) 227-01-35.
Fax: +7 (383) 222-70-28.
E-mail: blinovaelena-85@yandex.ru

Образец цитирования:

Е.А. Блинова, В.А. Галдина, Н.М. Сухова, Д.В. Демина
«Экспрессия PD-1 на популяциях Т-клеток
периферической крови пациентов с аллергическими
заболеваниями» // Российский иммунологический
журнал, 2023. Т. 26, № 1. С. 63-68.
doi: 10.46235/1028-7221-1197-PEO

© Блинова Е.А. и соавт., 2023

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

E.A. Blinova, V.A. Galdina, N.M. Suchova, D.V. Demina
“PD-1 expression on T cell subsets from peripheral
blood of patients with allergic diseases”, Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2023,
Vol. 26, no. 1, pp. 63-68.
doi: 10.46235/1028-7221-1197-PEO

© Blinova E.A. et al., 2023

The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-1197-PEO

статус активации различных субпопуляций Т-клеток, в том числе аллерген-специфических Th2А-клеток при аллергии.

Ключевые слова: чек-поинт молекулы, ингибиторный рецептор PD-1, Т-лимфоциты, аллерген-специфические Th2А-клетки, бронхиальная астма, аллергический ринит

PD-1 EXPRESSION ON T CELL SUBSETS FROM PERIPHERAL BLOOD OF PATIENTS WITH ALLERGIC DISEASES

Blinova E.A.^a, Galdina V.A.^b, Suchova N.M.^a, Demina D.V.^a

^a Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

^b Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. Pathogenesis of allergic diseases is based on the activation of Th2 immune response. T cell response to antigens is known to be regulated by various co-stimulatory and inhibitory signals; inhibitory receptors include PD-1 and Tim-3 molecules. Interaction of the PD-1 receptor with its ligands leads to suppression of activation, proliferation of T cells and production of cytokines by these cells. In chronic bacterial and viral infections, increased expression of PD-1 and Tim-3 on T cells is a marker of cellular “exhaustion”, since the cytokine production is reduced in cells positive for these inhibitory receptors. Involvement of the co-inhibitory PD-1 receptor into pathogenesis of allergic diseases has not been sufficiently studied, and the data available from the current literature are scarce and contradictory. Therefore, the aim of our study was to evaluate the expression level of co-inhibitory PD-1 and Tim-3 receptors on CD4⁺ and CD8⁺T cells, as well as expression of PD-1 on allergen-specific Th2A cells in allergic bronchial asthma (BA) and allergic rhinitis (AR) beyond the pollination season. We used the flow cytometry method to assess immune phenotype of peripheral blood cells from blood donors and patients with allergic diseases, in order to evaluate expression of PD-1 and Tim-3 markers. The study included 7 patients with allergic asthma, 10 patients with AR beyond the exacerbation phase, and 14 healthy, allergy-free individuals. It was found that the number of CD4⁺ and CD8⁺ cells expressing the PD-1 molecule in peripheral blood of patients with BA and AR was within the ranges of healthy individuals. A decrease in CD4⁺ cells expressing Tim-3 marker was observed only in the group of patients with AR which may be caused both by the absence of pollen allergens and remission of the disease. The content of allergen-specific Th2A cells (CD4⁺CD45RO⁺CD27⁺CRTh2⁺CD161⁺) in patients with AR and BA was increased relative to the control group, thus suggesting a pathogenetic significance of this cell population for allergic diseases. However, the level of PD-1 expression on Th2A cells, as well as on the main T cell subpopulations, was comparable to donor values. This finding may suggest that PD-1 may be considered not only a marker of “exhaustion” as shown for chronic viral infections. Moreover, it also may reflect the activation status of various T cell subpopulations, including allergen-specific Th2A cells in allergic conditions.

Keywords: checkpoint molecules, PD-1 inhibitory receptor, T cells, allergen-specific Th2A-cells, bronchial asthma, allergic rhinitis

Данная работа выполнена в рамках гос. задания (номер гос. регистрации в ЕГИСУ НИОКТР 122011800353-4).

Введение

Иммунный ответ начинается с активации Т-клеток, которая инициируется антиген-зависимым сигналом через Т-клеточный рецептор и контролируется антиген-независимыми сигналами через стимуляторные (CD80/86-CD28) и ингибиторные (PD-1, Tim-3) корецепторы. PD-1 один из ингибиторных корецепторов играет важную роль в регуляции аутоиммунитета,

противоинфекционного и противоопухолевого иммунитета. Продолжительная антигенная стимуляция приводит к истощению Т-клеток, что наблюдается при хронических вирусных и бактериальных инфекциях и сопровождается высокой экспрессией PD-1 и Tim-3 на CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитах [1]. Известно, что взаимодействие рецептора PD-1 с его лигандами приводит к подавлению активации, пролиферации Т-клеток и продукции ими цитокинов [2]. В частности, было показано, что сигналинг от PD-1 рецептора приводит к ограничению иммунного ответа CD4⁺Т-клетками в ответ на стимуляцию аллергенами [3]. Tim-3 также является ингибиторным рецепто-

ром, при связывании его с лигандом galectin-9 снижается клеточная пролиферация и происходит индукция апоптоза Th1-клеток. Следовательно, Tim-3/galectin-9 сигнальный путь, подавляя Th1-ответ, может косвенно влиять на усиление реализации Th2-ответа и способствовать развитию аллергических заболеваний [4]. В экспериментах *in vivo* введение антител к Tim-3 приводило к увеличению продукции Th1-цитокинов и угнетению продукции Th2-цитокинов в ткани легкого [4]. Было показано значительное увеличение процента и абсолютного числа двойных-позитивных по Tim-3 и PD-1 CD4⁺T-клеток у пациентов с астмой по сравнению со здоровыми донорами, также у пациентов был повышен процент и абсолютное число CD4⁺Tim-3⁺ клеток и CD4⁺PD-1⁺ клеток [5]. Однако в литературе представлены данные, свидетельствующие о том, что Tim-3 не является ключевым звеном для развития острого или хронического аллергического воспаления дыхательных путей в модели с индукцией аллергического воспаления дыхательных путей аллергеном клеща домашней пыли у нокаутных по гену Tim-3 мышей [4]. Хотя авторы предполагают, что, возможно, Tim-3 способствует снижению числа инфильтрирующих легкие лимфоцитов при хроническом индуцированном воспалении дыхательных путей.

В основе аллергической реакции при бронхиальной астме и аллергическом рините зачастую лежит активация Th2-звена иммунитета. Производимые Th2-клетками цитокины способствуют эозинофилии, гиперплазии бокаловидных клеток, продукции IgE, ремоделированию и гиперреактивности дыхательных путей [6]. Т-клетки, отвечающие на аллергены, являются гетерогенными. Среди популяции классических Th2-клеток были выделены неклассические: Th2/Th17-клетки, способные продуцировать IL-4 и IL-17 [7], а также «Th2A»-клетки, коэкспрессирующие CRTh2, CD49d, CD161, и по данным транскриптомного анализа иницирующие патогенетический ответ при аллергических заболеваниях [8].

Участие коингибиторных рецепторов PD-1 и Tim-3 в патогенезе аллергических заболеваний изучено недостаточно. Поскольку данные рецепторы являются негативными регуляторами сигнала от Т-клеточного рецептора, их участие в развитии иммунного ответа при аллергических заболеваниях может иметь существенное значение. Поэтому целью данной работы было исследовать уровень экспрессии коингибиторных рецепторов PD-1 и Tim-3 на CD4⁺ и CD8⁺T-клетках, а также экспрессию PD-1 на аллерген-специфических Th2A-клетках при аллергической бронхиальной астме и аллергическом рините.

Материалы и методы

В исследование вошли 7 пациентов с аллергической БА вне обострения (средний возраст 43±13,7 года, 5 женщин и 2 мужчин), 10 пациентов с АР (средний возраст 34±7,7 года, 4 женщины и 6 мужчин) и 14 условно-здоровых доноров (средний возраст 35±9,4 лет, 6 женщин и 8 мужчин). Набор в исследование осуществлялся после подписания информированного согласия. Пациенты с АР и БА получали АСИТ в отделении аллергологии клиники иммунопатологии НИИФКИ (г. Новосибирск), забор крови от пациентов осуществлялся до начала АСИТ в состоянии ремиссии заболевания. Пациенты преимущественно имели поливалентную сенсибилизацию, по степени контроля, определяемой согласно опроснику ACQ5 для пациентов с астмой и опроснику RCAT для пациентов с АР, характеризовались частично контролируемым течением астмы (1,4±0,5 балла) и неконтролируемым течением ринита (20±1,9 баллов).

Получение клеток периферической крови и подготовка клеток для цитометрического анализа

Выделение мононуклеарных клеток (МНК) осуществляли методом центрифугирования в градиенте плотности фикоoll-урографина ($\rho = 1,082$ г/л) (BioClot GmbH, Германия).

МНК периферической крови после выделения в градиенте фикоoll-урографина окрашивали только моноклональными антителами (BioLegend, США) против поверхностных маркеров: CD3-PE/Cy7, CD4-APC/Cy7, PD-1-APC, Tim-3-PerCP). Для определения негативной популяции для PD-1 и Tim-3 использовали FMO (Fluorescence Minus One) контроль, т. е. клетки окрашивали всеми антителами из панели, за исключением антител к PD-1 и Tim-3. Аллерген-специфические Th2A-клетки фенотипировали как CD4⁺CD45RO⁺CD27-CRTh2⁺CD161⁺ лимфоциты, для этого МНК окрашивали моноклональными антителами (BioLegend, США) против соответствующих антигенов (CD4-FITC, CD45RO-PE/Cy7, CD27-APC/Cy7, CRTh2-APC, CD161-PE, PD-1-PerCP).

Анализ проводили на проточном цитофлуориметре FACS CantoII (Becton Dickinson, США) в программном обеспечении FACS Diva 6.0 (Becton Dickinson, США).

Статистическая обработка

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0 (Statsoft, США) и GraphPadPrism 9 (GraphPad Software, США). Поскольку распределение показателей не всегда соответствовало нормальному распределению, согласно критерию Шапиро–Уилка, применялись методы непараметрической статистики. Для

сравнения несвязанных переменных использовали критерий Манна–Уитни. Выявленные отличия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Пациенты с АР характеризовались сниженным числом клеток с фенотипом $CD4^+Tim-3^+$ в крови относительно показателей доноров. В популяции $CD8^+$ клеток у пациентов с АР была выявлена тенденция (с уровнем статистической

значимости $p = 0,07$) к снижению числа клеток, экспрессирующих только $Tim-3$ и одновременно $Tim-3$ и $PD-1$. В группе пациентов с БА не было выявлено значимых отличий по сравнению с группой доноров (табл. 1).

Мы определили долю аллерген-специфических $Th2A$ -клеток ($CD4^+CD45RO^+CD27^-CRT2^+CD161^+$) как среди популяции $CD4^+$ лимфоцитов, так и среди клеток памяти с фенотипом $CD4^+CD45RO^+CD27^-$. Достоверные отличия были выявлены в группе пациентов с АР и с БА по сравнению с группой доноров (табл. 2).

ТАБЛИЦА 1. ЭКСПРЕССИЯ PD-1 И Tim-3 НА CD4⁺ И CD8⁺Т-КЛЕТКАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ИНДИВИДУУМОВ И ПАЦИЕНТОВ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМ РИНИТОМ И АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. PD-1 AND Tim-3 EXPRESSION ON CD4⁺ AND CD8⁺T CELLS FROM PERIPHERAL BLOOD OF HEALTHY INDIVIDUALS AND PATIENTS WITH ALLERGIC RHINITIS AND ALLERGIC BRONCHIAL ASTHMA, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Клеточная субпопуляция, % Cell population, %	Контроль Control (n = 14)	АР AR (n = 10)	БА BA (n = 7)
CD4 ⁺ PD-1 ⁺	11,5 (7,7-14,6)	11,2 (8,9-17,8)	12,4 (8,3-20,5)
CD4 ⁺ DP	0,2 (0,1-0,6)	0,1 (0,1-0,1)	0,1 (0,1-0,6)
CD4 ⁺ Tim-3 ⁺	0,45 (0,15-1,20)	0,2 (0,1-0,2)*	0,2 (0,1-0,6)
CD8 ⁺ PD-1 ⁺	12,4 (9,4-17,3)	15,45 (8,4-19,2)	10,9 (9,9-19,2)
CD8 ⁺ DP	0,15 (0,1-0,3)	0,1 (0,0-0,1)	0,1 (0,0-0,1)
CD8 ⁺ Tim-3 ⁺	0,6 (0,25-1,15)	0,3 (0,2-0,3)	0,5 (0,1-0,9)

Примечание. АР – аллергический ринит, БА – бронхиальная астма; * – достоверное отличие по сравнению с группой контроля (здоровые индивидуумы), критерий Манна–Уитни ($p < 0,05$). За 100% принято число $CD4^+/CD8^+$ -клеток.

Note. AR, allergic rhinitis; BA, bronchial asthma; *, significant difference compared to control group, Mann–Whitney test ($p < 0,05$). The number of $CD4^+/CD8^+$ T cells was taken as 100%.

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ Th2A-КЛЕТОК И ЭКСПРЕССИЯ НА НИХ PD-1 В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ИНДИВИДУУМОВ И ПАЦИЕНТОВ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМ РИНИТОМ И АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 2. CONTENT OF Th2A CELLS AND THEIR EXPRESSION OF PD-1 IN THE PERIPHERAL BLOOD OF HEALTHY INDIVIDUALS AND PATIENTS WITH ALLERGIC RHINITIS AND ALLERGIC BRONCHIAL ASTHMA, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Клеточная субпопуляция, % Cell population, %	Контроль Control (n = 14)	АР AR (n = 10)	БА BA (n = 7)
Th2A (из гейта CD4 ⁺ клеток) Th2A (from the gate of CD4 ⁺ cells)	0,1 (0,1-0,2)	0,5 (0,3-0,8)*	0,7 (0,4-0,9)*
Th2A (из гейта CD4 ⁺ CD45RO ⁺ CD27 ⁻ клеток) Th2A (from the gate of CD4 ⁺ CD45RO ⁺ CD27 ⁻ cells)	1,1 (0,5-1,3)	3,3 (2,2-3,7)*	4,6 (3,7-8,5)*
PD-1 ⁺ Th2A	4,2 (0,0-11,7)	4,9 (2,0-6,7)	11,8 (4,8-14,7)

Примечание. См примечание к таблице 1. За 100% принято число клеток в гейте.

Note. As for Table 1. The number of gated cells was taken as 100%.

По экспрессии PD-1 Th2A-клетки у доноров и пациентов не отличались. Однако была выявлена тенденция (с уровнем статистической значимости $p = 0,057$) к меньшему количеству аллерген-специфических PD-1⁺Th2A-клеток у пациентов с АР относительно пациентов с БА (табл. 2).

По результатам представленного исследования, у пациентов с БА и АР вне сезона поллинозиса в периферической крови не было изменено число CD4⁺ и CD8⁺ клеток отдельных популяций, экспрессирующих молекулы PD-1 по сравнению с контролем. Снижение CD4⁺ клеток, экспрессирующих Tim-3, наблюдалось только в группе пациентов с АР. В более раннем исследовании было показано, что пациенты с астмой характеризовались повышенным процентом и абсолютным числом как двойных-позитивных по Tim-3 и PD-1 CD4⁺T-клеток, так и клеток с фенотипами CD4⁺Tim-3⁺ и CD4⁺PD-1⁺ [9]. В другом исследовании, посвященном АР, экспрессия PD-1 на Th2-клетках также была увеличена, как в модели овалбумин-индуцированного АР у мышей, так и у пациентов с АР в сезон и вне сезона поллинозиса [10]. Предположительно, такие результаты связаны с тем, что пациенты во время исследования находились вне обострения, и, несмотря на частичную степень контроля над астмой, не было выявлено значительных отличий. Также сниженное количество регуляторных молекул на Т-лимфоцитах может быть обусловлено приемом системных глюкокортикостероидов, что в целом влияет и на общее число лимфоцитов.

Уровень экспрессии PD-1 на Th2A-клетках значительно не различался в группах доноров и пациентов, хотя, как было показано ранее, содержание PD-1⁺Th2-клеток было выше у пациентов

с АР по сравнению со здоровыми донорами [10]. При этом, так же как и в нашем исследовании, количество PD-1 экспрессирующих Th2A-клеток было выше у пациентов с аллергической БА по сравнению с пациентами с АР, а уровень экспрессии PD-1 на клетках сохранялся у пациентов после проведения АСИТ.

