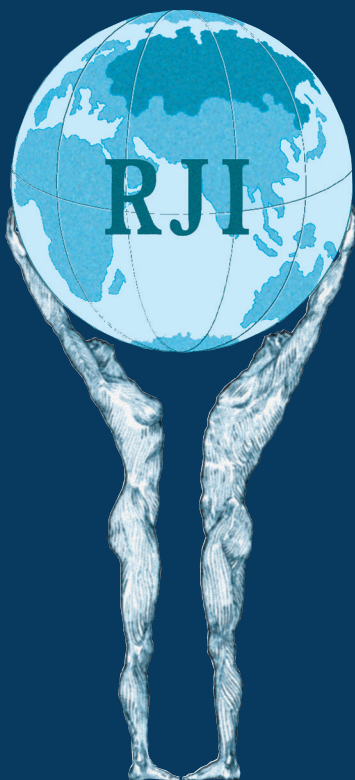


Том 27, № 3. С. 405-740

2024

Официальный журнал
Российского Научного Общества Иммунологов

**РОССИЙСКИЙ
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ**



**RUSSIAN JOURNAL
OF IMMUNOLOGY**

Official Journal
of Russian Society of Immunology

Volume 27
Number 3

2024

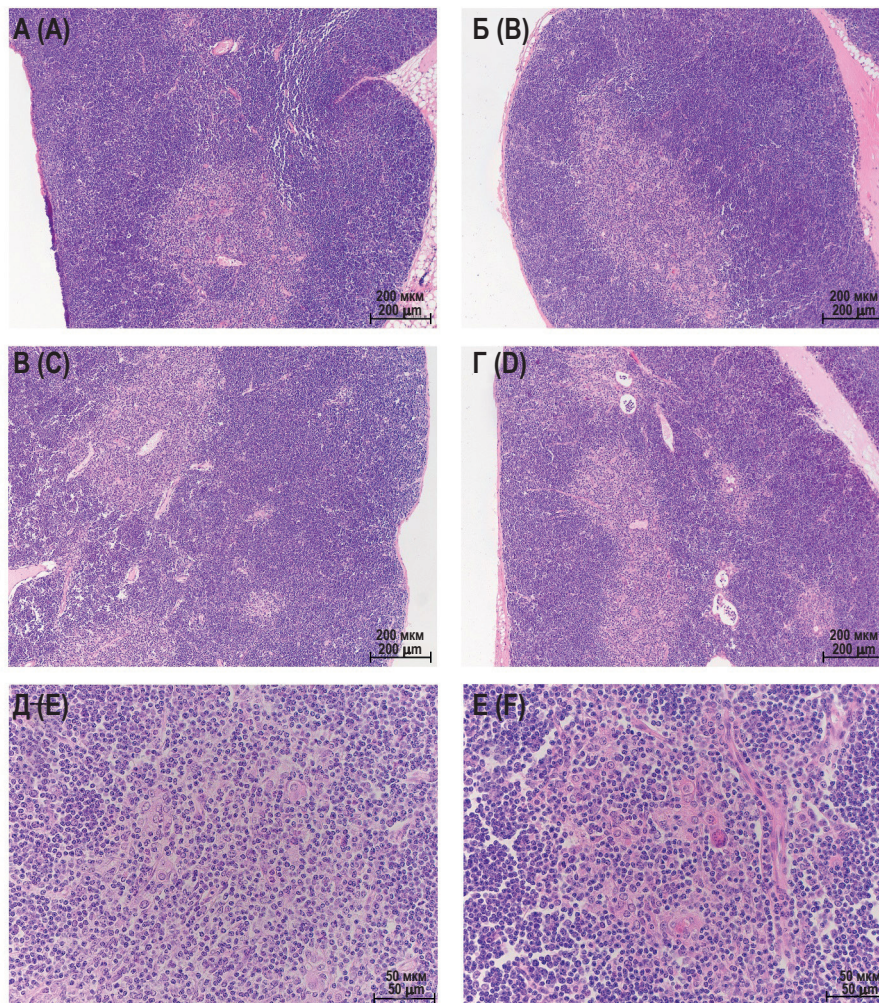


Рисунок 1. Морфологическая характеристика тимуса у ВК (А) и НК (Б), ВОК (А, В, Д) и НОК (Б, Г, Е) мышей С57В1/6

Примечание. А, Б – контрольные группы мышей, корковое вещество плотно заселено лимфоцитами, границы между корковым и мозговым веществом четкие. В – острый колит, границы коркового и мозгового вещества очагово-нечеткие. Г – острый колит, острая акцидентальная инволюция, сужение коркового вещества, тимические тельца в виде кистоподобных полостей в корковом веществе и на границе коркового и мозгового вещества. Д, Е – острый колит, тимические тельца из эпителиальных клеток. Окраска гематоксилином и эозином.

Figure 1. Morphological characteristics of the thymus in adult male C57Bl/6 mice with different tolerance to hypoxia in control groups (A, B) and with acute ulcerative colitis (C-F)

Note. A, C, E, tolerant to hypoxia. B, D, F, susceptible to hypoxia. A, B, control groups, the cortex is densely populated with lymphocytes, the boundaries between the cortex and medulla are clear. C, acute colitis, the boundaries of the cortex and medulla are focally indistinct. D, acute colitis, acute involution, narrowing of the cortex, thymic bodies in the form of cyst-like cavities in the cortex and at the border of the cortex and medulla. E, F, acute colitis, thymic bodies formed by epithelial cells. Hematoxylin and eosin staining.

РОССИЙСКОЕ НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО ИММУНОЛОГОВ
(РНОИ)

РОССИЙСКИЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

июль-сентябрь

2024, том 27

№. 3

Основан в 1996 году

Главный редактор

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

Заместитель главного редактора

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

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

Редакционная коллегия

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

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

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

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

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

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

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

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

Купраш Дмитрий Владимирович – член-корреспондент РАН, профессор, доктор биологических наук, Институт молекулярной биологии имени В.А. 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 Михазль – 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, инфекциологии 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

Свицич 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 21.06.2024 г. Формат 60 x 90 1/8. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 42. Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.)

Заказ № 051

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**

July-September

2024, volume 27

No. 3

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. Nevinny – Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Editorial Council

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

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

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

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 21.06.2024. Print format 60 x 90 1/8. Offset printing.

Printed sheets 42. Circulation 2000 copies. (1st edition – 1000 copies.)

Print in LLC «ARTEMIDA»

199178, Russian Federation, St. Petersburg, 8 line of Vasilievsky 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

Краткие сообщения

- Джалилова Д.Ш., Цветков И.С., Макарова О.В.
МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТИМУСА ПРИ ОСТРОМ И ХРОНИЧЕСКОМ КОЛИТЕ
У ЖИВОТНЫХ С РАЗНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ГИПОКСИИ 413
- Зудова А.И., Мухлынина Е.А., Соломатина Л.В.
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ АЦЕТАМИНОФЕНА..... 421
- Сумеркина В.А., Телешева Л.Ф., Мякотина Д.Э., Зотова М.А.
ВЛИЯНИЕ ЛЕПТИНА И АДИПОНЕКТИНА НА ЭКСПРЕССИЮ В ЛИМФОЦИТАХ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ IL-1 β , IL-6, TNF α 427
- Пашинина О.А., Карташова О.Л., Пашкова Т.М., Гриценко В.А.
ВЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО АНАЛОГА АКТИВНОГО ЦЕНТРА ГМ-КСФ – ПЕПТИДА ZP2 НА РОСТ
И БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ – ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ХИРУРГИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ 433
- Гриценко В.А., Морозова Н.В., Гладышева И.В., Черкасов С.В.
ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА АКТИВНОГО ЦЕНТРА ГРАНУЛОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНОГО
КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА – ZP2 НА РОСТОВЫЕ СВОЙСТВА *CORYNEBACTERIUM SPP.* 441
- Смолягин А.И., Колобов А.А., Кузьмичева Н.А., Полякова В.С., Михайлова И.В., Филиппова Ю.В., Мирошниченко И.В.
ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ТЕТРАПЕПТИДОВ КК1 И КК5 НА ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ СЕЛЕЗЕНКИ КРЫС
ПРИ ПАССИВНОМ ТАБАКОКУРЕНИИ 449
- Серенко Е.В., Гольдина И.А., Маркова Е.В.
ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА СПЛЕНОЦИТОВ, ОБРАБОТАННЫХ ХЛОПРОМАЗИНОМ,
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ АГРЕССИИ..... 457
- Фомина К.В., Храмова Т.В., Терентьев А.С., Терентьева О.С.
ГИСТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СЕЛЕЗЕНКИ КРЫС, ИММУНИЗИРОВАННЫХ S-БЕЛКОМ SARS-CoV-2 463
- Храмова Т.В., Сидоров А.Ю., Бедулева Л.В., Меньшиков И.В., Шкляева Н.П.
ВЛИЯНИЕ ИММУННОГО ОТВЕТА К S БЕЛКУ SARS-CoV-2 НА УРОВЕНЬ АНГИОТЕНЗИНА II У КРЫС 471
- Козицына А.И., Карпенко Л.Ю., Бахта А.А.
ЛЕЙКОЦИТАРНЫЕ ИНДЕКСЫ У СОБАК ПРИ ПРИОБРЕТЕННОМ ПЕРВИЧНОМ ГИПОТИРЕОЗЕ 477
- Валикова О.В., Здор В.В., Тихонов Я.Н., Борода А.В., Колбин К.Г.
СОВМЕСТНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МАСТОЦИТОВ И КУМУЛЮСНЫХ КЛЕТОК ПРИ СИНДРОМЕ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ 483
- Барышникова Н.В., Васева Е.М., Сивкова Д.С., Борисенко А.И., Малишевская О.И., Приходько Ю.С., Николенко М.В.
ВЛИЯНИЕ КОМПОЗИЦИОННОГО СОСТАВА НА ОСНОВЕ ЭКЗОМЕТАБОЛИТОВ *SACCHAROMYCES BOULARDII* В ОТНОШЕНИИ
ПАТОГЕННЫХ И ПЕРСИСТЕННЫХ СВОЙСТВ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA* 493
- Чередниченко В.Р., Хованцева У.С., Кузьмин В.В., Чертович Н.Ф., Маркин А.М.
МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ ТРАНСЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ТРАНСПОРТА ЛПНП И МИГРАЦИИ МАКРОФАГОВ 499
- Пашнина И.А., Крицкая И.С., Власова Е.В., Криволапова И.М.
ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИНУКЛЕАРНЫХ АНТИТЕЛ: РОЛЬ В СВОЕВРЕМЕННОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ
АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ 505
- Калягин А.Н., Стельмах Ю.Л., Антипова О.В., Меньшикова Л.В., Орлова Г.М., Синькова Г.М., Синьков А.В.,
Рыжкова О.В., Козлова Н.М., Балабина Н.М.
ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ СЕМЕЙНОЙ СРЕДИЗЕМНОМОРСКОЙ ЛИХОРАДКИ 515
- Шмелькова Д.М., Сташкевич Д.С., Суслова Т.А., Девальд И.В.
ОДНОНУКЛЕОТИДНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ IL-17F КАК ВОЗМОЖНЫЙ БИОМАРКЕР РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА В РУССКОЙ
ПОПУЛЯЦИИ ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ И ЕГО НЕРАВНОВЕСНОЕ СЦЕПЛЕНИЕ С IL-17A 523
- Карян Б.Г., Ильин М.В., Романов В.А., Романова Н.В., Семечкин Н.В., Лилеева Е.Г.
КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФЕНОМЕНА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ КИСЛОРОДЗАВИСИМЫХ
ФУНКЦИЙ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ АНКИЛОЗИРУЮЩЕМ СПОНДИЛИТЕ 531
- Суркова Р.С., Марасаева Е.А., Каширских Д.А., Собенин И.А., Орехов А.Н.
СВЯЗЬ МЕЖДУ ПОКАЗАТЕЛЯМИ СИАЛОВОЙ КИСЛОТЫ, СИАЛИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ И ХОЛЕСТЕРИНА ЛИПИДСОДЕРЖАЩИХ
ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ, БОЛЬНЫХ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ 539
- Снимщикова И.А., Плотникова М.О., Кулакова А.С., Якушкина Н.Ю.
WNT-СИГНАЛЬНЫЙ ПУТЬ И ЕГО СВЯЗЬ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМИ НАРУШЕНИЯМИ: РОЛЬ DVL-1 И WIF-1 545
- Власова В.В., Сайдакова Е.В.
ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ИНГИБИТОРНЫХ РЕЦЕПТОРОВ PD-1 И TIM1 НА CD4⁺ И CD8⁺Т-ЛИМФОЦИТАХ
РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ЗРЕЛОСТИ 553
- Трапш Х.З., Матуа А.З., Амаба С.Т., Горухчиева Ф.А., Смыр С.Д., Конджария И.Г., Миквабия З.Я.
ИССЛЕДОВАНИЕ ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ
КРОВИ У ЖИТЕЛЕЙ АБХАЗИИ РАЗНЫХ ВОЗРАСТОВ 559

Каландарова А.Н., Жиемуратова Г.К., Исмаилова А.А., Маткаримова А.А. КЛИНИЧЕСКИЕ И ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПЕРВИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТОВ В РЕСПУБЛИКЕ КАРАКАЛПАКСТАН	567
Зайцева И.П., Зайцев О.Н., Романов В.А., Семечкин Н.В. ИММУННЫЙ СТАТУС СТУДЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ФИЗИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ	573
Колупаев В.А., Зурочка В.А., Сашенков С.Л., Котова Н.В. ДИНАМИКА ИММУНОГРАММЫ ОБУЧАЮЩИХСЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ ДОЗИРОВАННОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ.....	579
Пашнин С.Л., Давыдова Е.В. ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ПОПУЛЯЦИИ В-ЛИМФОЦИТОВ НА ФОНЕ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО СТРЕССОВОГО РАССТРОЙСТВА У ВETERANОВ СОВРЕМЕННЫХ ВОЙН	587
Малашенкова И.К., Крынский С.А., Огуцов Д.П., Хайлов Н.А., Ратушный А.Ю., Филиппова Е.А., Мельникова В.Д., Кайдан М.А., Костюк Г.П., Дидковский Н.А. ИММУННЫЕ ФАКТОРЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ВЫРАЖЕННОЙ НЕГАТИВНОЙ СИМПТОМАТИКОЙ И ТЯЖЕСТЬЮ ШИЗОФРЕНИИ	595
Сурина Н.М., Федотова И.Б., Полетаева И.И. УЧАСТИЕ ПРОВосПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ АУДИОГЕННОЙ ЭПИЛЕПСИИ	605
Норка А.О., Воробьев С.В., Кузнецова Р.Н., Серебрякова М.К., Кудрявцев И.В., Коваленко С.Н., Монашенко Д.Н. ИЗМЕНЕНИЯ СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА Т-ХЕЛПЕРОВ 17-ГО ТИПА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ.....	613
Бочкарев П.Ю., Береснева Н.С., Зудова А.И., Соломатина Л.В., Гусев Е.Ю. МАРКЕРЫ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ГЕМОРАГИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ С ЭФФЕКТИВНЫМ И НЕЭФФЕКТИВНЫМ МОЗГОВЫМ КРОВОТОКОМ.....	621
Пивоварова Л.П., Арискина О.Б., Осипова И.В., Демко А.Е., Рысева А.А., Малькова В.М. ПРОТЕКТИВНАЯ РОЛЬ ГИПОКСИЕЙ ИНДУЦИРУЕМОГО ФАКТОРА-1 α И ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА NIF-1A В РАЗВИТИИ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА	627
Смирнова О.В., Синяков А.А. ИММУНИТЕТ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ РИНОСИНСУЗИТЕ И КОМОРБИДНЫХ СОСТОЯНИЯХ	635
Луговая Х.Б., Максимова А.В., Мигачёва Н.Б., Ускова Т.Р., Татаурщикова Н.С. АЛЛЕРГОКАРТИРОВАНИЕ У ДЕТЕЙ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМ РИНИТОМ В РАЗЛИЧНЫХ СУБЪЕКТАХ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ	643
Волкова Д.А., Скороходкина О.В., Умарова Н.Н. ЗНАЧЕНИЕ ОБЪЕКТИВНЫХ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ ФУНКЦИИ НОВОГО ДЫХАНИЯ В ДИАГНОСТИЧЕСКОМ АЛГОРИТМЕ ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ РИНИТЕ	649
Удовиченко Е.Н., Перфилова И.А. КЛИНИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ КАК ПРЕДИКТОРЫ РАЗВИТИЯ ТЯЖЕЛОГО РЕЦИДИВА ХРОНИЧЕСКОЙ СПОНТАННОЙ КРАПИВНИЦЫ ПОСЛЕ ОКОНЧАНИЯ ТЕРАПИИ ОМАЛИЗУМАБОМ	659
Москалец О.В. ОБОСНОВАННОСТЬ МЕДИЦИНСКИХ ОТВОДОВ ОТ ВАКЦИНАЦИИ У ЛИЦ С АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ.....	667
Первов Р.Ю., Первов Ю.Ю., Красников В.Е., Яценко А.К. ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ IL-1 β , IL-4, IL-8, IL-10 ПРИ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОМ ОРТОПЕДИЧЕСКОМ НЕСЪЕМНОМ ПРОТЕЗИРОВАНИИ.....	673
Яцков И.А., Белоглазов В.А., Агеева Е.С., Рымаренко Н.В., Жукова А.А., Аблаева Р.Н. ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА (C-159)T CD14 У РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ COVID-19.....	683
Добрынина М.А., Зурочка А.В., Зурочка В.А. КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСТКОВИДНЫХ ПАЦИЕНТОВ С ИНФЕКЦИОННЫМ СИНДРОМОМ ИММУНОПАТОЛОГИИ	689
Кузьмина Л.П., Хотулева А.Г., Цидильковская Э.С., Коляскина М.М. ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОГО СТАТУСА ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕННОМ КОНТАКТЕ СО СВИНЦОМ.....	699
Супрун С.В., Супрун Е.Н., Теплева Р.С., Наговицына Е.Б., Лебедько О.А. КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ С ВКЛЮЧЕНИЕМ КОМПОНЕНТОВ ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ БУРЫХ ВОДОРОСЛЕЙ	707
Левкович М.А., Крукиер И.И., Авруцкая В.В., Ермолова Н.В., Кравченко Л.В. РОЛЬ ФАКТОРОВ ИММУНИТЕТА В РАЗВИТИИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ.....	717
Бахметьев Б.А., Бочаров Г.А., Зверев С.Я., Калашникова Н.С. ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОАКТИВНОЙ АНТИРЕТРОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ НА НЕЙРОЭНДОКРИННУЮ РЕГУЛЯЦИЮ ИММУНОГЕНЕЗА У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ.....	723
АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ.....	739
ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ	740

CONTENTS

Short communications

<i>Dzhalilova D.Sh., Tsvetkov I.S., Makarova O.V.</i> THYMUS MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS IN ACUTE AND CHRONIC COLITIS IN ANIMALS WITH DIFFERENT HYPOXIA TOLERANCE	413
<i>Zudova A.I., Mukhlynina E.A., Solomatina L.V.</i> EXPERIMENTAL MODEL OF SYSTEMIC INFLAMMATION DURING ACETAMINOPHEN TOXICITY	421
<i>Sumerkina V.A., Telesheva L.F., Myakotina D.E., Zotova M.A.</i> EFFECT OF LEPTIN AND ADIPONECTIN ON THE EXPRESSION OF CYTOKINE GENES IL-1β, IL-6 AND TNFα IN LYMPHOCYTES	427
<i>Pashinina O.A., Kartashova O.L., Pashkova T.M., Gritsenko V.A.</i> INFLUENCE OF A SYNTHETIC ANALOGUE OF THE ACTIVE CENTER OF GM-CSF – PEPTIDE ZP2 ON THE GROWTH AND BIOFILM FORMATION OF GRAM-NEGATIVE BACTERIA – CAUSES OF SURGICAL INFECTIONS	433
<i>Gritsenko V.A., Morozova N.V., Gladysheva I.V., Cherkasov S.V.</i> ASSESSMENT OF THE INFLUENCE OF SYNTHETIC PEPTIDE OF THE ACTIVE CENTER OF GRANULOCYTE-MACROPHAGAL COLONY-STIMULATING FACTOR – ZP2 ON THE GROWTH PROPERTIES OF <i>CORYNEBACTERIUM</i> SPP.	441
<i>Smolyagin A.I., Kolobov A.A., Kuzmicheva N.A., Polyakova V.S., Mikhailova I.V., Filippova Yu.V., Miroshnichenko I.V.</i> EFFECT OF TETRAPEPTIDES KK1 AND KK5 ON THE IMMUNOLOGICAL PARAMETERS OF RAT SPLEEN DURING PASSIVE SMOKING	449
<i>Serenko E.V., Goldina I.A., Markova E.V.</i> IMMUNOMODULATORY PROPERTIES OF SPLENOCYTES TREATED WITH CHLORPROMAZINE IN EXPERIMENTAL AGGRESSION	457
<i>Fomina K.V., Khramova T.V., Terentiev A.S., Terentieva O.S.</i> HISTOLOGICAL ANALYSIS OF THE SPLEEN OF RATS IMMUNIZED WITH SARS-CoV-2 S PROTEIN	463
<i>Khramova T.V., Sidorov A.Yu., Beduleva L.V., Menshikov I.V., Shklyayeva N.P.</i> THE EFFECT OF THE IMMUNE RESPONSE TO SARS-CoV-2 S PROTEIN ON ANGIOTENSIN II LEVELS IN RATS	471
<i>Kozitsyna A.I., Karpenko L.Yu., Bakhta A.A.</i> LEUKOCYTE INDICES IN DOGS WITH ACQUIRED PRIMARY HYPOTHYROIDISM	477
<i>Valikova O.V., Zdor V.V., Tikhonov Ya.N., Boroda A.V., Kolbin K.G.</i> CO-CULTIVATION OF MASTOCYTES AND CUMULUS CELLS IN POLYCYSTIC OVARY SYNDROME	483
<i>Baryshnikova N.V., Vaseva E.M., Sivkova D.S., Borisenok A.I., Malishevskaya O.I., Prikhodko Yu.S., Nikolenko M.V.</i> THE INFLUENCE OF A COMPOSITION BASED ON EXOMETABOLITES OF <i>SACCHAROMYCES BOULARDII</i> IN RELATION TO THE PATHOGENIC AND PERSISTENT PROPERTIES OF FUNGI OF THE GENUS <i>CANDIDA</i>	493
<i>Cherednichenko V.R., Khovantseva U.S., Kuzmin V.V., Chertovich N.F., Markin A.M.</i> MODELING THE PROCESSES OF TRANSENDOTHELIAL TRANSPORT OF LDL AND MACROPHAGE MIGRATION	499
<i>Pashnina I.A., Kritskaia I.S., Vlasova E.V., Krivolapova I.M.</i> DETERMINATION OF ANTINUCLEAR ANTIBODIES: ROLE IN MODERN DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF CONNECTIVE TISSUE AUTOIMMUNE DISEASES	505
<i>Kalyagin A.N., Stelmakh Yu.L., Antipova O.V., Menshikova L.V., Orlova G.M., Sinkova G.M., Sinkov A.V., Ryzhkova O.V., Kozlova N.M., Balabina N.M.</i> FEATURES OF DIAGNOSTICS AND THERAPY OF FAMILIAL MEDITERRANEAN FEVER	515
<i>Shmelkova D.M., Stashkevich D.S., Suslova T.A., Devald I.V.</i> SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM OF IL-17F AS A POSSIBLE BIOMARKER OF RHEUMATOID ARTHRITIS IN THE RUSSIAN POPULATION OF THE CHELYABINSK REGION AND ITS NON-EQUILIBRIUM LINKAGE WITH IL-17A	523
<i>Karyan B.G., Ilyin M.V., Romanov V.A., Romanova N.V., Semechkin N.V., Lileeva E.G.</i> CLINICAL AND PATHOGENETIC SIGNIFICANCE OF THE PHENOMENON OF FUNCTIONAL HETEROGENEITY OF OXYGEN-DEPENDENT FUNCTIONS OF NEUTROPHILS IN ANKYLOSING SPONDYLITIS	531
<i>Surkova R.S., Marasaeva E.A., Kashirskikh D.A., Sobenin I.A., Orekhov A.N.</i> ASSOCIATION BETWEEN SIALIC ACID, SIALIDASE ACTIVITY AND CHOLESTEROL OF LIPID-CONTAINING CIRCULATING IMMUNE COMPLEXES IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH ATHEROSCLEROSIS	539
<i>Snimshchikova I.A., Plotnikova M.O., Kulakova A.S., Yakushkina N.Yu.</i> WNT SIGNALING PATHWAY AND ITS CONNECTION WITH METABOLIC DISORDERS: THE ROLE OF DVL-1 AND WIF-1	545
<i>Vlasova V.V., Saidakova E.V.</i> THE EXPRESSION PATTERNS OF THE INHIBITORY RECEPTORS PD-1 AND TIGIT ON CD4⁺ AND CD8⁺T LYMPHOCYTES AT DIFFERENT STAGES OF DIFFERENTIATION	553
<i>Trapsh Kh.Z., Matua A.Z., Amaba S.T., Gorukhchieva F.A., Smyr S.D., Kondzhariya I.G., Mikvabiya Z.Ya.</i> STUDY OF THE PHAGOCYtic ACTIVITY OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES IN THE PERIPHERAL BLOOD OF RESIDENTS OF ABKHAZIA OF DIFFERENT AGES	559

<i>Kalandarova A.N., Zhiemuratova G.K., Ismailova A.A., Matkarimova A.A.</i> CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL ASPECTS OF PRIMARY IMMUNODEFICIENCIES IN THE REPUBLIC OF KARAKALPAKSTAN	567
<i>Zaitseva I.P., Zaitsev O.N., Romanov V.A., Semechkin N.V.</i> IMMUNE STATUS OF STUDENTS WITH DIFFERENT LEVELS OF PHYSICAL ACTIVITY	573
<i>Kolupaev V.A., Zurochka V.A., Sashenkov S.L., Kotova N.V.</i> IMMUNOGRAM DYNAMICS OF STUDENTS UNDER THE INFLUENCE OF DOSED PHYSICAL ACTIVITY	579
<i>Pashnin S.L., Davydova E.V.</i> PHENOTYPIC HETEROGENEITY OF THE B LYMPHOCYTE POPULATION IN THE CONTEXT OF POST-TRAUMATIC STRESS DISORDER IN VETERANS OF MODERN WARS	587
<i>Malashenkova I.K., Krynskiy S.A., Ogurtsov D.P., Khailov N.A., Ratushnyy A.Yu., Filippova E.A., Melnikova V.D.</i> <i>Kaydan M.A., Kostyuk G.P., Didkovsky N.A.</i> IMMUNE FACTORS ASSOCIATED WITH PROMINENT NEGATIVE SYMPTOMS AND DISEASE SEVERITY IN SCHIZOPHRENIA	595
<i>Surina N.M., Fedotova I.B., Poletaeva I.I.</i> THE INVOLVEMENT OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN THE PATHOGENESIS OF AUDIOGENIC EPILEPSY	605
<i>Norka A.O., Vorobyev S.V., Kuznetsova R.N., Serebriakova M.K., Kudryavtsev I.V., Kovalenko S.N., Monashenko D.N.f</i> SEVERITY OF TRAUMATIC BRAIN INJURY GOVERNS ALTERATIONS IN TYPE 17 T HELPER CELL SUBSET COMPOSITION	613
<i>Bochkarev P.Yu., Beresneva N.S., Zudova A.I., Solomatina L.V., Gusev E.Yu.</i> MARKERS OF SYSTEMIC INFLAMMATION IN HEMORRHAGIC STROKE WITH EFFECTIVE AND INEFFECTIVE CEREBRAL BLOOD FLOW	621
<i>Pivovarova L.P., Ariskina O.B., Osipova I.V., Demko A.E., Ryseva A.A., Malkova V.M.</i> PROTECTIVE ROLE OF HYPOXIA-INDUCED FACTOR-1α AND HIF-1A GENE POLYMORPHISM IN THE DEVELOPMENT OF ACUTE PANCREATITIS	627
<i>Smirnova O.V., Sinyakov A.A.</i> IMMUNITY IN CHRONIC RHINOSINUSITIS AND COMORBID CONDITIONS	635
<i>Pugoeva Kh.B., Maksimova A.V., Migacheva N.B., Uskova T.R., Tataurshchikova N.S.</i> ALLERGY MAPPING IN CHILDREN WITH ALLERGIC RHINITIS IN DIFFERENT SUBJECTS OF THE RUSSIAN FEDERATION	643
<i>Volkova D.A., Skorokhodkina O.V., Umarova N.N.b</i> THE VALUE OF OBJECTIVE METHODS FOR ASSESSING NASAL BREATHING FUNCTION IN THE DIAGNOSTIC ALGORITHM FOR ALLERGIC RHINITIS	649
<i>Udovichenko E.N., Perfilova I.A.</i> CLINICAL FACTORS AS PREDICTORS OF THE DEVELOPMENT OF SEVERE RECURRENCE OF CHRONIC SPONTANEOUS URTICARIA AFTER COMPLETION OF OMALIZUMAB THERAPY	659
<i>Moskalets O.V.</i> VALIDITY OF MEDICAL EXEMPTIONS FROM VACCINATION IN PERSONS WITH ALLERGIC DISORDERS	667
<i>Pervov R.Yu., Pervov Yu.Yu., Krasnikov V.E., Yatsenko A.K.</i> CHANGES IN THE LEVELS OF CYTOKINES IL-1β, IL-4, IL-8, AND IL-10 IN DENTAL ORTHOPEDIC FIXED PROSTHETICS	673
<i>Yatskov I.A., Beloglazov V.A., Ageeva E.S., Rymarenko N.V., Zhukova A.A., Ablayeva R.N.</i> CD14 GENE POLYMORPHISM IN COVID-19 CONVALESCENTS: ANALYSIS OF (C-159)T	683
<i>Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Zurochka V.A.</i> CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF POST-COVID PATIENTS WITH INFECTIOUS IMMUNOPATHOLOGY SYNDROME	689
<i>Kuzmina L.P., Khotuleva A.G., Tsidilkovskaya E.S., Kolyaskina M.M.</i> ASSESSMENT OF IMMUNE STATUS MARKERS DURING OCCUPATIONAL LEAD EXPOSURE	699
<i>Suprun S.V., Suprun E.N., Telepneva R.S., Nagovitsina E.B., Lebedko O.A.</i> CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL EFFICACY OF COMPLEX THERAPY FOR BRONCHIAL ASTHMA IN CHILDREN WITH THE INCLUSION OF COMPONENTS OF FAR EASTERN BROWN ALGAE	707
<i>Levkovich M.A., Krukier I.I., Avrutskaya V.V., Ermolova N.V., Kravchenko L.V.</i> THE ROLE OF IMMUNE FACTORS IN THE DEVELOPMENT OF PRETERM BIRTH	717
<i>Bakhmetyev B.A., Bocharov G.A., Zverev S.Ya., Kalashnikova N.S.</i> EFFECT OF HIGHLY-ACTIVE ANTIRETROVIRAL THERAPY ON NEUROENDOCRINE REGULATION OF IMMUNOGENESIS IN HIV-INFECTED CHILDREN	723
AUTHOR INDEX	739
SUBJECT INDEX	740

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТИМУСА ПРИ ОСТРОМ И ХРОНИЧЕСКОМ КОЛИТЕ У ЖИВОТНЫХ С РАЗНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ГИПОКСИИ

Джалилова Д.Ш., Цветков И.С., Макарова О.В.

Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ
«Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

Резюме. Известно, что гипоксия взаимосвязана с воспалением, а тяжесть течения воспалительных заболеваний во многом зависит от индивидуальной устойчивости к недостатку кислорода. Фактор, индуцируемый гипоксией, — HIF-1, регулирует функциональное состояние тимуса, а его активность различается у организмов с разной устойчивостью к гипоксии. Вероятно, различия в индивидуальной устойчивости к гипоксии и связанной с ними функциональной активности HIF-1 могут влиять на тяжесть течения воспалительных заболеваний, таких как острый и хронический язвенный колит. Цель исследования — охарактеризовать морфологические изменения тимуса при остром и хроническом колите у животных с разной устойчивостью к гипоксии. Устойчивость самцов мышей C57Bl/6 к гипоксии определяли по «времени жизни» животных «на высоте» 10 000 м в барокамере. Через месяц после определения устойчивости к гипоксии животным моделировали острый колит путем замены питьевой воды на 1,5%-ный водный раствор декстрансульфата натрия на 5 суток, животных выводили из эксперимента на 7-е сутки. Хронический колит моделировали путем потребления животными 1%-ного водного раствора декстрансульфата натрия на 1-4-е, 12-14-е и 22-26-е сутки, животных выводили из эксперимента на 60-е сутки. Проводили забор тимуса, на гистологических препаратах оценивали объёмную долю структурно-функциональных зон под световым микроскопом методом точечного счета. Оценивали относительное количество разных типов тимических телец: состоящих из 3-5 клеток, 5 и более эпителиальных клеток, с отложениями кератогиалина и тимических телец в виде кистоподобных полостей. Показано, что при остром колите в тимусе только у низкоустойчивых к гипоксии мышей наблюдалось статистически значимое сужение коркового вещества и увеличение количества тимических телец, состоящих из 5 и более клеток. При хроническом колите только у низкоустойчивых к гипоксии животных по сравнению с контрольной группой статистически значимо повышалась объёмная доля коркового вещества и отношение коркового вещества к мозговому. У низкоустойчивых к гипоксии мышей увеличивалось количество телец с кератогиалином. У высокоустойчивых к гипоксии животных показатели не изменялись. Таким образом, выявлены различия в

Адрес для переписки:

Джалилова Джулия Шавкатовна
Научно-исследовательский институт морфологии
человека имени академика А.П. Авцына
117418, Россия, Москва, ул. Цюрупы, 3.
Тел.: 8 (906) 715-70-24.
E-mail: juliajal93@mail.ru

Address for correspondence:

Dzhuliia Sh. Dzhaliilova
Avtsyn Research Institute of Human Morphology
3 Tsyurupa Street
Moscow
117418 Russian Federation
Phone: +7 (906) 715-70-24.
E-mail: juliajal93@mail.ru

Образец цитирования:

Д.Ш. Джалилова, И.С. Цветков, О.В. Макарова
«Морфологическая характеристика тимуса
при остром и хроническом колите у животных
с разной устойчивостью к гипоксии» // Российский
иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 413-420.
doi: 10.46235/1028-7221-16818-TMC

© Джалилова Д.Ш. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

D.Sh. Dzhaliilova, I.S. Tsvetkov, O.V. Makarova "Thymus
morphological characteristics in acute and chronic colitis in
animals with different hypoxia tolerance", Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024,
Vol. 27, no. 3, pp. 413-420.
doi: 10.46235/1028-7221-16818-TMC

© Dzhaliilova D.Sh. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16818-TMC

реакции тимуса на развитие острого и хронического язвенного колита между высокоустойчивыми и низкоустойчивыми к гипоксии животными. Только у низкоустойчивых к гипоксии мышей при остром колите наблюдается сужение коркового вещества, свидетельствующее о развитии акцидентальной инволюции, а при хроническом колите — гиперплазия коркового вещества тимуса. Полученные данные необходимо учитывать при проведении экспериментальных исследований тимуса.

Ключевые слова: тимус, острый колит, хронический колит, устойчивость к гипоксии, воспаление, мышцы

THYMUS MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS IN ACUTE AND CHRONIC COLITIS IN ANIMALS WITH DIFFERENT HYPOXIA TOLERANCE

Dzhalilova D.Sh., Tsvetkov I.S., Makarova O.V.

Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russian Federation

Abstract. Hypoxia is connected with inflammation, and the severity of inflammatory diseases predominantly depends on individual tolerance to oxygen deficiency. Hypoxia-inducible factor, HIF-1, regulates the thymus functional state, and its activity varies in organisms with different hypoxia tolerance. It is likely that differences in individual hypoxia tolerance and the associated HIF-1 functional activity may influence the inflammatory diseases severity, such as acute and chronic ulcerative colitis. The study aim is to characterize the thymus morphological changes during acute and chronic colitis in animals with different hypoxia tolerance. The hypoxia tolerance of male C57Bl/6 mice was determined by “gasping time” at an “altitude” of 10,000 m in a decompression chamber. A month after determining hypoxia tolerance, the animals were modeled as acute colitis by replacing drinking water with a 1.5% dextran sulfate sodium for 5 days; the animals were removed from the experiment on the 7th day. Chronic colitis was modeled by animals consuming a 1% dextran sulfate sodium on days 1-4, 12-14 and 22-26; animals were removed from the experiment on the 60th day. The volume fraction of thymus structural and functional zones was assessed using the point counting method. The relative number of different thymic bodies types was assessed: consisting of 3-5 cells, 5 or more epithelial cells, with keratohyalin deposits and thymic bodies in the form of cyst-like cavities. During acute colitis, in the thymus only in susceptible mice, there was a significant cortex narrowing and an increase in the number of thymic bodies consisting of 5 or more cells. In chronic colitis, only in susceptible animals in comparison with the control group, the cortex volume fraction and the cortex to the medulla ratio increased significantly. In susceptible mice, the number of bodies with keratohyalin increased. In tolerant animals, the indicators did not change. Thus, differences in the thymus response to acute and chronic ulcerative colitis were identified between tolerant and susceptible to hypoxia animals. Only in susceptible mice, in acute colitis, was observed cortex narrowing, but in chronic colitis, cortex hyperplasia. The data obtained must be taken into account when conducting experimental studies of the thymus.

Keywords: thymus, acute colitis, chronic colitis, tolerance to hypoxia, inflammation, mice

Работа выполнена в рамках государственного задания № 122030200530-6 «Клеточные и молекулярно-биологические механизмы воспаления в развитии социально значимых заболеваний человека».

Введение

Известно, что транскрипционный фактор, индуцируемый гипоксией, — HIF-1 (Hypoxia-Inducible Factor-1), активация которого наблю-

дается при недостатке кислорода, взаимосвязан с воспалительными процессами, поскольку взаимодействует с ядерным фактором NF-κB (Nuclear Factor-κB), регулирующим воспаление [20, 25]. Повышение активности HIF-1 и NF-κB выявлено, в частности, при таком воспалительном заболевании, как язвенный колит [13, 14]. HIF контролирует функционирование иммунных клеток, и может способствовать как провоспалительному, так и противовоспалительному ответу. В клет-

ках врожденного и адаптивного иммунитета ИИФ стимулирует гликолиз [28]. ИИФ-опосредованный гликолиз связан с дифференцировкой и развитием Т- и В-лимфоцитов. В Т-клетках ИИФ-зависимая индукция гликолиза связана с активацией и дифференцировкой различных подтипов Т-лимфоцитов, а также с влиянием на их цитотоксичность и память [20]. Установлено влияние ИИФ-1 на Т-регуляторные лимфоциты, дифференцировка которых происходит в тимусе. ИИФ-1 усиливает опосредованный каспазой-8 апоптоз тимоцитов, что определяет процессы селекции Т-лимфоцитов [7, 18].

Стереотипные реакции тимуса на различные острые и хронические воспалительные заболевания морфологически проявляются акцидентальной инволюцией [17, 19]. В тимусе при акцидентальной инволюции наблюдается прогрессирующее снижение его массы и изменение функциональной активности эпителиальных и лимфоидных клеток [22, 26]. Тяжесть воспалительного процесса, а также исходное генотипически обусловленное функциональное состояние иммунной системы определяют выраженность акцидентальной инволюции тимуса.

Организмы различаются по устойчивости к гипоксии, что сопровождается разным уровнем экспрессии ИИФ-1, активности ферментов антиоксидантной защиты, белков теплового шока и др. [4, 10, 11, 12, 24]. Ранее нами показано, что как острый, так и хронический колит протекает тяжелее у низкоустойчивых (НУ) к гипоксии мышей по сравнению с высокоустойчивыми (ВУ) [2, 3]. Это может быть обусловлено особенностями реакций иммунной системы, поэтому целью данного исследования было охарактеризовать морфологические изменения тимуса при остром и хроническом колите у ВУ и НУ к гипоксии мышей.

Материалы и методы

Исследование выполнено на самцах мышей C57Bl/6 ($n = 80$) в возрасте 1,5–2 месяца, массой тела 20–25 г, с соблюдением принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов (ETS 123, Страсбург, 1986), и директивы Европейского парламента и Совета Европейского Союза (2010/63/EU, Страсбург, 2010). На проведение экспериментов было получено разрешение биоэтической комиссии ФГБНУ НИИМЧ им. акад. А.П. Авцына № 33 (9) от 7 февраля 2022 г.

Для определения устойчивости к недостатку кислорода мышей помещали в вентилируемую барокамеру в условия, соответствующие критической «высоте» 10 000 м [29], скорость подъема составила 80 м/с, температура окружающей сре-

ды 20–22°C. Определяли «время жизни» мышей в барокамере, которое соответствует времени от момента подъема животного на «высоту» до принятия им бокового положения. Мышей, «время жизни» которых было более 10 минут ($n = 30$), определяли как ВУ к гипоксии, а тех, у которых «время жизни» было менее 3 минут ($n = 22$), – как НУ. Среднеустойчивых к недостатку кислорода животных со «временем жизни» от 3 до 10 минут в эксперименты не включали.

Мышам проводили моделирование острого и хронического язвенного колита через один месяц после определения устойчивости к недостатку кислорода [5]. В опытные группы включали 20 ВУ и 12 НУ к гипоксии животных (ВОК и НОК). Острый колит [23] моделировали путем замены питьевой воды на 5 суток на 1,5%-ный водный раствор декстрансульфата натрия (ДСН, M_r 40 кДа). ВУ и НУ к гипоксии мыши контрольных групп (ВК и НК) получали питьевую воду. Животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом на 7-е сутки путем цервикальной дислокации. Хронический язвенный колит [21] моделировали с использованием 1%-ного водного раствора ДСН. Опытные группы ВУ и НУ к гипоксии мышей (ВХК и НХК) вместо питьевой воды получали ДСН на 1–4-е, 12–14-е и 22–26-е сутки. ВК и НК к гипоксии животные получали питьевую воду в течение всего исследования. Животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом на 60-е сутки путем цервикальной дислокации. Проводили забор тимуса, фиксировали его в жидкости Буэна. После гистологической проводки готовили срезы, окрашивали их гематоксилином и эозином. Под световым микроскопом Leica DM2000 (Германия) при увеличении 200× на гистологических препаратах тимуса в пяти полях зрения оценивали объемную долю структурно-функциональных зон методом точечного счета [1], при увеличении 400× анализировали соотношение тимических телец разных типов: состоящих из 3–5 клеток, из 5 и более эпителиальных клеток, с кератогиалином и тимических телец в виде кистоподобных полостей.

Полученные данные обрабатывали в программе «Statistica 8.0», для определения характера распределения показателей использовали критерий Колмогорова–Смирнова. Показатели были распределены ненормально, поэтому достоверность различий между ними определяли с помощью непараметрических критериев Манна–Уитни, Краскела–Уоллиса и Данна. Данные выражали в виде медианы и интерквартильного размаха $Me (Q_{0,25} - Q_{0,75})\%$. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Ранее нами показано, что на 7-е сутки после потребления 1,5%-ного водного раствора ДСН в течение 5 суток у ВУ и НУ к гипоксии мышей C57Bl/6 развивается острый катарально-язвенный колит, при этом его течение более тяжелое у НУ животных [2]. Известно, что воспалительный процесс в ободочной кишке при остром катараль-

но-язвенном колите сочетается с системными проявлениями воспалительного ответа, а также реактивными изменениями в центральных и периферических органах иммунной системы [6, 15].

Нами показано, что в тимусе только у НОК к гипоксии мышей наблюдалось статистически значимое сужение коркового вещества (рис. 1, см. 2-ю стр. обложки; табл. 1). Количество и раз-

ТАБЛИЦА 1. МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОБЪЕМНОЙ ДОЛИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ЗОН ТИМУСА И ОТНОСИТЕЛЬНОГО КОЛИЧЕСТВА ТИМИЧЕСКИХ ТЕЛЕЦ У ВК И НК, ВОК И НОК К ГИПОКСИИ САМЦОВ МЫШЕЙ C57Bl/6

TABLE 1. MORPHOMETRIC INDICATORS OF THE VOLUME FRACTION OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL ZONES OF THE THYMUS AND THE RELATIVE NUMBER OF THYMIC BODIES DURING ACUTE COLITIS IN TOLERANT (T) AND SUSCEPTIBLE (S) TO HYPOXIA MALE C57Bl/6 MICE

Показатели, % Indicators, %		Контроль Control		Острый колит Acute colitis		p
		ВК ¹ T ¹	НК ² S ²	ВОК ³ T ³	НОК ⁴ S ⁴	
Корковое вещество Cortex		69,60 (65,02-71,97)	68,47 (62,38-74,46)	65,80 (60,31-69,76)	59,93 (58,34-62,15)	0,26 ¹⁻³ 0,04 ²⁻⁴ 0,89 ¹⁻² 0,09 ³⁻⁴
Мозговое вещество Medulla		32,50 (29,38-35,15)	31,53 (25,54-37,62)	34,20 (30,24-39,69)	40,07 (37,85-41,66)	0,61 ¹⁻³ 0,04 ²⁻⁴ 0,89 ¹⁻² 0,09 ³⁻⁴
Отношение объемной плотности коркового вещества к мозговому Ratio of the cortex to the medulla volume fraction		2,52 (1,96-2,91)	2,42 (1,89-3,07)	2,07 (1,63-2,43)	1,66 (1,51-1,86)	0,26 ¹⁻³ 0,03 ²⁻⁴ 0,89 ¹⁻² 0,18 ³⁻⁴
Доля от общего количества тимических телец Proportion of the total number of thymic bodies	из 3-5 эпителиальных клеток of 3-5 epithelial cells	47,2 (42,6-49,8)	54,2 (45,8-59,6)	37,2 (29,3-46,3)	28,2 (21,5-34,7)	0,19 ¹⁻³ 0,01 ²⁻⁴ 0,23 ¹⁻² 0,15 ³⁻⁴
	из 5 и более эпителиальных клеток of 5 or more epithelial cells	11,8 (9,6-15,6)	15,5 (13,6-20,8)	19,9 (13,0-29,1)	23,0 (22,5-29,3)	0,20 ¹⁻³ 0,01 ²⁻⁴ 0,20 ¹⁻² 0,49 ³⁻⁴
	с кератогиалином with keratohyalin	36,9 (31,6-40,6)	28,8 (25,9-32,3)	34,2 (25,7-38,4)	37,9 (25,8-47,6)	0,48 ¹⁻³ 0,35 ²⁻⁴ 0,06 ¹⁻² 0,59 ³⁻⁴
	в виде кистоподобных полостей in the form of cyst-like cavities	0,0 (0,0-9,1)	0,0 (0,0-5,4)	6,2 (3,8-13,9)	6,0 (0,0-16,8)	0,52 ¹⁻³ 0,24 ²⁻⁴ 0,71 ¹⁻² 0,94 ³⁻⁴

меры тимических телец служат показателем их высокой секреторной активности, а также гибели тимоцитов [27]. По нашим данным при анализе тимических телец выявлено увеличение количества телец, состоящих из 5 и более клеток, что может свидетельствовать о гибели тимоцитов и более выраженной функциональной активности эпителиальных клеток мозгового вещества тимуса. Ранее нами показано [2], что при остром колите у НУ к гипоксии мышей наблюдается вы-

раженное снижение различных субпопуляций лимфоцитов в крови, что свидетельствует о развитии иммунодефицита. Таким образом, более тяжелое течение острого язвенного колита у НУ к гипоксии мышей по сравнению с ВУ сопровождается более выраженной реакцией тимуса.

Ранее показано [26], что у половозрелых мышей C57Bl/6 при экспериментальном остром язвенном колите, индуцированном ДСН, на 7-е сутки его развития снижается масса тимуса, кро-

ТАБЛИЦА 2. МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОБЪЕМНОЙ ДОЛИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ЗОН ТИМУСА И ОТНОСИТЕЛЬНОГО КОЛИЧЕСТВА ТИМИЧЕСКИХ ТЕЛЕЦ У ВК И НК, ВХК И НХК К ГИПОКСИИ САМЦОВ МЫШЕЙ C57Bl/6

TABLE 2. MORPHOMETRIC INDICATORS OF THE VOLUME FRACTION OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL ZONES OF THE THYMUS AND THE RELATIVE NUMBER OF THYMIC BODIES DURING CHRONIC COLITIS IN TOLERANT (T) AND SUSCEPTIBLE (S) TO HYPOXIA MALE C57Bl/6 MICE

Показатели, % Indicators, %		Группы Groups	Контроль Control		Хронический колит Chronic colitis		p
			ВК ¹ T ¹	НК ² S ²	ВХК ³ T ³	НХК ⁴ S ⁴	
Корковое вещество Cortex			70,1 (61,7-71,4)	63,3 (58,3-65,9)	67,8 (65,3-78,8)	73,7 (68,1-77,9)	0,99 ¹⁻³ 0,02 ²⁻⁴ 0,19 ¹⁻² 0,48 ³⁻⁴
Мозговое вещество Medulla			30,0 (28,6-38,3)	36,7 (34,1-41,7)	32,2 (21,2-34,8)	26,3 (22,1-31,9)	0,99 ¹⁻³ 0,02 ²⁻⁴ 0,19 ¹⁻² 0,48 ³⁻⁴
Отношение объемной плотности коркового вещества к мозговому Ratio of the cortex to the medulla volume fraction			2,8 (1,7-11,4)	2,1 (1,7-2,7)	3,1 (2,6-4,8)	4,2 (3,2-5,2)	0,76 ¹⁻³ 0,02 ²⁻⁴ 0,56 ¹⁻² 0,35 ³⁻⁴
Доля от общего количества тимических телец Proportion of the total number of thymic bodies	из 3-5 эпителиальных клеток of 3-5 epithelial cells		56,4 (51,4-62,8)	66,7 (64,4-72,9)	45,0 (33,9-52,1)	28,2 (23,6-36,7)	0,07 ¹⁻³ 0,03 ²⁻⁴ 0,06 ¹⁻² 0,11 ³⁻⁴
	из 5 и более эпителиальных клеток of 5 or more epithelial cells		16,7 (14,9-21,8)	20,8 (16,7-26,7)	16,7 (11,1-30,3)	23,0 (22,7-31,5)	0,99 ¹⁻³ 0,60 ²⁻⁴ 0,31 ¹⁻² 0,44 ³⁻⁴
	с кератогиалином with keratohyalin		16,6 (11,3-24,1)	8,7 (8,3-10,6)	33,3 (22,3-38,9)	28,6 (25,7-42,5)	0,06 ¹⁻³ 0,03 ²⁻⁴ 0,06 ¹⁻² 0,90 ³⁻⁴
	в виде кистоподобных полостей in the form of cyst-like cavities		7,7 (1,8-14,6)	0,0 (0,0-4,2)	7,1 (2,5-19,6)	10,7 (2,1-24,7)	0,95 ¹⁻³ 0,14 ²⁻⁴ 0,14 ¹⁻² 0,61 ³⁻⁴

ме того, в нем уменьшается число тимоцитов, при этом у мышей BALB/c инволюция тимуса не выявляется. По данным [6] у мышей C57Bl/6 острый катарально-язвенный колит сопровождается умеренной акцидентальной инволюцией тимуса, проявляющейся опустошением коркового вещества и уменьшением его объемной доли, увеличением числа тимических телец с кератогиалином и их гиперплазией, а также появлением тимических телец в виде кистоподобных полостей. Однако в данных работах не учитывалась индивидуальная устойчивость к гипоксии. По нашим данным, при остром колите не наблюдалось изменений функциональных зон тимуса у ВУ к гипоксии мышей, что важно учитывать для оценки индивидуальных реакций животных при воспалительных заболеваниях.

Показано [9], что при остром колите, вызванном ДСН, в тимусе наблюдается выраженная акцидентальная инволюция и гибель Т-лимфоцитов, но при переходе воспаления в хроническое, через 3 недели после завершения цикла потребления ДСН, структура функциональных зон тимуса восстанавливается.

По нашим данным, только у НХК к гипоксии животных по сравнению с НК статистически значимо увеличивалась объемная доля коркового вещества и отношение коркового вещества к мозговому. У ВХК к гипоксии мышей показатели не изменялись (рис. 2, см. 3-ю стр. обложки; табл. 2). У НХК к гипоксии мышей увеличивалось количество тимических телец с кератогиалином (рис. 2, см. 3-ю стр. обложки; табл. 2).

Выявленная нами у НХК к гипоксии мышей гиперплазия коркового вещества согласуется с

данными [6]. Обнаруженные нами при морфологическом и морфометрическом исследовании изменения тимуса у НХК к гипоксии животных свидетельствуют о восстановлении коркового вещества за счет активации процессов пролиферации и дифференцировки Т-лимфоцитов, что по данным литературы [19] сопровождается хроническим воспалительным процессом, индуцированный подкожным введением липополисахарида с частицами сефарозы.

Сужение коркового вещества при остром колите и его гиперплазия при хроническом, а также увеличение числа тимических телец, состоящих из 5 и более клеток и с накоплением кератогиалина, наблюдающиеся только у НУ к гипоксии мышей, могут быть обусловлены высоким исходным уровнем экспрессии HIF-1 у этих животных [4, 8].

Заключение

Таким образом, нами выявлены различия реакции тимуса на развитие острого и хронического язвенного колита между ВУ и НУ к гипоксии животными. Только у НУ к гипоксии мышей при остром колите наблюдается сужение коркового вещества, свидетельствующее о развитии акцидентальной инволюции, а при хроническом колите — гиперплазия коркового вещества тимуса. Полученные данные необходимо учитывать при проведении экспериментальных исследований тимуса.

Публикация размещена при участии Балтийского федерального университета им. И. Канта.

Список литературы / References

1. Автандилов Г.Г. Морфометрия в патологии. М.: Медицина, 1973. 248 с. [Avtandilov G.G. Morphometry in pathology]. Moscow: Meditsina, 1973. 248 p.
2. Джалилова Д.Ш., Полякова М.А., Диатроптов М.Е., Золотова Н.А., Макарова О.В. Морфологические изменения толстой кишки и состав лимфоцитов периферической крови при остром колите у мышей с разной устойчивостью к гипоксии // Молекулярная медицина, 2018. Т. 28, № 6. С. 46-50. [Dzhalilova D.Sh., Polyakova M.A., Diatroptov M.E., Zolotova N.A., Makarova O.V. Morphological changes in the colon and the composition of peripheral blood lymphocytes during acute colitis in mice with different resistance to hypoxia. *Molekulyarnaya medicina = Molecular Medicine*, 2018, Vol. 28, no. 6, pp. 46-50. (In Russ.)]
3. Джалилова Д.Ш., Золотова Н.А., Полякова М.А., Диатроптов М.Е., Добрынина М.Т., Макарова О.В. Морфологические особенности воспалительного процесса и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови при хроническом колите у мышей с разной устойчивостью к гипоксии // Клиническая и экспериментальная морфология, 2018. Т. 28, № 4. С. 13-19. [Dzhalilova D.Sh., Zolotova N.A., Polyakova M.A., Diatroptov M.E., Dobrynina M.T., Makarova O.V. Morphological features of the inflammatory process and subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes in chronic colitis in mice with different resistance to hypoxia. *Klinicheskaya i eksperimentalnaya morfologiya = Clinical and Experimental Morphology*, 2018, Vol. 28, no. 4, pp. 13-19. (In Russ.)]

4. Кирова Ю.И., Германова Э.Л., Лукьянова Л.Д. Фенотипические особенности динамики содержания HIF-1α в неокортексе крыс при различных режимах гипоксии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2012. Т. 154, № 12. С. 681-686. [Kirova Yu.I., Germanova E.L., Lukyanova L.D. Phenotypic features of the dynamics of HIF-1α levels in rat neocortex in different hypoxia regimens. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2013, Vol. 154, pp. 718-722 (In Russ.)]
5. Лукьянова Л.Д., Кирова Ю.И. Влияние гипоксического прекондиционирования на свободнорадикальные процессы в тканях крыс с различной толерантностью к гипоксии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2011. Т. 151, № 3. С. 263-268. [Lukyanova L.D., Kirova Yu.I. Effect of hypoxic preconditioning on free radical processes in tissues of rats with different resistance to hypoxia. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2011, Vol. 151, no. 3, pp. 292-296. (In Russ.)]
6. Постовалова Е.А., Макарова О.В., Косырева А.М., Михайлова Л.П. Морфология тимуса и особенности его клеточного состава при экспериментальном остром и хроническом язвенном колите // Архив патологии, 2019. Т. 81, № 5. С. 53-63. [Postovalova E.A., Makarova O.V., Kosyreva A.M., Mikhailova L.P. Morphology of the thymus and the specific features of its cellular composition in experimental acute and chronic ulcerative colitis. *Arkhiv patologii = Archive of Pathology*, 2019, Vol. 81, no. 5, pp. 53-63. (In Russ.)]
7. Biju M.P., Neumann A.K., Bensinger S.J., Johnson R.S., Turka L.A., Haase V.H. Vhlh gene deletion induces Hif-1-mediated cell death in thymocytes. *Mol. Cell. Biol.*, 2004, Vol. 20, pp. 9038-9047.
8. Dzhililova D.S., Kosyreva A.M., Diatropov M.E., Ponomarenko E.A., Tsvetkov I.S., Zolotova N.A., Mkhitarov V.A., Khochanskiy D.N., Makarova O.V. Dependence of the severity of the systemic inflammatory response on resistance to hypoxia in male Wistar rats. *J. Inflamm. Res.*, 2019, Vol. 11, no. 12, pp. 73-86.
9. Fredin M.F., Elgratt K., Svensson D., Jansson L., Melgar S., Hörnquist H.E. Dextran sulfate sodium-induced colitis generates a transient thymic involution – impact on thymocyte subsets. *Scand. J. Immunol.*, 2007, Vol. 65, pp. 421-429.
10. Ghosh D., Kumar R., Pal K. Individual variation in response to simulated hypoxic stress of rats. *Ind. J. Exp. Biol.*, 2012, Vol. 50, no. 10, pp. 744-748.
11. Jain K., Suryakumar G., Prasad R., Ganju L. Differential activation of myocardial ER stress response: a possible role in hypoxic tolerance. *Int. J. Cardiol.*, 2013, Vol. 168, no. 5, pp. 4667-4677.
12. Jain K., Suryakumar G., Ganju L., Singh S.B. Differential hypoxic tolerance is mediated by activation of heat shock response and nitric oxide pathway. *Cell Stress Chaperones*, 2014, Vol. 19, no. 6, pp. 801-812.
13. Karhausen J., Furuta G.T., Tomaszewski J.E., Johnson R.S., Colgan S.P., Haase V.H. Epithelial hypoxia-inducible factor-1 is protective in murine experimental colitis. *J. Clin. Invest.*, 2004, Vol. 114, no. 8, pp. 1098-1106.
14. Kerber E.L., Padberg C., Koll N., Schuetzhold V., Fandrey J., Winning S. The importance of Hypoxia-Inducible Factors (HIF-1 and HIF-2) for the pathophysiology of inflammatory bowel disease. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, Vol. 21, no. 22, 8551. doi: 10.3390/ijms21228551.
15. Kim J.J., Shajib M.S., Manocha M.M., Khan W.I. Investigating intestinal inflammation in DSS-induced model of IBD. *J. Vis. Exp.*, 2012, Vol. 60, 3678. doi: 10.3791/3678.
16. Kim S., Kim Y.K., Lee H., Cho J.E., Kim H.Y., Uh Y., Kim Y.M., Kim H., Cho S.N., Jeon B.Y., Lee H. Interferon gamma mRNA quantitative real-time polymerase chain reaction for the diagnosis of latent tuberculosis: a novel interferon gamma release assay. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 2013, Vol. 75, no.1, pp. 68-72.
17. Kosyreva A.M., Simonova E.Yu., Makarova O.V. Gender differences in pulmonary and immune response in acute experimental endotoxemia. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2012, Vol 153, no. 3, pp. 340-342.
18. Krzywinska E., Stockmann C. Hypoxia, metabolism and immune cell function. *Biomedicines*, 2018. Vol. 6, no. 2, 56. doi: 10.3390/biomedicines6020056.
19. Makarova O.V., Diatropov M.E., Serebryakov S.N., Malaitsev V.V., Bogdanova I.M. Morphological and functional changes in the immune system of BALB/c and C57BL/6 mice in chronic bacterial gram-negative endotoxemia. *Arkhiv patologii*, 2012, Vol. 74, no. 3, pp. 43-48.
20. McGettrick A.F., O'Neill L.A. J. The role of HIF in immunity and inflammation. *Cell Metab.*, 2020, Vol. 32, no. 4, pp. 524-536.
21. Melgar S., Karlsson A., Michaëlsson E. Acute colitis induced by dextran sulfate sodium progresses to chronicity in C57BL/6 but not in BALB/c mice: correlation between symptoms and inflammation. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2005, Vol. 288, no. 6, pp. 1328-1338.
22. Meunier M., Bazeli R., Feydy A., Drape J.L., Kahan A., Allanore Y. Incomplete thymic involution in systemic sclerosis and rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*. 2013, Vol. 80, no. 1, pp. 48-51.

23. Okayasu I., Hatakeyama S., Yamada M., Ohkusa T., Inagaki Y., Nakaya R. A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice. *Gastroenterology*, 1990, Vol. 98, no. 3, pp. 694-702.
24. Padhy G., Sethy N.K., Ganju L., Bhargava K. Abundance of plasma antioxidant proteins confers tolerance to acute hypobaric hypoxia exposure. *High Alt. Med. Biol.*, 2013, Vol. 14, no. 3, pp. 289-297.
25. Rius J., Guma M., Schachtrup C., Akassoglou K., Zinkernagel A.S., Nizet V., Johnson R.S., Haddad G.G., Karin M. NF-kappaB links innate immunity to the hypoxic response through transcriptional regulation of HIF-1alpha. *Nature*, 2008, Vol. 453, pp. 807-811.
26. Sasaki S., Ishida Y., Nishio N., Ito S., Isobe K. Thymic involution correlates with severe ulcerative colitis induced by oral administration of dextran sulphate sodium in C57BL/6 mice but not in BALB/c Mice. *Inflammation*, 2008. Vol. 31, no. 5, pp. 319-328.
27. Sharma H., Moroni L. Recent advancements in regenerative approaches for thymus rejuvenation. *Adv. Sci. (Weinh)*, 2021, Vol. 8, no. 14, 2100543. doi: 10.1002/advs.202100543.
28. Taylor C.T., Scholz C.C.. The effect of HIF on metabolism and immunity. *Nat. Rev. Nephrol.*, 2022, Vol. 18, no. 9, pp. 573-587.
29. Vedunova M.V., Sakharnova T.A., Mitroshina E.V., Shishkina T.V., Astrakhanova T.A., Mukhina I.V. Antihypoxic and neuroprotective properties of BDNF and GDNF in vitro and in vivo under hypoxic conditions. *STM*, 2014, Vol. 6, no. 4, pp. 38-47.

Авторы:

Джалилова Д.Ш. — к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммуноморфологии воспаления, Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

Цветков И.С. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории иммуноморфологии воспаления, Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

Макарова О.В. — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией иммуноморфологии воспаления, Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

Authors:

Dzhalilova D.Sh., PhD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Immunomorphology of Inflammation, Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russian Federation

Tsvetkov I.S., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Immunomorphology of Inflammation, Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russian Federation

Makarova O.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Research Associate, Head of the Laboratory of Immunomorphology of Inflammation, Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russian Federation

Поступила 31.03.2024

Отправлена на доработку 31.03.2024

Принята к печати 16.04.2024

Received 31.03.2024

Revision received 31.03.2024

Accepted 16.04.2024

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ АЦЕТАМИНОФЕНА

Зудова А.И., Мухлынина Е.А., Соломатина Л.В.

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

Резюме. Ацетаминофен является одним из наиболее токсичных препаратов, при передозировке которыми развивается повреждение печени. При этом ацетаминофен-индуцированная печеночная недостаточность тесно связана с развитием синдрома системной воспалительной реакции. При этом на сегодняшний день нет лекарственного средства, направленного на подавление системного воспалительного ответа. То есть требуется изучение данного вопроса в эксперименте, однако удобная и воспроизводимая модель системного воспаления при отравлении ацетаминофеном на настоящий момент не получена. Поэтому было принято решение разработать экспериментальную модель системного воспаления при отравлении ацетаминофеном. Целью данного исследования стало экспериментально обосновать полулетальную дозу при отравлении ацетаминофеном у мышей линии C57Bl/6, оценить показания гематологического и биохимического анализов крови после введения препарата. Исследование проводилось на мышцах-самцах линии C57Bl/6. Для определения полулетальной дозы экспериментальным животным внутрибрюшинно вводили «Ифимол» (Unique Pharmaceutical Laboratories, Индия) или раствор ацетаминофена (Sigma-Aldrich, США) с концентрацией 14 мг/мл в разных дозах. При введении «Ифимола» выхода на полулетальную дозу достичь не удалось. При введении раствора ацетаминофена, разведенного в физиологическом растворе в концентрации 14 мг/мл, 50% летальность была зафиксирована при введении дозы 600 мг/кг массы тела. После установления полулетальной дозы экспериментальной группе мышей вводили раствор ацетаминофена (Sigma-Aldrich, США) с концентрацией 14 мг/мл в дозе 600 мг/кг. Контрольной группе вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме. На вторые сутки проводили забор образцов печени, взятие периферической крови из бедренной артерии. В дальнейшем был проведен гематологический и биохимический анализы крови, гистологический анализ с оценкой общей патоморфологической картины. При проведении гистологического исследования с окраской гематоксилин/эозин были выявлены центролобулярные некрозы, дезорганизация структуры печени. По данным биохимического анализа крови статистически достоверно ($p < 0,05$) различались активность аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, концентрация креатинина, значение коэффициента де Ритиса у эксперименталь-

Адрес для переписки:

Зудова Алевтина Игоревна
ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии»
Уральского отделения Российской академии наук
620078, Россия, г. Екатеринбург,
ул. Первомайская, 106.
Тел./факс: 8 (343) 374-00-70.
E-mail: tina.zudova@mail.ru

Address for correspondence:

Alevtina I. Zudova
Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch,
Russian Academy of Sciences
106 Pervomayskaya St
Yekaterinburg
620078 Russian Federation
Phone: +7 (343) 374-00-70.
E-mail: tina.zudova@mail.ru

Образец цитирования:

А.И. Зудова, Е.А. Мухлынина, Л.В. Соломатина
«Экспериментальная модель системного воспаления
при токсическом воздействии ацетаминофена»
// Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27,
№ 3. С. 421-426.
doi: 10.46235/1028-7221-16654-ЕМО

© Зудова А.И. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.I. Zudova, E.A. Mukhlynina, L.V. Solomatina
“Experimental model of systemic inflammation during
acetaminophen toxicity”, Russian Journal of Immunology/
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3,
pp. 421-426.
doi: 10.46235/1028-7221-16654-ЕМО

© Zudova A.I. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16654-ЕМО

ной группы по сравнению с контрольной. Среди показателей гематологического анализа крови статистически значимые различия были по количеству лейкоцитов, тромбоцитов, а также абсолютному и относительному содержанию гранулоцитов и лимфоцитов. Таким образом, через 48 часов после введения полулетальной дозы ацетаминофена отмечались признаки повреждения внутренних органов (печень, почки), изменения показателей иммунной системы, что аналогично компонентам системного воспаления у людей.

Ключевые слова: ацетаминофен, парацетамол, отравление, системное воспаление, экспериментальная модель, мыши

EXPERIMENTAL MODEL OF SYSTEMIC INFLAMMATION DURING ACETAMINOPHEN TOXICITY

Zudova A.I., Mukhlynina E.A., Solomatina L.V.

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

Abstract. Acetaminophen is one of the most toxic drugs that can cause liver damage. At the same time, acetaminophen-induced liver failure is closely associated with the development of systemic inflammatory response syndrome. However, there is no drug aimed at suppressing the systemic inflammatory response. That is, this issue needs to be studied experimentally, but a model of systemic inflammation during acetaminophen overdose has not yet been obtained. Therefore, it was decided to develop an experimental model of systemic inflammation during acetaminophen overdose. The purpose of this study was to experimentally substantiate the semi-lethal dose for acetaminophen overdose in C57Bl/6 mice and to evaluate the readings of blood tests after administration of the drug. To determine the semi-lethal dose, male C57Bl/6 mice were intraperitoneally injected with “Ifimol” (Unique Pharmaceutical Laboratories, India) or acetaminophen solution (Sigma-Aldrich, USA) with a concentration of 14 mg/ml in different doses. When introducing “Ifimol”, it was not possible to achieve a semi-lethal dose. When administering a solution of acetaminophen, 50% mortality was recorded at a dose of 600 mg/kg body weight. After establishing a semi-lethal dose, the experimental group was administered an acetaminophen solution (Sigma-Aldrich, USA) with a concentration of 14 mg/ml at a dose of 600 mg/kg. The control group was injected with saline in an equivalent volume. On the second day, liver and peripheral blood samples were taken. Subsequently, hematological and biochemical blood tests and histological analysis were performed. Histological examination revealed centrilobular necrosis and disorganization of the liver structure. According to the biochemical blood test, the activity of aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, creatinine concentration, and the de Ritis coefficient differed statistically significantly ($p < 0.05$) in the experimental group compared to the control group. Among the hematological blood test parameters, there were statistically significant differences in the number of leukocytes, platelets, as well as the absolute and relative content of granulocytes and lymphocytes. Thus, 48 hours after administration of a semi-lethal dose of acetaminophen, there were signs of damage to internal organs (liver, kidneys) and changes in immune system parameters, which are similar to components of systemic inflammation in humans.

Keywords: acetaminophen, paracetamol, poisoning, systemic inflammation, immunology, experimental model, mice

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (Грант № 24-25-00469).

Введение

Ацетаминофен (парацетамол, N-ацетил-параминофен) — нестероидное противовоспалительное средство, один из наиболее широко используемых анальгезирующих и антипиретических препаратов в мировой клинической прак-

тике. Острое токсическое повреждение печени ацетаминофеном относится к числу актуальных клинических проблем, а также широко используется в экспериментальной токсикологической практике.

Ацетаминофен-индуцированная острая печеночная недостаточность у пациентов тесно связана с развитием синдрома системной воспалительной реакции (ССВО) и последующим каскадом осложнений, включая печеночную

энцефалопатию (ПЭ), коагулопатию и синдром полиорганной дисфункции. В работе Craig и соавт. [2] показано, что развитие системного воспалительного ответа, на фоне индуцированной ацетаминофеном гепатотоксичности, было связано с наиболее неблагоприятным исходом, независимо от наличия инфекции.

В лаборатории иммунологии воспаления ИИФ УрО РАН под руководством Гусева Е.Ю. и Черешнева В.А. многие годы ведутся работы по изучению системного воспаления как типового патологического процесса на основании большого клинического материала. Разработаны шкалы для верификации острого и хронического вариантов системного воспаления в клинической практике [14]. Однако среди изучаемых нозологий не было групп пациентов с отравлениями (сложность взаимодействия с токсикологическими центрами), поэтому было принято решение разработать экспериментальную модель системного воспаления при отравлении ацетаминофеном на экспериментальных животных. Интоксикация ацетаминофеном у мышей может рассматриваться в качестве потенциально перспективной модели системного воспаления (наличие повреждений в сердечно-сосудистой [8], центральной нервной [10, 11, 12], мочеполовой системах [1]).

Цель исследования – экспериментально обосновать LD-50 (lethal dose, 50%) для дальнейшего изучения наличия системного воспаления при отравлении ацетаминофеном у мышей линии C57Bl/6, оценить показания общего и биохимического анализов крови после введения ацетаминофена.

Материалы и методы

В исследовании использовались мыши-самцы линии C57Bl/6 в возрасте 10 недель. Эксперимент проводился в виварии ИИФ УрО РАН при строгом соблюдении требований по уходу и содержанию животных, а также выводу их из эксперимента с последующей утилизацией в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123 от 18.03.1986, Страсбург), Рекомендациями Европейской Комиссии 2007/526/ЕС от 18 июня 2007 года, Директивой 2010/63/EU европейского парламента и совета европейского союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях. Организация исследования одобрена этическим комитетом ФГБУН ИИФ УрО РАН, протокол № 04/22 от 18 ноября 2022 г.

Для определения полулетальной дозы экспериментальным животным внутрибрюшин-

но вводили «Ифимол» (Unique Pharmaceutical Laboratories, Индия) или раствор ацетаминофена (Sigma-Aldrich, США) с концентрацией 14 мг/мл после 12-часового голодания. При этом для «Ифимола» вводимые дозы составили – 500 мг/кг, 600 мг/кг, 750 мг/кг, 1000 мг/кг массы тела, а для раствора ацетаминофена в концентрации 14 мг/мл – 500, 600, 750 мг/кг массы тела.

В дальнейшей экспериментальной группе животных вводили раствор ацетаминофена (Sigma-Aldrich, США) с концентрацией 14 мг/мл в полулетальной дозе после 12-часового голодания. Контрольной группе вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме. На вторые сутки у выживших мышей проводили забор образцов печени и периферической крови из бедренной артерии.

В дальнейшем был проведен гематологический и биохимический анализы крови, гистологический анализ с оценкой общей патоморфологической картины срезов. Анализ периферической крови проведен на автоматизированном гематологическом анализаторе Mindray BC-2800Vet (Mindray, Китай). Статистическая обработка полученных данных проводилась при помощи программного обеспечения Statistica 10 (StatSoft Inc., США).

Результаты и обсуждение

В ответ на введение «Ифимола» в дозе 750 мг/кг к 14 суткам у мышей отмечалась 50% летальность; в дозе 500 мг/кг – 12,5% летальность; дозировки 400 мг/кг, 650 мг/кг, 1000 мг/кг не вызывали гибели животных. Гибель животных при этом происходила на 6 или 7 сутки после введения препарата.

При внутрибрюшинном введении раствора, полученного путем разведения ацетаминофена в физиологическом растворе в концентрации 14 мг/мл, доза 500 мг/кг не вызывала гибели животных. Доза в 750 мг/кг вызывала 66%-ную летальность. 50%-ная летальность отмечалась при введении дозы 600 мг/кг массы тела. Гибель животных в этих условиях была зафиксирована в первые 12, 24, 48 часов после введения препарата.

По данным исследований, представленных в литературе, полулетальная доза ацетаминофена для мышей составляет 338 мг/кг [7], 500 мг/кг [3] при внутрибрюшинном способе введения препарата. В нашем исследовании при введении «Ифимола» (раствора ацетаминофена для инфузий, применимого в клинической практике в Российской Федерации) внутрибрюшинно экспериментальным животным в дозах 400 мг/кг и 500 мг/кг массы тела выхода на LD-50 достичь не удалось. При этом, несмотря на то, что доза в 750 мг/кг

ТАБЛИЦА 1. ОПИСАТЕЛЬНАЯ СТАТИСТИКА ИССЛЕДУЕМЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ГРУППАХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. DESCRIPTIVE STATISTICS OF THE INDICATORS STUDIED IN THE GROUPS OF EXPERIMENTAL ANIMALS, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели Parameters	Группы (№) Groups (No.)	Контрольная (№ 1) Control (No. 1) n = 7	Экспериментальная (№ 2) Experimental (No. 2) n = 7
ALT, мкмоль/мин × л ALT, μmol/min × L		17,00 (11,00-20,00) ²	81,90 (63,50-89,40) ¹
AST, мкмоль/мин × л AST, μmol/min × L		12,60 (10,30-16,40) ²	131,50 (130,50-137,70) ¹
AST/ALT, у. е. AST/ALT, c. u.		1,19 (1,07-1,23) ²	0,59 (0,49-0,66) ¹
Амилаза, мг/с × л Amylase, mg/s × L		27,00 (25,40-32,50)	28,40 (20,50-37,40)
Креатинин, мкмоль/л Creatinine, μmol/L		55,60 (54,40-78,20) ²	88,50 (79,10-102,80) ¹
Лейкоциты, 10⁹/л Leukocytes, 10 ⁹ /L		2,40 (2,00-4,90) ²	2,10 (1,50-3,20) ¹
Лимфоциты, 10⁹/л Lymphocytes, 10 ⁹ /L		1,90 (1,50-3,10) ²	0,65 (0,50-1,30) ¹
Моноциты, 10⁹/л Monocytes, 10 ⁹ /L		0,00 (0,00-0,10)	0,00 (0,00-0,10) ¹
Гранулоциты, 10⁹/л Granulocytes, 10 ⁹ /L		0,70 (0,40-1,10) ²	1,60 (1,20-1,90) ¹
Лимфоциты, % Lymphocytes, %		74,00 (65,50-77,60) ²	32,15 (27,90-36,80) ¹
Моноциты, % Monocytes, %		2,50 (1,30-3,30)	1,90 (1,80-2,70)
Гранулоциты, % Granulocytes, %		24,70 (19,90-31,00) ²	65,15 (61,40-70,30) ¹
Эритроциты, 10¹²/л Red blood cells, 10 ¹² /L		9,43 (8,74-10,53)	9,45 (7,01-13,14)
Тромбоциты, 10⁹/л Platelets, 10 ⁹ /L		1374,00 (1152,00-1427,00) ²	374,00 (96,00-420,00) ¹

Примечание. ¹ – статистически значимые отличия (U-критерий Манна–Уитни, p < 0,05) от группы № 1, ² – статистически значимые отличия (U-критерий Манна–Уитни, p < 0,05) от группы № 2.

Note. ¹, statistically significant differences (Mann–Whitney (U) test, p < 0.05) with group No. 1, ², statistically significant differences (Mann–Whitney (U) test, p < 0.05) with group No. 2.

вызывала 50%-ную летальность, дозировка в 1000 мг/кг не вызвала гибели животных в течение 14 суток. Поэтому было принято решение перейти на использование ацетаминофена фирмы «Sigma-Aldrich», при введении которого полулетальная доза составила 600 мг/кг массы тела.

На основании полученных данных была разработана экспериментальная модель для изучения наличия системного воспаления у мышей линии C57Bl/6 при передозировке ацетаминофеном. Экспериментальным группам мышей линии C57Bl/6 вводился раствор ацетаминофена (14 мг/мл) в дозе 600 мг/кг массы тела. Контроль-

ным группам животных вводился физиологический раствор в эквивалентном объеме.

При проведении гистологического исследования срезов печени животных, выведенных из эксперимента через 48 часов, с окраской гематоксилин/эозин были выявлены очаговые некрозы в центрлобулярных областях, повышение ядерного полиморфизма гепатоцитов, дезорганизация структуры печени, что соотносится с литературными данными [4, 5, 8, 9, 13].

По данным биохимического анализа крови статистически достоверно различались активность аспартатаминотрансферазы, аланинами-

нотрансферазы, значение коэффициента де Ритиса (AST/ALT) по сравнению с контрольной (см. табл. 1). При этом отмечалось снижение значения данного коэффициента. Изменение данных показателей указывает на наличие повреждения клеток печени и нарушение ее нормального функционирования.

Также статистически значимо различалась концентрация креатинина у экспериментальной группы по сравнению с контрольной, что может говорить о развитии к 48 часам после введения препарата повреждения почек.

Среди показателей гематологического анализа крови статистически значимые различия были по количеству лейкоцитов, тромбоцитов, а также абсолютному и относительному содержанию гранулоцитов и лимфоцитов.

Изменения данных показателей указывают на активацию иммунной системы и реакцию системы микротромбообразования.

Таким образом, через 48 часов после введения экспериментальным животным полулетальной

дозы ацетаминофена отмечались признаки повреждения внутренних органов (печень, почки), изменения показателей иммунной системы, что аналогично компонентам системного воспаления у людей. Поэтому исследование показателей крови и изменений внутренних органах экспериментальных животных требует дальнейшего изучения.

Выводы

1. LD-50 для внутрибрюшинного введения ацетаминофена у самцов мышей линии C57Bl/6 составляет 600 мг/кг, что существенно выше дозировок, указанных в литературных источниках.

2. Через 48 часов после введения LD-50 экспериментальным животным статистически значимо различались активность аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, значения коэффициента де Ритиса, креатинина, лейкоцитов, тромбоцитов, а также абсолютное и относительное содержание гранулоцитов и лимфоцитов.

Список литературы / References

1. Горшков А.Н., Марусов И.В., Ягмуров О.Д., Игнатов Ю.Д., Кузнецова Н.А., Петрова Ю.А. Морфологические аспекты нефротоксического действия нестероидных противовоспалительных средств // *Нефрология*, 2013. Т. 17, № 1. С. 73-77. [Gorshkov A.N., Marusov I.V., Yagmurov O.D., Ignatov Yu.D., Kuznetsova N.A., Petrova Yu.A. Morphologic aspects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs nephrotoxic effect. *Nefrologiya = Nephrology*, 2013, Vol. 17, no. 1, pp. 73-77. (In Russ)].
2. Craig D.G.N., Reid T.W.D.J., Martin K.G., Davidson J.S., Hayes P.C., Simpson K.J. The systemic inflammatory response syndrome and sequential organ failure assessment scores are effective triage markers following paracetamol (acetaminophen) overdose. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2011, Vol. 34, no. 2, pp. 219-228.
3. Dahlin D.C., Nelson S.D. Synthesis, decomposition kinetics, and preliminary toxicological studies of pure N-acetyl-p-benzoquinone imine, a proposed toxic metabolite of acetaminophen. *J. Med. Chem.*, 1982, Vol. 25, no. 8, pp. 885-886.
4. Gosselin M., Daze Y., Mireault P., Crahes M. Toxic myocarditis caused by acetaminophen in a multidrug overdose. *Am.J. Forensic Med. Pathol.*, 2017, Vol. 38, no. 4, pp. 349-352.
5. Guo H., Sun J., Li D., Hu Y., Yu X., Hua H., Jing X., Chen F., Jia Z., Xu J. Shikonin attenuates acetaminophen-induced acute liver injury via inhibition of oxidative stress and inflammation. *Biomed. Pharmacother.*, 2019, Vol. 112, 108704. doi: 10.1016/j.biopha.2019.108704.
6. Krenkel O., Mossanen J.C., Tacke F. Immune mechanisms in acetaminophen-induced acute liver failure. *Hepatobiliary Surg. Nutr.*, 2014, Vol. 3, no. 6, pp. 331-343.
7. Lewis R.J. SAX's dangerous properties of industrial materials. *J. Hazard. Mater.*, 2005, Vol. 119, no. 1-3, pp. 258-258.
8. Lim A.Y., Segarra I., Chakravarthi S., Akram S., Judson J.P. Histopathology and biochemistry analysis of the interaction between sunitinib and paracetamol in mice. *BMC Pharmacol.*, 2010, Vol. 10, pp. 1-17.
9. Neff S.B., Neff T.A., Kunkel S.L., Hogaboam C.M. Alterations in cytokine/chemokine expression during organ-to-organ communication established via acetaminophen-induced toxicity. *Exp. Mol. Pathol.*, 2003, Vol. 75, no. 3, pp. 187-193.
10. Philippot G., Hallgren S., Gordh T., Fredriksson A., Fredriksson R., Viberg H. A cannabinoid receptor type 1 (CB1R) agonist enhances the developmental neurotoxicity of acetaminophen (Paracetamol). *Toxicol. Sci.*, 2018, Vol. 166, no. 1, pp. 203-212.
11. Philippot G., Gordh T., Fredriksson A., Viberg H. Adult neurobehavioral alterations in male and female mice following developmental exposure to paracetamol (acetaminophen): characterization of a critical period. *J. Appl. Toxicol.*, 2017, Vol. 37, no. 10, pp. 1174-1181.

12. Viberg H., Eriksson P., Gordh T., Fredriksson A. Paracetamol (acetaminophen) administration during neonatal brain development affects cognitive function and alters its analgesic and anxiolytic response in adult male mice. *Toxicol. Sci.*, 2014, Vol. 138, no. 1, pp. 139-147.
13. Xiao Q., Zhao Y., Ma L., Piao R. Orientin reverses acetaminophen-induced acute liver failure by inhibiting oxidative stress and mitochondrial dysfunction. *J. Pharmacol. Sci.*, 2022, Vol. 149, no. 1, pp. 11-19.
14. Zotova N., Zhuravleva Y., Chereshev V., Gusev E. Acute and chronic systemic inflammation: features and differences in the pathogenesis, and integral criteria for verification and differentiation. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, Vol. 24, no. 2, 1144. doi: 10.3390/ijms24021144.

Авторы:

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

Мухлынина Е.А. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории морфологии и биохимии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Соломатина Л.В. — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Authors:

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

Mukhlynina E.A., PhD, MD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Morphology and Biochemistry, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Solomatina L.V., PhD, MD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Inflammation Immunology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Поступила 31.03.2024
Отправлена на доработку 31.03.2024
Принята к печати 16.04.2024

Received 31.03.2024
Revision received 31.03.2024
Accepted 16.04.2024

ВЛИЯНИЕ ЛЕПТИНА И АДИПОНЕКТИНА НА ЭКСПРЕССИЮ В ЛИМФОЦИТАХ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ IL-1 β , IL-6, TNF α

Сумеркина В.А., Телешева Л.Ф., Мякотина Д.Э., Зотова М.А.

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

Резюме. Метаболический синдром (МС) является одной из актуальных мировых проблем здравоохранения. Масштабных эпидемиологических исследований по распространенности МС в мире не проводилось, но по данным разных авторов в зависимости от региона проживания, состава изучаемой популяции и используемых критериев диагностики частота МС составляет не менее 10%, а по оценкам Международной федерации диабета IDF – до 25% взрослого населения.

Изменение метаболизма при МС объясняется нарушением баланса медиаторов, синтезируемых жировой тканью (адипонектин, лептин, резистин, висфатин, васпин и другие), также МС рассматривают в качестве субклинического хронического воспалительного процесса, для которого характерен избыточный синтез провоспалительных и дефицит противовоспалительных цитокинов. По современным представлениям изменения клеточного и гуморального звена иммунитета при МС в значительной степени обусловлены дисбалансом адипокинов – лептина и адипонектина.

Повышение функциональной активности иммунных клеток, в том числе лимфоцитов, приводит к изменению экспрессии генов цитокинов. В настоящей работе *in vitro* изучена экспрессия генов IL-1 β , IL-6 и TNF α в лимфоцитах периферической крови под влиянием адипокинов в концентрациях, характерных для МС. В результате было установлено неодинаковое влияние адипокинов на лимфоциты пациентов с МС и условно здоровых лиц.

У условно здоровых лиц инкубация лимфоцитов с адипокинами лептином, адипонектином и их сочетанием, а также в присутствии физиологического раствора вызывает повышение экспрессии гена IL-6, наиболее заметный эффект отмечен при культивировании с адипонектином. Таким образом, в норме при снижении физиологической концентрации адипонектина повышается экспрессия IL-6 в лимфоцитах, что свидетельствует о недостаточной реализации противовоспалительного эффекта адипонектина.

При МС в выделенных из периферической крови лимфоцитах *in vitro* после инкубации с адипонектином, сочетанием адипонектина и лептина, а также в присутствии физиологического раствора

Адрес для переписки:

Сумеркина Вероника Андреевна
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный
медицинский университет»
454092, Россия, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.
Тел.: 8 (906) 866-33-50.
E-mail: veronika.sumerkina@mail.ru

Address for correspondence:

Veronika A. Sumerkina
South Ural State Medical University
64 Vorovsky St
Chelyabinsk
454092 Russian Federation
Phone: +7 (906) 866-33-50.
E-mail: veronika.sumerkina@mail.ru

Образец цитирования:

В.А. Сумеркина, Л.Ф., Телешева, Д.Э. Мякотина, М.А. Зотова «Влияние лептина и адипонектина на экспрессию в лимфоцитах генов цитокинов IL-1 β , IL-6, TNF α » // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 427-432.
doi: 10.46235/1028-7221-16711-EOL

© Сумеркина В.А. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

V.A. Sumerkina, L.F. Telesheva, D.E. Myakotina, M.A. Zotova “Effect of leptin and adiponectin on the expression of cytokine genes IL-1 β , IL-6 and TNF α in lymphocytes”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 427-432.
doi: 10.46235/1028-7221-16711-EOL

© Sumerkina V.A. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16711-EOL

повышается экспрессия гена IL-6. Выявлено отсутствие изменений экспрессии гена IL-6 под действием высокой концентрации лептина.

Вероятно, наши результаты отражают феномен резистентности лимфоцитов к действию лептина при МС. Таким образом, адипокины в концентрациях, характерных для метаболического синдрома (высокий уровень лептина и низкий уровень адипонектина), оказывают влияние на функциональную активность лимфоцитов периферической крови.

Ключевые слова: метаболический синдром, лептин, адипонектин, интерлейкины, активность лимфоцитов, экспрессия генов

EFFECT OF LEPTIN AND ADIPONECTIN ON THE EXPRESSION OF CYTOKINE GENES IL-1 β , IL-6 AND TNF α IN LYMPHOCYTES

Sumerkina V.A., Telesheva L.F., Myakotina D.E., Zotova M.A.

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. Metabolic syndrome (MS) is one of the world's topical health problems. Large-scale epidemiological studies on the prevalence of MS in the world have not been conducted, but according to different authors, depending on the region of residence, the composition of the study population and the diagnostic criteria used, the incidence of MS is at least 10%, and according to estimates of the International Diabetes Federation IDF – up to 25% of the adult population. The metabolic changes in MS are explained by a disturbance in the balance of mediators synthesized by adipose tissue (adiponectin, leptin, resistin, visfatin, vaspin and others); MS is also considered as a subclinical chronic inflammatory process characterized by excessive synthesis of proinflammatory and deficiency of anti-inflammatory cytokines. According to modern ideas, changes in the cellular and humoral immunity in MS are largely due to the imbalance of adipokines: leptin and adiponectin. Increased functional activity of immune cells, including lymphocytes, leads to changes in cytokine gene expression. In the present work, we studied *in vitro* the expression of IL-1 β , IL-6 and TNF α genes in peripheral blood lymphocytes under the influence of adipokines at concentrations characteristic of MS. As a result, differential effects of adipokines on lymphocytes of MS patients and conditionally healthy individuals were found. In conditionally healthy individuals, incubation of lymphocytes with adipokines leptin, adiponectin and their combination, as well as in the presence of physiological solution causes an increase in IL-6 gene expression. The most noticeable effect was observed when cultured with adiponectin. Thus, in norm, with a decrease in the physiological concentration of adiponectin, the expression of IL-6 in lymphocytes increases, indicating insufficient realization of the anti-inflammatory effect of adiponectin. In MS, IL-6 gene expression increases in lymphocytes isolated from peripheral blood *in vitro* after incubation with adiponectin, a combination of adiponectin and leptin, as well as in the presence of physiological solution. No changes in IL-6 gene expression under the effect of high concentration of leptin were detected.

Probably, our results reflect the phenomenon of lymphocyte resistance to leptin action in MS, as under its influence there is not activation of lymphocytes characteristic *in vivo*, but on the contrary, decrease of activated subpopulations, also there is no change in IL-6 gene expression. Thus, adipokines in concentrations characteristic of metabolic syndrome influence the functional activity of peripheral blood lymphocytes.

Keywords: metabolic syndrome, leptin, adiponectin, interleukins, lymphocyte activity, gene expression

Введение

По современным данным, значимая роль в изменении иммунного статуса при МС принадлежит нарушению баланса медиаторов, синтезиру-

емых жировой тканью (адипокинов, IL-1 β , IL-6, TNF α и других). Нарушение выражается в преобладании цитокинов с провоспалительными, проатерогенными и протромботическими свой-

ствами и дефицитом адипонектина с антиатерогенным, ангиопротекторным действием. Таким образом, создаются условия для формирования воспалительного процесса, ассоциированного с развитием ожирения [1, 3, 4].

В условиях МС интерес представляет дисбаланс лептина и адипонектина, оказывающих про- и противовоспалительные эффекты, соответственно [2].

Повышение функциональной активности иммунных клеток, в том числе лимфоцитов, приводит к изменению экспрессии генов цитокинов, однако влияние адипокинов на функциональное состояние лимфоцитов продолжает изучаться.

Цель работы — оценить влияние лептина и адипонектина на экспрессию лимфоцитами генов провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, TNF α при метаболическом синдроме у лиц молодого возраста в экспериментальных условиях *in vitro*.

Материалы и методы

На первом этапе было проведено исследование на 78 пациентах обоего пола в возрасте от 18 до 45 лет с МС (группа 1). В группу сравнения (группа 2) вошли 71 условно здоровых человек без абдоминального ожирения, избытка массы тела и дополнительных критериев метаболического синдрома. В сыворотке крови на автоматическом биохимическом и иммуноферментном анализаторе Analette Biochem (НТИ, США) методом твердофазного иммуноферментного анализа определяли содержание лептина (DVC, Канада) и адипонектина (AssayPro, Чехия). Рассчитывали соотношение концентрации лептина к концентрации адипонектина (лептин/адипонектин, нг/мкг). Методом твердофазного иммуноферментного анализа (АО «Вектор-Бест», Россия) были определены концентрации IL-1 β , IL-6, TNF α в периферической крови пациентов с МС и группы сравнения.

В эксперименте *in vitro* изучали экспрессию генов IL-1 β , IL-6 и TNF α в лимфоцитах периферической крови пациентов 1-й группы (n = 10) и 2-й группы (n = 10) после культивирования в питательной среде с адипокинами в концентрациях, характерных для МС, — высокой концентрацией лептина и низкой концентрацией адипонектина (лептин 50 нг/мл; адипонектин 5 мкг/мл). Методом фенольно-кислой экстракции из образцов культур лимфоцитов проводили выделение РНК генов ключевых молекул врожденного иммуни-

тета IL-1 β , IL-6 и TNF α . Концентрацию полученных образцов РНК измеряли на спектрофотометре Nanodrop ND-2000 (Thermo Scientific, США). ПЦР-РВ проводили с помощью набора реагентов (ООО «НПФ Синтол», Россия) на амплификаторах ДТ-96 (ООО «ДНК-технология», Россия). В результате получали кривые зависимости уровня флуоресценции от циклов амплификации и рассчитывали количество копий исследуемого гена относительно экспрессии «генов домашнего хозяйства» (ООО «НПФ Синтол», Россия). Статистическую обработку полученных результатов выполняли с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 10 (StatSoft Inc., 2011, США). Критическим уровнем значимости считали значения $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Исследование в условиях *in vivo* показало, что у пациентов с МС уровень лептина (32,80 (11,9-61,9) нг/мл) превышает значение в группе сравнения (9,15 (5,10-15,1) нг/мл). Концентрация адипонектина при МС (7,0 (5,3-9,1) мкг/мл) ниже, чем у пациентов группы сравнения (8,6 (7,1-12,6) мкг/мл), а соотношение лептин/адипонектин выше (4,05 (1,65-8,78)); группа сравнения (0,96 (0,48-1,56)). Вместе с тем у пациентов с МС среди провоспалительных цитокинов определено повышение концентрации IL-6 (3,2 (2,2-5,3)) по сравнению с группой сравнения (3,0 (2,2-4,3)). Концентрация цитокинов IL-1 β , TNF α не имела статистически значимых межгрупповых различий.

У условно здоровых лиц группы сравнения после инкубации с адипокинами в лимфоцитах было установлено повышение экспрессии гена IL-6 (табл. 1). Данный эффект был определен как в контрольной группе (до инкубации), так и после инкубации с лептином, адипонектином и их сочетанием. Однако наиболее выраженное повышение экспрессии гена IL-6 в лимфоцитах было отмечено при культивировании с адипонектином.

Инкубация лимфоцитов периферической крови пациентов с МС с физиологическим раствором (контроль), адипонектином и его сочетанием с лептином вызывала повышение экспрессии гена IL-6 относительно интактных лимфоцитов, однако статистически значимых отличий с лимфоцитами, культивированными в средах разного состава (физиологический раствор и адипокины) определено не было (табл. 2).

ТАБЛИЦА 1. КОЭФФИЦИЕНТЫ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ЛИЦ ДО (ИНТАКТНЫЕ) И ПОСЛЕ 24 Ч ИНКУБАЦИИ С АДИПОКИНАМИ (n = 10), Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. CYTOKINE GENE EXPRESSION COEFFICIENTS IN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES OF CONDITIONALLY HEALTHY INDIVIDUALS BEFORE (INTACT) AND AFTER 24 H INCUBATION WITH ADIPOKINES (n = 10), Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Цитокин Cytokine	До инкубации (интактные лимфоциты) Before incubation (intact lymphocytes)	После инкубации After incubation			
		Инкубация контроль (физ. раствор) Incubation control (saline solution)	Инкубация лептин, 50 нг/мл Incubation leptin, 50 ng/mL	Инкубация адипонектин, 5 мкг/мл Incubation adiponectin, 5 µg/mL	Инкубация лептин, 50 нг/мл + адипонектин, 5 мкг/мл Incubation leptin, 50 ng/mL + adiponectin, 5 µg/mL
IL-1β	5,04 (0,03-102,67)	5,45 (0,03-354,58)	109,59 (0,00-597,52)	124,86 (0,00-726,68)	65,03 (0,02-273,14)
IL-6	0,00 (0,00-0,05)	0,00 (0,00-8,06) p_и = 0,043 p _i = 0.043	0,63 (0,00-11,93) p_и = 0,043 p _i = 0.043	0,56 (0,00-18,83) p_и = 0,043 p_к = 0,043 p _i = 0.043 p _c = 0.043	4,48 (0,00-5,82) p_и = 0,043 p _i = 0.043
TNFα	0,31 (0,00-27,85)	0,00 (0,00-1,58)	0,00 (0,00-1,92)	0,06 (0,00-1,14)	0,56 (0,00-1,80)

Примечание. p_и – статистически значимые различия с интактными лимфоцитами; p_к – статистически значимые различия с лимфоцитами группы контроля.

Note. p_и, statistically significant differences with intact lymphocytes; p_к, statistically significant differences with lymphocytes of the control group.