В нашем исследовании у пациентов с аллергопатологией вне сезона поллинозиса процент аллерген-специфических клеток был выше, чем у здоровых индивидуумов, что соответствует данным исследования Wambre и соавт. [8]. Можно сказать, что Th2A-клетки вносят значимый вклад в патогенез аллергических заболеваний, а также могут стать перспективным маркером для диагностики и оценки эффективности терапии, в частности АСИТ, что нуждается в последующем исследовании.

Заключение

Таким образом, в нашем исследовании было показано, что вне обострения у пациентов с АР и БА экспрессия PD-1 на субпопуляциях Т-клеток периферической крови находится на уровне показателей здоровых индивидуумов. И даже несмотря на то, что содержание аллерген-специфических Th2A-клеток у пациентов с АР и БА было повышено относительно группы контроля, уровень экспрессии PD-1 на Th2A-клетках также был в пределах нормативного показателя. Что может предполагать, что PD-1 может выступать не только как маркер «истощения», но и отражать статус активации различных субпопуляций Т-клеток, в том числе аллерген-специфических Th2A-клеток.

Список литературы / References

1. Anderson A.C., Joller N., Kuchroo V.K. Lag-3, Tim-3, and TIGIT: Co-inhibitory receptors with specialized functions in immune regulation. *Immunity*, 2016, Vol. 44, no. 5, pp. 989-1004.
2. Boussiotis V.A., Patsoukis N. Effects of PD-1 Signaling on Immunometabolic Reprogramming. *Immunometabolism*, 2022, Vol. 4, no. 2, e220007. doi: 10.20900/immunometab20220007.
3. Cosmi L., Maggi L., Santarlasci V., Capone M., Cardilicchia E., Frosali F., Querci V., Angeli R., Matucci A., Fambrini M., Liotta F., Parronchi P., Maggi E., Romagnani S., Annunziato F. Identification of a novel subset of human circulating memory CD4⁺ T cells that produce both IL-17A and IL-4. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2010, Vol. 125, no. 1, pp. 222-230.
4. Mosayebian A., Koohini Z., Hossein-Nataj H., Abediankenari S., Abedi S., Asgarian-Omran H. Elevated expression of Tim-3 and PD-1 Immune checkpoint receptors on T-CD4⁺ lymphocytes of patients with asthma. *Iran J. Allergy Asthma Immunol.*, 2018, Vol. 17, no. 6, pp. 517-525.
5. Riley J.L. PD-1 signaling in primary T cells. *Immunol. Rev.*, 2009, Vol. 229, no. 1, pp. 114-125.
6. Roskopf S., Jahn-Schmid B., Schmetterer K.G., Zlabinger G.J., Steinberger P. PD-1 has a unique capacity to inhibit allergen-specific human CD4⁺ T cell responses. *Sci. Rep.*, 2018, Vol. 8, no. 1, 13543. doi: 10.1038/s41598-018-31757-z.
7. Russell R.J., Brightling C. Pathogenesis of asthma: implications for precision medicine. *Clin. Sci.*, 2017, Vol. 131, no. 14, pp. 1723-1735.

8. Tang F, Wang F, An L, Wang X. Upregulation of Tim-3 on CD4(+) T cells is associated with Th1/Th2 imbalance in patients with allergic asthma. *Int. J. Clin. Exp. Med.*, 2015, Vol. 8, no. 3, pp. 3809-3816.
9. Wambre E., Bajzik V., deLong J.H., O'Brien K., Nguyen Q.A., Speake C., Gersuk V.H., deBerg H.A., Whalen E., Ni C., Farrington M., Jeong D., Robinson D., Linsley P.S., Vickery B.P., Kwok W.W. A phenotypically and functionally distinct human TH2 cell subpopulation is associated with allergic disorders. *Sci. Transl. Med.*, 2017, Vol. 9, no. 401, eaam9171. doi: 10.1126/scitranslmed.aam9171.
10. Wang S.H., Zissler U.M., Buettner M., Heine S., Heldner A., Kotz S., Pechtold L., Kau J., Plaschke M., Ullmann J.T., Guerth F., Oelsner M., Alessandrini F., Blank S., Chaker A.M., Schmidt-Weber C.B., Jakwerth C.A. An exhausted phenotype of TH 2 cells is primed by allergen exposure, but not reinforced by allergen-specific immunotherapy. *Allergy*, 2021, Vol. 76, no. 9, pp. 2827-2839.

Авторы:

Блинова Е.А. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и фундаментальной иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Галдина В.А. — студентка ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», г. Новосибирск, Россия

Сухова Н.М. — ординатор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и фундаментальной иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Демина Д.В. — к.м.н., заведующая отделением аллергологии клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и фундаментальной иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Authors:

Blinova E.A., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Clinical Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Galdina V.A., Student, Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russian Federation

Sukhova N.M., Clinical Resident, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Demina D.V., PhD (Medicine), Head, Department of Allergology, Clinic of Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 15.07.2022
Принята к печати 28.07.2022

Received 15.07.2022
Accepted 28.07.2022

К ВОПРОСУ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АЛЛЕРГОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ АТОПИИ *IN VITRO*

**Барило А.А., Смирнова С.В., Беленюк В.Д., Савченко А.А.,
Борисов А.Г.**

*Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение
ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения
Российской академии наук», г. Красноярск, Россия*

Резюме. В мире отмечается неуклонный рост распространенности аллергических заболеваний атопического генеза, таких как атопическая бронхиальная астма (АБА) и атопический дерматит (АтД). Выявление причинно-значимого аллергена у больных аллергией имеет решающее значение для диагностики, терапии и профилактики аллергических заболеваний. В Корею разработан мультиплексный тест Allergy-Q® для выявления специфических IgE. Allergy-Q® основан на методе иммуноблотинга с использованием нитроцеллюлозной мембраны в качестве твердой фазы для иммобилизации аллергена и может обнаруживать аллерген-специфические IgE одновременно к 107 аллергенам. Цель работы — провести сравнительный анализ наличия аллерген-специфических IgE к пищевым, грибковым, пыльцевым, бытовым, эпидермальным аллергенам в сыворотке крови методом иммуноблотинга с помощью тест-системы Allergy-Q® у больных атопическим дерматитом, атопической бронхиальной астмой и псориазом.

В исследование включены больные атопическим дерматитом (АтД, 1-я группа, n = 9), атопической бронхиальной астмой (АБА, 2-я группа, n = 14) и псориазом (ПС, 3-я группа, n = 17). Концентрацию общего иммуноглобулина Е и аллерген-специфических иммуноглобулинов класса Е в сыворотке крови к 32 наиболее распространенным пищевым, грибковым, пыльцевым, бытовым, эпидермальным аллергенам определяли методом иммуноблотинга с помощью тест-системы Allergy-Q® (Корея).

В результате проведенного исследования установлено, что сенсibilизация атопического генеза отмечена у всех больных АтД (n = 9), у 85,7% (n = 12) больных атопической бронхиальной астмой и у 47,1% (n = 8) больных псориазом. Определено, что во всех группах обследованных преобладала поливалентная сенсibilизация. При изучении спектра сенсibilизации к пищевым аллергенам установлено статистически значимое повышение частоты встречаемости положительных реакций к белку коровьего молока в группе больных АБА в сравнении с группами больных АтД и ПС. Во всех изучаемых группах обнаружена сенсibilизация к грибкам рода *Alternaria* с наибольшей частотой встречаемости в группе больных АБА. Сенсibilизация к пыльце амброзии была самой распространенной

Адрес для переписки:

Барило Анна Александровна
Научно-исследовательский институт медицинских
проблем Севера
660022, Россия, г. Красноярск,
ул. Партизана Железняка, 3г.
Тел.: 8 (913) 158-40-20.
E-mail: anntomsk@yandex.ru

Address for correspondence:

Anna A. Barilo
Research Institute of Medical Problems of the North
660022, Russian Federation, Krasnoyarsk, Partizan
Zheleznyak str., 3g.
Phone: +7 (913) 158-40-20.
E-mail: anntomsk@yandex.ru

Образец цитирования:

А.А. Барило, С.В. Смирнова, В.Д. Беленюк,
А.А. Савченко, А.Г. Борисов «К вопросу специфической
аллергологической диагностики атопии *in vitro*»
// Российский иммунологический журнал, 2023. Т. 26,
№ 1. С. 69-76.
doi: 10.46235/1028-7221-1156-IOS

© Барило А.А. и соавт., 2023

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.A. Barilo, S.V. Smirnova, V.D. Belenyuk, A.A. Savchenko,
A.G. Borisov "Issues of specific *in vitro* allergological diagnosis
of atopic conditions", Russian Journal of Immunology/
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2023, Vol. 26, no. 1,
pp. 69-76.
doi: 10.46235/1028-7221-1156-IOS

© Barilo A.A. et al., 2023

The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-1156-IOS

среди всех групп больных. Сенсibilизация к бытовым и эпидермальным аллергенам в группах больных АД и АБА отмечена ко всем изучаемым аллергенам с наибольшей частотой встречаемости к эпителию кошки и перхоти собаки.

В настоящем исследовании система Allergy-Q® показала совпадение с предварительными данными специфического аллергологического обследования. Это позволяет предположить, что использование метода иммуноблоттинга с помощью системы Allergy-Q® может быть высокоэффективным альтернативным другим методам диагностики атопии *in vitro*. Преимуществом мультиплексного набора Allergy-Q® для обнаружения аллерген-специфических IgE в сыворотке крови является короткое время проведения теста, небольшое количество образца крови и расширенная клиническая информация о причинно-значимых аллергенах.

Ключевые слова: Allergy-Q®, атопия, иммуноблоттинг, аллерген, поллиноз, атопическая бронхиальная астма, атопический дерматит, псориаз

ISSUES OF SPECIFIC *IN VITRO* ALLERGOLOGICAL DIAGNOSIS OF ATOPIC CONDITIONS

Barilo A.A., Smirnova S.V., Belenyuk V.D., Savchenko A.A., Borisov A.G.

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

Abstract. There is a steady increase in the prevalence of allergic diseases of atopic origin worldwide, e.g., atopic bronchial asthma (ABA) and atopic dermatitis (AD). Identification of a causally significant allergen in allergic patients is crucial for the diagnosis, therapy and prevention of allergic diseases. Korea has developed the Allergy-Q® multiplex test to detect specific IgE. Allergy-Q® is based on an immunoblotting method using a nitrocellulose membrane as a solid phase for allergen immobilization and can detect allergen-specific IgE simultaneously to 107 allergens. Our aim was to conduct a comparative analysis for detectable allergen-specific IgE antibodies to food, fungal, pollen, household, epidermal allergens in blood serum by immunoblotting method using the Allergy-Q® test system in patients with atopic dermatitis, atopic bronchial asthma and psoriasis.

The study included patients with atopic dermatitis (AD, group 1, n = 9), atopic bronchial asthma (ABA, group 2, n = 14) and psoriasis (PS, group 3, n = 17). The concentration of total immunoglobulin E and allergen-specific immunoglobulins of class E in blood serum to 32 most common food, fungal, pollen, household, epidermal allergens was determined by the immunoblotting method using the Allergy-Q® test system (Korea).

We have found that sensitization of atopic origin was observed in all patients with AD (n = 9), in 85.7% (n = 12) of patients with atopic bronchial asthma, and in 47.1% (n = 8) of patients with psoriasis. Polyvalent sensitization was shown to prevail in all groups of the examined persons. When studying the spectrum of sensitization to food allergens, a significantly increased frequency of positive reactions to cow's milk protein was found in the group of patients with AAA as compared with AD and PS groups. Among all studied groups, sensitization to the *Alternaria* fungi was found at the highest frequency in the group of patients with ABA. Sensitization to ragweed pollen was very common in all groups of patients. Sensitization to household and epidermal allergens in the groups with AD and AAA was noted for all studied allergens with the highest positivity rates for the feline epithelium and dog dander.

In the present study, the Allergy-Q® system showed an agreement with preliminary data from a specific allergological examinations. This relationship suggests a potential for usage of the Allergy-Q® immunoblotting method as a highly effective alternative to other *in vitro* tests for diagnosing atopy. An advantage of the Allergy-Q® Multiplex Serum Allergen-Specific IgE Detection Kit is a short processing time, small amount of blood sample, and broader clinical information on the causative allergens.

Keywords: Allergy-Q®, атопия, иммуноблоттинг, аллерген, hay fever, atopic bronchial asthma, atopic dermatitis, psoriasis

Введение

В мире отмечается неуклонный рост распространенности аллергических заболеваний респираторного тракта (бронхиальная астма, аллергический ринит) и кожи (атопический дерматит, крапивница) [14]. При этом распространенность аллергической патологии различается в зависимости от возраста, пола, наследственной предрасположенности и климато-географических особенностей региона [1, 5, 9, 12]. Выявление причинно-значимого аллергена имеет решающее значение для диагностики, терапии и профилактики аллергии [9]. В структуре аллергической патологии ведущее место занимают заболевания с атопической иммунопатологической основой запуска аллергии: атопическая бронхиальная астма (АБА) и атопический дерматит (АтД) [4, 14]. В качестве скринингового метода выявления и идентификации причинного аллергена при атопии может быть использовано определение аллерген-специфических иммуноглобулинов Е (IgE) в сыворотке крови [7, 13]. В настоящее время в клинической практике широко используются иммунохимические методы, основанные на иммуноферментном или иммунофлюоресцентном анализе [7]. Одним из самых популярных методов диагностики атопии *in vitro* является тест ImmunoCAP®, основанный на методике флуоресцентного иммуноферментного анализа с целью выявления специфических IgE к определенным аллергенам [7, 10, 11]. Однако время прохождения этого метода продолжительнее и стоимость тестирования выше, чем у мультиплексных тестов. В Корее разработан мультиплексный тест Allergy-Q® для выявления специфических IgE. Allergy-Q®, который основан на методе иммуноблотинга с использованием нитроцеллюлозной мембраны в качестве твердой фазы для иммобилизации аллергена и может обнаруживать аллерген-специфические IgE одновременно к 107 аллергенам [6, 8]. Система Allergy-Q® имеет внутреннюю калибровочную настройку, которая позволяет пользователю регулировать концентрацию специфических IgE по отношению к общему уровню IgE в сыворотке крови [8]. В связи с чем оценка эффективности применения нового метода диагностики атопии *in vitro* является актуальной.

Цель исследования – провести сравнительный анализ наличия аллерген-специфических IgE к пищевым, грибковым, пыльцевым, бытовым и эпидермальным аллергенам в сыворотке крови методом иммуноблотинга с помощью тест-системы Allergy-Q® у больных атопическим дерматитом, атопической бронхиальной астмой и псориазом.

Материалы и методы

В исследование включены больные атопическим дерматитом (АтД, 1-я группа, n = 9), атопической бронхиальной астмой (АБА, 2-я группа, n = 14) и псориазом (ПС, 3-я группа, n = 17). Средний возраст больных 1 группы составил $29,6 \pm 2,9$ года, 2 группы – $11,2 \pm 1,3$ лет, 3 группы – $36,9 \pm 3,3$ года. Больные псориазом включены в настоящее исследование поскольку проведенное нами ранее специфическое аллергологическое обследование (включая prick-тестирование) показало наличие сенсибилизации к ряду аллергенов [2]. Исследования одобрены на заседании этического комитета НИИ медицинских проблем Севера обособленного подразделения ФИЦ КНЦ СО РАН (НИИ МПС). Протокол обследования больных соответствовал этическим стандартам и был разрешен комитетом по биомедицинской этике НИИ МПС (Протокол № 12 от 10.12.2013 г.). Право на проведение обследования юридически закреплялось информированным согласием пациента.

Концентрацию общего иммуноглобулина Е и аллерген-специфических иммуноглобулинов класса Е в сыворотке крови к 32 наиболее распространенным пищевым, грибковым, пыльцевым, бытовым и эпидермальным аллергенам определяли методом иммуноблотинга с помощью тест-системы Allergy-Q® (Корея). Система Allergy-Q® позволяет выявить концентрацию аллерген-специфических IgE в сыворотке крови при уровне антител от 0,15 МЕ/мл. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью прикладных программ Statistica 8.0 с расчетом обобщающих коэффициентов: средняя величина (M) и ошибка средней (m). Полученные результаты представлены в виде: Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$) %. Статистически значимыми считались различия при достигнутом уровне $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследования установлено, что сенсибилизация атопического генеза отмечена у всех больных атопическим дерматитом (n = 9), у 85,7% (n = 12) больных атопической бронхиальной астмой и у 47,1% (n = 8) больных псориазом.