ТАБЛИЦА 2. КОЭФФИЦИЕНТЫ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С МС ДО (ИНТАКТНЫЕ) И ПОСЛЕ 24 Ч ИНКУБАЦИИ С АДИПОКИНАМИ (n = 10), Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 2. CYTOKINE GENE EXPRESSION COEFFICIENTS IN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES OF MS PATIENTS BEFORE (INTACT) AND AFTER 24 H INCUBATION WITH ADIPOKINES (n = 10), Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Цитокин Cytokine	До инкубации (интактные лимфоциты) Before incubation (intact lymphocytes)	После инкубации After incubation			
		Инкубация контроль (физ. раствор) Incubation control (saline solution)	Инкубация лептин, 50 нг/мл Incubation leptin, 50 ng/mL	Инкубация адипонектин, 5 мкг/мл Incubation adiponectin, 5 µg/mL	Инкубация лептин, 50 нг/мл + адипонектин, 5 мкг/мл Incubation leptin, 50 ng/mL + adiponectin, 5 µg/mL
IL-1β	8,06 (1,80-102,67)	291,56 (173,01-1224,57)	311,21 (0,04-524,44)	291,56 (0,00-524,44)	255,89 (0,38-726,68)
IL-6	0,00 (0,00-0,04)	11,17 (3,45-29,73) p_и = 0,038 p _i = 0.038	0,00 (0,00-10,47)	5,86 (0,00-14,51) p_и = 0,038 p _i = 0.038	6,21 (0,00-17,64) p_и = 0,038 p _i = 0.038
TNFα	2,19 (0,00-31,73)	2,49 (0,59-5,11)	1,69 (0,00-4,20)	1,07 (0,00-4,79)	1,30 (0,16-3,69)

Примечание. p_и – статистически значимые различия с интактными лимфоцитами.

Note. p_и, statistically significant differences with intact lymphocytes.

Заключение

Результаты выполненной серии экспериментов демонстрируют, что у условно здоровых лиц лептин и адипонектин (изолированно или при сочетанном применении) вызывают в лимфоцитах повышение экспрессии гена цитокина IL-6 и не оказывают влияние на экспрессию генов IL-1 β и TNF α . Экспрессия гена IL-6 в лимфоци-

тах пациентов с МС не изменяется под действием лептина, что можно рассматривать как феномен резистентности лимфоцитов к действию лептина при МС. Таким образом, адипокины в концентрациях, характерных для метаболического синдрома (высокий уровень лептина и низкий уровень адипонектина), регулируют функциональную активность лимфоцитов периферической крови.

Список литературы / References

1. Бояринова М.А., Ротарь О.П., Конради А.О. Адипокины и кардиометаболический синдром // Артериальная гипертензия, 2014. Т. 20, № 5. С. 422-432. [Boyarinova M.A., Rotar O.P., Konradi A.O. Adipokines and cardiometabolic syndrome. *Arterialnaya gipertenziya = Arterial Hypertension*, 2014, Vol. 20, no. 5, pp. 422-432. (In Russ.)]
2. Титов В.Н. Адипонектин – гуморальный медиатор обратной связи в адипоцитах подкожной жировой ткани. Филогенетическая теория общей патологии; функциональное различие лептина и адипонектина // Клиническая лабораторная диагностика, 2015. Т.60, № 7. С. 4-14. [Titov V.N. Adiponectin as humoral mediator of feedback in adipocytes of subcutaneous fatty tissue. Phylogenetic theory of general pathology; functional difference of leptin and adiponectin. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2015, Vol. 60, no. 7, pp. 4-14. (In Russ.)]
3. Folco E.J., Rocha V.Z., López-Ilasaca M. Adiponectin inhibits pro-inflammatory signaling in human macrophages independent of interleukin-10. *J. Biol. Chem.*, 2009, Vol. 284, no. 38, pp. 25569-25575.
4. Ghantous C.M., Azrak Z., Hanache S. Differential role of leptin and adiponectin in cardiovascular system. *Int. J. Endocrinol.*, 2015, Vol. 2015, 534320. doi: 10.1155/2015/534320.

Авторы:

Сумеркина В.А. – к.м.н., ведущий научный сотрудник, и.о. заведующего ЦНИЛ ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Телешева Л.Ф. – д.м.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Authors:

Sumerkina V.A., PhD (Medicine), Leading Research Associate, Acting Head of the Central Research Laboratory, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Telesheva L.F., PhD, MD (Medicine), Professor of Department of Microbiology, Virology, Immunology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Мякотина Д.Э. — старший лаборант НИИ иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Myakotina D.E., Senior Laboratory Assistant, Institute of Immunology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Зотова М.А. — к.б.н., ведущий научный сотрудник НИИ иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Zotova M.A., PhD (Biology), Leading Research Associate, Institute of Immunology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Поступила 30.03.2024
Принята к печати 31.03.2024

Received 30.03.2024
Accepted 31.03.2024

ВЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО АНАЛОГА АКТИВНОГО ЦЕНТРА ГМ-КСФ – ПЕПТИДА ZP2 НА РОСТ И БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ – ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ХИРУРГИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ

Пашинина О.А., Карташова О.Л., Пашкова Т.М., Гриценко В.А.

ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Резюме. Цель – проанализировать характер влияния синтетического аналога активного центра ГМ-КСФ – пептида ZP2 на рост и биопленкообразование (БПО) грамотрицательных бактерий – возбудителей хирургических инфекций.

В работе использовано 18 клинических изолятов грамотрицательных бактерий разных видов (*Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Stenotrophomonas maltophilia*), выделенных из гнойных ран у больных с хирургической патологией и проявляющих выраженную резистентность ко многим антибиотикам, используемым в клинической практике. Выделение чистых культур микроорганизмов осуществляли общепринятыми методами, видовую принадлежность оценивали по прямому белковому профилированию с помощью MALDI TOF MS масс-спектрометра.

Для изучения влияния пептида ZP2 на рост и БПО бактерии проводили сокультивирование изолятов с раствором пептида ZP2 в мясо-пептонном бульоне (МПБ) в концентрации 5 мкг/мл при 37 °С в течение 24-48 ч. Действие пептида ZP2 исследовали как на формирующиеся биопленки, так и на сформированные, по степени связывания кристаллического фиолетового в стерильных 96-луночных полистироловых планшетах. Далее определяли Индексы ингибирования роста и коэффициенты БПО микроорганизмов.

Установлено, что синтетический аналог активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) – пептид ZP2 ингибировал рост изученных штаммов бактерий, снижая биомассу опытных культур в процессе развития бактериальных популяций.

Вместе с тем показано видоспецифическое действие пептида ZP2 в отношении способности хирургических штаммов изученных бактерий формировать биопленки. Экспериментально было установлено, что все изученные хирургические штаммы микроорганизмов были способны к биопленкообра-

Адрес для переписки:

Пашинина Ольга Александровна
ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук,
г. Оренбург, Россия
Тел.: 8 (922) 543-91-41.
E-mail: olga25mikro@mail.ru

Address for correspondence:

Olga A. Pashinina
Orenburg Federal Research Center,
Ural Branch, Russian Academy of Sciences
Orenburg
Russian Federation
Phone: +7 (922) 543-91-41.
E-mail: olga25mikro@mail.ru

Образец цитирования:

О.А. Пашинина, О.Л. Карташова, Т.М. Пашкова, В.А. Гриценко «Влияние синтетического аналога активного центра ГМ-КСФ – пептида ZP2 на рост и биопленкообразование грамотрицательных бактерий – возбудителей хирургических инфекций» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 433-440.
doi: 10.46235/1028-7221-16827-IOA

© Пашинина О.А. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

O.A. Pashinina, O.L. Kartashova, T.M. Pashkova, V.A. Gritsenko "Influence of a synthetic analogue of the active center of GM-CSF – peptide ZP2 on the growth and biofilm formation of gram-negative bacteria – causes of surgical infections", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 433-440.
doi: 10.46235/1028-7221-16827-IOA

© Pashinina O.A. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16827-IOA

зованию, причем максимальная выраженность признака была характерна для изолятов *S. maltophilia*. Синтетический аналог активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) – пептид ZP2 вызывал снижение способности к формированию биопленок у изолятов *S. maltophilia* и разрушал уже сформированные биопленки у всех изученных видов микроорганизмов.

Полученные экспериментальные данные расширяют спектр потенциального клинического применения синтетического аналога активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) – пептида ZP2, а его использование в составе новых лекарственных средств может быть эффективным в борьбе с антибиотикорезистентными возбудителями хирургических инфекций.

Ключевые слова: хирургические инфекции, возбудители, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, рост, биопленкообразование, синтетический аналог активного центра ГМ-КСФ – пептид ZP2

INFLUENCE OF A SYNTHETIC ANALOGUE OF THE ACTIVE CENTER OF GM-CSF – PEPTIDE ZP2 ON THE GROWTH AND BIOFILM FORMATION OF GRAM-NEGATIVE BACTERIA – CAUSES OF SURGICAL INFECTIONS

Pashinina O.A., Kartashova O.L., Pashkova T.M., Gritsenko V.A.

Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Abstract. The aim is to analyze the nature of the effect of the synthetic analogue of the active center of GM-CSF – peptide ZP2 on the growth and biofilm formation (BPO) of gram-negative bacteria – pathogens of surgical infections. The study used 18 clinical isolates of gram-negative bacteria of different species (*Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Stenotrophomonas maltophilia*) isolated from purulent wounds in patients with surgical pathology and showing pronounced resistance to many antibiotics used in clinical practice. The isolation of pure cultures of microorganisms was carried out by conventional methods; species were assessed by direct protein profiling using a MALDI TOF mass spectrometer. To study the effect of ZP2 peptide on bacterial growth and BPO, isolates were co-cultured with a solution of ZP2 peptide in meat-peptone broth (MPB) at a concentration of 5 micrograms/ml at 37°C for 24–48 hours. The effect of the ZP2 peptide was studied both on emerging biofilms and on those formed, according to the degree of binding of crystalline violet in sterile 96-well polystyrene plates. Next, Growth inhibition indices and coefficients of BPO of microorganisms were determined. It was found that the synthetic analogue of the active center of granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) – peptide ZP2 inhibited the growth of the studied bacterial strains, reducing the biomass of experimental cultures during the development of bacterial populations. At the same time, the species-specific effect of the ZP2 peptide on the ability of surgical strains of the studied bacteria to form biofilms has been shown. It was experimentally established that all the studied surgical strains of microorganisms were capable of biofilm formation, and the maximum severity of the trait was characteristic of *S. maltophilia* isolates. The synthetic analogue of the active center of granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) – peptide ZP2 caused a decrease in the ability to form biofilms in isolates *S. maltophilia* and destroyed already formed biofilms in all studied species of microorganisms. The experimental data obtained expand the range of potential clinical applications of the synthetic analogue of the active center of granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) – peptide ZP2, and its use in new medicines can be effective in combating antibiotic-resistant pathogens of surgical infections.

Keywords: surgical infections, pathogens, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, growth, biofilm formation, synthetic analogue of the active center of GM-CSF – peptide ZP2

Введение

Многие грамотрицательные бактерии разной видовой принадлежности, относящиеся к условно-патогенным микроорганизмам, способны выступать возбудителями бактериальных инфекционно-воспалительных заболеваний разной локализации благодаря наличию у них комплекса факторов патогенности и персистенции. При этом известно, что такие представители семейства *Enterobacteriaceae*, как *Klebsiella pneumoniae* и *C. freundii*, а также неферментирующие грамотрицательные бактерии вида *Stenotrophomonas maltophilia*, в 10-60% случаев выделяющиеся при различных жизнеугрожающих гнойно-септических состояниях [9, 11, 13], обладают выраженной антибиотикорезистентностью [10, 12]. Кроме того, достаточно часто указанные микроорганизмы характеризуются повышенными адсорбционными способностями к биотическим и абиотическим поверхностям с формированием на их поверхности биопленок, в составе которых они становятся менее доступными для действия на них эффекторов иммунитета и антимикробных средств.

В связи с этим все большее значение приобретают исследования, связанные с поиском новых лекарственных средств, обладающих широкой биологической активностью и способных подавлять развитие этиологически значимых микроорганизмов. Таким препаратом может стать синтетический аналог активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) – пептид ZP2, поскольку ранее было показано, что он способен подавлять рост и модифицировать биологические свойства условно-патогенных микроорганизмов – *K. pneumoniae* [4], *E. coli*, *Staphylococcus aureus* [5]. Наличие у пептида ZP2 уникальной комбинации иммунобиологических свойств позволило создать на его основе косметическое средство «Ацеграм» [7, 8], перспективное для купирования гнойно-воспалительных процессов. Однако его влияние на хирургические штаммы *K. pneumoniae*, *C. freundii* и *S. maltophilia* изучены не достаточно.

Цель настоящего исследования заключалась в анализе характера влияния синтетического аналога активного центра ГМ-КСФ – пептида ZP2 на рост и биопленкообразование грамотрицательных бактерий разных видов – возбудителей хирургических инфекций.

Материалы и методы

В экспериментах *in vitro* использованы клинические изоляты грамотрицательных бактерий разных видов: *K. pneumoniae* (n = 5), *C. freundii*

(n = 8), *S. maltophilia* (n = 5), выделенных из гнойных ран у больных, прооперированных в связи с хирургической патологией и проявляющих выраженную резистентность ко многим антибиотикам, используемым в клинической практике.

Выделение чистых культур микроорганизмов осуществляли общепринятыми методами, а их видовую идентификацию проводили по прямому белковому профилированию с помощью MALDI TOF MS масс-спектрометра серии Microflex LT (Bruker Daltonics, Германия) и программного обеспечения MaldiBioTyper 3.0.

В работе использовали пептид ZP2 – синтетический аналог активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ), синтезированного твердофазным способом на синтезаторе Applied Biosystems 430A (США) по методу *in situ*, любезно предоставленный профессором А.В. Зурочкой (ИИФ УрО РАН).

Изучение влияния пептида ZP2 на рост микроорганизмов осуществляли путем инкубации культур в течение 24 ч. в микроячейках стерильной пластиковой планшеты в присутствии данного пептида в конечной концентрации 5 мкг/мл. Для этого взвесь суточной агаровой культуры исследуемого штамма, эквивалентная 10,0 ед. по стандарту McFarland (Den-1 McFarland Densitometre, Biosan, Латвия), соединяли с раствором пептида ZP2 в мясо-пептонном бульоне (МПБ) в соотношении 1:1, инкубировали в термостате при 37°C и измеряли оптическую плотность культуры (OD) на микропланшетном фотометре StatFax-2100 (США) при длине волны 492 нм сразу (исходный уровень) и через 4, 8, 16, 24 часа инкубации. Контролем служили изоляты, не подвергавшиеся влиянию пептида ZP2.

Для определения степени влияния пептида ZP2 на рост биомассы/численности микроорганизмов рассчитывали Индекс ингибирования (ИИ) развития бактериальных популяций по формуле [3]:

$$\text{ИИ} = (\text{OD}_k - \text{OD}_0) / \text{OD}_k \cdot 100\%,$$

где ИИ – Индекс ингибирования (%); OD_k и OD_0 – оптические плотности контроля и опыта соответственно. Чувствительными к пептиду ZP2 считали штаммы при ИИ > 5%.

Изучение влияния пептида ZP2 на биопленкообразование микроорганизмов оценивали по степени связывания ими индикатора кристаллического фиолетового (C25H30ClN3, HiMedia Laboratories, Индия) по методике [15, по протоколу 17] в стерильных 96-луночных полистироловых планшетах (Nuova Aptaca S.R.L., Италия). Для этого в лунки 96-луночного план-

шета с 125 мкл взвесей суточных культур бактерий вносили МПБ с пептидом ZP2 (концентрация 10 мкг/мл) в соотношении 1:1. В контроле к взвесям бактерий добавляли МПБ без данного пептида (1:1). Планшет инкубировали 24 ч при 37 °С, далее из лунок удаляли надосадок с планктонными клетками. Оставшиеся в лунке биопленки окрашивали, внося в ячейки 125 мкл 1% раствора кристаллического фиолетового, инкубировали в течение 15 мин при комнатной температуре. Лунки трехкратно промывали дистиллированной водой (до ее полного просветления); для экстракции красителя из биопленок в лунки вносили по 200 мкл 95% этанола и выдерживали 10-15 мин при комнатной температуре. Затем по 125 мкл надосадка микропипеткой переносили в лунки чистого планшета и измеряли оптическую плотность (OD) на микропланшетном фотометре StatFax-2100 (США) при длине волны 540 нм. Коэффициент биопленкообразования (КБО, единицы измерения – условные единицы, у. е.) рассчитывали как отношение OD опыта к OD контроля.

При изучении влияния пептида ZP2 на сформированную биопленку микроорганизмы культивировали в течение 24 ч при 37 °С, после удаления планктонных клеток и отмывания лунок, добавляли МПБ с раствором ZP2 (1:1), инкубировали в течение 24 ч при 37 °С, затем измеряли оптическую плотность на микропланшетном фотометре StatFax-2100 (США).

Все эксперименты проводили в трех повторностях, высчитывая средние значения признака. Статистический анализ результатов проводился с помощью пакета программ Microsoft Excel 2007. Значимость различий средних величин показателей оценивали с помощью методов вариационной статистики (t-критерий Стьюдента). Статистически значимыми отличия считали при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

На первом этапе был проведен сравнительный анализ влияния синтетического пептида ZP2 на рост клинических изолятов микроорганизмов изученных видов (*K. pneumoniae*, *C. freundii*, *S. maltophilia*), выделенных из гнойных ран у больных с хирургической патологией, в жидкой питательной среде. Полученные данные свидетельствовали об ингибирующем эффекте пептида ZP2 на рост в МПБ изученных штаммов бактерий, поскольку в опыте наблюдалось снижение в процессе развития бактериальных популяций оптической плотности (OD) опытных культур, что

отражало негативную динамику размера биомассы/численности микроорганизмов в присутствии данного пептида (рис. 1). Так, у *K. pneumoniae* через 4 часа культивирования с синтетическим пептидом ZP2 было отмечено снижение OD бульонных культур в 2,8 раза, у *C. freundii* – в 2,7 раза, а у *S. maltophilia* – в 2,0 раза. К 24 часам культивирования разница тестируемых культур между контролем и опытом по этому показателю увеличивалась у изолятов *C. freundii* в 3,2 раза, у *K. pneumoniae* в 4,0 раза, у *S. maltophilia* в 4,2 раза.

Индекс ингибирования (ИИ) роста культур в опыте с пептидом ZP2 (в конечной концентрации 5 мкг/мл) через 4 часа культивирования был относительно высоким и составлял от 51,4% у *S. maltophilia* до 64% у *C. freundii*. Через 24 ч инкубирования ИИ увеличился до 68% у *C. freundii* и 75-77% у *K. pneumoniae* и *S. maltophilia*. Таким образом, даже такая низкая концентрация пептида ZP2, как 5 мкг/мл способна значительно тормозить рост бульонных культур хирургических штаммов *K. pneumoniae*, *C. freundii* и *S. maltophilia*.

На следующем этапе было изучено влияние пептида ZP2 на способность клинических изолятов грамотрицательных бактерий – возбудителей хирургических инфекций формировать биопленки, поскольку имеются данные о его угнетающем действии на способность клинических штаммов стафилококков образовывать биопленки [6].

Экспериментально установлено, что все изученные хирургические штаммы микроорганизмов были способны к биопленкообразованию, причем максимальная выраженность коэффициента биопленкообразования (КБО, у. е.) была характерна для изолятов *S. maltophilia* и составила $3,24 \pm 0,17$ у. е., у штаммов энтеробактерий *K. pneumoniae* и *C. freundii* КБО достоверно не отличался между собой и составлял соответственно $1,86 \pm 0,22$ и $1,97 \pm 0,49$ у. е. (рис. 2).

При изучении влияния пептида zp2 в концентрации 5 мкг/мл установлено снижение способности к формированию биопленок у изолятов *S. maltophilia* в 1,4 раза относительно контроля ($p \leq 0,05$), у клинических штаммов *K. pneumoniae* и *C. freundii* достоверных изменений выраженности указанного признака выявлено не было (рис. 2).

В то же время использованная в опытах концентрация пептида zp2 (5 мкг/мл) вызывала разрушение уже сформированных биопленок, о чем свидетельствует снижение в опыте относительно контроля выраженности КБО у *C. freundii* в 3,1 раза ($0,64 \pm 0,02$), а у изолятов *K. pneumoniae* и *S. maltophilia* в 2,4 раза (до $0,79 \pm 0,08$ и $1,42 \pm 0,07$ соответственно) (рис. 2).

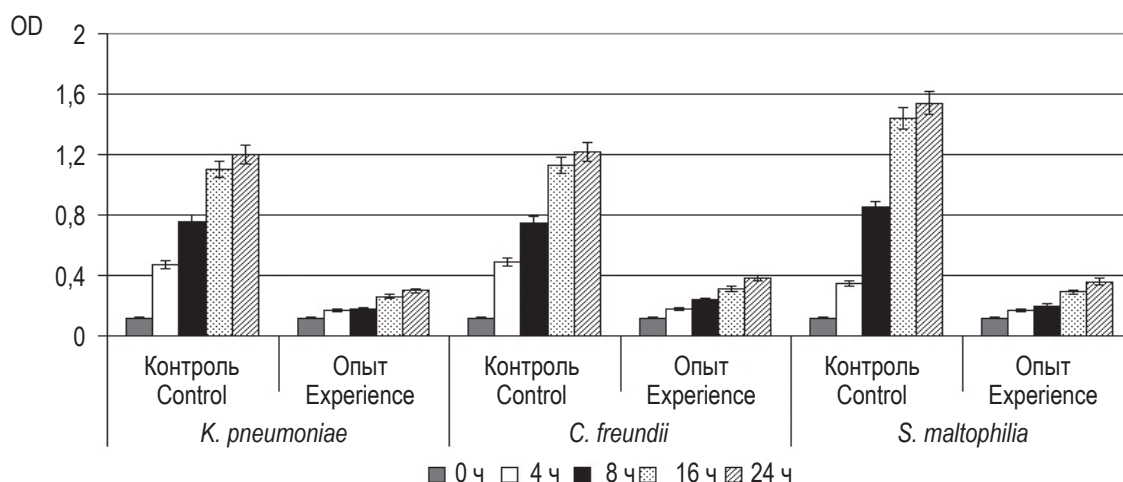


Рисунок 1. Динамика роста биомассы (OD) бульонных культур микроорганизмов в контроле (без пептида ZP2) и опыте (с пептидом ZP2)

Примечание. * – $p < 0,001$.

Figure 1. Dynamics of biomass growth (OD) of broth cultures of microorganisms in control (without ZP2 peptide) and experiment (with ZP2 peptide)

Note. *, $p < 0.001$.

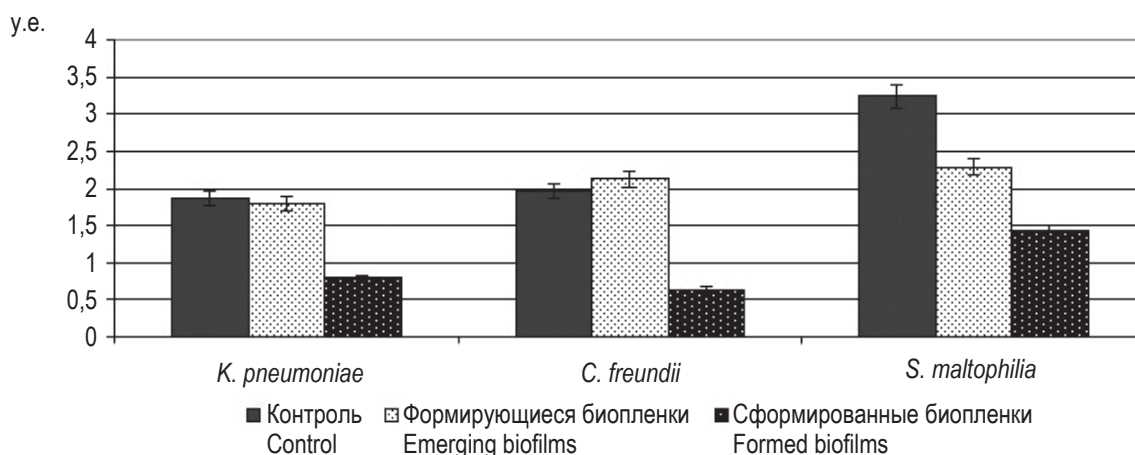


Рисунок 2. Влияние пептида ZP2 на биопленкообразование (КБО, у. е.) бульонных культур микроорганизмов

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

Figure 2. Effect of the ZP2 peptide on biofilm formation (BFI, c. u.) of broth cultures of microorganisms

Note. *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$.

Заключение

Полученные результаты показывают, что синтетический аналог активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) – пептид ZP2 в концентрации 5 мкг/мл способен подавлять развитие в жидкой питательной среде всех изученных бактериальных популяций хирургических

штаммов грамотрицательных бактерий. Проведенный эксперимент не выявил видоспецифических особенностей влияния пептида ZP2 на развитие бактериальных популяций, что, очевидно, свидетельствует об общем механизме ингибирующего действия указанного пептида на микроорганизмы данной видовой принадлежности.

Вместе с тем показано видоспецифическое действие пептида ZP2 в отношении способно-

сти хирургических штаммов изученных бактерий формировать биопленки. Так, пептид ZP2 достоверно подавлял биопленкообразование неферментирующих грамотрицательных бактерий вида *S. maltophilia* ($p < 0,05$), но существенно не изменял биопленкообразующую способность хирургических изолятов таких энтеробактерий, как *K. pneumoniae* и *C. freundii*. Указанный факт требует проведения специальных исследований по выявлению механизмов регуляторного воздействия пептида ZP2 на биопленкообразование микроорганизмов с учетом их видовой принадлежности.

Биопленки как сообщества микроорганизмов, адгезированных на биотической или абиотической поверхности и друг к другу, заключенных в синтезированный ими биополимерный матрикс, играют важную роль патогенезе многих инфекций, в том числе хирургического профиля. В биоматериале хронических ран биопленки обнаруживаются в 60%, а свежих раневых дефектов – лишь в 6% случаев [1, 14]. Биопленки, которые уменьшают восприимчивость бактерий к антимикробным препаратам в 100-1000 раз, могут быть разрушены при механическом воздей-

ствии (в частности, при хирургической обработке раны), но спустя сутки оставшиеся колонии способны вновь восстановить утраченную структуру [16].

В этой связи важно подчеркнуть, что пептид ZP2 был способен разрушать/«дезинтегрировать» уже сформированные биопленки у изученных хирургических штаммов микроорганизмов. Полученные результаты вызывают особый интерес, так как известно, что микроорганизмы в составе одно- и многовидовых биопленок не только обладают повышенной резистентностью к антибиотикам и дезинфектантам, но и являются возбудителями тяжелых гнойно-воспалительных заболеваний [2].

Полученные экспериментальные данные расширяют спектр потенциального клинического применения синтетического аналога активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) – пептида ZP2, а его использование в составе новых лекарственных средств может быть эффективным в борьбе с антибиотикорезистентными возбудителями хирургических инфекций.

Список литературы / References

1. Бублик Е.В., Коршунова Ю.В., Крупинова Ю.А., Морозова О.А. Патогенетические аспекты местного лечения синдрома диабетической стопы. Новая альгинатная повязка FIBROCLEAN AG: какие преимущества? // Раны и раневые инфекции. Журнал имени проф. Б.М. Костюченко, 2015. Т. 2, № 1. С. 20-25. [Bublik E.V., Korshunova Yu.V., Krupinova Yu.A., Morozova O.A. Pathogenetic aspects of local treatment of diabetic foot syndrome. The new alginate bandage FIBROCLEAN AG: what are the advantages? Rany i ranevye infektsii. Zhurnal imeni prof. B.M. Kostyuchionka = Wounds and Wound Infections. Kostyuchionok Journal, 2015, Vol. 2, no. 1, pp. 20-25. (In Russ.)]
2. Бухарин О.В. Инфекционная симбиология // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2015. № 4. С. 4-9. [Bukharin O.V. Infectious symbiology. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology, 2015, no. 4, pp. 4-9. (In Russ.)]
3. Бухарин О.В., Гриценко В.А. Влияние *in vitro* препарата лейкоцитарного катионного белка «Интерцид» на *Escherichia coli* // Антибиотики и химиотерапия, 2000. № 45 (1). С. 16-20. [Bukharin O.V., Gritsenko V.A. In vitro influence of the leukocyte cationic protein preparation "Intertsid" on *Escherichia coli*. Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy, 2000, no. 45 (1), pp. 16-20. (In Russ.)]
4. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П., Мругова Т.М., Гриценко В.А. Антибактериальная активность косметического средства «Ацеграм» в отношении грамотрицательных микроорганизмов // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2017. № 4. 13 с. [Электронный ресурс]. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Tyapaeva Ya.V., Belozerceva Yu.P., Mrugova T.M., Gritsenko V.A. Antibacterial activity of the cosmetic product "Acegram" against gram-negative microorganisms. Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 2017, no. 4, 13 p. [Electronic resource]. (In Russ.)]
5. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П., Гриценко В.А. Оценка влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора – ZP2 на рост и биопленкообразование клинических изолятов энтеробактерий *in vitro* // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2018. № 4. 17 с. [Электронный ресурс]. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Tyapaeva Yu.V., Belozerceva Yu.P., Gritsenko V.A. Assessment of the influence of the synthetic peptide of the active center of the granulocetrine-macrophage colony-stimulating factor – ZP2 on the growth and biofilm formation of clinical isolates of enterobacteria in vitro. Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 2018, no. 4. 17 p. [Electronic resource]. (In Russ.)]
6. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Дукарт В.В., Гриценко В.А., Тяпаева Я.В., Черешнев В.А. Феномен наличия уникальной комбинации иммунобиологических свойств у синтетиче-

ского аналога активного центра гранулоцитарномacroфагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2016. № 2. 30 с. [Электронный ресурс]. Режим доступа: [http:// elmag.uran.ru:9673/magazine/ Numbers/2016-2/Articles/ZAV-2016-2.pdf](http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/ZAV-2016-2.pdf) [Zurochka A.V., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Dukart V.V., Gricenko V.A., Tyapaeva Ya.V., Chereshnev V.A. The phenomenon of a unique immunobiological property of a synthetic analogue of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2016, no. 2, 30 p. [Electronic resource]. Access mode: <http:// elmag.uran.ru:9673/magazine/ Numbers/2016-2/Articles/ZAV-2016-2.pdf> (In Russ.)]

7. Зурочка В.А., Зурочка А.В., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Дукардт В.В., Лаврентьева И.Н., Сухобаевская Л.П., Гриценко В.А. Исследование спектра иммунобиологической активности синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) как основа для расширения возможностей создания косметических средств нового поколения с комбинированными эффектами // Российский иммунологический журнал, 2017. Т. 11(20). № 3. С. 377-380. [Zurochka V.A., Zurochka A.V., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Dukardt V.V., Lavrent'eva I.N., Suhobaevskaya L.P., Gritsenko V.A. Study of the spectrum of immunobiological activity of the synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) as the basis for expanding the possibilities of creating new generation cosmetics with combined effects. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2017, Vol. 11 (20), no. 3, pp. 377-380. (In Russ.)]

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

9. Козлова Н.С., Баранцевич Н.Е., Косякова К.Г., Каменева О.А., Баранцевич Е.П. Энтеробактерии – возбудители гнойно-септических инфекций в стационарах Санкт-Петербурга // Бактериология, 2017. Т. 2, № 3. С. 69-70. [Kozlova N.S., Barancevich N.E., Kosyakova K.G., Kameneva O.A., Barancevich E.P. Enterobacteria are the causative agents of purulent-septic infections in hospitals in St. Petersburg. *Bakteriologiya = Bacteriology*, 2017, Vol. 2, no. 3, pp. 69-70. (In Russ.)]

10. Козлова Н.С., Пилипенко С.Б., Мамонова Е.А., Голубева Ю.В., Григорьева Л.Г. Структура энтеробактерий – возбудителей гнойно-септических инфекций в психиатрической больнице и их устойчивость к антимикробным препаратам // Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения, 2018. Т.13, № 1. С. 291-297. [Kozlova N.S., Pilipenko S.B., Mamonova E.A., Golubeva Yu.V., Grigor'eva L.G. The structure of enterobacteria – causative agents of purulent-septic infections in a psychiatric hospital and their resistance to antimicrobial drugs. *Zdorovye – osnova chelovecheskogo potentsiala: problemy i puti ikh resheniya = Health is the Basis of Human Potential: Problems and Ways to Solve Them*, 2018, Vol. 13, no. 1, pp. 291-297. (In Russ.)]

11. Метляева А.В., Пилипенко С.Б., Мамонова Е.А., Голубева Ю.В., Григорьева Л.Г., Варгасова В.С. Видовой состав энтеробактерий – возбудителей госпитальных гнойно-септических инфекций в психиатрическом стационаре // Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения, 2019. Т.14, № 1. С. 488-493. [Metlyayeva A.V., Pilipenko S.B., Mamonova E.A., Golubeva YU.V., Grigor'eva L.G., Vargasova V.S. Species composition of enterobacteria – causative agents of hospital purulent-septic infections in a psychiatric hospital. *Zdorovye – osnova chelovecheskogo potentsiala: problemy i puti ikh resheniya = Health is the Basis of Human Potential: Problems and Ways to Solve Them*, 2019, Vol. 14, no. 1, pp. 488-493. (In Russ.)]

12. Насер Н.Р., Шляпникова С.А. Оптимизация антибактериальной терапии инфекций, вызванными карбапенемрезистентными энтеробактериями // Вестник национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова, 2023. Т.18, № 1. С. 91-93. [Naser N.R., Shlyapnikova S.A. Optimization of antibacterial therapy for infections caused by carbapenem-resistant enterobacteria. *Vestnik natsionalnogo mediko-khirurgicheskogo tsentra im. N.I. Pirogova = N. Pirogov Bulletin of the National Medical and Surgical Center*, 2023, Vol. 18, no. 1, pp. 91-93. (In Russ.)]

13. Степин А.В. Этиология инфекции хирургического вмешательства после операций на открытом сердце: одноцентровое десятилетнее наблюдение // Российский медицинский журнал, 2022. № 7. С. 2-6. [Stepin A.V. Etiology of surgical infection after open heart surgery: single-center ten-year follow-up. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal = Russian Medical Journal*, 2022, no. 7, pp. 2-6. (In Russ.)]

14. Чекмарева И.А., Митиш В.А., Паклина О.В., Блатун Л.А., Пасхалова Ю.С., Ушаков А.А., Терехова Р.П., Гордиенко Е.Н., Соков С.Л., Муньос Сепеда П.А., Качанжи А.П. Морфологическая оценка эффективности применения гидрохирургической системы VERSAJET™ в сочетании с комбинированной антибактериальной терапией при лечении гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы с биопленочными формами бактерий // Раны и раневые инфекции. Журнал имени проф. Б.М. Костюченка. 2015. Т. 2, № 3. С. 8-20. [Chekmareva I.A., Mitish V.A., Paklina O.V., Blatun L.A., Paskhalova Y.S., Ushakov A.A., Terekhova R.P., Gordienko E.N., Sokov S.L., Munoz Cepeda P.A., Kachanzhi A.P. Morphological evaluation of the effectiveness

of the VERSAJET[®] hydrosurgical system in combination with combined antibacterial therapy in the treatment of purulent-necrotic complications of diabetic foot syndrome with biofilm forms of bacteria. *Rany i ranevye infektsii. Zhurnal imeni prof. B.M. Kostyuchionka = Wounds and Wound Infections. Kostyuchionok Journal*, 2015, Vol. 2, no. 3, pp. 8-20 (In Russ.)]

15. Christensen G.D., Simpson W.A., Younger J.J., Baddour L.M., Barrett F.F., Melton D.M., Beachey E.H. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J. Clin Microbiol.*, 1985, no. 22, pp. 996-1006.

16. Percival S.L. Biofilms in infection prevention and control. *A Health-care Handbook*. Academic Press, 2014; pp. 127-139.

17. Stepanovic S., Vukovic D., Hola V., Di Bonaventura G., Djukić S., Cirković I., Ruzicka F. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*, 2007, no. 115, pp. 891-899.

Авторы:

Пашина О.А. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов ИКВС УрО РАН — обособленного структурного подразделения ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Пашкова Т.М. — д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов ИКВС УрО РАН — обособленного структурного подразделения ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Карташова О.Л. — д.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов ИКВС УрО РАН — обособленного структурного подразделения ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Гриценко В.А. — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник ИКВС УрО РАН — обособленного структурного подразделения ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Authors:

Pashinina O.A., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Microbial Persistence and Symbiosis, ICIS, Ural Branch, Russian Academy of Sciences — a separate structural unit of the Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Pashkova T.M., PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Microbial Persistence and Symbiosis, ICIS, Ural Branch, Russian Academy of Sciences — a separate structural unit of the Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Kartashova O.L., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Leading Research Associate, Laboratory of Microbial Persistence and Symbiosis, ICIS, Ural Branch, Russian Academy of Sciences — a separate structural unit of the Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Gritsenko V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Research Associate, ICIS, Ural Branch, Russian Academy of Sciences — a separate structural unit of the Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Поступила 31.03.2024
Отправлена на доработку 03.04.2024
Принята к печати 11.04.2024

Received 31.03.2024
Revision received 03.04.2024
Accepted 11.04.2024

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА АКТИВНОГО ЦЕНТРА ГРАНУЛОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА – ZP2 НА РОСТОВЫЕ СВОЙСТВА *CORYNEBACTERIUM* SPP.

Гриценко В.А., Морозова Н.В., Гладышева И.В., Черкасов С.В.

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук – обособленное структурное подразделение ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Резюме. Цель – изучить влияние синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора ZP2 на ростовые свойства и биопленкообразование микроорганизмов рода *Corynebacterium* spp.

Опыты *in vitro* проведены на 13 изолятах *Corynebacterium* spp., включая *C. amycolatum* (n = 7), *C. propinquum* (n = 2) и *C. pseudodiphtheriticum* (n = 4)), выделенных ранее от здоровых лиц и хранящихся в Сетевой коллекции симбиотических микроорганизмов и их консорциумов Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН. Влияние различных концентраций пептида ZP2 на ростовые свойства (прирост планктонной культуры и биопленкообразование) тест-штаммов оценивали в 96-луночных полистироловых планшетах. Угнетающее действие пептида ZP2 на прирост планктонной культуры оценивали по Индексу ингибирования (%), на биопленкообразование – по Степени ингибирования биопленкообразования (%).

Экспериментально установлено, что через 2, 4, 6 и 24 часа наблюдалось дозо-зависимое ингибирование прироста планктонной культуры всех исследуемых штаммов бактерий под влиянием различных концентраций ZP2 (0,5-2,0 мкг/мл). При этом ингибирующий эффект пептида ZP2 зависел как от его концентрации в среде культивирования, так и от фазы роста тест-штамма бактерий. Максимальное ингибирование прироста планктонной культуры всех исследуемых бактериальных штаммов под влиянием различных концентраций пептида ZP2 наблюдалось через 24 часа и составило у *C. amycolatum* от 89,3±1,9 до 94,1±1,8%, у *C. propinquum* от 90,0±0,6 до 96,7±0,3%, у *C. pseudodiphtheriticum* от 92,2±2,1 до 95,1±1,3. Пептид ZP2 также оказывал существенное влияние на биопленкообразование всех исследуемых тест-культур. Снижение биопленкообразования зависело от концентрации пептида и со-

Адрес для переписки:

Гриценко Виктор Александрович
Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза
Уральского отделения Российской академии наук
460000, Россия, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11.
Тел.: 8 (3532) 77-05-12.
E-mail: vag59@mail.ru

Address for correspondence:

Viktor A. Gritsenko
Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis
11 Pionerskaya St
Orenburg
460000 Russian Federation
Phone: +7 (3532) 77-05-12.
E-mail: vag59@mail.ru

Образец цитирования:

В.А. Гриценко, Н.В. Морозова, И.В. Гладышева, С.В. Черкасов «Оценка влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора – ZP2 на ростовые свойства *Corynebacterium* spp.» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 441-448.
doi: 10.46235/1028-7221-16862-AOT

© Гриценко В.А. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

V.A. Gritsenko, N.V. Morozova, I.V. Gladysheva, S.V. Cherkasov “Assessment of the influence of synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophagal colony-stimulating factor – ZP2 on the growth properties of *Corynebacterium* spp.”, Russian Journal of Immunology/ Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 441-448. doi: 10.46235/1028-7221-16862-AOT

© Gritsenko V.A. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16862-AOT

ставило у *C. amycolatum* от 62,4% до 78,4%, у *C. propinquum* от 70,9 до 79,6% и у *C. pseudodiphtheriticum* от 76 до 82,7%.

Таким образом, выявлено антибактериальное действие пептида ZP2 в отношении изученных штаммов коринебактерий видов *C. amycolatum*, *C. propinquum* и *C. pseudodiphtheriticum*. По имеющимся данным, пептид ZP2 является препаратом с широким спектром действия, оказывающим ингибирующее влияние не только на изученные актинобактерии, но и, согласно литературным данным, на стафилококки и энтеробактерии. Важной перспективой исследования является раскрытие механизма антибактериального действия пептида ZP2 с характеристикой эффективной концентрации вещества в отношении патогенов и представителей нормофлоры.

Ключевые слова: *Corynebacterium amycolatum*, *C. propinquum*, *C. pseudodiphtheriticum*, синтетический пептид ZP2, антибактериальное действие, биопленкообразование

ASSESSMENT OF THE INFLUENCE OF SYNTHETIC PEPTIDE OF THE ACTIVE CENTER OF GRANULOCYTE-MACROPHAGAL COLONY-STIMULATING FACTOR – ZP2 ON THE GROWTH PROPERTIES OF *CORYNEBACTERIUM* SPP.

Gritsenko V.A., Morozova N.V., Gladysheva I.V., Cherkasov S.V.

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

Abstract. The goal is to study the effect of the synthetic peptide of the active center of the granulocyte-macrophage coline-stimulating factor ZP2 on the growth properties and biofilm formation of microorganisms of the genus *Corynebacterium* spp. In vitro experiments were carried out on 13 isolates of *Corynebacterium* spp., including *C. amycolatum* (n = 7), *C. propinquum* (n = 2) and *C. pseudodiphtheriticum* (n = 4)), previously isolated from healthy individuals and are part of the Network Collection of Symbiotic Microorganisms and Their Consortia of the Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis UrB RAS (Orenburg, Russia). The effect of different concentrations of the ZP2 peptide on the growth properties (planktonic culture growth and biofilm formation) of test strains was assessed in 96-well polystyrene plates. The inhibitory effect of the ZP2 peptide on the growth of planktonic culture was assessed by the Inhibition Index (%), on biofilm formation – by the Degree of Inhibition of Biofilm Formation (%). It was experimentally established that after 2, 4, 6 and 24 hours, a dose-dependent inhibition of the growth of planktonic cultures of all studied bacterial strains was observed under the influence of various concentrations of ZP2 (0.5-2.0 µg/ml). In this case, the inhibitory effect of the ZP2 peptide depended both on its concentration in the cultivation medium and on the growth phase of the test strain of bacteria. The maximum inhibition of the growth of planktonic culture of all studied bacterial strains under the influence of various concentrations of the ZP2 peptide was observed after 24 hours and ranged from 89.3±1.9 to 94.1±1.8% in *C. amycolatum*, and in *C. propinquum* from 90.0±0.6 to 96.7±0.3%, in *C. pseudodiphtheriticum* from 92.2±2.1 to 95.1±1.3. The ZP2 peptide also had a significant effect on biofilm formation in all test cultures studied. The reduction in biofilm formation depended on the concentration of the peptide and ranged from 62.4 to 78.4% in *C. amycolatum*, from 70.9 to 79.6% in *C. propinquum*, and from 76 to 82.7% in *C. pseudodiphtheriticum*.

Thus, the antibacterial effect of the ZP2 peptide was revealed against the studied strains of corynebacteria species *C. amycolatum*, *C. propinquum* and *C. pseudodiphtheriticum*. According to available data, the ZP2 peptide is a drug with a wide spectrum of action that has an inhibitory effect not only on the studied actinobacteria, but also, according to literature data, on staphylococci and enterobacteria. An important prospect of the study is to reveal the mechanism of the antibacterial action of the ZP2 peptide with the characteristics of the effective concentration of the substance against pathogens and representatives of normal flora.

Keywords: *Corynebacterium amycolatum*, *C. propinquum*, *C. pseudodiphtheriticum*, synthetic peptide ZP2, antibacterial effect, biofilm formation

Введение

В последние десятилетия внимание ученых ведущих стран мира привлекают исследования препаратов на основе антимикробных пептидов, которые рассматриваются в качестве альтернативы традиционным антибиотикам [13]. Известно, что антимикробные пептиды обладают слабой антимикробной активностью, но выраженным иммуномодулирующим эффектом при вторжении в организм хозяина патогенных микроорганизмов или вирусов. Они не активируют адаптивный иммунитет, а скорее повышают его эффективность за счет адьювантной активности [12, 17].

В отношении бактерий, действие антимикробных пептидов до конца не изучено, однако показано, что их основными мишенями являются клеточная стенка, цитоплазматическая мембрана и внутриклеточные молекулы [11, 14]. Одним из хорошо изученных антимикробных пептидов является синтетический аналог активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) – пептид ZP2 [4]. Ранее было установлено, что данный пептид проявляет плейотропные эффекты, обладая не только иммуностимулирующими и репаративными свойствами, но и антимикробной активностью, в отношении оппортунистических патогенов [2, 3]. Однако на сегодняшний день остается не изученным влияние синтетического пептида ZP2 на представителей нормофлоры, в частности коринебактерий.

Известно, что микроорганизмы рода *Corynebacterium* являются резидентными представителями индигенной флоры тела человека [8]. В последнее время появляется все больше исследований о важной роли отдельных видов коринебактерий в поддержании колонизационной резистентности различных биотопов тела человека. Так, *Corynebacterium glutamicum*, *C. pseudodiphtheriticum*, *C. accolens*, *C. parvum* [7, 8, 9] рассматриваются в качестве симбиотически-значимых микроорганизмов, обладающих антимикробной активностью по отношению к условно-патогенным бактериям. В то же время установлено, что у иммуносупрессированных пациентов представители данного рода могут вызывать различные тяжелые заболевания [16].

Цель исследования – оценить влияние синтетического пептида ZP2 на ростовые свойства и биопленкообразование микроорганизмов рода *Corynebacterium* spp., выделенных из различных биотопов тела человека.

Материалы и методы

Объектами исследования служили 13 штаммов бактерий рода *Corynebacterium*, а именно ви-

дов *C. amycolatum* (n = 7), *C. propinquum* (n = 7) и *C. pseudodiphtheriticum* (n = 4), выделенных ранее от здоровых лиц (влагалище, кожа, верхние дыхательные пути) и хранящихся в Сетевой коллекции симбиотических микроорганизмов и их консорциумов Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН – обособленного структурного подразделения ОФИЦ УрО РАН (Оренбург, Россия),

Ранее выделенные штаммы коринебактерий были идентифицированы с помощью масс-спектрометрии с матричной лазерной десорбцией и ионизацией, и временем пролета (MALDI-TOF). Микроорганизмы хранили в сердечно-мозговом бульоне (СМБ) (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Мумбаи, Индия, Мэриленд, США), содержащем 20% (по объему) глицерина, при -80 °С. Для эксперимента штаммы выращивали в СМБ при 37 °С в течение 24 часов и однократно субкультивировали в той же среде при 37 °С в течение 24 часов перед использованием.

Исследование влияния синтетического пептида ZP2 на рост планктонной культуры исследуемых штаммов производилось согласно методике [1] с незначительными изменениями в следующем порядке: аликвоты по 25 мкл суточных агаровых культур (5×10^8 КОЕ/мл), приготовленных на изотоническом растворе NaCl, переносили в лунки 96-луночного планшета и добавляли по 225 мкл СМБ с пептидом ZP2 (в конечных концентрациях: 0,5; 1,0 и 2,0 мкг/мл). Контрольные лунки содержали тестируемый штамм и СМБ. После инкубирования в течение 24 часов при 37 °С, измеряли оптическую плотность культур (ОД) при длине волны (λ) 492 нм на спектрофотометре StatFax 2100 (США). ОД культур замерялась на 0 (исходное значение), 2, 4, 6 и 24 часах инкубации.

Влияние пептида ZP2 на рост планктонной культуры исследуемых штаммов бактерий рассчитывали по формуле [1]:

$$\text{ИИ} = (\text{ОДк} - \text{ОДо}) / \text{ОДк} \times 100\%,$$

где ИИ – Индекс ингибирования (%); ОДк и ОДо – оптическая плотность контроля и опыта соответственно. Индекс ингибирования оценивался через 2, 4, 6 и 24 часов.

Изучение влияния синтетического пептида ZP2 на биопленкообразование (БПО) исследуемых тест-культур определяли с помощью «планшетного метода» с незначительными модификациями [15]. Аликвоты по 25 мкл суточных агаровых культур (5×10^8 КОЕ/мл), приготовленных на изотоническом растворе NaCl, переносили в каждую лунку 96-луночного планшета и добавляли по 225 мкл ZP2 (в концентрациях: 0,5; 1,0 и 2,0 мкг/мл, предварительно разведен-

ных в СМБ). Контрольные лунки содержали тестируемый штамм и СМБ. После инкубирования в течение 24 часов при 37 °С среду сливали, а планктонные клетки удаляли из каждой лунки путем двойной осторожной промывки стерильным фосфатно-солевым буфером (PBS). После этого биопленки фиксировали 200 мкл метанола в течение 10 мин, окрашивали 200 мкл 0,1% кристаллического фиолетового в течение 10 мин и аккуратно трижды промывали водой. Кристаллический фиолетовый, прикрепленный к образцам биопленок, растворяли в 200 мкл 95% этанола. Оптическую плотность (ОД, у.е.) 125 мкл экстрактов измеряли при 540 нм с использованием микропланшетного спектрофотометра StatFax 2100 (США) как величину, отражающую выраженность биопленки. Ингибирование биопленки (%) рассчитывали по следующему уравнению:

$$\text{Степень ингибирования БПО (\%)} = (1 - \text{ОД}_o / \text{ОД}_k) \times 100,$$

где ОД_о – оптическая плотность опыта (СМБ, содержащий различные концентрации пептида ZP2), ОД_к – оптическая плотность контроля (СМБ без пептида ZP2).

Все эксперименты повторялись трижды. Экспериментальные данные обработаны методами вариационной статистики с вычислением из 3 измерений средней арифметической и ее ошибки ($M \pm m$). О достоверности отличий между контролем и опытом судили по критерию Стьюдента – t [6].

Результаты и обсуждение

Полученные результаты в эксперименте *in vitro* свидетельствовали, что внесенный в жидкую питательную среду синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ – ZP2 ингибировал рост изученных изолятов *C. amycolatum*, *C. propinquum* и *C. pseudodiphtheriticum*, дозо-зависимо снижая биомассу, оцениваемую по величине оптической плотности контрольных и опытных культур в динамике их развития (рис. 1). При этом ингибирующий эффект пептида ZP2 в отношении *C. amycolatum*, *C. propinquum* и *C. pseudodiphtheriticum* зависел как от концентрации фактора в среде культивирования, так и от фазы роста изолятов бактерий (табл. 1).

ТАБЛИЦА 1. ИНДЕКС ИНГИБИРОВАНИЯ (ИИ, %) РОСТА ШТАММОВ *C. AMYCOLATUM*, *C. PROPINQUUM* И *C. PSEUDODIPHThERICUM* ПОД ВЛИЯНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ZP2

TABLE 1. INHIBITION INDEX (AI, %) OF GROWTH OF STRAINS *C. AMYCOLATUM*, *C. PROPINQUUM* AND *C. PSEUDODIPHThERICUM* UNDER THE INFLUENCE OF VARIOUS CONCENTRATIONS OF ZP2

Время культивирования Cultivation time	Индекс ингибирования (ИИ,%) роста бактерий при разных концентрациях ZP2 в питательной среде Bacterial growth inhibition index (II,%) at different concentrations of ZP2 in the nutrient medium								
	0,5 мкг/мл 0.5 µg/mL			1,0 мкг/мл 1.0 µg/mL			2,0 мкг/мл 2.0 µg/mL		
	<i>C. amycolatum</i>	<i>C. propinquum</i>	<i>C. pseudodiphtheriticum</i>	<i>C. amycolatum</i>	<i>C. propinquum</i>	<i>C. pseudodiphtheriticum</i>	<i>C. amycolatum</i>	<i>C. propinquum</i>	<i>C. pseudodiphtheriticum</i>
2 часа 2 hours	10,2±1,8*	8,1±2,3	11,0±0,8*	7,4±1,8	15,1±0,5*	17,0±1,3*	2,0±0	5,1±0,5	3,3±0,8
4 часа 4 hours	34,5±3,5*	34,8±1,3*	38,5±1,2*	38,5±7,5*	37,0±2,5*	40,8±2,1*	35,1±2,1*	40,5±1,5*	43,3±0,9*
6 часов 6 hours	17,3±4,1*	12,0±2,8*	19,3±2,3*	18,9±1,8*	16,3±1,6*	18,6±1,5*	45,3±1,5*	35,6±2,5*	58,2±0,9*
24 часа 24 hours	89,3±1,9*	90,0±0,6*	92,2±2,1*	92,0±2,5*	90,0±1,3*	95,1±1,3*	94,1±1,8*	96,7±0,3*	92,3±0,8*

Примечание. * – достоверные отличия от контроля ($p < 0,05$).

Note. *, significant differences from control ($p < 0.05$).

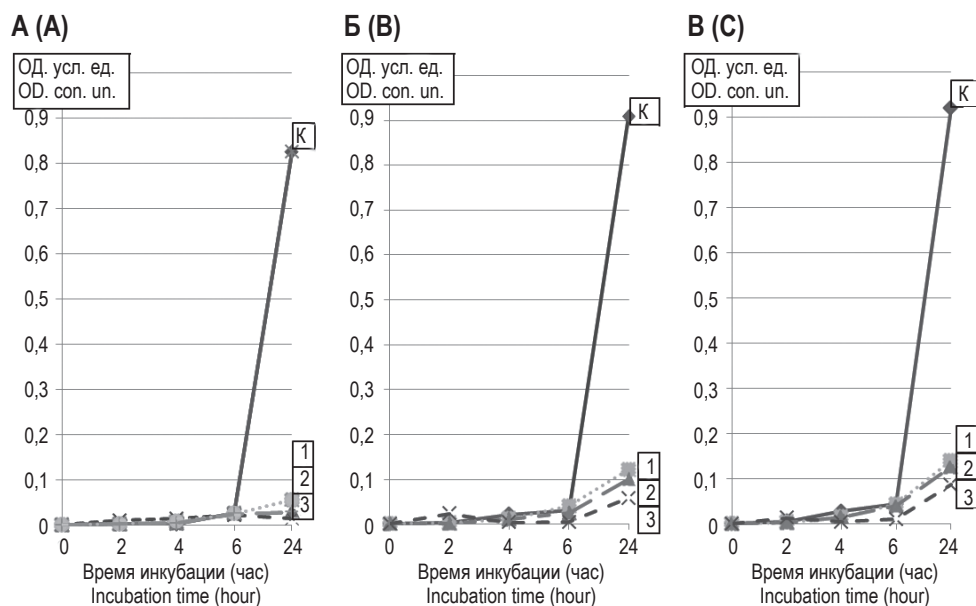


Рисунок 1. Рост штаммов *C. amycolatum* (А), *C. propinquum* (Б) и *C. pseudodiphtheriticum* (В) под влиянием различных концентраций ZP2

Примечание. 1 – 0,5 мкг/мл; 2 – 1,0 мкг/мл; 3 – 2,0 мкг/мл; К – контроль.

Figure 1. Growth of strains *C. amycolatum* (A), *C. propinquum* (B), and *C. pseudodiphtheriticum* (C) under the influence of different concentrations of ZP2

Note. 1, 0.5 µg/ml; 2, 1.0 µg/ml; 3, 2.0 µg/ml; K, control.

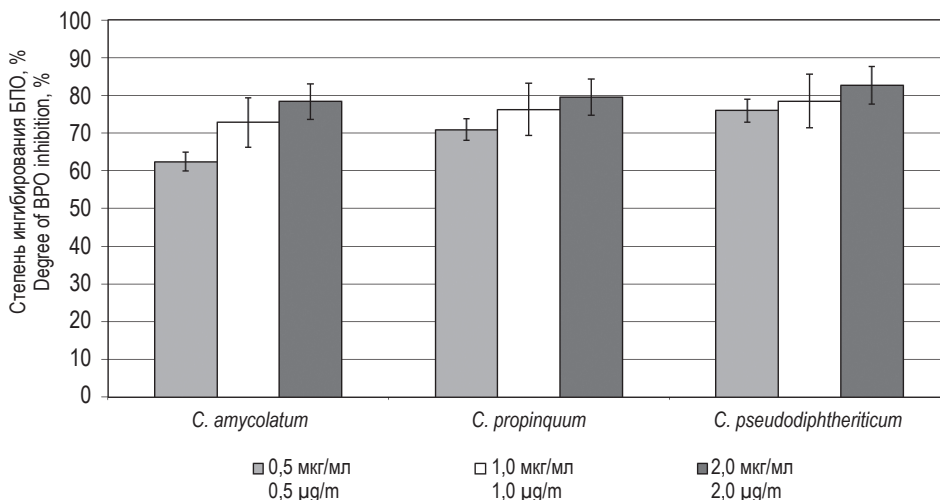


Рисунок 2. Степень ингибирования биопленкообразования штаммов *C. amycolatum*, *C. propinquum* и *C. pseudodiphtheriticum* в зависимости от концентрации пептида ZP2

Figure 2. Degree of inhibition of biofilm formation of *C. amycolatum* strains, *C. propinquum* and *C. pseudodiphtheriticum* in depending on the concentration of the ZP2 peptide

Следует отметить, что через 2 часа инкубирования *Corynebacterium* spp. в присутствии пептида ZP2 заметного снижения прироста планктонной культуры микроорганизмов не наблюдалось. Более того, в отношении *C. amycolatum*, *C. propinquum* и *C. pseudodiphtheriticum* регистрировалась слабо выраженная ($2,0 \pm 0$; $5,1 \pm 0,5$ и $3,3 \pm 0,8\%$ соответственно) стимуляция роста бактерий под действием пептида ZP2 в концентрации 2,0 мкг/мл. Установлено, что в диапазоне изученных кон-

центраций ZP2 (0,5-2,0 мкг/мл) индекс ингибирования роста культур *C. propinquum* и *C. pseudodiphtheriticum* градиентно увеличивался через 4, 6 и 24 часа культивирования, свидетельствуя о дозо-зависимом эффекте влияния данного соединения на прирост планктонной культуры *Corynebacterium* spp. в жидкой питательной среде (СМБ).

Через 24 часа наблюдалось максимальное угнетение прироста планктонной культуры

всех исследуемых штаммов под влиянием различных концентраций пептида ZP2: 0,5; 1,0; 2,0 мкг/мл, что составило соответственно у *C. amycolatum* – 89,3±1,9; 92,0±2,5; 94,1±1,8%, *C. propinquum* – 90,0±0,6; 90,0±1,3; 96,7±0,3%, *C. Pseudodiphtheriticum* – 92,2±2,1; 95,1±1,3; 92,3±0,8%.

Синтетический пептид ZP2 также оказывал существенное ингибирующее влияние на биопленкообразование всех исследуемых культур коринебактерий (рис. 2). Снижение биопленкообразования зависело от концентрации и составило у *C. amycolatum* от 62,4% до 78,4%, у *C. propinquum* от 70,9% до 79,6% и у *C. pseudodiphtheriticum* от 76,0% до 82,7%.

Заключение

Таким образом, выявлено антибактериальное действие синтетического аналога активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора – пептида ZP2 в отношении изученных штаммов коринебактерий *C. amycolatum*, *C. propinquum* и *C. pseudodiphtheriticum*. Указанные микроорганизмы являются представителями нормальной микрофлоры различных биотопов тела человека (влагалище, верхние дыхательные пути, кожа и др.), а отдельные штаммы этих видов бактерий в настоящее время рассма-

триваются как перспективные пробиотики, рост и размножение которых может находиться под влиянием пептида ZP2, что необходимо учитывать при использовании в клинической/косметологической практике создаваемых на его основе новых лекарственных препаратов [4].

Безусловный интерес представляют полученные результаты об угнетении пептидом ZP2 способности коринебактерий формировать биопленки, которые обеспечивают микроорганизмам возможность колонизации биотопов и длительной персистенции в них [3, 8]. В будущем следует выяснить, является эффект ингибирования пептидом ZP2 биопленкообразования коринебактериями, сопряженным только с угнетением роста этих микроорганизмов, или он реализуется через иные механизмы воздействия на бактериальные клетки.

По имеющимся данным, пептид ZP2 является препаратом с широким спектром действия, оказывающим ингибирующее влияние не только на изученные актинобактерии, но и, согласно литературным источникам, на стафилококки и энтеробактерии [5]. Важной перспективой дальнейших исследований является раскрытие механизма антибактериального действия пептида ZP2 с характеристикой эффективной концентрации вещества в отношении патогенов и представителей нормофлоры.

Список литературы / References

1. Бухарин О.В., Гриценко В.А. Влияние *in vitro* препарата лейкоцитарного катионного белка «Интерцид» на *Escherichia coli* // Антибиотики и химиотерапия, 2000. № 45 (1). С. 16-20. [Bukharin O.V., Gritsenko V.A. *In vitro* influence of the leukocyte cationic protein drug "Intertsid" on *Escherichia coli*. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*, 2000, no. 45 (1), pp. 16-20. (In Russ.)]
2. Гриценко В.А., Тяпаева Я.В., Добрынина М.А., Зурочка А.В. Сравнительный анализ бактерицидных свойств синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 в отношении грамотрицательных бактерий разной таксономической принадлежности // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 2. С. 221-228. [Gritsenko V.A., Tyapayeva Ya.V., Dobrynina M.A., Zurochka A.V. Comparative analysis of the bactericidal properties of the synthetic peptide of the active center of GM-CSF – ZP2 in relation to gram-negative bacteria of different taxonomic affiliations. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2021, Vol. 24, no. 2, pp. 221-228. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-1016-CAO.
3. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П., Гриценко В.А. Оценка влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора – ZP2 на рост и биопленкообразование клинических изолятов энтеробактерий *in vitro* // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2018. № 4. 17 с. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Tyapayeva Ya.V., Belozertseva Yu.P., Gritsenko V.A. Assessment of the influence of the synthetic peptide of the active center of the *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* – ZP2 on the growth and biofilm formation of clinical isolates of enterobacteria *in vitro*. *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2018, no. 4, 17 p. (In Russ.)]
4. 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: иммунобиологические эффекты и клиническое применение. Екатеринбург: УрО РАН, 2021. 288 с. [Zurochka A.V., Gritsenko V.A., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Chereshevnev 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.

5. Зурочка А.В., Добрынина М.А., Зурочка В.А., Гриценко В.А. Чувствительность музейных и клинических штаммов энтеробактерий к синтетическому пептиду активного центра ГМ-КСФ – ZP2 // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 4. С. 403-410. [Zurochka A.V., Dobrynina M.A., Zurochka V.A., Gritsenko V.A. Sensitivity of museum and clinical strains of enterobacteria to the synthetic peptide of the active center of GM-CSF – ZP2. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2020, Vol. 23, no. 4, pp. 403-410. doi: 10.46235/1028-7221-503-SOA.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с. [Lakin G.F. Biometrics]. Moscow: Vysshaya shkola, 1990. 352 p.
7. Bomar L., Brugger S.D., Yost B.H., Davies S.S., Lemon K.P. *Corynebacterium accolens* releases antipneumococcal free fatty acids from human nostril and skin surface triacylglycerols. *mBio*, 2016, Vol. 7, no. 1, e01725-15. doi: 10.1128/mBio.01725-15.
8. Graevenitz A., Bernard K. "The genus *Corynebacterium*-medical" in *The Prokaryotes*. J. New York, NY: Springer, 2006, pp. 819-842.
9. Kataoka N., Vangnai A.S., Pongtharangkul T., Yakushi T., Wada M., Yokota A., Matsushita K. Engineering of *Corynebacterium glutamicum* as a prototrophic pyruvate-producing strain: characterization of a ramA-deficient mutant and its application for metabolic engineering. *J. Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2019, Vol. 83, no. 2, pp. 372-380.
10. Lappan R., Peacock C.S. *Corynebacterium* and *Dolosigranulum*: future probiotic candidates for upper respiratory tract infections. *Microbiol. Aust.*, 2019, Vol. 40, no. 4, pp. 172-177. Nicias P. Multifunctional host defense peptides: Intracellular-targeting antimicrobial peptides. *FEBS*, 2009, Vol. 276, no. 22, pp. 6483-6496.
11. Oppenheim J.J., Biragyn A., Kwak L.W., Yang D. Roles of antimicrobial peptides such as defensins in innate and adaptive immunity. *Ann. Rheum. Dis.*, 2003, no. 62, pp. 17-21.
12. Park S-C., Park Y., and Hahm K-S. The Role of Antimicrobial Peptides in Preventing Multidrug-Resistant Bacterial Infections and Biofilm Formation. *Int. J. Mol. Sci.*, 2011, Vol. 12, no. 9, pp. 5971-5992.
13. Pieters R.J., Arnusch C.J., Breukink E. Membrane permeabilization by multivalent anti-microbial peptides. *Protein Pept. Lett.*, 2009, Vol. 16, no. 7, pp. 736-742.
14. Stepanovic S., Vukovic D., Hola V., Djukic S., Cirkovic I., Ruzicka F. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*, 2007, Vol. 115, no. 8, pp. 891-899.
15. Zasada A.A., Mosie E. Contemporary microbiology and identification of *Corynebacteria* spp. causing infections in human. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2018, no. 66, pp. 472-483.
16. Zasloff M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature*, 2002, no. 415 (6870), pp. 389-395.