При изучении спектра сенсибилизации к пищевым аллергенам установлено статистически значимое повышение частоты встречаемости положительных реакций к белку коровьего молока в группе больных АБА в сравнении с группами больных АтД и ПС (табл. 1). Кроме того, во всех группах определена высокая частота встречаемости сенсибилизации к персику. Наибольшее

ТАБЛИЦА 1. ОСОБЕННОСТИ ВЫЯВЛЕНИЯ АЛЛЕРГЕН-СПЕЦИФИЧЕСКИХ IgE К ПИЩЕВЫМ АЛЛЕРГЕНАМ БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ, АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И ПСОРИАЗОМ, % (n)

TABLE 1. FEATURES OF THE CONCENTRATION OF ALLERGEN-SPECIFIC IgE TO FOOD ALLERGENS, % (n)

Наименование аллергенов Allergens	1-я группа АтД 1 st group AD (n = 9)	2-я группа АБА 2 nd group ABA (n = 12)	3-я группа ПС 3 rd group PS (n = 8)	p
Пищевые аллергены / Food allergens				
Коровье молоко Cow's milk	22,2% (n = 2)	66,7% (n = 8)	12,5% (n = 1)	p _{1,2} = 0,04 p _{1,3} = 0,6 p _{2,3} = 0,02
Мясо говядины Beef meat	0% (n = 0)	8,3% (n = 1)	0% (n = 0)	p _{1,2} = 0,4 p _{2,3} = 0,4
Куриное яйцо (белок) Chicken egg (protein)	0% (n = 0)	0% (n = 0)	0% (n = 0)	–
Мясо курицы Chicken's meat	0% (n = 0)	0% (n = 0)	0% (n = 0)	–
Мясо свинины Pork meat	0% (n = 0)	0% (n = 0)	0% (n = 0)	–
Рис Rise	11,1% (n = 1)	0% (n = 0)	0% (n = 0)	p _{1,2} = 0,6 p _{1,3} = 0,3
Пекарские дрожжи Baker's yeast	0% (n = 0)	0% (n = 0)	0% (n = 0)	–
Картофель Potato	11,1% (n = 1)	0% (n = 0)	0% (n = 0)	p _{1,2} = 0,6 p _{1,3} = 0,3
Персик Peach	44,4% (n = 4)	41,7% (n = 5)	37,5% (n = 3)	p _{1,2} = 0,9 p _{1,3} = 0,8 p _{2,3} = 0,9
Яблоко Apple	11,1% (n = 1)	0% (n = 0)	0% (n = 0)	p _{1,2} = 0,6 p _{1,3} = 0,3
Соевые бобы Soya beans	0% (n = 0)	8,3% (n = 1)	0% (n = 0)	p _{1,2} = 0,4 p _{2,3} = 0,4
Арахис Peanut	11,1% (n = 1)	0% (n = 0)	0% (n = 0)	p _{1,2} = 0,6 p _{1,3} = 0,3
Мидии/устрицы Mussels/oysters	0% (n = 0)	0% (n = 0)	0% (n = 0)	–
Крабы Crabs	11,1% (n = 1)	8,3% (n = 1)	0% (n = 0)	p _{1,2} = 0,8 p _{1,3} = 0,3 p _{2,3} = 0,4
Креветки Shrimps	11,1% (n = 1)	8,3% (n = 1)	0% (n = 0)	p _{1,2} = 0,8 p _{1,3} = 0,3 p _{2,3} = 0,4
Скумбрия Mackerel	11,1% (n = 1)	0% (n = 0)	0% (n = 0)	p _{1,2} = 0,6 p _{1,3} = 0,3

Примечание. % (n) – относительное и абсолютное количество сенсibilизированных больных.

Note. % (n), relative and absolute number of sensitized patients.

разнообразие сенсibilизации к пищевым аллергенам определено в группах больных АтД (к 9 аллергенам) и больных АБА (к 6 аллергенам) в сравнении с больными ПС (к 2 аллергенам).

В группе больных АтД определена сенсibilизация ко всем изученным пыльцевым аллергенам

(7 аллергенов) (табл. 2). Чаше отмечена сенсibilизация к пыльце дуба и амброзии.

В группе больных АБА также отмечен широкий спектр сенсibilизации – практически ко всем аллергенам (6 аллергенов). Чаше отмечена сенсibilизация к пыльце амброзии.

ТАБЛИЦА 2. ОСОБЕННОСТИ ВЫЯВЛЕНИЯ АЛЛЕРГЕН-СПЕЦИФИЧЕСКИХ IgE К ПЫЛЬЦЕВЫМ, ГРИБКОВЫМ, БЫТОВЫМ, ЭПИДЕРМАЛЬНЫМ АЛЛЕРГЕНАМ БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ, АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И ПСОРИАЗОМ, % (n)

TABLE 2. FEATURES OF DETECTION OF ALLERGEN-SPECIFIC IgE TO POLLEN, FUNGAL, HOUSEHOLD, EPIDERMAL ALLERGENS IN PATIENTS WITH ATOPIC DERMATITIS, ATOPIC BRONCHIAL ASTHMA AND PSORIASIS, % (n)

Наименование аллергенов Allergens	1-я группа АтД 1 st group AD (n = 9)	2-я группа АБА 2 nd group ABA (n = 12)	3-я группа ПС 3 rd group PS (n = 8)	р
Пыльцевые аллергены / Pollen allergens				
Пшеница Wheat	11,1% (n = 1)	16,7% (n = 2)	0% (n = 0)	p _{1,2} = 0,7 p _{1,3} = 0,4 p _{2,3} = 0,2
Хмель Hop grass	11,1% (n = 1)	8,3% (n = 1)	0% (n = 0)	p _{1,2} = 0,4 p _{1,3} = 0,4 p _{2,3} = 0,8
Ольха Alder	22,2% (n = 2)	8,3% (n = 1)	0% (n = 0)	p _{1,2} = 0,4 p _{1,3} = 0,2 p _{2,3} = 0,2
Береза Birch	22,2% (n = 2)	0% (n = 0)	0% (n = 0)	p _{1,3} = 0,2 p _{1,2} = 0,09
Дуб Oak-tree	44,4% (n = 4)	33,3% (n = 4)	12,5% (n = 1)	p _{1,2} = 0,6 p _{1,3} = 0,1 p _{2,3} = 0,3
Амброзия Ambrosia grass	44,4% (n = 4)	58,3% (n = 7)	75,0% (n = 6)	p _{1,2} = 0,5 p _{1,3} = 0,2 p _{2,3} = 0,4
Полынь Grass wormwood	33,3% (n = 3)	8,3% (n = 1)	0% (n = 0)	p _{1,2} = 0,1 p _{1,3} = 0,07 p _{2,3} = 0,4
Грибковые аллергены / Fungal allergens				
Alternaria alternate	22,2% (n = 2)	50,0% (n = 6)	37,5% (n = 3)	p _{1,2} = 0,2 p _{1,3} = 0,5 p _{2,3} = 0,6
Aspergillus fumigatus	11,1% (n = 1)	16,7% (n = 2)	0% (n = 0)	p _{1,2} = 0,2 p _{1,3} = 0,4 p _{2,3} = 0,7
Бытовые и эпидермальные аллергены / Household and epidermal allergens				
Dermatophagoides pteronysinus	22,2% (n = 2)	16,7% (n = 2)	0% (n = 0)	p _{1,2} = 0,7 p _{1,3} = 0,2 p _{2,3} = 0,2
Dermatophagoides farinae	22,2% (n = 2)	25,0% (n = 3)	0% (n = 0)	p _{1,2} = 0,9 p _{1,3} = 0,2 p _{2,3} = 0,1
Домашняя пыль House dust	22,2% (n = 2)	33,3% (n = 4)	0% (n = 0)	p _{1,2} = 0,6 p _{1,3} = 0,2 p _{2,3} = 0,07
Эпителий кошки Cat epithelium	44,4% (n = 4)	75,0% (n = 9)	37,5% (n = 3)	p _{1,2} = 0,1 p _{1,3} = 0,8 p _{2,3} = 0,09
Перхоть собаки Dog dandruff	44,4% (n = 4)	75,0% (n = 9)	87,5% (n = 7)	p _{1,2} = 0,1 p _{1,3} = 0,06 p _{2,3} = 0,5
Таракан Cockroach	11,1% (n = 1)	41,7% (n = 5)	0% (n = 0)	p _{1,2} = 0,1 p _{1,3} = 0,4 p _{2,3} = 0,04
Куколка шелкопряда Silkworm chrysalis	11,1% (n = 1)	8,3% (n = 1)	0% (n = 0)	p _{1,2} = 0,4 p _{1,3} = 0,4 p _{2,3} = 0,8

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

В группе больных ПС положительный тест отмечен лишь к 2 пыльцевым аллергенам: дуб и амброзия.

Следует отметить, что сенсibilизация к пыльце амброзии была самой распространенной среди всех групп больных.

Сенсibilизация к грибкам рода *Alternaria* обнаружена во всех изучаемых группах больных с наибольшей частотой встречаемости в группе больных АБА.

Сенсibilизация к бытовым и эпидермальным аллергенам в группах больных АтД и АБА отмечена ко всем изученным аллергенам с наибольшей частотой встречаемости к эпителию кошки и перхоти собаки. В группе больных АБА определена высокая частота встречаемости сенсibilизации к аллергенам таракана. В группе больных ПС выявлена лишь сенсibilизация к эпителию кошки и перхоти собаки.

Определено, что во всех группах обследованных преобладала поливалентная сенсibilизация: 66,7% (n = 6), 83,3% (n = 10) и 75,0% (n = 6), соответственно. Моновалентная сенсibilизация отмечена чаще в группе больных АтД (33,3%) в сравнении с группой больных АБА (8,3%) и ПС (25%). Бивалентная сенсibilизация отмечена лишь в группе больных АБА – 8,3% (n = 1) случаев.

Таким образом, в проведенном исследовании определено наличие аллерген-специфических IgE к пищевым, грибковым, пыльцевым, бытовым, эпидермальным аллергенам в сыворотке крови методом иммуноблотинга с помощью тест-системы Allergy-Q® в основном в группах больных классическими аллергическими заболеваниями атопического генеза (атопическим дерматитом и атопической бронхиальной астмой) и реже в группе больных псориазом. Высокая частота положительных тестов свидетельствует об эффективности данного метода диагностики атопии *in vitro*.

Атопическая основа запуска аллергии при псориазе подтверждена в 47,1% случаев (аллерген-специфические IgE) в структуре сенсibilизированных больных по результатам предварительного специфического аллергологического обследования, включая кожное prick-тестирование [2]. Больные ПС с установленной атопией имели отягощенный аллергологический анамнез, сезонные

проявления аллергии и положительные результаты кожного prick-тестирования. Следовательно, аллергическое повреждение кожи при псориазе может быть связано с участием в его патогенезе и других иммунопатологических (не-IgE опосредованных) механизмов запуска аллергии [2, 3]. Эти данные позволяют сделать вывод о том, что больным ПС при наличии диагностических эквивалентов аллергии для выявления причинно-значимого аллергена предпочтительно использовать кожное prick-тестирование с последующей диагностикой атопии *in vitro*

Заключение

Система Allergy-Q® – это скрининговое исследование определения аллерген-специфических IgE к различным аллергенам методом иммуноблотинга [6, 8]. Отличительными особенностями данного метода по сравнению с мультиплексными анализами являются внутренняя калибровка с использованием 5 стандартных измерений уровня содержания аллерген-специфического иммуноглобулина Е и снижение требований к образцу. Измерение концентрации специфического иммуноглобулина Е с целью детекции причинно-значимого аллергена должно быть максимально точным. Allergy-Q® можно использовать для количественного измерения специфического иммуноглобулина Е. Стандартный иммуноферментный анализ на аллергены имеет пороговую концентрацию антител на уровне 0,35 МЕ/мл. Преимуществами мультиплексного набора Allergy-Q® для обнаружения аллерген-специфических IgE в сыворотке крови являются небольшое количество образца крови и короткое время проведения теста [6, 8]. В исследованиях, проведенных в корейской популяции, система Allergy-Q® продемонстрировала высокий процент соответствия (> 85%) в сравнении с флуоресцентным иммуноферментным анализом ImmunoCAP® [6, 8].

В настоящем исследовании система Allergy-Q® показала совпадение с предварительными данными специфического аллергологического обследования. Все это позволяет предположить, что использование метода иммуноблотинга с помощью системы Allergy-Q® может быть высокоэффективным альтернативным другим методам диагностики атопии *in vitro*.

Список литературы / References

1. Барило А.А., Борисова И.В., Смирнова С.В. Дерматореспираторный синдром как проявление пищевой аллергии у детей // Российский аллергологический журнал, 2019. Т. 16, № 1-2. С. 32-34. [Barilo A.A., Borisova I.V., Smirnova S.V. The dermato-respiratory syndrome as a manifestation of food allergy in children. *Rossiyskiy allergologicheskii zhurnal = Russian Journal of Allergy*, 2019, Vol. 16, no. 1-2, pp. 32-34. (In Russ.)]
2. Барило А.А., Смирнова С.В. Сравнительный анализ спектра сенсibilизации к пищевым, пыльцевым и грибковым аллергенам пациентов псориазом и атопическим дерматитом // Вопросы питания, 2020.

T. 89, № 5. С. 28-34. [Barilo A.A., Smirnova S.V. The comparative analysis of the spectrum of sensitization to food, pollen and fungal allergens in patients with atopic dermatitis and psoriasis. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition*, 2020, Vol. 89, no. 5, pp. 28-34. (In Russ.)]

3. Барило А.А., Смирнова С.В., Смольникова М.В. Показатели иммунитета у больных псориазом в зависимости от возраста // Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 1. С. 69-76. [Barilo A.A., Smirnova S.V., Smolnikova M.V. Age-dependent indexes of immunity in the patients with psoriatic arthritis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2019, Vol. 21, no. 1, pp. 69-76. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2019-1-69-76.

4. Борисов А.Г., Савченко А.А., Смирнова С.В. К вопросу о классификации нарушений функционального состояния иммунной системы // Сибирский медицинский журнал, 2008. Т. 23, № 3-1. С. 13-18. [Borisov A.G., Savchenko A.A., Smirnova S.V. On classification of immune system functional status injuries. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal = Siberian Medical Journal*, 2008, Vol. 23, no. 3-1, pp. 13-18. (In Russ.)]

5. Gupta R.S., Warren C.M., Smith B.M., Jiang J., Blumenstock J.A., Davis M.M., Schleimer R.P., Nadeau K.C. Prevalence and Severity of Food Allergies Among US Adults. *JAMA Netw. Open*, 2019, Vol. 2, no. 1, e185630. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2018.5630.

6. Kim S.R., Park K.H., Lee J.H., Kim B.J., Hwang J.H., Lim K.J., Park J.W. Validation of PROTIA™ Allergy-Q 64 Atopy[®] as a Specific IgE Measurement Assay for 10 Major Allergen Components. *Allergy Asthma Immunol. Res.*, 2019, Vol. 11, no. 3, pp. 422-432.

7. Lokas S.B., Plavec D., Piskovic J.R., Zivkovic J., Nogalo B., Turkalj M. Allergen-specific IgE measurement: intermethod comparison of two assay systems in diagnosing clinical allergy. *J. Clin. Lab. Anal.*, 2017, Vol. 31, no. 3, e22047. doi: 10.1002/jcla.22047.

8. Lee J.H., Park H.J., Park K.H., Jeong K.Y., Park J.W. Performance of the PROTIA™ Allergy-Q[®] System in the Detection of Allergen-specific IgE: A Comparison With the ImmunoCAP[®] System. *Allergy Asthma Immunol Res.*, 2015, Vol. 7, no. 6, pp. 565-572.

9. Nelson H.S. The importance of allergens in the development of asthma and the persistence of symptoms. *Dis. Mon.*, 2001, Vol. 47, no. 1, pp. 5-15.

10. Park K.H., Lee J., Sim D.W., Lee S.C. Comparison of singleplex specific IgE detection immunoassays: ImmunoCAP Phadia 250 and Immulite 2000 3gAllergy. *Ann. Lab. Med.*, 2018, Vol. 38, pp. 23-31.

11. Park K.H., Lee J., Lee S.C., Son Y.W., Sim D.W., Lee J.H., Park J.W. Comparison of the ImmunoCAP assay and AdvanSure™ AlloScreen advanced multiplex specific IgE detection assay. *Yonsei Med. J.*, 2017, Vol. 58, pp. 786-792.

12. Sicherer S.H., Warren C.M., Dant C., Gupta R.S., Nadeau K.C. Food Allergy from Infancy Through Adulthood. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.*, 2020, Vol. 8, no. 6, pp. 1854-1864.

13. Uyttendaele A.P., Sabato V., Bridts C.H., de Clerck L.S., Ebo D.G. Immunoglobulin E antibodies to atracurium: a new diagnostic tool? *Clin. Exp. Allergy*, 2015, Vol. 45, pp. 485-487.

14. Yang L., Fu J., Zhou Y. Research Progress in Atopic March. *Front. Immunol.*, 2020, Vol. 11, 1907. doi: 10.3389/fimmu.2020.01907.