Авторы:

Гриценко В.А. — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук — обособленное структурное подразделение ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

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

Authors:

Gritsenko V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Research Associate, Laboratory of Persistence and Symbiosis of Microorganisms, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, 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, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Гладышева И.В. — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории биомедицинских технологий, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук — обособленное структурное подразделение ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Черкасов С.В. — д.м.н., член-корр. РАН, главный научный сотрудник лаборатории биомедицинских технологий, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук — обособленное структурное подразделение ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Gladysheva I.V., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Biomedical Technologies, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Cherkasov S.V., PhD, MD (Medicine), Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Chief Research Associate, Laboratory of Biomedical Technologies, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Поступила 01.04.2024
Принята к печати 04.04.2024

Received 01.04.2024
Accepted 04.04.2024

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ТЕТРАПЕПТИДОВ КК1 И КК5 НА ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ СЕЛЕЗЕНКИ КРЫС ПРИ ПАССИВНОМ ТАБАКОКУРЕНИИ

Смолягин А.И.¹, Колобов А.А.², Кузьмичева Н.А.¹, Полякова В.С.¹,
Михайлова И.В.¹, Филиппова Ю.В.¹, Мирошниченко И.В.¹

¹ ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
г. Оренбург, Россия

² ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» Федерального
медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Одним из актуальных направлений в экспериментальной и клинической иммунологии является создание новых иммуномодуляторов, направленных на коррекцию различных вариантов патологии иммунной системы. Особый интерес представляют нетоксичные, лишённые гормональной активности и устойчивые к протеазам тетрапептиды, гомологи первичной аминокислотной последовательности АКТГ₁₅₋₁₈. В литературе мало данных по влиянию вышеуказанных иммуномодуляторов на иммунологические параметры селезенки крыс на моделях воздействия ксенобиотиков, что делает актуальным исследование в данном аспекте. В работе впервые была проведена оценка влияния тетрапептидов с лабораторными шифрами КК1 и КК5 на иммунологические параметры селезенки 36 самок крыс Wistar при пассивном табакокурении. Опытные крысы подвергались фумигации табачным дымом по 8 часов ежедневно в течение 20 дней. Синтетические тетрапептиды вводили интраназально в дозе 40 мкг/кг/сут пятикратно через день, начиная с 10-го дня эксперимента. Установлено, что изучаемые тетрапептиды обладали однонаправленным позитивным воздействием на иммунологические параметры селезенки экспериментальных животных при пассивном табакокурении, которое выражалась в тенденции к восстановлению пула клеток с маркерами CD3, CD4, CD8, CD20 до уровня контрольной группы, а также спонтанной и индуцированной продукции цитокинов спленоцитами. В основе сдвигов параметров селезенки, выявленных в данной работе, может лежать ряд возможных причин. Во-первых, пассивное курение вызывает стрессорную реакцию у крыс, что подтверждается ранее проведенными исследованиями на аналогичной модели, об увеличении уровня стрессорных гормонов в сыворотке крови крыс Wistar. Во-вторых, данные литературы свидетельствуют об активации перекисного окисления липидов при курении. В-третьих, известно, что при дей-

Адрес для переписки:

Смолягин Александр Иванович
ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ
460000, Россия, г. Оренбург, ул. Советская, б.
Тел.: 8 (922) 829-47-93.
E-mail: a.i.smolyagin@mail.ru

Address for correspondence:

Aleksander I. Smolyagin
Orenburg State Medical University
6 Sovetskaya St
Orenburg
460000 Russian Federation
Phone: +7 (922) 829-47-93.
E-mail: a.i.smolyagin@mail.ru

Образец цитирования:

А.И. Смолягин, А.А. Колобов, Н.А. Кузьмичева, В.С. Полякова, И.В. Михайлова, Ю.В. Филиппова, И.В. Мирошниченко «Оценка влияния тетрапептидов КК1 и КК5 на иммунологические параметры селезенки крыс при пассивном табакокурении» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 449-456. doi: 10.46235/1028-7221-16715-EOT

© Смолягин А.И. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.I. Smolyagin, A.A. Kolobov, N.A. Kuzmicheva, V.S. Polyakova, I.V. Mikhailova, Yu.V. Filippova, I.V. Miroshnichenko "Effect of tetrapeptides KK1 and KK5 on the immunological parameters of rat spleen during passive smoking", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 449-456. doi: 10.46235/1028-7221-16715-EOT

© Smolyagin A.I. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16715-EOT

ствии токсикантов табачного дыма в наибольшей степени страдает лимфоидная линия клеток, так как их полигидроокисленные метаболиты аккумулируются в костном мозге и лимфоидных органах, вызывая гипоплазию центральных и периферических органов иммунитета. Видимый признак такого явления – это уменьшение клеточности в селезенке, что установлено в настоящей работе. Учитывая, что активное и пассивное табакокурение вызывает гипоксию и усиливает перекисное окисление липидов, то оправдано применение тетрапептидов КК1 и КК5 как средств, улучшающих адаптацию организма к гипоксии и повышающих устойчивость к стрессорным повреждениям. Таким образом, тетрапептиды КК1 и КК5 обладают положительным иммуномодулирующим действием, снижающим токсическое стрессорное воздействие пассивного табакокурения.

Ключевые слова: крысы, пассивное табакокурение, иммунологические параметры селезенки, синтетические тетрапептиды КК1, синтетические тетрапептиды КК5

EFFECT OF TETRAPEPTIDES KK1 AND KK5 ON THE IMMUNOLOGICAL PARAMETERS OF RAT SPLEEN DURING PASSIVE SMOKING

Smolyagin A.I.^a, Kolobov A.A.^b, Kuzmicheva N.A.^a, Polyakova V.S.^a, Mikhailova I.V.^a, Filippova Yu.V.^a, Miroshnichenko I.V.^a

^a Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

^b Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, Federal Medical Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. One of the trends in experimental and clinical immunology is the creation of new immunomodulators aimed at correcting various variants of the pathology of the immune system. Of interest are non-toxic, hormone-free and protease-resistant tetrapeptides, homologue of the of adrenocorticotrophic hormone fragment (15-18). There is little data in the literature on the effect of the above immunomodulators on the immunological parameters of the rat spleen on xenobiotic exposure models, which makes research relevant in this aspect. For the first time, the effect of tetrapeptides with laboratory ciphers KK1 and KK5 on the immunological parameters of the spleen of 36 female Wistar rats with passive smoking was evaluated. The experimental rats were fumigated with tobacco smoke for 8 hours daily for 20 days. Synthetic tetrapeptides were administered intranasally at a dose of 40 micrograms per kg/day, starting from the 10th day of the experiment. It was found that the studied tetrapeptides had a unidirectional positive effect on the immunological parameters of the spleen of experimental animals with passive tobacco smoking. This was expressed in a tendency to restore the pool of cells with CD3, CD4, CD8, CD20 markers to the level of the control group, as well as spontaneous and induced cytokine production by splenocytes. The shifts in the parameters of the spleen identified in this work may be based on a number of possible causes. Firstly, passive smoke causes a stress response in rats, which is confirmed by previous studies on a similar model, on an increase in the level of stress hormones in the blood serum of Wistar rats. Secondly, the literature data indicate the activation of lipid peroxidation during smoking. Thirdly, it is known that under the action of tobacco smoke toxicants, the lymphoid cell line suffers the most, since their polyhydrooxidized metabolites accumulate in the bone marrow and lymphoid organs, causing hypoplasia of the central and peripheral organs of immunity. A visible sign of this phenomenon is a decrease in the cellularity in the spleen, which is established in this work. Considering that active and passive smoking causes hypoxia and increases lipid peroxidation, the use of tetrapeptides KK1 and KK5 as agents that improve the body's adaptation to hypoxia and increase resistance to stress damage is justified. Thus, the tetrapeptides KK1 and KK5 have a positive immunomodulatory effect, reducing the toxic stress effects of passive smoking.

Keywords: rats, passive smoking, immunological parameters of the spleen, synthetic tetrapeptides KK1, synthetic tetrapeptides KK5

Введение

Одним из актуальных направлений в экспериментальной и клинической иммунологии является создание новых иммуномодуляторов, направленных на коррекцию различных вариантов патологии иммунной и нервной систем. Особый интерес представляют оригинальные регуляторные тетрапептиды, гомологичные первичной аминокислотной последовательности АКТГ₁₅₋₁₈, полученные в ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых препаратов» ФМБА России. В литературе представлены данные по сравнительной характеристике стресспротекторных свойств тетрапептидов Acetyl-(D-Lys)-Lys-Arg-Arg-amide (препарат КК1) и Acetyl-(D-Lys)-Lys-(D-Arg)-Arg-amide (препарат КК5) на модели острого иммобилизационного стресса. Оба препарата проявляли выраженное антиоксидантное действие, оказывая восстановительное действие на гистоструктуры печени (тетрапептид КК1) и надпочечников (тетрапептид КК5) [8]. В ряде работ были показаны антигипоксические, антиишемические, нейропротекторные [3, 4, 11] свойства данных препаратов. В ранее проведенных исследованиях установлено, что препараты КК1 и КК5 практически не токсичны и имеют повышенную устойчивость к протеазам [7]. Стресспротекторное действие тетрапептидов КК1 и КК5 обусловлено снижением уровня катехоламинов, нормализацией нарушений структуры коры надпочечников. Препарат КК1 предотвращает изменение коэффициентов массы надпочечников и тимуса, при этом КК1 лучше действует на показатели углеводного обмена гепатоцитов (нормализует уровни лактата, пирувата) и препятствует истощению запасов гликогена [7].

В то же время исследования в меньшей мере коснулись оценки влияния данных тетрапептидов на иммунологические параметры на моделях воздействия широко распространенных ксенобиотиков [2]. Известно, что одним из наиболее часто встречающихся неблагоприятных воздействий окружающей среды на организм является активное и пассивное табакокурение, которое рассматривается как стрессорное воздействие на экспериментальных животных [13, 15].

При стрессе в организме млекопитающих возникают адаптивные изменения гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной и иммунной систем. Известно, что селезенка является одним из главных периферических органов иммунной системы. В ряде работ показано влияние различных вариантов стресса на изменения субпопуляционного состава спленоцитов и секрецию цитокинов [5, 9]. Установлено, что стресс снижает продукцию цитокинов у эксперименталь-

ных животных [6, 12]. Вместе с тем, в литературе отсутствуют данные по влиянию вышеуказанных иммуномодуляторов на иммунологические параметры селезенки крыс при пассивном табакокурении.

В связи с этим **целью работы** явилась характеристика влияния тетрапептидов (препараты КК1 и КК5) на иммунологические параметры селезенки крыс Wistar, подвергнутых пассивному табакокурению.

Материалы и методы

Экспериментальные исследования были выполнены на 32 самках крыс линии Wistar половозрелого возраста массой 160-200 г. Животных содержали на стандартном пищевом рационе без ограничения доступа к воде. Животные были разделены на 4 группы: 1-я группа – 8 контрольных самок, 2-я группа – 8 крыс, подвергавшихся пассивному табакокурению, 3-я группа – 8 крыс, подвергавшихся пассивному табакокурению и получавших тетрапептид КК1, 4-я группа – 8 подвергавшихся пассивному табакокурению, получавших тетрапептид КК5. Моделирование пассивного табакокурения проводили в камере без поддержания четкого режима влажности. Опытные крысы 2-й, 3-й, 4-й групп подвергались фумигации табачным дымом, полученным от одной тлеющей сигареты, каждые 60 минут, с 9:00 до 17:00 местного времени, в течение 8 часов ежедневно в течение 20 дней. Животные контрольной группы в аналогичный период помещались в камеру, вентилируемую атмосферным воздухом без табачного дыма.

Животным 3-й и 4-й групп вводили тетрапептиды интраназально в виде водного раствора в дозе 40 мкг/кг, через день, 1 раз в сутки на протяжении 10 дней, начиная с 10-го дня эксперимента. Крысам 1-й и 2-й групп вводили интраназально физиологический раствор в равных объемах с остальными группами. Выведение животных из эксперимента проводилось на 20-е сутки дислокацией шейных позвонков под эфирным наркозом.

Массу селезенки и количество спленоцитов определяли в соответствии с лабораторными методами исследования экспериментальных животных [1].

Иммуногистохимические реакции проводили методом трехэтапного непрямого иммуноферментного анализа с использованием первичных моноклональных антител к антигенным маркерам CD3 (клон 1F4), CD4 (клон W3/25), CD8 (клон ОХ-8), CD20 (клон 1A3), которые использовались для идентификации CD3-, CD4-, CD8-, CD20-позитивных клеток селезенки крыс, согласно инструкции фирмы-изготови-

теля (ARIGO Biolaboratories, Тайвань). Визуализацию первичных моноклональных антител, связавшихся с антигенами, проводили стандартным биотин-стрептавидин-пероксидазным методом с использованием набора IHC Support Pack (CLOUD-CLONE CORP., Китай). Для блока неспецифического связывания срезы покрывались раствором блокирующей сыворотки 200 мкл и инкубировали в течение 20 минут, после промывки срезов фосфатным буферным раствором к ним были добавлены первичные антитела к белкам CD3, CD4, CD8, CD20 на 1 час при температуре 37 °С. В качестве вторичных антител были использованы конъюгированные с биотином вторичные антитела. С целью выявления биотиновой метки срезы обрабатывались раствором стрептавидина и пероксидазы хрена и инкубировались в течение 30 минут при температуре 37 °С. Пероксидазную активность проявляли в инкубационной среде с диаминобензидином. В результате ферментативной реакции субстрат превращался в нерастворимый продукт коричневого цвета, совпадающий по локализации с местонахождением белков. На заключительном этапе срезы докрашивались гематоксилином. В каждой серии иммуногистохимических реакций выполнялось контрольное исследование с инкубированием нескольких срезов в отсутствие первичных антител. Специфичность экспрессии искомого антигена в опытных срезах селезенки подтверждалась отсутствием ее в контрольных срезах, не обработанных первичными антителами. Морфометрический анализ включал подсчет количества CD3-, CD4-, CD8-, CD20-позитивных клеток селезенки после фотографирования препаратов при увеличении $\times 600$ светового микроскопа Микмед-6 с применением компьютерной программы JMicroVision v1.27.

Продукцию цитокинов IL-6 и IFN γ исследовали в супернатантах культур спленоцитов после 48-часовой инкубации клеток при 37 °С в атмосфере 5% CO $_2$ в полной культуральной среде (RPMI-1640 с добавлением 10%-ной инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, 2 мМ глутамин и 80 мкг/мл гентамицина). Оценивали спонтанную и индуцированную конканавалином А (Кон А) в конечной концентрации 10 мкг/мл секрецию спленоцитами IL-6 и IFN γ . Определение концентрации цитокинов в супернатантах проводили с использованием иммуноферментных тест-систем (IFN gamma Rat ELISA Kit, USA, IL-6 Rat ELISA Kit, USA).

Эксперименты были проведены с учетом этических норм и рекомендаций по гуманизации работы с лабораторными животными, отраженными в «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей» (Страсбург,

1998); приказом МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики». Учитывая отсутствие нормального распределения результатов, которое оценивалось с помощью критерия Шапиро–Уилка, сравнение групп проводили, используя непараметрический U-критерий Манна–Уитни при критическом уровне значимости $p < 0,05$. Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного размаха – Me (Q $_{0,25}$ -Q $_{0,75}$).

Результаты и обсуждение

В таблице 1 представлены иммунологические показатели селезенки у пассивно куривших крыс Wistar, а также получавших тетрапептиды КК1 и КК5. Как видно из данных таблицы 1, пассивное курение крыс 2-й, 3-й, 4-й опытных групп приводило к негативному эффекту, выражающемуся в снижении массы селезенки и количества спленоцитов. Вместе с тем, при введении изучаемых тетрапептидов пассивно курившим крысам 3-й и 4-й группы, масса селезенки имела тенденцию к нормализации. Важно отметить, что введение КК1 пассивно курившим крысам 3-й группы способствовало значимому увеличению количества спленоцитов по отношению к параметрам курящих крыс 2-й группы.

Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов селезенки крыс Wistar, подвергшихся воздействию пассивного табакокурения, выявило достоверное снижение числа CD3 $^+$ CD4 $^+$, CD8 $^+$ лимфоцитов у животных 2-й опытной группы по отношению к уровню показателей контрольной группы. Кроме того, число клеток, несущих маркеры CD20 у животных 2-й опытной группы было снижено на 40% по отношению к контролю. Введение тетрапептидов КК1 и КК5 пассивно курившим крысам 3-й и 4-й группы способствовало тенденции к восстановлению пула маркеров CD3, CD4, CD8, CD20 в селезенке до уровня контрольной группы.

Анализ количества IFN γ , продуцируемого спленоцитами, выявил угнетение спонтанной и индуцированной продукции данного цитокина у пассивно куривших крыс 2-й группы по сравнению с аналогичным показателем у контрольных крыс. Интенсивность спонтанной и индуцированной продукции IFN γ у куривших крыс, получавших тетрапептиды КК1 и КК5, статистически значимо не отличалась от уровня контрольной группы. Анализ индуцированной продукции IL-6 спленоцитами показал снижение данного показателя у опытных животных 2-й группы. Вместе с тем, введение изучаемых тетрапептидов пассивно курившим крысам способствовало нормализации данного показателя до уровня контрольной группы. Интенсивность спонтанной продукции

ТАБЛИЦА 1. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ СЕЛЕЗЕНКИ ПАССИВНО КУРИВШИХ КРЫС WISTAR, ПОЛУЧАВШИХ ТЕТРАПЕПТИДЫ КК1 И КК5, Ме (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. IMMUNOLOGICAL PARAMETERS OF THE SPLEEN OF PASSIVELY SMOKING WISTAR RATS TREATED WITH TETRAPEPTIDES KK1 AND KK5, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Параметры Parameters	1-я группа Group 1	2-я группа Group 2	3-я группа Group 3	4-я группа Group 4
Масса селезенки, мг Spleen, weight, mg	444 (382-501)	317* (305-328)	352 (321-377)	357* (330-430)
Число спленоцитов, × 10 ⁶ /орган Number of splenocytes, × 10 ⁶ /organ	496 (413-560)	251* (209-284)	320** (315-345)	236* (209-248)
CD3, клеток/мм ² CD3, cells/mm ²	274 (237-284)	179* (156-220)	255** (229-285)	260** (250-390)
CD4, клеток/мм ² CD4, cells/mm ²	141 (114-155)	100* (73-120)	115 (99-125)	123** (110-142)
CD8, клеток/мм ² CD8, cells/mm ²	132 (104-140)	95* (70-110)	130** (110-150)	150** (110-170)
CD20, клеток/мм ² CD20, cells/mm ²	254 (106-299)	142 (129-180)	206 (166-254)	173 (159-200)
IFN γ (спонтанная) (пг/мл) IFN γ (pg/mL)	30 (29-31)	21* (21-22)	26 (23-28)	27 (24-30)
IFN γ (КонА) (пг/мл) IFN γ – Induced Con A (pg/mL)	67 (66-68)	45* (43-48)	52 (52-54)	55 (53-58)
IL-6 (спонтанная) (пг/мл) IL-6 (pg/mL)	83 (76-94)	73 (69-75)	92 (87-96)	99 (92-105)
IL-6 (пг/мл) (КонА) IL-6 – Induced Con A (pg/mL)	137 (118-141)	105* (93-117)	120 (115-129)	126 (108-133)

Примечание. * – статистически значимые различия (p < 0,05) с показателями 1-й контрольной группы; ** – статистически значимые различия (p < 0,05) с показателями 2-й опытной группы.

Note. *, significant differences (p < 0.05) from the control group 1; **, significant differences (p < 0.05) from 2 experimental groups.

IL-6 у куривших крыс, получавших тетрапептиды КК1 и КК5, также статистически не отличалась от показателей контрольной группы.

Таким образом, введение тетрапептидов КК1 и КК5 опытным крысам, подвергавшимся воздействию пассивного табакокурения, приводило к положительной тенденции иммунологических параметров селезенки экспериментальных животных.

Обсуждая полученные результаты, необходимо отметить, что в основе сдвигов параметров селезенки, выявленных в данной работе, может лежать ряд возможных причин. Во-первых, пассивное курение вызывает стрессорную реакцию у крыс, что подтверждается ранее проведенными исследованиями на аналогичной модели, об увеличении уровня стрессорных гормонов в сыворотке крови крыс Wistar [10]. Во-вторых, данные литературы свидетельствуют об активации пере-

кисного окисления липидов при курении [15]. В-третьих, известно, что при действии токсикантов табачного дыма в наибольшей степени страдает лимфоидная линия клеток, так как их полигидроокисленные метаболиты аккумулируются в костном мозге и лимфоидных органах, вызывая гипоплазию центральных и периферических органов иммунитета. Видимый признак такого явления – это уменьшение клеточности в селезенке, что установлено в настоящей работе.

Сравнение влияния препаратов КК1 и КК5 на иммунологические параметры селезенки выявило однонаправленные изменения, свидетельствовавшие в пользу тенденции к нормализации параметров по сравнению с аналогичными показателями крыс, подвергавшихся пассивному табакокурению. В основе положительной тенденции сдвигов иммунологических параметров при воздействии пептидов КК1 и КК5 лежит

возможное снижение последствий токсического действия табачного дыма за счет выраженного антиоксидантного, стресспротекторного и противовоспалительного эффекта данных препаратов [8, 11].

Заключение

Таким образом, в настоящей работе впервые представлена сравнительная характеристика иммуномодулирующего влияния пептидов КК1 и КК5 на модели пассивного табакокурения у экспериментальных животных. Оба препарата обладали однонаправленным позитивным воздействием на иммунологические параметры се-

лезенки крыс Wistar, что выражалось в тенденции к нормализации уровня CD-маркеров, а также спонтанной и индуцированной продукции цитокинов спленоцитами. Учитывая, что активное и пассивное табакокурение вызывает гипоксию и усиливает перекисное окисление липидов [14], то оправдано применение тетрапептидов КК1 и КК5 как средств, улучшающих адаптацию организма к гипоксии, повышающего устойчивость к стрессорным повреждениям. Данные иммуномодуляторы можно рекомендовать использовать для профилактики нарушений при индуцированном варианте вторичных иммунодефицитных состояний вызванных табакокурением.

Список литературы / References

1. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. Челябинск, 2000. 167 с. [Volchegorsky I.A., Dolgushin I.I., Kolesnikov O.L. Experimental modeling and laboratory evaluation of adaptive reactions of the body]. Chelyabinsk, 2000. 167 p.
2. Гребенюк А.Н., Халютин Д.А., Рейнюк В.Л., Колобов А.А. Сравнительная оценка эффективности пептидных препаратов при острых тяжелых отравлениях этанолом // Токсикологический вестник, 2014. № 6 (129). С. 15-21. [Grebnyuk A.N., Halyutin D.A., Reinyuk V.L., Kolobov A.A. Comparative evaluation of the efficacy of peptide drugs at severe acute poisoning with ethanol. *Toksikologicheskii vestnik = Toxicological Review*, 2014, no. 6, pp. 15-21. (In Russ.)]
3. Дейко Р.Д., Штрыголь С.Ю., Колобов А.А., Симбирцев А.С. Церебропротекторные свойства и протеолитическая устойчивость пептидов, гомологичных первичной последовательности участка АКТГ15-18 (экспериментальное исследование) // Цитокины и воспаление, 2015. Т. 14, № 2. С. 65-69. [Deiko R.D., Shtrygol S.Yu., Kolobov A.A., Simbirtsev A.S. Cerebroprotective properties of the original peptides homologous to АСТН15-18 primary sequence (experimental study). *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2015, no. 14, pp. 65-69. (In Russ.)]
4. Дейко Р.Д., Штрыголь С.Ю., Колобов А.А., Ходаковский А.А., Черешнюк И.Л. Влияние потенциального нейропротектора Acetyl-(D-Lys)-Lys-Arg-Arg-amide (КК-1) на нейродеструкцию и нейроапоптоз у крыс при остром нарушении мозгового кровообращения // Вестник фармации. 2016. № 1 (71). С. 96-102. [Deiko R.D., Shtrygol S.Yu., Kolobov A.A., Khodakovskiy O.A., Chereshniuk I.L. The influence of new neuroprotector acetyl-(d-lys)-lys-arg-arg-amide (KK-1) on neurodestruction and neuroapoptosis of rats in conditions of acute stroke. *Vestnik farmatsii = Pharmacy Bulletin*, 2016, no. 1, pp. 96-102. (In Russ.)]
5. Капитонова М.Ю., Кузнецов С.Л., Фуад С.Б., Дегтярь Ю.В., Хлебников В.В., Нестерова А.А., Чернов Д.А. Иммуногистохимическая характеристика селезенки при действии различных видов стрессоров // Морфология, 2009. Т. 136, № 5. С. 61-66. [Kapitonova M.Y., Kuznetsov S.L., Fuad S.B., Degtyar' Y.V., Khlebnikov V.V., Nesterova A.A., Chernov D.A.. Immunohistochemical characteristics of the spleen under the effect of different types of stressors. *Morfologiya = Morphology*, 2009, Vol. 136, no. 5, pp. 61-66. (In Russ.)]
6. Кетлинский, С. А., Симбирцев А.С. Цитокины: монография. СПб.: Фолиант, 2008. 552 с. [Ketlinsky S.A., Simbirtsev A.S. Cytokines: monograph]. St. Petersburg, 2008. 167 p.
7. Кудина О.В., Штрыголь С.Ю., Колобов А.А. Влияние олигопептидов – гомологов фрагмента АКТГ [15-18] на показатели углеводного обмена в условиях острого холодового стресса // Вестник фармации, 2019. № 1 (83). С. 64-70. [Kudina O.V., Shtrygol S.Yu., Kolobov A.A. Influence of oligopeptides – homologues of the АСТН fragment [15-18] on the parameters of carbohydrate metabolism under conditions of acute cold stress. *Vestnik farmatsii = Pharmacy Bulletin*, 2019, no. 1(83), pp. 64-70. (In Russ.)]
8. Кудина О.В., Штрыголь С.Ю., Колобов А.А., Ларьяновская Ю.Б. Влияние олигопептидов – гомологов фрагмента актг15-18 на состояние печени и надпочечников крыс на модели острого иммобилизационного стресса // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии, 2017. Т. 15, № 4. С. 30-37. [Kudina O.V., Shtrygol S.Yu., Kolobov A.A., Laryanovskaya Yu.B. The influence of oligopeptides – the homologues of АСТН15-18 on the liver and adrenal glands in the rats on the model of acute immobilization stress. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii = Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*, 2017, Vol. 15, no. 4, pp. 30-37. (In Russ.)]
9. Мельникова О.В., Сергеева В.Е. Морфологическое исследование компонентов клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа селезенки лабораторных крыс при экспериментальной гиперкальцие-

мии // Морфологические ведомости, 2016. Т. 24, № 1. С. 60-68. [Melnikova O.V., Sergeeva V.E. Morphological study of components of cellular and humoral immune response in rat spleen with experimental hypercalcemia. *Morfologicheskie vedomosti = Morphological Newsletter*, 2016, Vol. 24, no. 1, pp. 60-68. (In Russ.)]

10. Пушкарева Л.А., Кузьмичева Н.А., Филиппова Ю.В., Смолягин А.И., Мирошниченко И.В. Сравнительная характеристика содержания стрессорных гормонов в крови у пассивно куривших крыс и их потомства в гнездовой период // Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия, 2023. Т. 9, № 2. С. 149-157. [Pushkareva L.A., Kuzmicheva N.A., Filippova Yu.V., Smolyagin A.I., Miroshnichenko I.V. Comparative characteristics of the content of stress hormones in the blood of passive smoking rats and their offspring during the breeding season. *Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V.I. Vernadskogo. Biologiya. Khimiya = Scientific Notes of V. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry*, 2023, Vol. 9, no. 2, pp. 149-157. (In Russ.)]

11. Толкач П.Г., Башарин В.А., Соловьева Т.С., Слущкая Д.Р. Сравнительная эффективность нейропептидов КК1 и семакса для терапии поражений центральной нервной системы после тяжелого отравления оксидом углерода // Вестник Российской военно-медицинской академии, 2016. № 2 (54). С. 131-137. [Tolkach P.G., Basharin V.A., Solovieva T.S., Slutskaia D.R. Comparative efficacy of neuropeptides KK1 and Semax for the treatment of lesions of the central nervous system after severe carbon monoxide poisoning. *Vestnik Rossiyskoy voenno-meditsinskoy akademii = Bulletin of the Russian Military Medical Academy*, 2016, no. 2 (54), pp. 131-137. (In Russ.)]

12. Шаравьева И.Л., Гейн С.В. Влияние острого холодцового стресса на секрецию IL-2, IL-4, IFN γ , IL-12 спленocyтaми мыши *in vivo* // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 4. С. 843-848. [Sharavyeva I.L., Gein S.V. Influence of acute cold stress on the secretion of IL-2, IL-4, IFN γ , IL-12 *in vivo* by mouse splenocytes. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2022, Vol. 24, no. 4, pp. 843-848. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-IOA-2383.

13. Burke A., FitzGerald G.A. Oxidative stress and smoking-induced vascular injury. *Prog. Cardiovasc. Dis.*, 2003, Vol. 46, no. 1, pp. 79-90.

14. Ignatowicz E., Woźniak A., Kulza M., Seńczuk-Przybyłowska M., Cimino F., Piekoszewski W., Chuchracki M., Florek E. Exposure to alcohol and tobacco smoke causes oxidative stress in rats. *Pharmacol. Rep.*, 2013, Vol. 65, no. 4, pp. 906-913.

15. Obembe O.O., Olatoke T.F., Atere T.G. Reproductive indices and oxidative stress biomarkers of male Wistar rats prenatally exposed to cigarette smoke. *Niger J. Physiol. Sci.*, 2019, Vol. 34, no. 1, pp. 91-98.

Авторы:

Смолягин А.И. — д.м.н., профессор, заслуженный работник высшей школы РФ, профессор кафедры эпидемиологии и инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

Колобов А.А. — д.б.н., заведующий лабораторией химии пептидов ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

Кузьмичева Н.А. — старший преподаватель кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

Authors:

Smolyagin A.I., Professor, Department of Epidemiology and Infectious Diseases, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

Kolobov A.A., PhD, MD (Biology), Head, Peptide Chemistry Laboratory, Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, Federal Medical Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation

Kuzmicheva N.A., Senior Lecturer, Department of Pharmaceutical Chemistry, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

Полякова В.С. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой патологической анатомии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

Polyakova V.S., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Pathological Anatomy Department, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

Михайлова И.В. — д.б.н., доцент, заведующая кафедрой фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

Mikhailova I.V., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Head, Pharmaceutical Chemistry Department, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

Филиппова Ю.В. — к.м.н., доцент кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

Filippova Yu.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

Мирошниченко И.В. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

Miroshnichenko I.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Normal Physiology Department, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

Поступила 29.03.2024
Принята к печати 30.03.2024

Received 29.03.2024
Accepted 30.03.2024

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА СПЛЕНОЦИТОВ, ОБРАБОТАННЫХ ХЛОРПРОМАЗИНОМ, ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ АГРЕССИИ

Серенко Е.В., Гольдина И.А., Маркова Е.В.

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

Резюме. Агрессивное поведение считается одним из центральных симптомов многих нервно-психических расстройств и является серьезной медико-биологической проблемой, связанной как с высокой частотой и тяжестью проявлений, так и с отсутствием средств избирательной коррекции. Целью настоящего исследования была оценка функционального фенотипа иммунных клеток, обработанных хлорпромазином, у агрессивных животных *in vitro*, а также влияния трансплантации этих клеток на функциональную активность клеток иммунной системы сингенных агрессивных реципиентов. Агрессивное поведение формировали у активных мышей в результате повторного опыта побед в агонистических взаимодействиях с животными с субмиссивным партнером. Далее агрессивных животных изолировали в индивидуальные клетки и использовали в качестве доноров и реципиентов иммунных клеток. Иммунные клетки получали в стерильных условиях из суспензии клеток селезенки, прекультивированных с хлорпромазином. Оценку уровня спонтанной и митоген-индуцированной пролиферации клеток проводили стандартным методом по включению радиоактивной метки. Количественное содержание цитокинов в образцах надосадочной жидкости культур клеток, обработанных хлорпромазином, определяли методом иммуноферментного анализа с использованием соответствующих тест-систем. Далее агрессивным сингенным реципиентам внутривенно вводили спленоциты, прекультивированные с хлорпромазином. Контрольной группе животных вводили спленоциты, прекультивированные в аналогичных условиях, без добавления хлорпромазина. У реципиентов оценивали пролиферативную активность клеток селезенки, а также интенсивность гуморального и клеточного иммунного ответа стандартными методами, по количеству антителообразующих клеток селезенки и выраженности реакции гиперчувствительности замедленного типа в ответ на введение Т-зависимого антигена. Установлено, что обработка хлорпромазином *in vitro* подавляла митоген-стимулированную пролиферацию спленоцитов агрессивных мышей, не изменяя при этом спонтанной пролиферации, а также сопровождалась снижением продукции ряда цитокинов – IL-6, IL-2 и IFN γ . При исследовании интенсивности гуморального и клеточного иммунного ответа у агрессивных реципиентов после трансплантации донорских сингенных спленоцитов, обработанных хлорпромазином, было зарегистрировано снижение интенсивности гуморального иммунного ответа. Трансплантация

Адрес для переписки:

Серенко Евгений Владимирович
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
клинической и фундаментальной иммунологии»
630099, Россия, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.
Тел.: 8 (960) 789-39-22.
Факс: 8 (383) 222-70-28.
E-mail: serenko.evgeniy@mail.ru

Address for correspondence:

Evgeniy V. Serenko
Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology
14 Yadrintsevskaya St
Novosibirsk
630099 Russian Federation
Phone: +7 (960) 789-39-22.
Fax: +7 (383) 222-70-28.
E-mail: serenko.evgeniy@mail.ru

Образец цитирования:

Е.В. Серенко, И.А. Гольдина, Е.В. Маркова
«Иммуномодулирующие свойства спленоцитов,
обработанных хлорпромазином, при экспериментальной
агрессии» // Российский иммунологический журнал,
2024. Т. 27, № 3. С. 457-462.
doi: 10.46235/1028-7221-16704-IPO

© Серенко Е.В. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

E.V. Serenko, I.A. Goldina, E.V. Markova
“Immunomodulatory properties of splenocytes treated with
chlorpromazine in experimental aggression”, *Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal*, 2024,
Vol. 27, no. 3, pp. 457-462.
doi: 10.46235/1028-7221-16704-IPO

© Serenko E.V. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16704-IPO

обработанных хлорпромазином донорских спленоцитов сопровождалась также снижением спонтанной и митоген-стимулированной пролиферации спленоцитов агрессивных реципиентов. Таким образом, полученные данные свидетельствуют об ингибирующем влиянии хлорпромазина на функциональную активность иммунных клеток агрессивных мышей, а также о положительном иммуномодулирующем действии трансплантации обработанных хлорпромазином иммунных клеток при агрессивном поведении у экспериментальных животных.

Ключевые слова: спленоциты, трансплантация, хлорпромазин, пролиферативная активность, гуморальный иммунный ответ, клеточный иммунный ответ, цитокины, экспериментальная агрессия

IMMUNOMODULATORY PROPERTIES OF SPLENOCYTES TREATED WITH CHLORPROMAZINE IN EXPERIMENTAL AGGRESSION

Serenko E.V., Goldina I.A., Markova E.V.

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

Abstract. Aggressive behavior is considered to be as one of the central symptoms of many neuropsychiatric disorders. It is a serious medical and biological problem associated both with high frequency and severity of manifestations and lack of selective correction means. The purpose of this study was to evaluate the functional phenotype of immune cells treated with chlorpromazine in aggressive animals *in vitro*, as well as the effect of transplantation of these cells on syngeneic aggressive recipient's immune cells functional activity. Aggressive behavior was formed in active mice as a result of repeated experience of victories in agonistic interactions with animals with a submissive partner. Further, aggressive animals were isolated into individual cells and used as donors and recipients of immune cells. Immune cells were obtained under sterile conditions from suspension of spleen cells precultured with chlorpromazine. The level of spontaneous and mitogen-induced cell proliferation was assessed using a standard method of radioactive label incorporation. The quantitative content of cytokines in samples of treated with chlorpromazine cell cultures supernatant was determined by enzyme immunoassay using appropriate test systems. Further aggressive syngeneic recipients were intravenously injected with splenocytes precultured with chlorpromazine. The control group of animals was injected with splenocytes precultured under similar conditions, without the chlorpromazine addition. The recipients were assessed for the spleen cells proliferative activity and the intensity of humoral and cellular immune response using standard methods, by the number of antibody-forming spleen cells and severity of a delayed-type hypersensitivity reaction in response to T-dependent antigen introduction. It was found that treatment with chlorpromazine *in vitro* suppressed mitogen-stimulated proliferation of splenocytes in aggressive mice, without changing of spontaneous proliferation. It was also accompanied by some cytokines production decrease: IL-6, IL-2 and IFN γ . When studying the humoral and cellular immune response intensity in aggressive recipients after transplantation of donor's syngeneic splenocytes treated with chlorpromazine, a decrease in the intensity of humoral immune response was recorded. Transplantation of donor's splenocytes treated with chlorpromazine was also accompanied by a decrease in spontaneous and mitogen-stimulated proliferation of splenocytes from aggressive recipients. Thus, the obtained data indicate the inhibitory effect of chlorpromazine on immune cell's functional activity in aggressive mice, as well as the positive immunomodulatory effect of chlorpromazine-treated immune cells transplantation at aggressive behavior in experimental animals.

Keywords: splenocytes, transplantation, chlorpromazine, proliferative activity, humoral immune response, cell immune response, cytokines, experimental aggression

Работа выполнена при поддержке федерального бюджета РФ, выделенного на фундаментальные научные исследования в НИИ фундаментальной и клинической иммунологии (тема № 122011800324-4 (2021-2023)).

Введение

Агрессивное поведение — это инстинктивно обусловленный паттерн поведения, тесно связан-

ный с многочисленными физиологическими процессами, такими как защита территории, пищи и потомства, которые помогают животным выживать и размножаться. Агрессивное поведение, с другой стороны, считается одним из центральных симптомов многих нервно-психических расстройств — пограничных расстройств личности, аутизма, шизофрении, аффективных расстройств, включая посттравматический синдром и депрессию. Последствия агрессии ложатся тяжелым бре-

менем на пациентов, их семьи и врачей. Агрессия является серьезной медико-биологической проблемой, связанной как с высокой частотой и тяжестью проявлений, так и с отсутствием средств избирательной коррекции [3, 4, 15].

Множество данных клинико-лабораторных исследований подтверждают связь между хроническими стрессорами, нервно-психическими расстройствами и нарушением функционирования иммунной системы, наряду с изменением синтеза нейротрансмиттеров, факторов роста, гормонов. Так, агрессивное поведение, в условиях социального стресса или у генетически агрессивных мышей NC900 связано с активацией иммунного ответа на Т-зависимые антигены, повышением пролиферации Т-клеток, перераспределением субпопуляций Т-лимфоцитов в костном мозге, периферической крови и селезенке. Также было выявлено, что иммунная дисфункция при агрессивном поведении связана с изменением баланса цитокинов, синтезируемых иммунными клетками и клетками головного мозга. Так, у индивидуумов с высоким уровнем агрессивности выявляли повышенные уровни провоспалительных цитокинов. У агрессивных животных регистрировали более высокую скорость заживления ран, чем у низкоагрессивных. При этом также наблюдался повышенный уровень ряда провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-2, IL-6, IFN γ , TNF α) [5, 6, 13, 14].

Разработанный в последние десятилетия экспериментальный подход, заключающийся в получении мышами-самцами многократного опыта побед в ежедневных внутривидовых противостояниях, позволил сформировать у них агрессивный тип поведения. Исследования таких животных показали наличие у них целого ряда общих нейробиологических механизмов с людьми, характеризующимися высоким уровнем агрессивности. Вероятно, видоспецифичными и отличающимися у человека и животных являются лишь факторы, провоцирующие и запускающие агрессивное поведение [8, 13, 14, 15]. Ведущими звеньями патогенетического механизма агрессии являются нарушение регуляции продукции цитокинов, нейромедиаторов, нейропептидов, действие которых опосредовано клеточными элементами иммунной системы. Дальнейшее изучение патогенетических механизмов формирования агрессивного поведения и поиск подходов к его коррекции в рамках нейроиммунного взаимодействия в настоящее время чрезвычайно актуальны. Ранее нами была продемонстрирована возможность редактирования агрессивного поведения у животных трансплантацией обработанных хлорпромазином иммунных клеток, что сопровождалось изменением содержания цитокинов в некоторых структурах мозга этих животных [1, 2, 9, 10].

Целью настоящего исследования была оценка функционального фенотипа иммунных клеток, обработанных хлорпромазином, у агрессивных животных *in vitro*, а также влияние трансплантации этих клеток на функциональную активность клеток иммунной системы сингенных агрессивных реципиентов.

Материалы и методы

Мышей-самцов (СВА \times С57BL/6) F1 в возрасте 4 мес., с массой 25-30 г, полученных из ветеринарного хозяйства ФГБНУ им. Гольдберга НИИ фармакологии и регенеративной медицины Томского национального исследовательского медицинского центра РАН (Томск, Россия), содержали в клетках группами по десять животных на стандартном рационе питания, со свободным доступом к воде и пище, естественным световым режимом. Все протоколы исследований соответствовали регламентирующим документам по работе с экспериментальными животными (Страсбург, 1986 г.). Агрессивное поведение формировали у активных мышей (n = 48) в результате повторного опыта побед в агонистических взаимодействиях с субмиссивным партнером в течение 20 дней, как описано N.N. Kudryavtseva и соавт. [7]. Далее агрессивных животных для предотвращения агонистического взаимодействия изолировали в индивидуальные клетки и использовали в качестве доноров и реципиентов иммунных клеток. Иммунные клетки получали в стерильных условиях из суспензии клеток селезенки агрессивных животных, прекультивированных с раствором хлорпромазина 25 мг/мл (ОАО «Новосибхимфарм», Россия), представляющим собой нейролептик группы фенотиазинов алифатического ряда, в дозе 150 мкг на 15×10^6 клеток с 3% FCS (Hyclone) в течение 25 минут, как описано нами ранее [1, 2]. Оценку уровня спонтанной и митоген-индуцированной пролиферации клеток проводили стандартным методом, по включению радиоактивной метки (H³-тимидин). Количественное содержание цитокинов в образцах надосадочной жидкости культур клеток, обработанных хлорпромазином, определяли методом иммуноферментного анализа с использованием соответствующих тест-систем для определения IFN γ , IL-6, IL-2 – eBioscience, Bender MedSystems (Австрия), для определения IL-1 β , IL-10, TNF α – R&D Systems Inc., (Великобритания) в соответствии с рекомендациями производителей. Далее агрессивным сингенным реципиентам внутривенно вводили спленоциты, прекультивированные с хлорпромазином. Контрольной группе животных вводили спленоциты, прекультивированные в аналогичных условиях, без добавления хлорпромазина. Интенсивность гуморального и клеточного иммунного ответа у сингенных агрессивных реципиентов оценивали стандартными

методами, путем подсчета относительного и абсолютного количества антителообразующих клеток селезенки (АОК) и выраженности реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) в ответ на введение Т-зависимого антигена (эритроциты барана). Статистическая обработка полученных данных была проведена с использованием парного критерия Манна–Уитни (Mann–Whitney U test) для двух независимых выборок (программное обеспечение Statistica для Windows 10.0). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ и представляли как среднее значение $S \pm M$.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных экспериментов было установлено, что хлорпромазин *in vitro* подавлял митоген-стимулированную пролиферативную активность спленоцитов агрессивных мышей, не изменяя при этом уровня спонтанной пролиферации (рис. 1). Также было выявлено, что после обработки хлорпромазином *in vitro* спленоциты агрессивных мышей характеризовались снижением продукции ряда цитокинов – IL-6, IL-2 и IFN γ (рис. 2). Следовательно, прекультивирование спленоцитов агрессивных мышей с хлорпромазином вызывает изменение функциональной активности этих клеток.

Учитывая описанную выше важную роль нарушений функционального состояния клеток иммунной системы в формировании агрессивного поведения, далее мы изучали интенсивность гуморального и клеточного иммунного ответа

и пролиферативную активность спленоцитов у агрессивных реципиентов после трансплантации сингенных спленоцитов, обработанных хлорпромазином. В результате проведенных исследований было зарегистрировано снижение интенсивности гуморального иммунного ответа, что оценивалось по уменьшению как относительного, так и абсолютного количества АОК в селезенке; при этом достоверных изменений в выраженности реакции ГЗТ у агрессивных реципиентов не отмечалось (табл. 1). Также было установлено снижение спонтанной ($718,9 \pm 29,9$ имп/мин и $441,5 \pm 34,5$ имп/мин соответственно, в контрольной и опытной группах; $p < 0,05$), ConA-стимулированной ($17381,7 \pm 998,6$ имп/мин и $12247,3 \pm 854,5$ имп/мин в контрольной и опытной группах соответственно; $p < 0,05$) и ЛПС-стимулированной ($2986,29 \pm 132,94$ имп/мин и $1651,09 \pm 113,26$ имп/мин в контрольной и опытной группах, соответственно; $p < 0,05$) пролиферации спленоцитов агрессивных реципиентов. Полученные результаты позволяют сделать заключение о том, что наряду со снижением функциональной активности иммунных клеток агрессивных животных, вызванной хлорпромазином, данные клетки при трансплантации реципиентам индуцируют снижение функциональной активности их клеток иммунной системы, что выражается в снижении интенсивности гуморального иммунного ответа и пролиферативной активности. Полученные в данной работе результаты согласуются с нашими данными, полученными ранее, свидетельствующими о том, что

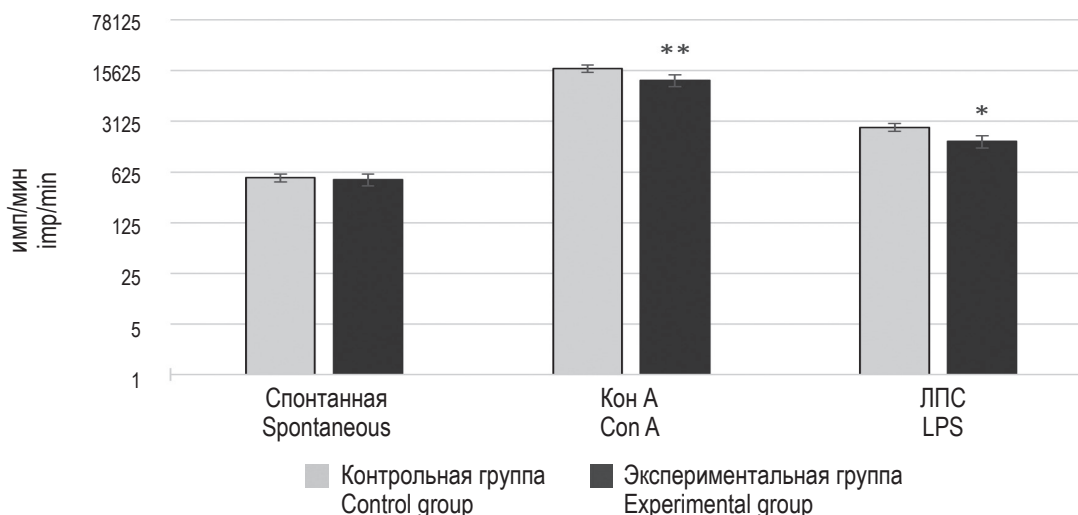


Рисунок 1. Пролиферативная активность (имп/мин) спленоцитов агрессивных мышей (CBAx57BL/6) F1 после обработки хлорпромазином *in vitro*

Примечание. ■ – клетки, прекультивированные без хлорпромазина (контрольная группа). ■ – клетки, обработанные *in vitro* хлорпромазином ($150 \text{ мкг}/15 \times 10^6$ клеток – экспериментальная группа); $n = 12$ в каждой группе; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ между контрольной и опытной группами клеток (U-критерий Манна–Уитни).

Figure 1. Proliferative activity (cpm) of splenocytes of aggressive (CBAx57BL/6) F1 mice after the chlorpromazine treatment *in vitro*
Note. ■, cells precultured without chlorpromazine (control group). ■, cells treated *in vitro* with chlorpromazine ($150 \text{ }\mu\text{g}/15 \times 10^6$ cells – experimental group); $n = 12$ in each group; * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$ between the control and the experimental groups of cells (Mann–Whitney U test).

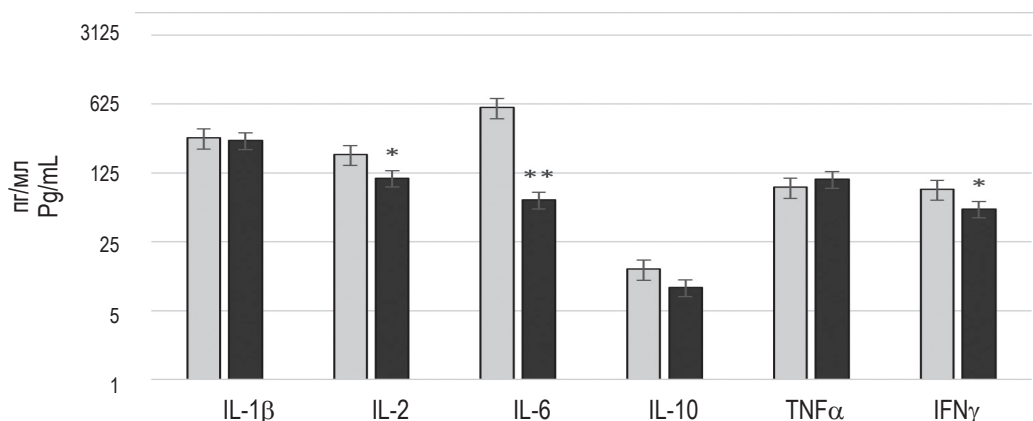


Рисунок 2. Продукция цитокинов (пг/мл) спленоцитами агрессивных мышей (CBA×C57Bl/6) F1 после обработки хлорпромазином *in vitro*

Примечание. См. примечание к рисунку 1.

Figure 2. Cytokine production (pg/mL) by splenocytes of aggressive mice (CBA×C57Bl/6) F1 after the chlorpromazine treatment *in vitro*
Note. As for Figure 1.

ТАБЛИЦА 1. ГУМОРАЛЬНЫЙ И КЛЕТочный ИММУНный ОТВЕТ у АГРЕССИВНЫХ СИГЕННЫХ РЕЦИПИЕНТОВ (CBA×C57Bl/6) F1 ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СПЛЕНОЦИТОВ, ОБРАБОТАННЫХ *IN VITRO* ХЛОРПРОМАЗИНОМ

TABLE 1. HUMORAL AND CELLULAR IMMUNE RESPONSE IN AGGRESSIVE SYNGENEIC (CBA×C57Bl/6) F1 RECIPIENTS AFTER TRANSPLANTATION OF SPLENOCYTE, TREATED WITH CHLORPROMAZINE *IN VITRO*

Параметр Parameter	Контрольная группа реципиентов Control group of recipients	Экспериментальная группа реципиентов Experimental group of recipients
Относительное количество АОК (АОК/10 ⁶) Relative number of AFC (AFC/10 ⁶)	881,18±270,46	545,58±183,29*
Абсолютное количество АОК Absolute number of AFC	104298,75±1571,35	71784,05±2648,30*
Уровень реакции ГЗТ (%) DTH response rate (%)	45,50±4,92	53,00±2,62

Примечание. Контрольная группа реципиентов – агрессивные реципиенты после трансплантации сингенных спленоцитов, предварительно культивированных без хлорпромазина. Экспериментальная группа реципиентов – агрессивные реципиенты после трансплантации сингенных спленоцитов, предварительно культивированных с хлорпромазином; n = 15-18 в каждой группе; * – p < 0,05 относительно соответствующего показателя в контрольной группе.

Note. The control group of recipients – aggressive recipients after transplantation of syngeneic splenocytes previously cultured without chlorpromazine. Experimental group of recipients – aggressive recipients after transplantation of syngeneic splenocytes pre-cultured with chlorpromazine; n = 15-18 in each group; *, p < 0.05 relative to the corresponding indicator in the control group.

трансплантация спленоцитов с модулированной хлорпромазином *in vitro* функциональной активностью сингенным агрессивным реципиентам вызывала снижение митоген-стимулированной продукции их спленоцитами цитокинов – IL-4, IL-6, IL-10, IL-2 и IFNγ. Мы полагаем, что изменение функциональной активности последних может быть связано с хомингом трансплантированных клеток селезенки донора и их межклеточным контактом с клетками селезенки реципиента. Эту гипотезу подтверждают наши данные по визуализации прекультивированных с хлорпромазином и меченных флуоресцентным красителем карбоксифлуоресцеином спленоцитов агрессивных доноров в селезенке синген-

ных агрессивных реципиентов [2]. Кроме того, изменение функциональной активности клеток иммунной системы может быть следствием опосредованного влияния ЦНС, ее гормонов и нейромедиаторов на иммунитет при агрессии.

Заключение

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о ингибирующем влиянии хлорпромазина на функциональную активность иммунных клеток агрессивных мышей, а также о положительном иммуномодулирующем действии трансплантации обработанных хлорпромазином иммунных клеток при агрессивном поведении у экспериментальных животных.

Список литературы / References

1. Маркова Е.В., Серенко Е.В. Коррекция паттернов агрессивного поведения модулированными *ex vivo* иммунокомпетентными клетками: экспериментальное исследование // Сибирский вестник психиатрии и наркологии, 2022. № 3 (116). С. 5-13. [Markova E.V., Serenko E.V. Correction of aggressive behavior patterns by *ex vivo* modulated immunocompetent cells: an experimental study. *Sibirskiy vestnik psikhiatrii i narkologii = Siberian Herald of Psychiatry and Addiction Psychiatry*, 2022, no. 3 (116), pp. 5-13. (In Russ.)]
2. Маркова Е.В., Серенко Е.В. Цитокин-опосредованные механизмы коррекции агрессивного поведения модулированными *in vitro* иммунокомпетентными клетками // Сибирский вестник психиатрии и наркологии, 2023. № 1 (118). С. 32-40. [Markova E.V., Serenko E.V. Cytokine-mediated mechanisms for the correction of aggressive behavior by *in vitro* modulated immunocompetent cells. *Sibirskiy vestnik psikhiatrii i narkologii = Siberian Herald of Psychiatry and Addiction Psychiatry*, 2023, no. 1 (118), pp. 32-40. (In Russ.)]
3. Belfry K.D., Kolla N.J. Cold-Blooded and on purpose: a review of the biology of proactive aggression. *Brain Sci.*, 2021, Vol. 11, no. 11, 1412. doi: 10.3390/brainsci11111412.
4. Bertsch K., Florange J., Herpertz S.C. Understanding brain mechanisms of reactive aggression. *Curr. Psychiatry Rep.*, 2020, Vol. 22, 81. doi: 10.1007/s11920-020-01208-6.
5. Coccaro E.F., Lee R., Breen E.C., Irwin M.R. Plasma and cerebrospinal fluid inflammatory markers and human aggression. *Neuropsychopharmacology*, 2023, Vol. 48, no. 7, pp.1060-1066.
6. Idova G.V., Gevorgyan M.M., Alperina E.L., Zhukova E.N., Markova E.V. Changes in production of cytokines by C57BL/6J mouse spleen during aggression provoked by social stress. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2016, Vol. 160, no. 5, pp. 679-682.
7. Kudryavtseva N.N., Smagin D.A., Kovalenko I.L., Vishnivetskaya G.B., Repeated positive fighting experience in male inbred mice. *Nat. Protoc.*, 2014, Vol. 9, no. 11, pp. 2705-2717.
8. Kudryavtseva N.N. Positive fighting experience, addiction-like state, and relapse: Retrospective analysis of experimental studies. *Aggress. Viol. Behav.*, 2020, Vol. 52, 101403. doi: 10.1016/j.avb.2020.101403.
9. Markova E., Serenko E., Knyazheva M. Aggressive phenotype editing by modulated immune cells. *Eur. Psychiatry*, 2022, Vol. 65, no. S1, pp. S95-S96.
10. Markova E.V., Serenko E.V., Knyazheva M.A. Aggressive behavior correction by the transplantation of *in vitro* modulated immune cells. *Medical Immunology (Russia)*, 2021, Vol. 23, no. 4, pp. 693-698. doi: 10.15789/1563-0625-ABC-2263.
11. New A.S., Hazlett E.A., Buchsbaum M.S., Goodman M., Mitelman S.A., Newmark R., Trisdorfer R., Haznedar M.M., Koenigsberg H.W., Flory J., Siever L.J. Amygdala-prefrontal disconnection in borderline personality disorder. *Neuropsychopharmacology*, 2007, Vol. 32, no. 7, pp. 1629-1640.
12. Raine A., Yang Y. Neural foundations to moral reasoning and antisocial behavior. *Soc. Cogn. Affect. Neurosci.*, 2006, Vol. 1, pp. 203-213.
13. Takahashi A., Flanigan M.E., McEwen B.S., Russo S.J. Aggression, Social Stress, and the Immune System in Humans and Animal Models. *Front. Behav. Neurosci.*, 2018, Vol. 12, 56. doi: 10.3389/fnbeh.2018.00056.
14. Takahashi A., Aleyasin H., Stavarache M.A., Li L., Cathomas F., Parise L.F., Lin H.-Y., Burnett C.J., Aubry A., Flanigan M.E., Brancato A., Menard C., Pfau M.L., Kana V., Wang J., Hodes G.E., Sasaki T., Kaplitt M.G., Ogawa S., McEwen B.S., Russo S.J. Neuromodulatory effect of interleukin 1 β in the dorsal raphe nucleus on individual differences in aggression. *Mol. Psychiatry*, 2022, Vol. 27, pp. 2563-2579.
15. Tordjman S. Aggressive behavior: A language to be understood. *Encephale*, 2022, Vol. 48, no. 1, pp. S4-S13.

Авторы:

Серенко Е.В. — младший научный сотрудник лаборатории нейробиологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и фундаментальной иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Гольдина И.А. — научный сотрудник лаборатории нейробиологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и фундаментальной иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Маркова Е.В. — д.м.н., главный научный сотрудник и руководитель лаборатории нейробиологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и фундаментальной иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Authors:

Serenko E.V., Junior Research Associate, Neuroimmunology Laboratory, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Goldina I.A., Research Associate, Neuroimmunology Laboratory, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Markova E.V., PhD, MD (Medicine), Chief Research Associate and Head of Neuroimmunology Laboratory, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 29.03.2024

Отправлена на доработку 06.04.2024

Принята к печати 18.04.2024

Received 29.03.2024

Revision received 06.04.2024

Accepted 18.04.2024

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СЕЛЕЗЕНКИ КРЫС, ИММУНИЗИРОВАННЫХ S-БЕЛКОМ SARS-CoV-2

Фомина К.В.^{1,2}, Храмова Т.В.^{1,2}, Терентьев А.С.^{1,2},
Терентьева О.С.¹

¹ ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет», г. Ижевск, Россия

² ФГБУН «Удмуртский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Ижевск, Россия

Резюме. При инфекции, вызванной SARS-CoV-2, атаке могут подвергаться различные органы. Причиной является широкая распространенность в организме ангиотензинпревращающего фермента 2 (АПФ2), служащего рецептором SARS-CoV-2. Однако поражение тканей при инфекции может быть не только результатом их инфицирования вирусом. Показано, что SARS-CoV-2 индуцирует продукцию аутоантител к АПФ2, и их присутствие ассоциировано с тяжелым течением болезни. Селезенка является одной из мишеней при COVID-19. Присутствие АПФ2 на эндотелии синусов красной пульпы селезенки и на резидентных макрофагах CD169⁺ маргинальных зон селезенки делает эти клетки потенциальной мишенью аутоиммунных реакций к АПФ2, запускаемых SARS-CoV-2. Кроме того, антитела к S белку SARS-CoV-2 перекрестно реагируют с широким спектром белков тканей человека и могут вызывать их повреждение. Наиболее распространенными патологиями селезенки у людей, умерших от COVID-19, являются истощение лимфоцитов и следующий за этим гемафагоцитоз. Так как селезенка играет фундаментальную роль в регуляции иммунного ответа, то ее поражение при COVID-19 может быть одной из причин иммунных нарушений, связанных с тяжелым течением болезни. Для проверки гипотезы аутоиммунной природы COVID-19 нами была разработана неинфекционная экспериментальная модель аутоиммунного полиорганного поражения, вызванного иммунизацией S-белком SARS-CoV-2. Целью данной работы было изучить состояние селезенки у крыс с индуцированным полиорганном поражением, вызванным иммунизацией S-белком SARS-CoV-2, а также влияние предсуществующего аутоиммунного заболевания на тяжесть повреждений селезенки, вызываемых иммунным ответом против S-белка. Интактных крыс Wistar и крыс Wistar с завершённым экспериментальным аутоиммунным энцефаломиелитом иммунизировали S-белком в составе неполного адьюванта Фрейнда (НАФ). Контрольные крысы получили инъекцию НАФ. У крыс, иммунизированных S-белком SARS-CoV-2, не выявлено изменения количества вторичных фолликулов в селезенке. Однако в селезенке крыс с ранее индуцированным аутоиммунным энцефаломиелитом, иммунизация S-белком SARS-CoV-2 вызвала значимое снижение количества вторичных фолликулов относительно контрольной группы. В обеих группах, иммунизированных S-белком, выявлены от-

Адрес для переписки:

Фомина Ксения Владимировна
ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный
университет»
426034, Россия, г. Ижевск, ул. Университетская, 1.
Тел./факс: 8 (3412) 91-64-26.
E-mail: fomiksa@yandex.ru

Address for correspondence:

Kseniya V. Fomina
Udmurt State University
1 Universitetskaya St
Izhevsk
426034 Russian Federation
Phone/fax: +7 (3412) 91-64-26.
E-mail: fomiksa@yandex.ru

Образец цитирования:

К.В. Фомина, Т.В. Храмова, А.С. Терентьев,
О.С. Терентьева «Гистологический анализ селезенки
крыс, иммунизированных S-белком SARS-CoV-2»
// Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27,
№ 3. С. 463-470.
doi: 10.46235/1028-7221-16599-HAO

© Фомина К.В. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

K.V. Fomina, T.V. Khramova, A.S. Terentiev, O.S. Terentieva
“Histological analysis of the spleen of rats immunized with
SARS-CoV-2 S protein”, Russian Journal of Immunology/
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3,
pp. 463-470.
doi: 10.46235/1028-7221-16599-HAO

© Fomina K.V. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16599-HAO

ложение гемосидерина и гиперплазия макрофагов маргинальных зон белой пульпы. Таким образом, иммунизация S-белком SARS-CoV-2 вызывает в селезенке крыс изменения похожие на те, что выявляются у больных умерших от COVID-19. Повреждения селезенки более разнообразны и выражены у крыс с предшествующим экспериментальным энцефаломиелитом.

Ключевые слова: S белок SARS-CoV-2, ангиотензинпревращающий фермент 2, селезенка, зародышевые центры, гемосидерин, гиперплазия макрофагов селезенки

HISTOLOGICAL ANALYSIS OF THE SPLEEN OF RATS IMMUNIZED WITH SARS-CoV-2 S PROTEIN

Fomina K.V.^{a, b}, Khramova T.V.^{a, b}, Terentiev A.S.^{a, b}, Terentieva O.S.^a

^a Udmurt State University, Izhevsk, Russian Federation

^b Udmurt Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Izhevsk, Russian Federation

Abstract. SARS-CoV-2 infection can lead to pathological disorders in various organs due to the ubiquitous of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), which serves as a receptor for SARS-CoV-2. However, tissue damage may not only be the result of viral infection. SARS-CoV-2 has been shown to induce the production of autoantibodies to ACE2, and their presence is associated with disease severity. The spleen is one of the targets for COVID-19. The presence of ACE2 in the red pulp sinus endothelium cells of the spleen and in tissue-resident CD169⁺ macrophages positioned in the splenic marginal zone makes these cells a potential target of autoimmune reactions to ACE2 triggered by SARS-CoV-2. In addition, antibodies to the SARS-CoV-2 S protein cross-react with a wide range of human tissue proteins and can cause tissue damage. The most common splenic pathologies in deceased COVID-19 patients are lymphocyte depletion and subsequent hemophagocytosis. Since the spleen plays a fundamental role in the immune response regulation, splenic damage could be one of the causes of immune perturbations associated with severe COVID-19. To test the hypothesis of the autoimmune nature of COVID-19, we developed a non-infectious experimental model of autoimmune multiorgan damage caused by immunization with SARS-CoV-2 S protein. The purpose of this work was to study the spleen in rats with induced multiorgan damage caused by immunization with SARS-CoV-2 S protein, as well as the influence of pre-existing autoimmune disease on the severity of splenic damage caused by an immune response against S protein. Intact Wistar rats and Wistar rats with completed experimental autoimmune encephalomyelitis were immunized with S protein in incomplete Freund's adjuvant (IFA). Control rats received an injection of IFA. No changes were detected in the secondary follicles number in the spleen of rats immunized with the SARS-CoV-2 S protein. However, in the spleen of rats with previously induced autoimmune encephalomyelitis, immunization with SARS-CoV-2 S protein caused a significant decrease in the number of secondary follicles relative to the control group. Hemosiderin deposits and macrophage hyperplasia of the marginal zones of the white pulp were detected in both groups immunized with S protein. Thus, immunization with the S protein of SARS-CoV-2 causes changes in the spleen of rats similar to those detected in patients who died from COVID-19. Damage to the spleen is more varied and pronounced in rats with previous experimental encephalomyelitis.