Авторы:

Барило А.А. — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера — обособленного подразделения ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», г. Красноярск, Россия

Смирнова С.В. — д.м.н., профессор, руководитель научного направления Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера — обособленного подразделения ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», г. Красноярск, Россия

Беленюк В.Д. — младший научный сотрудник лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера — обособленного подразделения ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», г. Красноярск, Россия

Authors:

Barilo A.A., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Clinical Pathophysiology, Research Institute of Medical Problems of the North, Federal Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

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

Belenyuk V.D., Junior Research Associate, Laboratory of Molecular and Cellular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, Federal Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

Савченко А.А. — д.м.н., профессор, заведующий лабораторией клеточно-молекулярной физиологии и патологии Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера — обособленного подразделения ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», г. Красноярск, Россия

Борисов А.Г. — к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера — обособленного подразделения ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», г. Красноярск, Россия

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

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

Поступила 17.06.2022
Принята к печати 08.11.2022

Received 17.06.2022
Accepted 08.11.2022

КОМПЛЕКСНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ С ПОСТКОВИДНЫМ СИНДРОМОМ

Садовский И.С.¹, Круглова О.С.², Савченко А.А.¹,
Собко Е.А.², Каспаров Э.В.¹, Демко И.В.², Борисов А.Г.¹

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

² ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия

Резюме. На сегодняшний день в мире активно занимаются выделением новых маркеров, характеризующих тяжесть состояния после перенесенного COVID-19. Для более детального понимания того, какие изменения вызывает вирус SARS-CoV-2 в организме человека и с чем взаимосвязано длительное сохранение симптомов после перенесенной новой коронавирусной инфекции, необходимо оценить связь между степенью тяжести после заболевания и показателями клинического анализа крови. Цель работы – выделение прогностических маркеров по клиническому анализу крови, коррелирующих с тяжестью состояния пациентов после перенесенной новой коронавирусной инфекции.

В исследование включены 372 пациента в постковидный период. Исходное течение заболевания оценивалось с использованием шкалы клинического прогрессирования ВОЗ. Разделение пациентов на группы осуществлялось по шкале функционального состояния после COVID-19 (PCFS). В анализе крови обследуемых были выделены критические значения лабораторных показателей, которые были проанализированы на предмет наличия взаимосвязей с тяжестью синдрома. Проведен качественный анализ типов реакции иммунной системы в программе «Протист».

Установлены наиболее статистически выраженные изменения у пациентов группы 1. Коэффициенты NLR, LMR, SII при сравнении с группой пациентов 1, 2, 3 были ниже. Индекс PLR был ниже при сравнении с группой пациентов 0. Других статистических различий между группами не выявлено. Поэтому интерес вызывает исследование качественных показателей. В группах больных 0, 1, 2 в основном определяется ареактивность иммунитета (71-92%), а в группах пациентов 3 и 4 уже у половины обследуемых наблюдается активация врожденного иммунитета, активация адаптивного иммунитета и иммунодефицит (угнетение иммунитета). Пациенты группы 2 занимали промежуточное состояние.

В постковидный период общие гематологические нарушения не являются выраженными и достаточными для постановки диагноза. В большей степени необходимо ориентироваться на комплексные качественные показатели. Как один из основных качественных параметров у пациентов в постковид-

Адрес для переписки:

Садовский Иван Сергеевич
Научно-исследовательский институт медицинских
проблем Севера
660022, Россия, г. Красноярск,
ул. Партизана Железняка, 3г.
Тел.: 8 (902) 011-57-15.
E-mail: sadovskii24@rambler.ru

Address for correspondence:

Ivan S. Sadovskiy
Research Institute of Medical Problems of the North
660022, Russian Federation, Krasnoyarsk,
Partizan Zheleznyak str., 3g.
Phone: +7 (902) 011-57-15.
E-mail: sadovskii24@rambler.ru

Образец цитирования:

И.С. Садовский, О.С. Круглова, А.А. Савченко,
Е.А. Собко, Э.В. Каспаров, И.В. Демко, А.Г. Борисов
«Комплексные показатели воспаления у больных
с постковидным синдромом» // Российский
иммунологический журнал, 2023. Т. 26, № 1. С. 77-86.
doi: 10.46235/1028-7221-1186-СII

© Садовский И.С. и соавт., 2023
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

I.S. Sadovskiy, O.S. Kruglova, A.A. Savchenko, E.A. Sobko,
E.V. Kasparov, I.V. Demko, A.G. Borisov “Complex
inflammation indexes in patients with post-COVID syndrome”,
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2023, Vol. 26, no. 1, pp. 77-86.
doi: 10.46235/1028-7221-1186-CII

© Sadovskiy I.S. et al., 2023
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-1186-CII

ный период имеет смысл использовать «Методику определения типа реакции иммунитета по развернутому анализу крови» При этом оценка типа иммунной реакции позволяет не только выявить пациентов с постковидным синдромом, но и провести отбор пациентов, нуждающихся в противовоспалительной и детоксикационной терапии.

Ключевые слова: постковидный синдром, гранулоциты, лимфоциты, нейтрофилы, моноциты, тромбоциты, индекс системного иммунного воспаления, типы реакций иммунной системы

COMPLEX INFLAMMATION INDEXES IN PATIENTS WITH POST-COVID SYNDROME

Sadovskiy I.S.^a, Kruglova O.S.^b, Savchenko A.A.^a, Sobko E.A.^b,
Kasparov E.V.^a, Demko I.V.^b, Borisov A.G.^a

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

^b *Krasnoyarsk State V. Voyno-Yasenetsky Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation*

Abstract. Today, the world is actively engaged in the selection of new markers that correlate with severity of the condition after recovery from COVID-19. For a more detailed understanding of the changes caused by SARS-CoV-2 virus in the human body, and assessment of the factors correlating with long-term persistence of symptoms after a new coronavirus infection, one should evaluate the relationships between the severity of the disease and the indices of clinical and biochemical blood tests. The purpose of the work was to reveal prognostic markers based on clinical blood testing which correlate with severity of the patient's condition after a new coronavirus infection.

The study included 372 patients in the post-COVID period. Initial course of the disease was assessed using the WHO Clinical Progression Scale. The patients were divided into groups according to the Post-COVID-19 Functional Status Scale (PCFS). When performing clinical blood analysis of subjects, critical points of laboratory parameters were identified and analyzed for presence of relationships with severity of the syndrome. Qualitative analysis of distinct types of immune reactions was carried out using the Protist software.

The more pronounced statistically significant changes were found for the group 1. The NLR, LMR, SII coefficients were lower when compared with group 1, 2, 3. The PLR index was lower when compared with group 0. There were no other statistical differences between the groups. Therefore, the study of qualitative indexes is of interest. Suppressed immune response (71-92%) was revealed, mainly, in groups 0, 1, 2. Activation of innate immunity, increased adaptive immunity and immunodeficiency (immune suppression) in groups 3 and 4 are observed in a half of the cases. The patients from group 2 took an intermediate position.

Over the post-COVID period, general hematological disorders are not pronounced and sufficient for making a diagnosis. Therefore, one should bring more attention to complex qualitative indicators. It makes sense to use the "Methods for determining the type of immune response by a comprehensive blood test" as one of the main qualitative parameters in patients in the post-COVID period. At the same time, assessing the type of immune response allows not only to identify patients with post-COVID syndrome, but also to select patients who require anti-inflammatory and detoxication therapy.

Keywords: Post-COVID syndrome, granulocytes, lymphocytes, neutrophils, monocytes, platelets, systemic immune inflammation, markers, immune system reactions

Введение

Коронавирусная инфекция 2019 года (COVID-19), зарегистрированная в Ухане (Китай), быстро распространилась по всему миру, а

число случаев заболевания в 2019-2022 годах увеличивалось с геометрической прогрессией [1, 4]. В настоящее время система здравоохранения по всему миру столкнулась с другой немаловажной

проблемой, а именно с последствиями, вызванными вирусом SARS-CoV-2 на организм человека. Начиная с весны 2020 года, множество людей, переболевших коронавирусной инфекцией, вне зависимости от тяжести течения, сообщали о различных симптомах (головные боли, усталость, недомогание, гипертермия, одышка, паросмия, мышечная слабость, когнитивная дисфункция и др.) [1, 5]. Данное состояние получило название постковидный синдром (Post-COVID syndrome), характеризующийся спектром стойких, не исчезающих свыше 12 недель симптомов, что связано в значительной степени с нарушением функции иммунной системы [6].

Большей части пациентов с постковидным синдромом требуется динамическое наблюдение, в связи с чем в 2020 году Klok F.A. и соавт. разработали порядковую шкалу по ранжированию пациентов после перенесенного COVID-19, с целью выделения значимых критериев и объединения их в категории – шкала функционального состояния после COVID-19 (PCFS) [7].

Однако эти критерии в большинстве случаев субъективны. При этом для характеристики реакции иммунной системы более объективно использовать результаты клинического анализа крови, точнее лейкоцитарную формулу и различные коэффициенты и индексы, ранее хорошо показавшие себя при прогнозе течения острого COVID-19. Наиболее наглядными являются коэффициенты NLR (отношение гранулоцитов к лимфоцитам), PLR (отношение тромбоцитов к лимфоцитам), LMR (отношение лимфоцитов к моноцитам), MLR (отношение моноцитов к лимфоцитам), а также индекс системного иммунного воспаления SII (рассчитан на основе показателей крови – тромбоцитов, гранулоцитов и лимфоцитов) [10].

Помимо количественных показателей, в связи с многовекторностью реакций иммунной системы, вызывает интерес оценка качественной реакции иммунитета. Согласно «Методике определения типа реакции иммунитета по развернутому анализу крови» выделяют группы с активацией врожденного и адаптивного иммунитета, ареактивностью и иммунодефицитами [1]. Эффективность данного метода показана на примере абдоминального сепсиса [11].

Целью исследования явилось выделение прогностически ценных комплексных показателей воспаления по клиническому анализу крови и определение типов реакции иммунитета у пациентов с постковидным синдромом.

Материалы и методы

Пациенты и дизайн исследования

На базе НИИ МПС и КГБУЗ ККБ в период с января 2021 г. по апрель 2022 г. проведено ре-

троспективное многоцентровое наблюдательное исследование больных, перенесших COVID-19. В исследование отбирались пациенты, не менее 4 недель и не более 6 месяцев назад перенесшие COVID-19.

Исходное течение заболевания оценивалось с использованием шкалы клинического прогрессирования ВОЗ. Пациенты по тяжести течения коронавирусной инфекции были разделены на 3 подгруппы: легкое течение («0-3» по шкале ВОЗ), средней тяжести («4-5» по шкале ВОЗ), тяжелое течение («6-8» по шкале ВОЗ) [12]. Общая характеристика постковидного синдрома оценивались по шкале функционального состояния после COVID-19 (PCFS). Обследуемые на основании шкалы функционального состояния после COVID-19 (PCFS) были разделены на 5 групп, где «0» – отсутствие последствий заболевания, «1» – незначительные функциональные ограничения, «2» – легкие функциональные ограничения, «3» – умеренные функциональные ограничения и «4» – тяжелые нарушения [7]. Диагностика, лечение и оценка COVID-19 проводились на основании Временных методических указаний, разработанных Минздравом России (редакция 15, 22 февраля 2022).

Отобрано 372 пациента. Все исследуемые группы были сопоставимы по возрасту и полу (табл. 1). Для определения коэффициентов хронического воспаления были использованы следующие прогностические маркеры. Отношение гранулоцитов (N) к лимфоцитам (L) рассчитывают на основе абсолютных показателей периферических гранулоцитов, используя формулу $NLR = N/L$. Отношение тромбоцитов к лимфоцитам рассчитывают на основе показателей периферической тромбоцитов (P) и лимфоцитов, используя формулу $PLR = P/L$. Отношение моноцитов (M) к лимфоцитам рассчитывают на основе показателей периферической моноцитов, используя формулу $MLR = P/L$. Отношение лимфоцитов к моноцитам рассчитывают на основе показателей периферической лимфоцитов, используя формулу $MLR = P/L$. Системный индекс иммунного воспаления (SII) рассчитывают на основе показателей крови периферических тромбоцитов, гранулоцитов и лимфоцитов, используя следующую формулу: $SII = P * N/L$ [17]. Качественный анализ данных клинического анализа крови был приведен с использованием программы «ПРОТИСТ» (Программа оценки типа реакции иммунной системы) [18].

Исследование было одобрено комитетами по этике НИИ МПС, КГБУЗ ККБ г. Красноярск. В соответствии с Хельсинкской декларацией

ТАБЛИЦА 1. ВОЗРАСТНАЯ И ПОЛОВАЯ СТРУКТУРА ПАЦИЕНТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ НАРУШЕНИЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА

TABLE 1. AGE AND GENDER STRUCTURE OF PATIENTS DEPENDING ON THE DEGREE OF FUNCTIONAL STATUS DISORDERS

Показатели Indicators	Группа 0. Без осложнений Group 0. Without complications n = 52	Группа 1. Незначительные функциональные ограничения Group 1. Minor functional restrictions n = 75	Группа 2. Легкие функциональные ограничения Group 2. Slight functional limitations n = 124	Группа 3. Умеренные функциональные ограничения Group 3. Moderate functional limitations n = 84	Группа 4. Тяжелые функциональные нарушения Group 4. Severe functional impairment n = 37
Половая структура Sex structure					
Женщины Women	44 (85%)	57 (76%)	100 (81%)	62 (74%)	28 (76%)
Мужчины Men	8 (15%)	18 (24%)	24 (19%)	22 (26%)	9 (24%)
Возрастная группа Age group					
< 45 лет, человек Under 45 years old, people	27 (52%)	25 (33%)	37 (30%)	14 (17%)	1 (3%)
45-59 лет, человек From 45 to 59 years old, people	14 (27%)	22 (29%)	43 (35%)	28 (33%)	11 (30%)
≥ 60 лет, человек Over 60 years old, people	11 (21%)	28 (38%)	44 (35%)	42 (50%)	25 (67%)
Средний возраст, лет Average age, years	44	52	55	60	63

Примечание. n (%) – абсолютные и относительные показатели данных обследованных больных.

Note. n (%), absolute and relative indicators of these examined patients.

Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием человека» (с изменениями 2013 г.) и «Правилами надлежащей клинической практики в Российской Федерации», утвержденной приказом Минздрава России от 19 июня 2003 г. № 266.

Статистическая обработка

Выборку описывали путем вычисления медианы (Me) и межквартильного размаха ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$). Достоверность различий между независи-

ми выборками оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Достоверность различий между качественными показателями определяли по критерию χ^2 . Статистический анализ данных проводился с использованием прикладного программного обеспечения Statistica 8.0 (StatSoft, Tulsa, OK, США; 2007 г.).

Результаты и обсуждение

Особенности показателей клинического анализа крови в различных группах пациентов по

ТАБЛИЦА 2. ПОКАЗАТЕЛИ КЛИНИЧЕСКОГО АНАЛИЗА КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ НАРУШЕНИЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА

TABLE 2. INDICATORS OF A CLINICAL BLOOD TEST IN PATIENTS DEPENDING ON THE DEGREE OF FUNCTIONAL STATUS DISORDERS

Показатели Indicators	Группа 0. Без осложне- ний Group 0. Without complications n = 52	Группа 1. Незначитель- ные функцио- нальные огра- ничения Group 1. Minor functional restrictions n = 75	Группа 2. Легкие функци- ональные огра- ничения Group 2. Slight functional limitations n = 124	Группа 3. Умеренные функциональ- ные ограниче- ния Group 3. Moderate functional limitations n = 84	Группа 4. Тяжелые функ- циональные нарушения Group 4. Severe functional impairment n = 37
Лейкоциты, × 10 ⁹ /л WBC, × 10 ⁹ /L	6,65 (5,9-8,1)	6,6 (5,6-7,9)	7,0 (5,9-8,9)	7,7*# (6,1-9,3)	7,4 (5,6-10,7)
Гранулоциты, % GRA, %	55,6 (51,7-61,5)	54 (48,8-59,1)	56,7* (51,9-63,6)	58,4# (52,4-66,9)	59,4* (50,6-71,1)
Гранулоциты, × 10 ⁹ /л GRA, × 10 ⁹ /L	3,82 (2,9-4,8)	3,7 (2,9-4,6)	4,1* (3,1-5,3)	4,29*# (3,2-6,1)	3,88 (2,8-7,1)
Моноциты, % MON, %	9,3 (8,3-10,2)	9,5 (8,3-11,3)	9,2 (7,3-10,7)	9,0# (7,4-10,3)	9,0 (7,9-11,4)
Моноциты, × 10 ⁹ /л MON, × 10 ⁹ /L	0,62 (0,52-0,71)	0,65 (0,54-0,78)	0,66 (0,51-0,81)	0,67 (0,55-0,80)	0,62 (0,49-0,92)
Лимфоциты, % LYM, %	35,25 (29,4-38,3)	35,6 (30,9-39,9)	33,7* (26,5-38,4)	32,2# (25,1-37,3)	30,3* (17,8-38,8)
Лимфоциты, × 10 ⁹ /л LYM, × 10 ⁹ /L	2,25 (2,0-2,6)	2,27 (1,9-2,8)	2,25 (1,8-2,9)	2,24 (1,8-3,2)	2,06 (1,3-2,7)
Тромбоциты, × 10 ⁹ /л PLT, × 10 ⁹ /L	280 (238-310)	254* (222-285)	255 (222-299)	270,5 (220-337)	234 (202-314)

Примечание. * – достоверность отличия показателей группы 0 от группы 1, $p < 0,05$; # – достоверность отличия показателей группы 0 от группы 3, $p < 0,05$; * – достоверность отличия показателей группы 1 от группы 2, $p < 0,05$; # – достоверность отличия показателей группы 1 от группы 3, $p < 0,05$; * – достоверность отличия показателей группы 1 от группы 4, $p < 0,05$.

Note. *, reliability of the difference between the indicators of group 0 from group 1, $p < 0.05$; #, reliability of the difference between the indicators of group 0 from group 3, $p < 0.05$; *, reliability of the difference between the indicators of group 1 from group 2, $p < 0.05$; #, reliability of the difference between the indicators of group 1 from group 3, $p < 0.05$; *, reliability of the difference between the indicators of group 1 from group 4, $p < 0.05$.

состоянию после перенесенного COVID-19 представлены в таблице 2. Лейкоциты и их структурный состав являются наиболее важными показателями для расчета комплексных показателей воспаления.

У пациентов с отсутствием последствий заболевания (группа 0) показатели общего количества лейкоцитов ниже по сравнению с группой пациентов с умеренными функциональными ограничениями (группа 3) за счет увеличения числа гра-

нулоцитов, остальные параметры статистически не различались.

У больных с незначительными функциональными ограничениями (группа 1) также наблюдается сниженное количество лейкоцитов по сравнению с группой 3, связанное с увеличением абсолютного и относительного количества гранулоцитов и снижением относительного количества моноцитов и лимфоцитов. Увеличение относительного содержания гранулоцитов и сни-

ТАБЛИЦА 3. КОМПЛЕКСНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ВОСПАЛЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ НАРУШЕНИЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА

TABLE 3. COMPREHENSIVE INDICATORS OF INFLAMMATION IN PATIENTS DEPENDING ON THE DEGREE OF FUNCTIONAL STATUS DISORDERS

Показатели Indicators	Группа 0. Без осложнений Group 0. Without complications n = 52	Группа 1. Незначительные функциональные ограничения Group 1. Minor functional restrictions n = 75	Группа 2. Легкие функциональные ограничения Group 2. Slight functional limitations n = 124	Группа 3. Умеренные функциональные ограничения Group 3. Moderate functional limitations n = 84	Группа 4. Тяжелые функциональные нарушения Group 4. Severe functional impairment n = 37
NLR	1,56 (1,36-2,08)	1,54 (1,22-1,88)	1,68* (1,35-2,34)	1,82# (1,42-2,60)	2,01+ (1,33-3,98)
PLR	121 (99-141)	105* (87-131)	113 (90-144)	115 (88-151)	118 (82-162)
LMR	2,84 (2,61-3,40)	2,81 (2,51-3,24)	2,97* (2,61-3,78)	3,11# (2,68-3,99)	3,30+ (2,58-5,61)
MLR	0,27 (0,24-0,31)	0,28 (0,22-0,34)	0,29 (0,24-0,36)	0,29 (0,22-0,35)	0,29 (0,21-0,37)
SII	473 (307-610)	392* (276-488)	428* (329-650)	490# (340-653)	419 (303-944)

Примечание. * – достоверность отличия показателей группы 0 от группы 1, $p < 0,05$; * – достоверность отличия показателей группы 1 от группы 2, $p < 0,05$; # – достоверность отличия показателей группы 1 от группы 3, $p < 0,05$; + – достоверность отличия показателей группы 1 от группы 4, $p < 0,05$.

Note. *, reliability of the difference between the indicators of group 0 from group 1, $p < 0.05$; *, reliability of the difference between the indicators of group 1 from group 2, $p < 0.05$; #, reliability of the difference between the indicators of group 1 from group 3, $p < 0.05$; +, reliability of the difference between the indicators of group 1 from group 4, $p < 0.05$.

жение относительного количества моноцитов и лимфоцитов прослеживается между группой 1 и группой пациентов с легкими функциональными ограничениями (группа 2). При сравнении больных группы 1 и группы пациентов с тяжелыми нарушениями (группа 4) обнаружено сохранение увеличения относительного количества гранулоцитов и уменьшение относительного количества лимфоцитов, остальные показатели статистически не различались.

С учетом отсутствия патогномичных показателей проведен анализ комплексных показателей (табл. 3). Наибольшие статистически выраженные изменения выявлены у пациентов группы 1. Коэффициенты NLR, LMR, SII при сравнении с группой 1, 2, 3 были ниже. Индекс PLR был ниже при сравнении с группой 0. Другие статистические различия между группами больных не выявлены, поэтому появилась необходимость исследования качественных показателей.

В группах пациентов 0, 1, 2 выявлена ар-активность иммунитета (71-92%), а в группах больных 3 и 4 уже у половины исследуемых наблюдаются активация врожденного иммунитета, активация адаптивного иммунитета и иммунодефицит (угнетение иммунитета) (табл. 4). Пациенты группы 2 занимали промежуточное состояние. При статистическом анализе методом χ^2 эти параметры показали свою значимость ($\chi^2 = 64,787$, $p = 0,002$).

Клинический анализ крови входит в обязательный перечень исследований, включенных в углубленную диспансеризацию после COVID-19 с июля 2021 года, поэтому оценка состояния пациента, основанная на этом исследовании, самая доступная и массовая. При этом изменения в отдельных популяциях клеток не всегда отражают наличие хронического воспаления в организме. В данном исследовании для количественной оценки состояния нами были использованы ко-

ТАБЛИЦА 4. ОЦЕНКА ТИПА РЕАКЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПО КЛИНИЧЕСКОМУ АНАЛИЗУ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ НАРУШЕНИЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА

TABLE 4. EVALUATION OF THE TYPE OF REACTION OF THE IMMUNE SYSTEM ACCORDING TO A CLINICAL BLOOD TEST IN PATIENTS, DEPENDING ON THE DEGREE OF FUNCTIONAL STATUS DISORDERS

Тип реакции Reaction type	Группа 0. Без осложнений Group 0. Without complications n = 52	Группа 1. Незначительные функциональные ограничения Group 1. Minor functional restrictions n = 75	Группа 2. Легкие функциональные ограничения Group 2. Slight functional limitations n = 124	Группа 3. Умеренные функциональные ограничения Group 3. Moderate functional limitations n = 84	Группа 4. Тяжелые функциональные нарушения Group 4. Severe functional impairment n = 37
Активация врожденного иммунитета Activation of innate immunity	1 (2%)	0	22 (18%)	19 (23%)	12 (32%)
Активация адаптивного иммунитета Activation of adaptive immunity	1 (2%)	0	4 (3%)	5 (6%)	4 (11%)
Угнетение иммунитета Immune suppression	2 (4%)	9 (12%)	10 (8%)	12 (14%)	2 (5%)
Ареактивность иммунитета Areactivity of immunity	48 (92%)	66 (88%)	87 (71%)	48 (57%)	19 (52%)

Примечание. n (%) – абсолютные и относительные показатели данных у обследованных больных.

Note. n (%), absolute and relative values of data in the examined patients.

эффиценты и индексы, используемые для оценки состояния при острой коронавирусной инфекции. Наибольшие статистически выраженные изменения были выявлены в группе пациентов 1. Коэффициенты NLR, LMR, SPI при сравнении с группами больных 1, 2, 3 были ниже. Индекс PLR был ниже при сравнении с группой пациентов 0. Данные результаты не позволяют выделить количественные показатели, с помощью которых возможна объективная оценка тяжести постковидного синдрома.

Следующим этапом исследования была качественная оценка данных в программе «ПРОТИСТ», показавшая значительные различия по типу иммунной реакции между группами. В группах пациентов 0 и 1 процент ареактивности иммунитета среди обследуемых составлял 92% и 88% соответственно. В группах больных 3 и 4 доля таких пациентов снизилась до 57% и 52%, при этом доля пациентов с активацией адаптивного и врожденного иммунитета резко возросла:

29% в группе 3 и 43% в группе 4. Группа больных 2 занимает промежуточное положение – 21% обследуемых с активацией адаптивного и врожденного иммунитета и 71% с ареактивностью. Подгруппа пациентов с угнетением иммунитета не показала направленных изменений при росте тяжести симптомов.

Заключение

В постковидный период общие гематологические нарушения не являются выраженными и достаточными для постановки диагноза. Поэтому в большей степени необходимо ориентироваться на комплексные качественные показатели: «Методика определения типа реакции иммунитета по развернутому анализу крови». При этом оценка типа иммунной реакции позволяет не только выявить пациентов с постковидным синдромом, но и провести отбор пациентов, нуждающихся в противовоспалительной и детоксикационной терапии.

Список литературы / References

1. Борисов Р.Н., Здзитовецкий Д.Э., Каспаров Э.В., Савченко А.А., Борисов С.А., Бердников Д.С., Говоруха Е.С., Болдырев П.Н. Типы реакции иммунной системы и их характеристика у больных распространенным гнойным перитонитом // Сибирское медицинское обозрение, 2019. № 5. С. 80-87. [Borisov R.N., Zdzitovetsky D.E., Kasparov E.V., Savchenko A.A., Borisov S.A., Berdnikov D.S., Govoruh E.S., Boldyrev P.N. Types of immune system reactions and their characteristic in patients with generalized purulent peritonitis. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie = Siberian Medical Review*, 2019, Vol. 5, pp. 80-87. (In Russ.)]
2. Борисов А.Г., Савченко А.А., Кудрявцев И.В. Особенности иммунного реагирования при вирусных инфекциях // Инфекция и иммунитет, 2015. Т. 5, № 2. С. 148-156. [Borisov A.G., Savchenko A.A., Kudryavtsev I.V. Features of the immune response during viral infection. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2015, Vol. 2, pp. 148-156. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2015-2-148-156.
3. Козлов В.А., Тихонова Е.П., Савченко А.А., Кудрявцев И.В., Андропова Н.В., Анисимова Е.Н., Головкин А.С., Демина Д.В., Здзитовецкий Д.Э., Калинина Ю.С., Каспаров Э.В., Козлов И.Г., Корсунский И.А., Кудлай Д.А., Кузьмина Т.Ю., Миноранская Н.С., Продеус А.П., Старикова Э.А., Черданцев Д.В., Чесноков А.Б., Шестерня П.А., Борисов А.Г. Клиническая иммунология. Практическое пособие для инфекционистов. К.: Поликор, 2021. 560 с. [Kozlov V.A., Tikhonova E.P., Savchenko A.A., Kudryavtsev I.V., Andronova N.V., Anisimova E.N., Golovkin A.S., Demina D.V., Zdzitovetsky D.E., Kalinina Yu.S., Kasparov E.V., Kozlov I.G., Korsunsky I.A., Kudlai D.A., Kuzmina T.Yu., Minoranskaya N.S., Prodeus A.P., Starikova E.A., Cherdantsev D.V., Chesnokov A.B., Shesternya P.A., Borisov A.G. Clinical immunology. A practical guide for infectious disease specialists]. Krasnoyarsk: Policor, 2021. 560 p.
4. Acharya A.N., Shetty I.P., Jain S., Padakannaya I., Acharya S., Shettar L., Thakur S. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio in chronic periodontitis before and after nonsurgical therapy. *J. Indian Soc. Periodontol.*, 2019, Vol. 23, no. 5, pp. 419-423.
5. Gkrania-Klotsas E., Ye Z., Cooper A.J., Sharp S.J., Luben R., Biggs M.L., Chen L., Gokulakrishnan K., Hanefeld M., Ingelsson E., Lai W., Lin Sh., Lind L., Lohsoonthorn V., Mohan V., Muscari A., Nilsson G., Ohrvik J., Qiang J.Ch., Jenny N.S., Tamakoshi K., Temelkova-Kurktschiev T., Wang Y., Yajnik Ch.S., Zoli M., Khaw K., Forouhi N.G., Wareham N.J., Langenberg C. Differential White Blood Cell Count and Type 2 Diabetes: Systematic Review and Meta-Analysis of Cross-Sectional and Prospective Studies. *PLoS One*, 2010, Vol. 5, no. 10, e13405. doi: 10.1371/journal.pone.0013405.
6. Horiuchi Y., Hayashi F., Iwasaki Y., Matsuzaki A., Nishibe K., Kaniyu K., Marutani S., Saito K., Matsuoka S., Uchihashi K., Miida T., Ai T., Tabe Y. Peripheral granular lymphocytopenia and dysmorphic leukocytosis as simple prognostic markers in COVID-19. *Int. J. Lab. Hematol.*, 2021, Vol. 43, no. 6, pp. 1309-1318.
7. Klok F.A., Boon G.J.A.M., Barco S., Endres M., Geelhoed J.J.M., Knauss S., Rezek S.A., Spruit M.A., Vehreschild J., Siegerink B. The Post-COVID-19 Functional Status scale: a tool to measure functional status over time after COVID-19. *Eur. Respir. J.*, 2020, Vol. 56, no. 1, pp. 1-3.
8. Marshall D.J.C. A minimal common outcome measure set for COVID-19 clinical research. *Lancet Infect. Dis.*, 2020, Vol. 20, no. 8, pp. 192-197.
9. Özdemir E.Ç., Bilen E., Yazar F.M. Can the delta neutrophil index be used as a preliminary biomarker in the evaluation of periodontal disease. *J. Appl. Oral Sci.*, 2021, Vol. 30, pp. 1-8.
10. Palladino M. Complete blood count alterations in COVID-19 patients: A narrative review. *Biochem. Med.*, 2021, Vol. 31, no. 3, pp. 1-13.
11. Podgorny P.J., Pratt L.M., Liu Y., Dharmani-Khan P., Luider J., Auer-Grzesiak I., Mansoor A., Williamson T.S., Ugarte-Torres A., Hoegh-Petersen M., Khan F.M., Larratt L., Jimenez-Zepeda V.H., Stewart D.A., Russell J.A., Daly A., Storek J. Low Counts of B cells, natural killer cells, monocytes, dendritic cells, basophils, and eosinophils are associated with postengraftment infections after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 2016, Vol. 22, pp. 37-46.
12. Savchenko A.A., Tikhonova E., Kudryavtsev I., Kudlay D., Korsunsky I., Beleniuk V., Borisov A. TREC/ KREC levels and T and B lymphocyte subpopulations in COVID-19 Patients at Different Stages of the Disease. *Viruses*, 2022, Vol. 14, no. 3, 646. doi: 10.3390/v14030646.

13. Seyit M., Avci E., Nar R., Senol H., Yilmaz A., Ozen M., Oskay A., Aybek H. Neutrophil to lymphocyte ratio, lymphocyte to monocyte ratio and platelet to lymphocyte ratio to predict the severity of COVID-19. *Am. J. Emerg. Med.*, 2021, Vol. 40, pp. 110-114.
14. Seyit M., Avci E., Nar R., Senol H., Yilmaz M.A., Ozen M.M., Oskay M.A., Aybek M.H. Neutrophil to lymphocyte ratio, lymphocyte to monocyte ratio and platelet to lymphocyte ratio to predict the severity of COVID-19. *Am. J. Emerg. Med.*, 2021, Vol. 45, 569. doi.org/10.1016/j.ajem.2020.12.069.
15. Sykes D.L., Holdsworth L., Jawad N., Gunasekera P., Morice A.H., Crooks M.G. Post-COVID-19 symptom burden: what is long-COVID and how should we manage it? *Lung*, 2021, Vol. 199, no. 2, pp. 113-119.
16. Zhang S., Diao J., Qi Ch., Jin J., Li L., Gao X., Gong L., Wu W. Predictive value of neutrophil to lymphocyte ratio in patients with acute ST segment elevation myocardial infarction after percutaneous coronary intervention: a meta-analysis. *BMC Cardiovasc. Disord.*, 2018, Vol. 18, no. 1, 75. doi: 10.1186/s12872-018-0812-6.

Авторы:

Садовский И.С. — ординатор специальности аллергология и иммунология, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», г. Красноярск, Россия

Круглова О.С. — аспирант кафедры госпитальной терапии и иммунологии с курсом ПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия

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

Собко Е.А. — д.м.н., профессор кафедры госпитальной терапии и иммунологии с курсом ПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия

Authors:

Sadovskiy I.S., Resident in Allergology and Immunology, Research Institute of Medical Problems of the North, Federal Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

Kruglova O.S., Postgraduate Student, Department of Hospital Therapy and Immunology, Krasnoyarsk State V. Voino-Yasenetsky Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation

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

Sobko E.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Hospital Therapy and Immunology, Krasnoyarsk State V. Voino-Yasenetsky Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation

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

Демко И.В. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой госпитальной терапии и иммунологии с курсом ПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия

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

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

Demko I.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Hospital Therapy and Immunology, Krasnoyarsk State V. Voino-Yasenetsky Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation

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

Поступила 15.07.2022
Принята к печати 08.11.2022

Received 15.07.2022
Accepted 08.11.2022

АУТОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫЙ СИНДРОМ

Толстых А.В.¹, Попова Л.Ю.², Альбакасова А.А.¹,
Усенкова Н.Н.²

¹ ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

² ГАУЗ «Областная детская клиническая больница», г. Оренбург, Россия

Резюме. Выявление первичных иммунодефицитов (ПИД), идентификация нозологических форм и своевременно назначенная терапия при данной патологии являются актуальными проблемами современной иммунологии. По данным регистра ПИД Национальной ассоциации экспертов в области первичных иммунодефицитов (НАЭПИД) по состоянию на 2021 год в Российской Федерации (РФ) выявлено 3617 случаев данного заболевания. Распространенность ПИД в РФ 2,48 на 100 тыс. населения. В настоящее время аутовоспалительные синдромы (АВС) являются редкой генетически детерминированной патологией. Согласно данным регистра ПИД НАЭПИД в РФ 2021 году зарегистрирован 541 случай аутовоспалительного синдрома. Своевременная диагностика АВС особенно важна у детей раннего возраста, которые имеют схожие фенотипические признаки, для снижения количества летальных исходов и предупреждения инвалидизации. По данным регистра ПИД медиана отсрочки диагноза в России составляет 27 месяцев. Цель данной работы – актуализировать сведения об аутовоспалительном синдроме, с которым могут столкнуться практикующие врачи: педиатр, ревматолог, гематолог и другие специалисты. Данный синдром имеет сложный дифференциально-диагностический путь для клиницистов и нередко требует мультидисциплинарного подхода с привлечением специалистов разных профилей. В настоящей статье описан клинический случай ребенка С., 3 лет, с диагнозом «первичный иммунодефицит: аутовоспалительный синдром, недифференцированный». Пациент болен с 5 месяцев, когда начали отмечаться периодические подъемы температуры тела до фебрильных цифр 1 раз в месяц. Затем кратность лихорадок увеличилась до 2 раз в месяц. По месту жительства выставлен диагноз «вторичное иммунодефицитное состояние вирусассоциированное – ЦМВ-инфекция». На фоне проводимого лечения ЦМВ-виремия купирована, однако воспалительные атаки сохранились. По результатам молекулярно-генетических обследований дефектов не выявлено. В связи с плохим ответом на терапию НПВС был назначен преднизолон в дозе 1-1,5 мг/кг/сутки. В связи с низкой эффективностью проведенной гормонотерапией был госпитализирован в отделение иммунологии ФГБУ НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Ребенку был выставлен окончательный диагноз «ПИД» и инициирована терапия селективным конкурентным ингибитором TNF α – этанерцептом в дозе 0,8 мг/кг/сутки 1 раз в неделю. Таким образом, аутовоспалительный синдром у детей сложен для диагностики и подбора терапии и может быть прогностически неблагоприятным.

Ключевые слова: первичный иммунодефицит, аутовоспалительный синдром, этанерцепт, ЦМВ-инфекция

Адрес для переписки:

Толстых Александра Вячеславовна
ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ
460000, Россия, г. Оренбург, ул. Советская, 6.
Тел.: 8 (922) 882-44-26.
E-mail: tolstykh.asya@bk.ru

Address for correspondence:

Aleksandra V. Tolstykh
Orenburg State Medical University
460000, Russian Federation, Orenburg, Sovetskaya str., 6.
Phone: +7 (922) 882-44-26.
E-mail: tolstykh.asya@bk.ru

Образец цитирования:

А.В. Толстых, Л.Ю. Попова, А.А. Альбакасова, Н.Н. Усенкова «Аутовоспалительный недифференцированный синдром» // Российский иммунологический журнал, 2023. Т. 26, № 1. С. 87-94.
doi: 10.46235/1028-7221-1100-AUS

© Толстых А.В. и соавт., 2023

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.V. Tolstykh, L.Yu. Popova, A.A. Albakasova, N.N. Usenkova
“Autoinflammatory undifferentiated syndrome”, Russian
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2023, Vol. 26, no. 1, pp. 87-94.
doi: 10.46235/1028-7221-1100-AUS

© Tolstykh A.V. et al., 2023

The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-1100-AUS

AUTOINFLAMMATORY UNDIFFERENTIATED SYNDROME

Tolstykh A.V.^a, Popova L.Yu.^a, Albakasova A.A.^a, Usenkova N.N.^b

^a Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

^b Orenburg Regional Children's Clinical Hospital, Orenburg, Russian Federation

Abstract. Identification of primary immunodeficiencies (PID), distinction of their nosological forms and timely administered therapy for this disorders represent topical problems of modern immunology. According to the PID registry of the National Association of Experts in the Field of Primary Immunodeficiencies (NAEPID), as of 2021, 3617 cases of this disease were diagnosed in Russian Federation (RF). The prevalence of PID in Russian Federation is 2.48 per 100,000 population. Currently, autoinflammatory syndromes (AIS) comprise rare, genetically determined disorders. According to the NAEPID registry data, of the PID register, 541 cases of autoinflammatory syndrome (AIS) were registered in the Russian Federation (2021). Timely diagnosis of AIS is especially important in young children who have similar phenotypic signs, in order to reduce the number of deaths and prevent disability. According to the PID registry, the median diagnostic delay in Russia is 27 months. The purpose of this work is to update information about the autoinflammatory syndrome that clinicians may encounter, e.g., pediatricians, rheumatologists, hematologists and other specialists. This syndrome requires a complex differential diagnostic algorithm for clinicians and is often subject to multidisciplinary approach, involving specialists of different profile. This article describes a clinical case of a 3-year-old child S. with a diagnosis of Primary immunodeficiency: autoinflammatory syndrome, undifferentiated. The patient was diagnosed since the age of 5 months, when periodic rises in body temperature to febrile values were registered once a month. Later on, the fever episodes were observed 2 times a month. The diagnosis was made at the place of residence as secondary immunodeficiency virus-associated state (CMV infection). CMV viremia was canceled against the background of ongoing treatment, but the inflammatory attacks persisted. Molecular genetic studies did not reveal any defects. In view of poor response to NSAID therapy and prednisone prescribed at a dose of 1-1.5 mg/kg/day, he was admitted to the Dmitry Rogachev Research Medical Center. The child was finally diagnosed with PID, and therapy was initiated with a selective competitive inhibitor of TNF α – etanercept at a dose of 0.8 mg/kg/day once a week. Hence, the autoinflammatory syndrome in children is difficult to diagnose and select therapy, and it may be unfavorable prognostically.

Keywords: primary immunodeficiency, autoinflammatory syndrome, etanercept, CMV infection

Введение

Выявление первичных иммунодефицитов (ПИД), идентификация нозологических форм и своевременно назначенная терапия при данной патологии являются актуальными проблемами современной иммунологии.

По данным регистра ПИД Национальной ассоциации экспертов в области первичных иммунодефицитов по состоянию на 2021 год в Российской Федерации (РФ) выявлено 3617 случаев данного заболевания, распространенность по стране 2,48 на 100 тыс. населения [4]. Региональные эпидемиологические данные имеют

различия. Согласно данным о распространенности ПИД по округам РФ, в Центральном ФО 1424 случая ПИД, распространенность – 3,63 на 100 тыс. населения. В г. Москва 615 пациентов, распространенность – 3,01 на 100 тыс. населения. Тогда как в Приволжском федеральном округе (ФО) выявлено 624 пациента, распространенность ПИД составляет 2,15 на 100 тыс. населения. В Оренбургской области ПИД выявлен у 28 человек, распространенность составила 1,44 на 100 тыс. населения. Подобная ситуация складывается и в других регионах РФ: Сибирский ФО (1,49 на 100 тыс. населения), Крымский ФО (1,74

на 100 тыс. населения), Дальневосточный ФО (1,85 на 100 тыс. населения), Южный ФО (1,95 на 100 тыс. населения), Северо-Кавказский ФО (1,97 на 100 тыс. населения) [4].

Проблема гиподиагностики ПИД отмечается в разных странах. По данным регистра Европейского общества по иммунодефицитам (ESID) частота встречаемости ПИД во Франции составила 6,058 на 100 тыс. населения, в то время как в Швейцарии и Германии 4,157 на 100 тыс. и 2,105 на 100 тыс. населения соответственно [9, 10, 11].

В седьмую группу ПИД объединены аутовоспалительные синдромы (АВС), которые являются редкой генетически детерминированной патологией. Число зарегистрированных случаев аутовоспалительного синдрома в РФ – 541 человек, согласно данным регистра ПИД НАЭПИД за 2021 год [4].

Качество жизни и прогноз ребенка с ПИД во многом зависит от ранней диагностики и своевременно начатой терапии. По данным российского регистра ПИД медиана отсрочки диагноза в России составляет 27 месяцев [3]. В связи с низкой настороженностью врачей в отношении врожденных иммунодефицитов отмечается высокая инвалидизация и смертность больных, вследствие поздней диагностики.

Согласно определению международного союза иммунологического общества (2011) ПИД – это генетически детерминированные заболевания, в основе которых лежат молекулярные или органические дефекты, приводящие к нарушениям каскада иммунных реакций, пролиферации, дифференцировки и функций иммунокомпетентных клеток, характеризующиеся инфекционными процессами, аутоиммунными заболеваниями и повышенной склонностью к развитию злокачественных новообразований [7].

Аутовоспалительный синдром – группа редких состояний, характеризующихся периодическими эпизодами системного воспаления и проявляющихся полиморфной клинической симптоматикой, имитирующей ревматическую, в отсутствие аутоиммунных или инфекционных причин [8]. Согласно классификации первичных иммунодефицитов, представленной комитетом по врожденным ошибкам иммунитета международного союза иммунологических обществ (IUIS) 2020 года, выделяют десять групп ПИД. Аутовоспалительные синдромы объединены в седьмую группу. Важное место в их патогенезе занимают нарушения молекулярных механизмов регуляции воспаления. В зависимости от механизмов среди АВС

выделяют интерферопатии 1-го типа, дефекты инфламмосомы и состояния с ней не связанные. В этой группе представлено 44 нозологических синдрома и 40 верифицированных генов [1, 2]. Характерными симптомами АВС являются эпизоды лихорадки, лабораторные признаки воспаления, лимфопролиферативный синдром, полиморфная сыпь [8]. Для подтверждения диагноза «ПИД» и «АВС» значимая роль отводится генетическим методам исследования [12].

Цель данной работы – актуализировать сведения о первичных иммунодефицитах, описать клинический случай такой редкой патологии, как аутовоспалительный синдром (АВС).

Материалы и методы

На базе ГАУЗ «Областная детская клиническая больница» г. Оренбург, РДКБ г. Казань и ФГБУ НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева пациенту были проведены следующие лабораторные методы исследования: ОАК, ОАМ, определение группы крови, биохимический анализ крови, коагулограмма, иммунограмма, копроцитограмма, миелограмма, ПЦР крови на ЦМВ-инфекцию, прямая проба Кумбса. Инструментальные методы: ЭКГ, Эхо-КГ, УЗИ сердца, УЗИ тимуса, УЗИ внутренних органов, МСКТ грудной клетки, МРТ головного мозга с контрастом.

Для исследования иммунного статуса пациента в ФГБУ НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева были проведены молекулярно-генетические методы исследования: иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови, иммунофенотипирование лимфоцитов Т-клеточная панель, иммунофенотипирование лимфоцитов В-клеточная панель, а также иммунологическая панель и полноэкзомное секвенирование.

Проведен анализ распространенности ПИД и АВС у детей РФ по данным регистра ПИД Национальной ассоциации экспертов в области первичных иммунодефицитов за 2021 год.

Результаты

Описание клинического случая ребенка С., дата рождения – 18.08.2018. Из анамнеза жизни известно, что мальчик родился у матери 34 лет, от III беременности (Б1 – выкидыш в 6 недель, БП – замершая беременность на 8-й неделе), I родов на сроке гестации 39 недель путем кесарева сечения. Масса тела при рождении 3051 г, рост 51 см. Беременность протекала на фоне гестационного сахарного диабета, тромбофилии и угрозы пре-

рывания 1-й половины беременности. Оценка по шкале Апгар – 8/9 баллов. До 4 месяцев ребенок находился на смешанном вскармливании. Генеалогический анамнез: индекс отягощенности 0,5 – отягощенность умеренная, по гипертонической болезни, сахарному диабету, тромбофилии, системной красной волчанке.

Пациент болен с 5 месяцев, когда впервые температура поднялась до 38,5 °С и держалась на протяжении 3 суток, несмотря на лечение антипиретическими препаратами, при осмотре наблюдалось «красное» горло. На фоне антибактериальной терапии снижение температуры до субфебрильных цифр. С интервалом в 1 месяц вновь беспричинное повышение температуры тела до фебрильных цифр длительностью 3 суток, а также катаральные явления. Проводился вновь курс антибактериальной терапии. В последующие 2 месяца у ребенка отмечался разжиженный стул на фоне антибактериальной терапии и снижение аппетита.

В мае 2019 г. на фоне полного здоровья эпизод гипертермии до 38,6 °С в течение 5 суток в связи с чем был обследован в консультативно-диагностическом центре ГАУЗ «Областная детская клиническая больница» г. Оренбурга, где проведены следующие лабораторные методы исследования: ПЦР крови на ЦМВ – результат положительный, в ОАК наблюдался лейкоцитоз с нейтрофильным сдвигом влево, определение иммуноглобулинов сыворотки (IgG) – IgG – 586 мг/дл (норма 110-650), IgA – 27,7 (0-30), IgM – 62,3 (30-90), фагоцитоз – 95 (норма 82-90). Инструментальные методы исследования: УЗИ тимуса – V общ. = 28,4 (норма до 20,7). Получал терапию ионозин пронабексом по поводу ЦМВИ, интерферон альфа 2-а, НПВС. Проводимая терапия без эффекта. В течение следующего месяца перенес острый фарингит и тонзилит, отмечались гиперемия зева и гипертермия.

Госпитализация в ГАУЗ «ОДКБ» г. Оренбурга в июле 2019 года была связана с ухудшением состояния ребенка в виде увеличения кратности лихорадок до 2 раз в месяц. Проведенные лабораторные исследования: ОАК – гемоглобин – 112 г/л, эритроциты – $4,46 \times 10^{12}/л$, СОЭ – 15 мм/ч, тромбоциты – $420 \times 10^9/л$, лейкоциты – $12,6 \times 10^9/л$. Лейкоцитарная формула: эозинофилы – 2%, лимфоциты – 54%, моноциты – 12%, сегментоядерные нейтрофилы – 32%. Общеклинический анализ мочи: св. желтая, прозрачная, уд. вес 1025, белок – отрицательно, лейкоциты – отрицательно. Биохимический анализ крови: общий белок – 66,8 г/л, альбумин – 43,05 г/л, мочевины – 4,8 ммоль/л, креатинин – 19,5 мкмоль/л, алат – 14,1 Е/л, асат – 30,2 Е/л, щелочная фосфатаза – 583,1 Е/л, кальций – 2,33 ммоль/л, фосфор – 2,6 ммоль/л, сывороточное железо – 10,5 мкмоль/л, ЛДГ – 402,8 Е/л, ферритин – 29,5 мкмоль/л. ПЦР крови на ЦМВ – положительный. Иммунограмма нейтрофильного типа с нейтрофилезом, с увеличением уровня СД 20 лимфоцитов до 30%. Копроцитограмма: кашицеобразной формы, трипсин кала 1:80, детрит – значительное количество, нейтральный жир – незначительное количество, жирные кислоты – небольшое количество, растительная клетчатка единичная, крахмал единичный, нейтрофилы 2-3 в п/зр. Инструментальные методы исследования: ЭКГ – ЭОС нормальная, синусовый ритм 142-115 уд./мин., нагрузка на левый желудочек, нарушены процессы реполяризации, больше по передней стенке. По данным Эхо-КГ и УЗИ внутренних органов патологии не выявлено. После проведенного обследования выставлен диагноз «вторичное иммунодефицитное состояние вирусассоциированное – ЦМВИ-инфекция». Проводилась терапия антицитомегаловирусным иммуноглобулином, IFN α -2a. На фоне проводимого лечения ЦМВ-виремия купирована, однако воспалительные атаки сохранились. По данному вопросу неоднократно проводилась телемедицинская консультация с НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева, в результате которой пациенту с целью купирования приступа рекомендовано использование преднизолона 1-1,5 мг/кг/сут. В ходе очередной консультации у ребенка был предположен синдром Маршала. Пациенту проводилось молекулярно-генетическое обследование (иммунологическая панель НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева и полноэкзомное секвенирование) по результатам которого, генетических дефектов не выявлено. При использовании преднизолона с эффектом в виде быстрого купирования эпизодов лихорадки, интервалы между приступами сократились сначала до 10 суток, а впоследствии до 5 суток. В связи с этим ребенку была рекомендована консультация аллерголога-иммунолога в ФГБУ НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева для решения вопроса о дальнейшей тактике ведения и лечения пациента.

В октябре 2020 г. по собственной инициативе матери ребенка проводилось обследование на базе «РДКБ» г. Казань. По результатам проведенных лабораторных обследований в момент воспалительной атаки – лейкоцитоз до 23 тыс/мкл,

ТАБЛИЦА 1. ИММУНОФЕНОТИПИРОВАНИЕ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ОТ 18.06.2021. РЕБЕНОК С., ДАТА РОЖДЕНИЯ – 18.08.2018

TABLE 1. IMMUNOPHENOTYPING OF PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES FROM 06/18/2021. CHILD S., DATE OF BIRTH – 18.08.2018

Показатель Indicator	Результат Result	Ед. измер. Units of measurement	Норма Standard
Лейкоциты (WBC) White blood cells (WBC)	8,55	10⁶/мл 10 ⁶ /mL	(6,10-11,4)
Гранулоциты, % от WBS Granulocytes, % of WBS	34	%	(37-61)
Гранулоциты Granulocytes	2,91	10⁶/мл 10 ⁶ /mL	(1,52-6,06)
Моноциты (MON), % от WBC Monocytes (MON), % of WBC	6	%	(2-7)
Моноциты (MON) Monocytes (MON)	0,51	10⁶/мл 10 ⁶ /mL	(0,00-0,80)
Лимфоциты (LYM), % от WBC Lymphocytes (LYM), % of WBC	60	%	(36-64)
Лимфоциты (LYM) Lymphocytes (LYM)	5,13	10⁶/мл 10 ⁶ /mL	(2,40-5,81)
CD3⁺CD4⁺Lym, % от LYM CD3 ⁺ CD4 ⁺ Lym, % of LYM	40	%	(35-51)
CD3⁺CD4⁺Lym	2,06	10⁶/мл 10 ⁶ /mL	(0,90-2,86)
CD3⁺Lym (Т-клетки), % от LYM CD3 ⁺ Lym (T cells), % of LYM	59,6	%	(62-80)
CD3⁺Lym (Т-клетки) CD3 ⁺ Lym (T cells)	3,06	10⁶/мл 10 ⁶ /mL	(1,61-4,23)
CD3⁺CD8⁺Lym, % от LYM CD3 ⁺ CD8 ⁺ Lym, % of LYM	16	%	(22-38)
CD3⁺CD8⁺Lym	0,84	10⁶/мл 10 ⁶ /mL	(0,63-1,91)
CD19⁺Lym (В-клетки), % от LYM CD19 ⁺ Lym (B cells), % of LYM	20,9	%	(21-28)
CD19⁺Lym (В-клетки) CD19 ⁺ Lym (B cells)	1,07	10⁶/мл 10 ⁶ /mL	(0,70-1,30)
CD16⁺CD56⁺ (NK-клетки), % от LYM CD16 ⁺ CD56 ⁺ (NK cells), % of LYM	17,9	%	(4-23)
CD3⁺CD16⁺CD56⁺Lym (NK-клетки) CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ Lym (NK cells)	0,92	10⁶/мл 10 ⁶ /mL	(0,096-1,330)
CD56^{high}NK, % от NK-клеток CD56 ^{high} NK, % of NK cells	1,7	%	
CD56^{high}NK	0,02	10⁶/мл 10 ⁶ /mL	
CD3/CD16⁺CD56 (NKT), % от LYM CD3/CD16 ⁺ CD56 (NKT), % of LYM	2	%	(0-10)
CD3⁺CD16⁺CD56⁺Lym (Т-NK-клетки) CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ Lym (T-NK cells)	0,1	10⁶/мл 10 ⁶ /mL	
CD14^{high}CD16⁺Mon, % от MON CD14 ^{high} CD16 ⁺ Mon, % of MON	84,2	%	
CD14^{high}CD16⁺Mon	0,43	10⁶/мл 10 ⁶ /mL	
CD14^{high}CD16^{high}Mon, % от MON CD14 ^{high} CD16 ^{high} Mon, % of MON	7,4	%	
CD14^{high}CD16^{high}Mon	0,04	10⁶/мл 10 ⁶ /mL	
CD14-CD16^{high}Mon, % от MON CD14-CD16 ^{high} Mon, % of MON	7,3	%	
CD14-CD16^{high}Mon	0,04	10⁶/мл 10 ⁶ /mL	

повышение СОЭ до 38 мм/ч, С-реактивного белка 12 мг/л. По данным миелограммы: пунктат костного мозга средноклеточный, полиморфный, мегакариоциты в достаточном количестве. Иммуноглобулины сыворотки: IgA — 1,18 г/л (0,36-1,65), IgG — 12,8 г/л (3,5-1,8), IgM — 1,03 г/л (0,72-1,6). С3-комплемент — 12,20 мг/дл (90-180), С4-комплемент — 28,0 мг/дл (10-40). АТ к фосфолипидам не обнаружены. ПЦР крови: ДНК вируса простого герпеса (ВПГ) 1,2 не обнаружена, ВПГ 6-го типа обнаружены, ЦМВИ не обнаружена, ВЭБ не обнаружена. Была рекомендована: консультация аллерголога-иммунолога в ФГБУ НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

17.06.21 г. ребенок госпитализирован в отделение иммунологии ФГБУ НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева планово с целью дополнительного обследования, верификации диагноза и выбора дальнейшей тактики ведения. При поступлении, масса тела — 13,5 кг, рост — 94 см, Т — 36,7 °С, АД — 90/50 мм рт. ст., ЧСС — 99 уд./мин., сатурация O₂ 99%, ЧД 26 в мин. В соматическом статусе без отклонений. По результатам лабораторных методов исследования: биохимический анализ крови — общий белок 70,5 г/л, мочевины 3,5 ммоль/л, АЛТ 10 ед/л, АСТ 25,1 ед/л, ЛДГ 227 ед/л, креатинин 41,4 мкмоль/л, глюкоза 5,12 ммоль/л, С-реактивный белок — 0,7 мг/л, концентрация ИЛ-6 менее 1,5 пг/мл (ниже детектируемого уровня). В гемограмме патологии не выявлено. Коагулограмма: фибриноген — 2,53 г/л, АЧТВ — 30,2 с, МНО 1.1, ПВ 12,5 с, протромбин по Квику — 84%. По результатам контрольного иммунофенотипирования лимфоцитов периферической крови от 18.06.2021 (табл. 1), иммунофенотипирования лимфоцитов Т-клеточная панель от 18.06.2021, иммунофенотипирования лимфоцитов В-клеточная панель от 18.06.2021 — значимых отклонений не обнаружено. Иммуноглобулины сыворотки в пределах возрастных норм. Нормальные значения лабораторных тестов объясняются течением межприступного периода у пациента.

По результату обследования, проведенного в ФГБУ НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, был выставлен диагноз «первичное иммунодефицитное состояние — аутовоспалительный синдром, недифференцированный».

В рамках достижения и поддержания ремиссии основного заболевания, пациенту в стационаре инициирована терапия генно-инженерным биологическим препаратом, селективным кон-

курентным ингибитором TNF α — этанерцептом в дозе 0,8 мг/кг/сут (что в настоящий момент составляет 10 мг) 1 раз в неделю. 23.06.2021 пациенту было произведено первое введение препарата. Введение пациент перенес удовлетворительно, развития нежелательных побочных эффектов не отмечалось. На фоне проводимого лечения — у ребенка не наблюдалось развития воспалительного приступа в предполагаемые сроки (ожидаемый срок начала приступа 24.06.2021). Таким образом, констатирована эффективность проводимой терапии.

Ребенок в стабильном состоянии был выписан из отделения иммунологии ФГБУ НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева для дальнейшего наблюдения по месту жительства. При выписке были даны следующие рекомендации: наблюдение педиатра, иммунолога, невролога по месту жительства. Этанерцепт 0,8 мг/кг 1 раз в неделю (что в настоящий момент составляет 10 мг 1 раз в неделю; далее — коррекция в соответствии с изменяющимися массо-ростовыми показателями) длительно до следующей госпитализации, которая назначена на 22.02.2022 г. Контроль общего анализа крови (формула и СОЭ), биохимического анализа крови (АЛТ, АСТ, билирубин общий, прямой, креатинин, мочевины, ЛДГ, СРБ) — в момент развития воспалительной атаки. Проведение вакцинаций не противопоказано. Проба Манту показана ежегодно.

Обсуждение

В данном клиническом случае диагноз «первичное иммунодефицитное состояние — аутовоспалительный синдром, недифференцированный» был выставлен на основе данных анамнеза (периодические лихорадки с раннего возраста, не связанные с инфекционными эпизодами, плохо купируемые применением НПВС), результатов ранее проведенного обследования (лейкоцитоз, повышение СОЭ, СРБ в момент воспалительного приступа и нормальные лабораторные данные между атаками) и лечения (ответ на терапию ГКС со смещением интервалов между приступами), а также отсутствия дефектов при проведении молекулярно-генетических исследований.

Вероятно, данный клинический случай недифференцированного аутовоспалительного синдрома связан с обследованием ребенка на стадии формирования патологического процесса, когда у него еще нет полного набора признаков, харак-

терных для того или иного синдрома, что не позволяет его правильно распознать. В связи с этим большой интерес представляет дальнейшая эволюция заболевания, появление новых симптомов и вероятность верификация диагноза [6].

Учитывая отсутствие у пациента анамнестических данных в пользу развития фолликулярной ангины, афтозного стоматита на фоне эпизодов фебрилитета, наличие у пациента синдрома Маршала представляется сомнительным.

Список литературы / References

1. Болков М.А., Тузанкина И.А., Шинвари Х., Черемохин Д.А. Классификация врожденных ошибок иммунитета человека, обновленная экспертами комитета международного иммунологического общества в 2019 году // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 1. С. 7-68. [Bolkov M.A., Tuzankina I.A., Shinvari Kh., Cheremokhin D.A. Translation into Russian of the Classification of inborn errors of immunity in humans updated by experts from a Committee on Congenital Immunity Errors of International Union of Immunological Societies (Russian version 2019). *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2021, Vol. 24, no. 1, pp. 7-68. (In Russ.)]
2. Кузьменко Н.Б., Щербина А.Ю. Классификация первичных иммунодефицитов как отражение современных представлений об их патогенезе и терапевтических подходах // Российский журнал детской онкологии и гематологии, 2017. Т. 4, № 3. С. 51-57. [Kuzmenko N.B., Shcherbina A.Yu. Classification of primary immunodeficiency as a reflection of modern ideas about their pathogenesis and therapeutic approaches. *Rossiyskiy zhurnal detskoy onkologii i gematologii = Russian Journal of Pediatric Oncology and Hematology*, 2017, Vol. 4, no. 3, pp. 51-57. (In Russ.)]
3. Мухина А.А., Кузьменко Н.Б., Родина Ю.А., Кондратенко И.В., Бологов А.А., Латышева Т.В., Продус А.П., Пампура А.Н., Ильина Н.И., Латышева Е.А., Балашов Д.Н., Костинова А.М., Пащенко О.Е., Зиновьева Н.В., Зимин С.Б., Хорева А.Л., Моисеева А.А., Кутлянцева А.Ю., Филоненко Д.А., Барычева Л.Ю., Аллагулиева С.М., Хачирова Л.С., Сибгатулина Ф.И., Тузанкина И.А., Болков М.А., Шахова Н.В., Камалтынова Е.М., Хайруллина Р.М., Пролыгина Д.Д., Кальметьева Л.Р., Давлетбаева Г.А., Мирсаяпова И.А., Сулима Е.И., Гусева М.Н., Тотолян А.А., Миличкина А.М., Кузнецова Р.Н., Рычкова О.А., Кузьмичева К.П., Грахова М.А., Селезнева О.С., Юдина Н.Б., Орлова Е.А., Самофалова Т.В., Букина Т.В., Печкурова А.Д., Бармина Е.В., Парфенова Н.А., Исакова С.Н., Аверина Е.В., Сазонова И.В., Старикова С.Ю., Шилова Т.В., Асекретова Т.В., Супрун Р.Н., Клещенко Е.И., Лебедев В.В., Демихова Е.В., Демихов В.Г., Калинин В.А., Тимофеева Е.В., Павлова Т.Б., Шинкарева В.М., Гуркина М.В., Щербина А.Ю., Новичкова Г.А., Румянцев А.Г. Характеристика пациентов с первичными иммунодефицитными состояниями в Российской Федерации: от рождения до старости // Педиатрия, 2019. Т. 98, № 3. С. 24-31. [Mukhina A.A., Kuzmenko N.B., Rodina Yu.A., Kondratenko I.V., Bologov A.A., Latysheva T.V., Prodeus A.P., Pampura A.N., Ilyina N.I., Latysheva E.A., Balashov D.N., Kostinova A.M., Pashchenko O.E., Zinovyeva N.V., Zimin S.B., Khoreva A.L., Moiseyeva A.A., Kutlyantseva A.Yu., Filonenko D.A., Barycheva L.Yu., Allagulyeva S.M., Khachirova L.S., Sibgatulina F.I., Tuzankina I.A., Bolkov M.A., Shakhova N.V., Kamaltynova E.M., Khayrullina R.M., Prolygina D.D., Kalmetyeva L.R., Davletbayeva G.A., Mirsayapova I.A., Sulima E.I., Guseva M.N., Totolyan A.A., Milichkina A.M., Kuznetsova R.N., Rychkova O.A., Kuzmicheva K.P., Grakhova M.A., Selezneva O.S., Yudina N.B., Orlova E.A., Samofalova T.V., Bukina T.V., Pechkurova A.D., Barmina E.V., Parfenova N.A., Isakova S.N., Averina E.V., Sazonova I.V., Starikova S.Yu., Shilova T.V., Asekretova T.V., Suprun R.N., Kleshchenko E.I., Lebedev V.V., Demikhova E.V., Demikhov V.G., Kalinkina V.A., Timofeyeva E.V., Pavlova T.B., Shinkareva V.M., Gurkina M.V., Shcherbina A.Yu., Novichkova G.A., Rumyantsev A.G. Characteristics of patients with primary immunodeficiency conditions in the Russian Federation: from birth to old age. *Pediatriya = Russian Pediatrics*, 2019, Vol. 98, no. 3, pp. 24-31. (In Russ.)]
4. Национальная ассоциация экспертов в области первичных иммунодефицитов [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://noepid.ru/>. [National Association of Experts in the field of Primary Immunodeficiency [Electronic resource]. Access mode: <http://noepid.ru/>.]
5. Резник И.Б. Современное состояние вопроса о первичных иммунодефицитах // Педиатрия, 1996. № 2. С. 3-14. [Reznik I.B. The current state of the issue of primary immunodeficiency. *Pediatriya = Russian Pediatrics*, 1996, no. 2, pp. 3-14. (In Russ.)]

6. Салугина С.О., Кузьмина Н.Н., Федоров Е.С. Аутовоспалительные синдромы – «Новая» Мультидисциплинарная проблема педиатрии и ревматологии // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского, 2012, Т. 91, № 5. С. 120-132. [Salugina S.O., Kuzmina N.N., Fedorov E.S. "New" Multidisciplinary Problem of Pediatrics and Rheumatology. *Pediatriya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo = Pediatrics. G. Speransky Journal*, 2012, Vol. 91, no. 5, pp. 120-132. (In Russ.)]
7. Тузанкина И.А., Каракина М.Л., Власова Е.В. Анализ клинических проявлений дебюта первичных иммунодефицитов у взрослых // Медицинская иммунология, 2014. Т. 16, № 4. С. 367-374. [Tuzankina I.A., Karakina M.L., Vlasova E.V. Analysis of clinical manifestations of the debut of primary immunodeficiency in adults. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2014, Vol. 16, no. 4, pp. 367-374. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2014-4-367-374.
8. Щербина А.Ю. Аутовоспалительные заболевания – взгляд иммунолога // Современная ревматология, 2015. № 1. С. 48-54. [Shcherbina A.Yu. Autoinflammatory diseases – the view of an immunologist. *Sovremennaya revmatologiya = Modern Rheumatology*, 2015, no. 1, pp. 48-54. (In Russ.)]
9. Bousfiha A.A., Jeddane L., Ailal F., Benhsaien I., Mahlaoui N., Casanova J.-L., Abel L. Primary Immunodeficiency Diseases Worldwide: More Common than Generally Thought. *J. Clin. Immunol.*, 2013, Vol. 33, no. 1, pp. 1-7.
10. Grimbacher B., ESID Registry Working Party. The European Society for Immunodeficiencies (ESID) registry 2014: The ESID registry 2014. *Clin. Exp. Immunol.*, 2014, Vol. 178, Suppl. 1, pp. 18-20.
11. Gathmann B., Grimbacher B., Beauté J., Dudoit Y., Mahlaoui N., Fischer A., Knerr V., Kindle G., ESID Registry Working Party. The European internet-based patient and research database for primary immunodeficiencies: results 2006-2008. *Clin. Exp. Immunol.*, 2009, 157, Suppl. 1, pp. 3-11.
12. Heimall J.R., Hagin D., Hajjar J., Henrickson S.E., Hernandez-Trujillo H.S., Tan Y., Kobrynski L., Paris K., Torgerson T.R., Verbsky J.W., Wasserman R.L., Hsieh E.W.Y., Blessing J.J., Chou J.S., Lawrence M.G., Marsh R.A., Rosenzweig S.D., Orange J.S., Abraham R.S. Use of genetic testing for primary immunodeficiency patients. *J. Clin. Immunol.*, 2018, Vol. 38, no. 3, pp. 320-329.

Авторы:

Толстых А.В. — студентка 6-го курса лечебного факультета ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

Попова Л.Ю. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой детских болезней ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

Альбакасова А.А. — к.м.н., ассистент кафедры детских болезней ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

Усенкова Н.Н. — врач высшей квалификационной категории, заведующая педиатрическим отделением ГАУЗ «Областная детская клиническая больница», г. Оренбург, Россия

Authors:

Tolstykh A.V., 6th year Student, Department of Medicine, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

Popova L. Yu., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Childhood Diseases, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

Albakasova A.A., PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Childhood Diseases, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

Usenkova N.N., Head, Pediatric Department, Orenburg Regional Children's Clinical Hospital, Orenburg, Russian Federation

Поступила 29.03.2022
Принята к печати 15.05.2022

Received 29.03.2022
Accepted 15.05.2022

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Статьи представляются в редакцию через систему электронного издательства (<http://rusimmun.ru>) в соответствии с требованиями журнала «Российский иммунологический журнал» и «Инструкцией по подготовке и отправке статьи», представленной на сайте.

В журнал принимаются следующие виды публикаций:

Оригинальная статья

Статья должна описывать результаты законченного исследования. Допускается объем статьи до 20 машинописных страниц, включая рисунки, таблицы. Статья должна содержать: 1) введение; 2) материалы и методы; 3) результаты исследований; 4) обсуждение результатов; 5) благодарности.

- **Введение** содержит обоснование цели и задач проведенного исследования.
- **Материалы и методы** могут излагаться в виде отдельных фрагментов с короткими подзаголовками.
- Все нетрадиционные модификации методов должны быть описаны с достаточной степенью подробности. Для всех используемых в работе реактивов, животных, клеточных культур и т.д. необходимо точно указывать производителей и/или источники получения (с названиями страны, фирмы, института).
- **Результаты** описываются в логической последовательности в виде отдельных фрагментов, разделенных подзаголовками, без элементов обсуждения, без повторения методических подробностей, без дублирования цифровых данных, приведенных в таблицах и рисунках.
- В **обсуждении** проводится детальный анализ полученных данных в сопоставлении с данными литературы, что служит обоснованием выводов и заключений авторов.
- Раздел «**Благодарности**» не является обязательным, но крайне желателен. В этом разделе авторы могут выразить признательность организации, субсидировавшей проведение исследований, коллегам, консультировавшим работу в процессе ее выполнения и/или написания, а также техническому персоналу за помощь в выполнении исследований. Благодарности за предоставление специфических реактивов или оборудования, как правило, помещаются в разделе «Материалы и методы».

Краткие сообщения

Журнал публикует небольшие по объему статьи, которые имеют безусловную новизну и значимость. Эти статьи проходят ускоренное рецензирование и публикуются в короткие сроки. Общий объем краткого сообщения ограничен 8 машинописными страницами, количество рисунков и/или таблиц не может быть более 3, а список использованных литературных источников не должен превышать 15. Титульный лист оформляется, как описано выше. Разделы краткого сообщения аналогичны вышеописанным разделам оригинальной статьи, но не выделяются заголовками и подзаголовками, результаты могут быть изложены вместе с обсуждением.

Обзорные статьи и лекции

Обзорные статьи и лекции в основном заказываются редакцией или могут быть рекомендованы одним из членов редколлегии. Более подробную

информацию о правилах оформления этих статей можно узнать в редакции

Библиографические стандарты описания цитируемых публикаций

Описание статьи из журнала:

Варюшина Е.А., Александров Г.В., Сазонова Т.А., Симбирцев А.С. Изучение влияния местного применения рекомбинантного человеческого интерлейкина-1 β на репарацию язвенных повреждений слизистой оболочки желудка // Цитокины и воспаление, 2012. Т. 11, № 1. С. 64-69. [Varyushina E.A., Alexandrov G.V., Sazonova T.A., Simbirtsev A.S. Study of the effect of local application of recombinant human interleukin-1 β in the repair of ulcerative lesions of gastric mucosa. Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation, 2012, Vol. 11, no. 1, pp. 64-69. (In Russ.)]

Описание статьи из книги (монографии):

Соколова Г.Н., Потапова В.Б. Клинико-патогенетические аспекты язвенной болезни желудка. М.: Анахарсис, 2009. 328 с. [Sokolova G.N., Potapova V.B. Clinical and pathogenetic aspects of gastric ulcer. Moscow: Anacharsis, 2009. 328 p.]

Примеры правильного оформления англоязычных ссылок:

Wells S.M., Kantor A.B., Stall A.M. CD43(S7) expression identifies peripheral B-cell subsets. *J. Immunol.*, 1994, Vol. 153, no. 12, pp. 5503-5515.

Goodman J.W., Parslow T.G. Immunoglobulin proteins. Basic and Clinical Immunology. Ed. Stites D.P., Terr A.I., Parslow T.G., Appleton & Lange, 1994, pp. 66-79.

Ссылки на литературные источники в тексте статьи, в рисунках и таблицах обозначаются арабскими цифрами в квадратных скобках [1, 2, 3,...]. не допускаются ссылки на диссертации, авторефераты диссертаций, публикации в сборниках, методические документы местного уровня. Количество источников не ограничено. В каждой ссылке приводятся все авторы работы. Неопубликованные статьи в список не включаются.

Обозначения, сокращения и единицы измерения

Для сложных терминов или названий, наиболее часто используемых в тексте статьи, можно ввести (в круглых скобках после первого упоминания полного названия термина) не более 3–5 нетрадиционных сокращений. Узаконенные международными номенклатурами сокращения используются в соответствующей транскрипции. Например, для термина «интерлейкин» используется сокращение «IL», а не русскоязычный вариант «ИЛ»; аналогично этому используются сокращения: «TNF», а не «ТНФ» или «ФНО»; «CD», а не «СД». Названия микроорганизмов приводятся в оригинальной транскрипции с использованием курсива (*E. coli*, *Streptococcus pyogenes*). Единицы измерения приводятся без точки после их сокращенного обозначения (с, ч, см, мл, мг, kDa и т.д.), регламентированного международными правилами.

Оформление иллюстративного материала

Иллюстративный материал должен быть оригинальным, то есть ранее нигде не опубликованным. Общее количество иллюстраций (таблиц и рисунков) не должно превышать восьми. При большем

количестве иллюстраций их публикация оплачивается автором. Публикация цветных иллюстраций (независимо от их количества) также оплачивается автором. Весь иллюстративный материал присылается в двух экземплярах и на диске в виде отдельных файлов.

Размеры иллюстраций:

- максимальная высота – 210 мм
- максимальная ширина для 1 столбца – 82 мм, для 2 столбцов – 170 мм

Таблицы. Каждая таблица печатается на отдельном листе (в отдельном файле на диске) через 2 интервала. Нумерация таблиц дается арабскими цифрами отдельно от нумерации рисунков (графиков и фотографий). Название печатается над таблицей. Весь текст на русском языке, содержащийся в таблице, включая единицы измерения, должен быть переведен на английский язык; при этом перевод следует помещать в ячейку с соответствующим русским текстом отдельной строкой. Название таблицы и текст примечания к ней также должны быть переведены на английский язык и приведены под русским текстом с новой строки. Для пометок в таблицах следует использовать одну или несколько (*). Пояснения печатаются после соответствующего количества (*) под таблицей. Единицы измерения, при необходимости, включаются в заголовки строк или столбцов.

Рисунки (графики и фотографии). В тексте статьи названия рисунков (графиков, фотографий) и таблиц размещаются сразу после абзаца, где на них дается первая ссылка. Все рисунки нумеруются последовательно арабскими цифрами по мере их использования в тексте статьи. Названия рисунков и подписи к ним выносятся в виде списка на отдельную страницу. В списке указываются: номер рисунка, название (с большой буквы), текст примечаний (для микрофотографий должно быть указано увеличение). Подписи к рисункам даются краткие, но достаточно информативные. Названия рисунков и примечаний к ним, нарицательные подписи, текст легенды должны быть переведены на английский язык и размещены под соответствующим текстом с новой строки. Рисунки могут быть представлены в графических форматах с расширением .tiff (разрешение не менее 300 dpi при 100% масштабе), .eps или .ai. Изображения, встроенные в документы Word, не принимаются. Графики и диаграммы предоставляются вместе с таблицами, на основе которых они были созданы, или с численными обозначениями показателей, отображаемых соответствующими графическими элементами (столбиками, секторами и т.п.) в виде файлов с расширениями .doc или, предпочтительнее, .xls.

Плата за публикацию статей

При соблюдении правил публикация статей в журнале «Российский иммунологический журнал» является бесплатной для авторов и учреждений, в которых они работают. Редакция может потребовать оплату в следующих случаях: 1) за публикацию цветных иллюстраций; 2) при большом количестве иллюстративного материала (свыше 8 иллюстраций).

Подготовка статей

Для представления статьи авторы должны подтвердить нижеследующие пункты. Рукопись может быть возвращена авторам, если она им не соответствует.

1. Направляя статью в журнал, авторы гарантируют, что поданные материалы не были ранее опубликованы полностью или по частям, в любой форме, в любом месте или на любом языке. 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, ttf, с названиями рисунков

7) Таблицы, если они есть – каждая отдельным файлом (Название каждой таблицы должно быть приведено заголовком в файле с самой таблицей)

8) Файл с цитируемой литературой (при загрузке в систему ему присваивается имя «Литература»), по следующей форме: таблица из четырех столбцов (альбомная ориентация), где:

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи
Размещаются в таблице в алфавитном порядке, в начале русскоязычные, затем на языках с латинской графикой	Указывать по библиографическому стандарту, представленному выше	Официальное англоязычное название публикации и источника, где она опубликована – для русскоязычных статей. В редких случаях, когда не существует официальных англоязычных названий (это возможно для таких типов публикаций, как тезисы, книги и др.) – редакция просит предоставить их перевод, используя красный цвет шрифта. Для англоязычных публикаций и источников в этом столбце ставится прочерк	В том случае, если информация о статье не размещена на официальном сайте издания, допустимо использовать URL статьи со сторонних сайтов, в том числе системы www.e-library.ru

4. Текст набран с одинарным межстрочным интервалом; используется кегль шрифта в 14 пунктов; для выделения используется курсив, а не подчеркивание; все ссылки на иллюстрации, графики и таблицы расположены в соответствующих местах в тексте, а не в конце документа.

5. Текст соответствует стилистическим и библиографическим требованиям, описанным в Правилах для авторов, расположенных на странице «О Журнале».

6. Если вы отправляете статью в рецензируемый раздел журнала, то вы согласны с требованиями слепого рецензирования, подробнее о котором можно узнать из раздела Рецензирование, на странице «О Журнале».

Авторские права

Авторы, публикующие в данном журнале, соглашаются со следующим:

1. Авторы сохраняют за собой авторские права на работу и предоставляют журналу право первой публикации работы на условиях лицензии Creative Commons Attribution License, которая позволяет другим распространять данную работу с обязательным сохранением ссылок на авторов оригинальной работы и оригинальную публикацию в этом журнале.

2. Авторы сохраняют право заключать отдельные контрактные договоренности, касающиеся неэксклюзивного распространения версии работы в опубликованном здесь виде (например, размещение ее в институтском хранилище, публикацию в книге), со ссылкой на ее оригинальную публикацию в этом журнале.

3. Авторы имеют право размещать их работу в сети Интернет (например, в институтском хранилище или персональном сайте) до и во время процесса рассмотрения ее данным журналом, так как это может привести к продуктивному обсуждению и большему количеству ссылок на данную работу (См. The Effect of Open Access).

Приватность

Имена и адреса электронной почты, введенные на сайте этого журнала, будут использованы исключительно для целей, обозначенных этим журналом, и не будут использованы для каких-либо других целей или предоставлены другим лицам и организациям.

Вы можете оформить подписку на журнал «Российский иммунологический журнал» через отделения связи:

Каталог «Пресса России» – индекс 15590.

Подписка на электронную версию журнала на сайте www.elibrary.ru

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Аверьянов А.В.	41	Животовский А.С.	41	Первов Ю.Ю.	17
Альбакасова А.А.	87	Иорданишвили А.К.	7	Поленок Е.Г.	27
Антонов А.В.	27, 41	Карташова О.Л.	57	Попова Л.Ю.	87
Байрамов П.В.	27	Каспаров Э.В.	77	Савченко А.А.	69, 77
Барило А.А.	69	Керимханов К.А.	7	Садовский И.С.	77
Беленюк В.Д.	69	Ковальчук В.К.	17	Смирнова С.В.	69
Блинова Е.А.	63	Колпинский Г.И.	27, 41	Смоляков Ю.Н.	49
Борисов А.Г.	69, 77	Коннов В.А.	49	Собко Е.А.	77
Бумай А.О.	7	Костяно М.В.	27, 41	Сухова Н.М.	63
Вафин И.А.	27, 41	Круглова О.С.	77	Терешков П.П.	49
Вержбицкая Н.Е.	27	Кузник Б.И.	49	Толстых А.В.	87
Галдина В.А.	63	Мальшев М.Е.	7	Усенкова Н.Н.	87
Глушков А.Н.	27, 41	Маркелова Е.В.	17	Чалисова Н.И.	49
Голицына А.А.	17	Морозова Н.В.	57	Шаповалов К.Г.	49
Гордеева Л.А.	27	Мун С.А.	27	Югай Ю.В.	17
Демина Д.В.	63	Пашина О.А.	57		
Демко И.В.	77	Пашкова Т.М.	57		

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

аллерген-специфические Th2A-клетки	64	поллиноз	70
аллерген	70	постковидный синдром	78
аллергический ринит	64	прогестерон	28, 42
антиидиотипические антитела	28	прогноз	50
антимикробные белки	8	псориаз	70
антитела	42	рак	28
антицитокиновая активность	57	рак молочной железы	42
атопическая бронхиальная астма	70	рак толстой кишки	42
атопический дерматит	70	сахарный диабет	18
атопия	70	секреторный иммунитет	8
аутовоспалительный синдром	87	слюна	8
бензо[а]пирен	28, 42	тималин	50
бронхиальная астма	64	типы реакций иммунной системы	78
гранулоциты	78	тромбоциты	78
заболевания пародонта	8	утрата зубов	8
идиотипические антитела	28	цитокиноподобные вещества	57
иммунный статус	50	цитокины	8, 18
иммуноблоттинг	70	ЦМВ-инфекция	87
иммуноглобулин	8	чек-поинт молекулы	64
ингибиторный рецептор PD-1	64	эстрадиол	28, 42
индекс системного иммунного воспаления	78	этанерцепт	87
лимфоциты	78	Allergy-Q®	70
моноциты	78	Candida	57
мукозальный иммунитет	18	COVID-19	50
нейтрофилы	78	ROC-анализ	50
пародонтит	18	T-лимфоциты	50, 64
первичный иммунодефицит	87		