Keywords: SARS-CoV-2 S protein, angiotensin-converting enzyme 2, spleen, germinal centers, hemosiderin, splenic macrophage hyperplasia

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (FEWS-2024-0002).

Введение

Инфекция, вызванная SARS-CoV-2, поражает преимущественно дыхательную систему. В то же время у больных COVID-19 людей описано

поражение нереспираторных органов [7], в том числе манифестирующие клинически. Характер и механизмы повреждений тканей и органов при COVID-19 до конца не ясны.

Селезенка является одной из мишеней при COVID-19. В селезенке обнаружена экспрессия ангиотензинпревращающего фермента 2 (АПФ2) – рецептора, через который SARS-CoV-2 проникает в клетки. АПФ2 найден на эндотелии

синусов красной пульпы селезенки [6] и на резидентных макрофагах CD169⁺ маргинальных зон селезенки [5]. В ряде исследований был показан тропизм коронавирусов к селезенке. Было продемонстрировано присутствие вирусных белков в селезенке (например, белка нуклеокапсида) [5].

Наиболее распространенными патологиями селезенки у людей, умерших от COVID-19, являются истощение лимфоцитов и следующий за этим гемафагоцитоз [7]. Так как селезенка играет фундаментальную роль в регуляции иммунного ответа, то ее поражение при COVID-19 может быть одной из причин иммунных нарушений, связанных с тяжелым течением болезни [9].

Причины поражения селезенки при COVID-19 до конца не ясны, предполагается, что они обусловлены несколькими механизмами, включая прямую атаку вируса, цитокин-опосредованный иммунный патогенез, микрососудистую дисфункцию и апоптоз лимфоцитов [10]. Нельзя исключить, что причина поражения селезенки при коронавирусной инфекции имеет аутоиммунную природу. Получены убедительные данные, что в патогенез COVID-19 вовлечены аутоиммунные механизмы [11]. У больных найден синдром Гийена–Барре, тромбоцитопеническая пурпура, аутоиммунная гемолитическая анемия, системная красная волчанка [11]. Развитие аутоиммунных проявлений объясняют в основном молекулярной мимикрией между белками вируса и белками организма [11], но предложены и альтернативные механизмы. Так, McMillan и соавт. предложили теорию, согласно которой SARS-CoV-2 индуцирует аутоиммунную реакцию против рецептора АПФ2 [12]. Аутоантитела против АПФ2 могут появляться при инфекции SARS-CoV-2 как антиидиотипические к антителам против S-белка SARS-CoV-2 [1]. Присутствие АПФ2 на эндотелии синусов красной пульпы селезенки и на резидентных макрофагах CD169⁺ маргинальных зон селезенки делает эти клетки потенциальной мишенью аутоиммунных реакций к АПФ2, запускаемых SARS-CoV-2.

Для проверки гипотезы аутоиммунной природы COVID-19 нами была разработана неинфекционная экспериментальная модель аутоиммунного полиорганного поражения, вызванного иммунизацией S-белком SARS-CoV-2.

Целью данной работы было изучить состояние селезенки у крыс с индуцированным полиорганном поражением, вызванным иммунизацией S-белком SARS-CoV-2, а также влияние предсуществующего аутоиммунного заболевания на тяжесть повреждений селезенки, вызываемых иммунным ответом против S-белка.

Материалы и методы

Крысы Wistar (Питомник лабораторных животных «Рапполово», Россия) были разделены на 3 группы. Первая группа – интактные крысы (n = 6), была иммунизирована S-белком SARS-CoV-2 (AcroBiosystems, США) (20 мкг/крысу) в неполном адьюванте Фрейнда (НАФ) (InvivoGen, США), вторая группа – крысы с завершенным экспериментальным аутоиммунным энцефаломиелитом (ЭАЭ) (n = 4), также была иммунизирована S-белком SARS-CoV-2 в НАФ. ЭАЭ у этих животных вызывали за 6 недель до иммунизации S-белком SARS-CoV-2. Для этого крысам внутрикожно вводили основной белок миелина крысы (100 мкг/крысу) в модифицированном полном адьюванте Фрейнда (200 мкг *Mycobacterium Butyricum*/крысу). У всех крыс наблюдались клинические проявления ЭАЭ в виде параличей одной или двух конечностей. Третья группа – контрольные крысы (n = 4), получила инъекцию НАФ.

Через 10 недель после иммунизации S-белком SARS-CoV-2 или инъекции НАФ крыс подвергали эвтаназии, извлекали селезенку, готовили парафиновые срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином. На поперечных срезах селезенки подсчитывали количество вторичных фолликулов (фолликулы с зародышевыми центрами), оценивали наличие или отсутствие гиперплазии макрофагов маргинальных зон селезенки, которую выражали «+/-», проводили оценку отложений гемосидерина, которую выражали в баллах – 0 – единичные включения; 1 – редкие диффузные отложения; 2 – диффузное и очаговое распределение пигмента; 3 – многочисленные диффузные отложения и очаговые скопления пигмента. Статистический анализ проводили с помощью GraphPad Prism 8.4.3. Достоверность различий оценивали с помощью критерия ANOVA, тест Краскела–Уоллиса. Отличия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

У крыс, иммунизированных S-белком, выявлена альвеолярная гиперплазия, лимфоцитарная инфильтрация легких и повреждение щеточной каймы проксимальных канальцев почек, свидетельствующее о развитии аутоиммунного поражения органов. Результаты гистологического анализа селезенки крыс трех исследуемых групп представлены в таблице 1.

У крыс, иммунизированных S-белком SARS-CoV-2, не выявлено изменения количества вторичных фолликулов в селезенке. Однако у крыс с ранее индуцированным ЭАЭ, иммунизация S-белком SARS-CoV-2 вызвала значимое сни-

ТАБЛИЦА 1. ИЗМЕНЕНИЯ В СЕЛЕЗЕНКЕ КРЫС, ИММУНИЗИРОВАННЫХ S-БЕЛКОМ SARS-CoV-2

TABLE 1. CHANGES IN THE SPLEEN OF RATS IMMUNIZED WITH SARS-CoV-2 S PROTEIN

Интактные крысы, иммунизированные S-белком в НАФ Intact rats immunized with S protein/IFA			
	Селезенка Spleen		
	Зародышевые центры Germinal centers	Гемосидерин, баллы Hemosiderin	Гиперплазия макрофагов МЗ Hyperplasia of macrophages of the MZ
1	2,17	2	–
2	6,83	0	+
3	4,50	1	–
4	5,67	1	–
5	10,67	0	+
6	7,67	0	+
M±SD	6,25±2,90	0,67±0,82	
Крысы с ЭАЭ, иммунизированные S белком в НАФ EAE rats immunized with S protein/IFA			
7	5,50	2	+
8	1,80	1	+
9	3,33	2	–
10	1,17	3	+
M±SD	2,95±1,93* p = 0,045	2,00±0,82* p = 0,0094	
Контрольная группа (инъекция НАФ) Control group (IFA injection)			
11	7,83	0	–
12	7,33	0	–
13	8,17	0	–
14	5,33	0	–
M±SD	7,17±1,27	0	

Примечание. Пигмент гемосидерин: 0 – единичные включения; 1 – редкие диффузные отложения; 2 – диффузное и очаговое распределение; 3 – многочисленные диффузные отложения и очаговые скопления пигмента. Гиперплазия макрофагов МЗ: наличие/отсутствие – «+/-». МЗ – маргинальная зона; НАФ – неполный адъювант Фрейнда; ОБМ – основной белок миелина; М – среднее; SD – стандартное отклонение; * – достоверно относительно контрольной группы, ANOVA, тест Краскела–Уоллиса.

Note. Pigment hemosiderin: 0, single inclusions; 1, rare diffuse deposits; 2, diffuse and focal distribution; 3, numerous diffuse deposits and focal accumulations of pigment. Hyperplasia of macrophages of the MZ: presence/absence – «+/-». MZ, marginal zone; IFA, Incomplete Freund's adjuvant; MBP, myelin basic protein; M, mean; SD, standard deviation; *, statistically significant, relative to the control group, ANOVA, Kruskal-Wallis test.

жение количества вторичных фолликулов в селезенке относительно контрольной группы, получившей НАФ (табл. 1, рис. 1Б). В нескольких посмертных исследованиях лимфоидных органов пациентов, умерших от COVID-19, было описано отсутствие зародышевых центров в лимфоузлах и селезенках [3, 8]. В редких случаях, когда зародышевые центры лимфоузлов удавалось обнаружить, они имели небольшой размер и были гипопластическими [3].

В селезенке крыс с ранее индуцированным ЭАЭ, иммунизация S-белком вызвала также обширные отложения гемосидерина и макрофаги, нагруженные гемосидерином (табл. 1, рис. 1В, Г). Избыточное количество гемосидерина в селезенке наблюдается при снижении эритропоэза (меньшая потребность в железе) или при быстром разрушении эритроцитов при гемолитических анемиях (увеличение запасов железа), например, вызванных иммуноопосредованными гемолитическими анемиями [2]. Отложения ге-

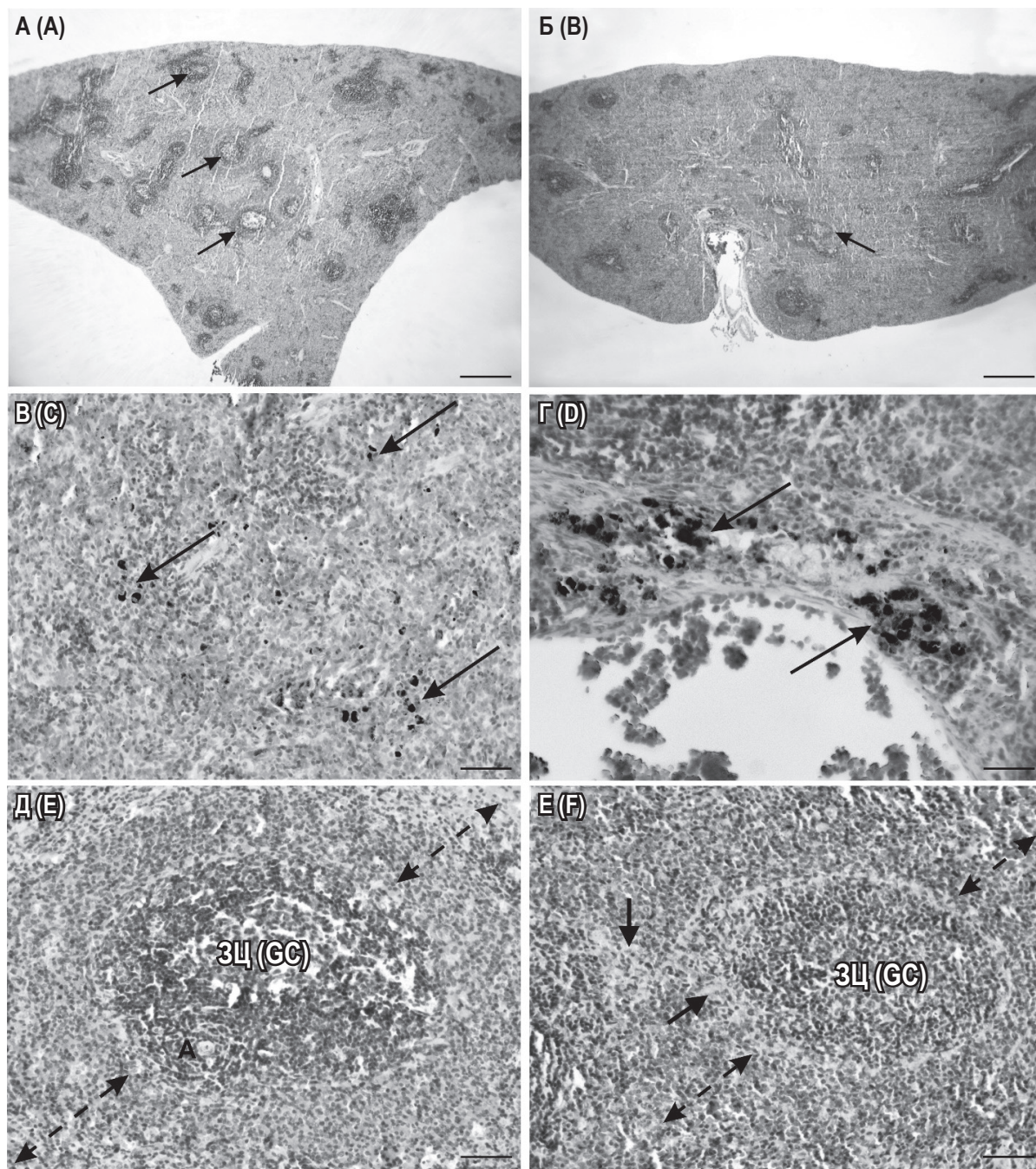


Рисунок 1. Поперечные срезы селезенки крыс

Примечание. А – контрольная крыса (вторичные фолликулы выделены стрелками). Б – крыса, иммунизированная S-белком SARS-CoV-2 после предварительной индукции ЭАЭ. В – участок красной пульпы крыс с диффузным распределением гемосидерина (стрелки). Г – очаговое распределение гемосидерина (стрелки). Д – участок белой пульпы контрольной крысы, гиперплазии макрофагов в маргинальной зоне не выявлено. Е – участок белой пульпы крысы, иммунизированной S-белком SARS-CoV-2, отмечена гиперплазия макрофагов в маргинальной зоне (стрелки). Пунктирными стрелками отмечены маргинальные зоны. ЗЦ – зародышевый центр. Длина масштабной линии А, Б – 555 мкм. В, Г, Д, Е – 45 мкм. Окраска гематоксилин, эозин.

Figure 1. Cross sections of the rat spleen

Note. A, a control rat (secondary follicles are indicated by arrows). B, a rat immunized with SARS-CoV-2 S protein after preliminary induction of EAE. C, an area of the red pulp of rats with a diffuse distribution of hemosiderin (arrows). D, focal hemosiderin deposits (arrows). E, an area of the white pulp of a control rat; no hyperplasia of macrophages was detected in the marginal zone; F – an area of the white pulp of a rat immunized with SARS-CoV-2 S protein, with macrophage hyperplasia in the marginal zone (arrows). Dotted arrows indicate marginal zones. GC – germinal center. Scale bar in A, B – 555 μ m; in C, D, E, F – 45 μ m. Hematoxylin-eosin staining.

мосидерина в тканях являются также следствием геморрагий, ассоциированных с острым воспалением. Prilutskiy и соавт. задокументировали случай пациента, умершего от COVID-19, у которого наряду с истощением белой пульпы наблюдался гемофагоцитоз – в селезенке пациента были выявлены многочисленные макрофаги, нагруженные гемосидерином, что указывает на предшествующий фагоцитоз эритроцитов [13].

В обеих группах, иммунизированных S-белком, выявлена гиперплазия макрофагов, расположенных на внутреннем крае маргинальных зон белой пульпы, прилегающих к периартериолярной лимфоидной муфте и фолликулам (табл. 1, рис. 1Е). Эта субпопуляция макрофагов селезенки известна как маргинальные металлофильные макрофаги, они экспрессируют CD169 и, как известно, несут рецептор АПФ2 [5].

Заключение

Таким образом, изменения в селезенке крыс, иммунизированных S-белком SARS-CoV-2, похожи на те, что выявляются у больных COVID-19. Наиболее ярко эти изменения проявились у крыс, имевших аутоиммунное заболевание (аутоиммунный энцефаломиелит) до иммунизации S-белком. Результаты исследований последних лет показывают, что у пациентов с рассеянным склерозом не обнаружен повышенный риск заражения COVID-19 [4], а риск тяжелых исходов от

COVID-19 аналогичен тому, который наблюдается у населения в целом [15]. Тем не менее связь между рассеянным склерозом и COVID-19 описана. Показано, что SARS-CoV-2 может увеличить частоту рецидивов у пациентов с рассеянным склерозом [16], а вакцинация против COVID-19 может индуцировать рассеянный склероз посредством перекрестно-реактивных CD4⁺T-клеток, распознающих S-белок SARS-CoV-2 и пептиды миеллина [14]. Мы не нашли описаний изменения селезенки у больных рассеянным склерозом после перенесенной коронавирусной инфекции, а также в моделях на животных. Наше исследование демонстрирует развитие изменений в селезенке, ассоциированных с иммунным ответом против S-белка SARS-CoV-2, и усугубление изменений селезенки предшествующим экспериментальным энцефаломиелитом.

Механизм развития выявленных в селезенке изменений в настоящий момент до конца не ясен. Однако изменения в селезенке в ответ на иммунизацию S-белком в отсутствие вируса указывает на их аутоиммунную природу. Полученные результаты позволяют ожидать, что разработанная нами новая неинфекционная экспериментальная модель повреждения органов, вызванного иммунизацией S-белком SARS-CoV-2, является многообещающим инструментом для исследования механизмов мультиорганный поражения, вызываемого SARS-CoV-2.

Список литературы / References

1. Arthur J.M., Forrest J.C., Boehme K.W., Kennedy J.L., Owens S., Herzog C., Liu J., Harville T.O. Development of ACE2 autoantibodies after SARS-CoV-2 infection. *PLoS One*, 2021, Vol. 16, no. 9, e0257016. doi: 10.1371/journal.pone.0257016.
2. Boes K.M., Durham A.C. Bone Marrow, Blood Cells, and the Lymphoid/Lymphatic System. In: Pathologic Basis of Veterinary Disease (Sixth Edition), Chapter 13 – Bone Marrow, Blood Cells, and the Lymphoid/Lymphatic System. Ed. J. F. Zachary, Mosby, 2017, pp. 724-804.e2.
3. Bryce C., Grimes Z., Pujadas E., Ahuja S., Beasley M.B., Albrecht R., Hernandez T., Stock A., Zhao Z., AlRasheed M.R., Chen J., Li L., Wang D., Corben A., Haines G.K. 3rd, Westra W.H., Umphlett M., Gordon R.E., Reidy J., Petersen B., Salem F., Fiel M.I., El Jamal S.M., Tsankova N.M., Houldsworth J., Mussa Z., Veremis B., Sordillo E., Gitman M.R., Nowak M., Brody R., Harpaz N., Merad M., Gnjatic S., Liu W.C., Schotsaert M., Miorin L., Aydilto Gomez T.A., Ramos-Lopez I., Garcia-Sastre A., Donnelly R., Seigler P., Keys C., Cameron J., Moultrie I., Washington K.L., Treatman J., Sebra R., Jhang J., Firpo A., Lednický J., Paniz-Mondolfi A., Cordon-Cardo C., Fowkes M.E. Pathophysiology of SARS-CoV-2: the Mount Sinai COVID-19 autopsy experience. *Mod. Pathol.*, 2021, Vol. 34, no. 8, pp. 1456-1467.
4. Fan M., Qiu W., Bu B., Xu Y., Yang H., Huang D., Lau A.Y., Guo J., Zhang M.N., Zhang X., Yang C.S., Chen J., Zheng P., Liu Q., Zhang C., Shi F.D. Risk of COVID-19 infection in MS and neuromyelitis optica spectrum disorders. *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm.*, 2020, Vol. 7, no. 5, e787. doi: 10.1212/NXI.0000000000000787.
5. Feng Z., Diao B., Wang R., Wang G., Wang C., Tan Y., Liu L., Wang C., Liu Y., Liu Y., Yuan Z., Ren L., Wu Y., Chen Y. The novel severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) directly decimates human spleens and lymph nodes. *MedRxiv*, 2020. doi: 10.1101/2020.03.27.20045427.
6. Hamming I., Timens W., Bulthuis M.L., Lely A.T., Navis G., van Goor H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J. Pathol.*, 2004, Vol. 203, no. 2, pp. 631-637.
7. Hammoud H., Bendari A., Bendari T., Bougmiza I. Histopathological Findings in COVID-19 Cases: A Systematic Review. *Cureus*, 2022, Vol. 14, no. 6, e25573. doi: 10.7759/cureus.25573.

8. Kaneko N., Kuo H.H., Boucau J., Farmer J.R., Allard-Chamard H., Mahajan V.S., Piechocka-Trocha A., Lefteri K., Osborn M., Bals J., Bartsch Y.C., Bonheur N., Caradonna T.M., Chevalier J., Chowdhury F., Diefenbach T.J., Einkauf K., Fallon J., Feldman J., Finn K.K., Garcia-Broncano P., Hartana C.A., Hauser B.M., Jiang C., Kaplonek P., Karpell M., Koscher E.C., Lian X., Liu H., Liu J., Ly N.L., Michell A.R., Rassadkina Y., Seiger K., Sessa L., Shin S., Singh N., Sun W., Sun X., Ticheli H.J., Waring M.T., Zhu A.L., Alter G., Li J.Z., Lingwood D., Schmidt A.G., Lichterfeld M., Walker B.D., Yu X.G., Padera R.F. Jr, Pillai S. Massachusetts Consortium on Pathogen Readiness Specimen Working Group. Loss of Bcl-6-expressing T follicular helper cells and germinal centers in COVID-19. *Cell*, 2020, Vol. 183, no. 1, pp. 143-157.e13.
9. Kuri-Cervantes L., Pampena M.B., Meng W., Rosenfeld A.M., Ittner C.A.G., Weisman A.R., Agyekum R.S., Mathew D., Baxter A.E., Vella L.A., Kuthuru O., Apostolidis S.A., Bershaw L., Dougherty J., Greenplate A.R., Pattekar A., Kim J., Han N., Gouma S., Weirick M.E., Arevalo C.P., Bolton M.J., Goodwin E.C., Anderson E.M., Hensley S.E., Jones T.K., Mangalmurti N.S., Luning Prak E.T., Wherry E.J., Meyer N.J., Betts M.R. Comprehensive mapping of immune perturbations associated with severe COVID-19. *Sci. Immunol.*, 2020, Vol. 5, no. 49, eabd7114. doi: 10.1126/sciimmunol.abd7114.
10. Li H., Liu L., Zhang D., Xu J., Dai H., Tang N., Su X., Cao B. SARS-CoV-2 and viral sepsis: observations and hypotheses. *Lancet*, 2020, Vol. 395, no. 10235, pp. 1517-1520.
11. Liu Y., Sawalha A.H., Lu Q. COVID-19 and autoimmune diseases. *Curr. Opin. Rheumatol.*, 2021, Vol. 33, no. 2, pp. 155-162.
12. McMillan P., Uhal B.D. COVID-19 – A theory of autoimmunity to ACE-2. *MOJ Immunol.*, 2020, Vol. 7, no. 1, pp. 17-19.
13. Prilutskiy A., Kritselis M., Shevtsov A., Yambayev I., Vadlamudi C., Zhao Q., Kataria Y., Sarosiek S.R., Lerner A., Sloan J.M., Quillen K., Burks E.J. SARS-CoV-2 Infection-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis: an autopsy series with clinical and laboratory correlation. *Am. J. Clin. Pathol.*, 2020, Vol. 154, no. 4, pp. 466-474.
14. Qiu Y., Batruch M., Naghavian R., Jelcic I., Vlad B., Hilty M., Ineichen B., Wang J., Sospedra M., Martin R. Covid-19 vaccination can induce multiple sclerosis via cross-reactive CD4⁺ T cells recognizing SARS-CoV-2 spike protein and myelin peptides. *Mult. Scler.*, 2022, Vol. 28, no. 3S, 776.
15. Salter A., Halper J., Bebo B., Kanellis P., Costello K., Cutter G., Newsome S., Li D., Fox R., Rammohan K., Cross A. COViMS Registry: Clinical characterization of SARS-CoV-2 infected multiple sclerosis patients in North America. *Mult. Scler.*, 2020, Vol. 26, no. 3S, 97, LB1242: MSVirtual 2020 – 8th Joint ACTRIMS-ECTRIMS Meeting, September 11-13, 2020.
16. Topolski M., Soti V. Effects of COVID-19 on multiple sclerosis relapse: a comprehensive review. *Int. J. Med. Stud.*, 2022, Vol. 10, no. 2, pp. 192-201.

Авторы:

Фомина К.В. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной иммунологии ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет»; старший научный сотрудник лаборатории биосовместимых материалов ФГБУН «Удмуртский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Ижевск, Россия

Храмова Т.В. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной иммунологии ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет»; научный сотрудник лаборатории биосовместимых материалов ФГБУН «Удмуртский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Ижевск, Россия

Authors:

Fomina K.V., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Molecular and Cell Immunology, Udmurt State University; Senior Research Associate, Laboratory of Biocompatible Materials, Udmurt Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Izhevsk, Russian Federation

Khramova T.V., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Molecular and Cell Immunology, Udmurt State University; Research Associate, Laboratory of Biocompatible Materials, Udmurt Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Izhevsk, Russian Federation

Терентьев А.С. — старший научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной иммунологии ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет»; научный сотрудник лаборатории биосовместимых материалов ФГБУН «Удмуртский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Ижевск, Россия.

Terentiev A.S., Senior Research Associate, Laboratory of Molecular and Cell Immunology, Udmurt State University; Research Associate, Laboratory of Biocompatible Materials, Udmurt Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Izhevsk, Russian Federation

Терентьева О.С. — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной иммунологии ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет», г. Ижевск, Россия

Terentieva O.S., Junior Research Associate, Laboratory of Molecular and Cell Immunology, Udmurt State University, Izhevsk, Russian Federation

Поступила 26.03.2024
Принята к печати 30.03.2024

Received 26.03.2024
Accepted 30.03.2024

ВЛИЯНИЕ ИММУННОГО ОТВЕТА К S БЕЛКУ SARS-CoV-2 НА УРОВЕНЬ АНГИОТЕНЗИНА II У КРЫС

**Храмова Т.В.^{1,2}, Сидоров А.Ю.^{1,2}, Бедулева Л.В.^{1,2},
Меньшиков И.В.^{1,2}, Шкляева Н.П.¹**

¹ ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет», г. Ижевск, Россия

² ФГБУН «Удмуртский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Ижевск, Россия

Резюме. У некоторых больных, инфицированных SARS-CoV-2, обнаруживаются аутоантитела против ключевых молекул ренин-ангиотензиновой системы (РАС). К таким антителам относятся, например, антитела против ангиотензина II и ангиотензинпревращающего фермента 2 (АПФ2). Наличие антител к компонентам РАС ассоциировано с эпизодами гипотонии или гипертензии. Целью работы было изучить влияние антител к S белку SARS-CoV-2 и аутоантител к АПФ2 на уровень ангиотензина II в модели индуцированного полиорганным поражением, вызванного у крыс иммунизацией S белком SARS-CoV-2, а также влияние предсуществующего аутоиммунного энцефаломиелиита на вызываемые иммунизацией S белком изменения уровня ангиотензина II. Крыс Wistar иммунизировали S белком SARS-CoV-2 в составе неполного адьюванта Фрейнда (НАФ). 6 из них были интактными на момент введения S белка (группа S), у 4 предварительно был вызван экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит иммунизацией основным белком миелина морской свинки (группа ЭАЭ + S). Контрольной группе крыс вводили НАФ. В плазме крови исследуемых крыс определяли антитела к S белку, антитела к АПФ2, уровень ангиотензина II методом иммуноферментного анализа. Было обнаружено, что иммунизация S белком приводит к транзиторному снижению уровня ангиотензина II в крови. На 6 неделе после иммунизации в группе S уровень ангиотензина II в крови ниже нормы у 3 из 6 крыс (50%), в группе ЭАЭ + S у 3 из 4 (75%). В группе ЭАЭ + S снижение уровня ангиотензина II достоверно относительно контрольной группы (ANOVA, $p = 0,0423$). Более глубокое снижение уровня ангиотензина II в крови у крыс группы ЭАЭ + S, чем у крыс группы S, ассоциировано с более высоким уровнем антител к S белку: уровень антител к S белку был достоверно выше в группе ЭАЭ + S в течение 1-6 недель после иммунизации S белком, чем у крыс группы S. Иммунизация крыс S белком не вызвала продукцию анти-АПФ2 аутоантител в группе ЭАЭ + S, а в группе S была слабой и не сопровождалась повышением уровня ангиотензина II. Таким образом, у крыс, иммунизированных

Адрес для переписки:

Храмова Татьяна Владимировна
ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный
университет»
426034, Россия, г. Ижевск, ул. Университетская, 1.
Тел.: 8 (3412) 91-73-73.
Факс: 8 (3412) 91-64-26.
E-mail: khratat@mail.ru

Address for correspondence:

Tatyana V. Khratova
Udmurt State University
1 Universitetskaya St
Izhevsk
426034 Russian Federation
Phone: +7 (3412) 91-73-73.
Fax: +7 (3412) 91-64-26.
E-mail: khratat@mail.ru

Образец цитирования:

Т.В. Храмова, А.Ю. Сидоров, Л.В. Бедулева,
И.В. Меньшиков, Н.П. Шкляева «Влияние иммунного
ответа к S белку SARS-CoV-2 на уровень ангиотензина
II у крыс» // Российский иммунологический журнал,
2024. Т. 27, № 3. С. 471-476.
doi: 10.46235/1028-7221-16584-TEO

© Храмова Т.В. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

T.V. Khratova, A.Yu. Sidorov, L.V. Beduleva,
I.V. Menshikov, N.P. Shklyayeva "The effect of the immune
response to SARS-CoV-2 S protein on angiotensin II levels
in rats", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 471-476.
doi: 10.46235/1028-7221-16584-TEO

© Khratova T.V. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16584-TEO

ных S белком выявлено транзиторное снижение уровня ангиотензина II на пике продукции антител к S белку, что может указывать на то, что антитела к S белку могут вносить вклад в снижение уровня ангиотензина II при SARS-CoV-2 инфекции. Кроме того, предсуществующее аутоиммунное заболевание приводит к более сильному ответу на S белок, сопровождающемуся более сильным снижением уровня ангиотензина II.

Ключевые слова: COVID-19, S белок SARS-CoV-2, ангиотензин 2, ангиотензинпревращающий фермент 2, аутоантитела, экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит

THE EFFECT OF THE IMMUNE RESPONSE TO SARS-CoV-2 S PROTEIN ON ANGIOTENSIN II LEVELS IN RATS

Khramova T.V.^{a,b}, Sidorov A.Yu.^{a,b}, Beduleva L.V.^{a,b}, Menshikov I.V.^{a,b}, Shklyaeva N.P.^a

^a Udmurt State University, Izhevsk, Russian Federation

^b Udmurt Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Izhevsk, Russian Federation

Abstract. Autoantibodies against key molecules of the renin-angiotensin system (RAS) are found in some patients infected with SARS-CoV-2. These autoantibodies include antibodies against angiotensin II and angiotensin converting enzyme 2 (ACE2). The presence of antibodies to the RAS-related molecules is associated with episodes of hypotension or hypertension. The aim of this work was to study the effect of antibodies to SARS-CoV-2 S protein and autoantibodies to ACE2 on angiotensin II levels in a model of induced multiple organ damage caused in rats by immunization with SARS-CoV-2 S protein. The effect of pre-existing autoimmune encephalomyelitis on change in angiotensin II level caused by immunization with S protein is also was studied. Wistar rats were immunized with S protein of SARS-CoV-2 emulsified in incomplete Freund's adjuvant (IFA). At the time of injection of S protein 6 of the rats were intact (S group), in 4 of the rat experimental autoimmune encephalomyelitis was previously induced by immunization with guinea pig myelin basic protein (EAE + S group). The control group of rats was injected with IFA. Antibodies to S protein, autoantibodies to ACE2, and angiotensin II level were determined in blood plasma by enzyme linked immunosorbent assay. It was found that immunization with S protein leads to a transient decrease in the blood level of angiotensin II. The blood angiotensin II level was lower than normal in 3 out of 6 rats (50%) in group S, and in 3 out of 4 (75%) in the EAE + S group at week 6 after immunization. The decrease in angiotensin II level was significant in the EAE + S group relative to the control group (ANOVA, $p = 0.0423$). A deeper decrease in the angiotensin II level in the blood of EAE + S group than in S group was associated with a higher level of antibodies to S protein: the level of antibodies to S protein was significantly higher in the EAE + S group for 1-6 weeks after immunization with S protein compared to the S group of rats. Immunization of rats with S protein did not cause the production of anti-ACE2 autoantibodies in the EAE + S group, and in the S group it was weak and was not accompanied by an increase in angiotensin II levels. Thus, in rats immunized with S protein, a transient decrease in the level of angiotensin II was detected at the peak of production of antibodies to S protein, which may indicate that antibodies to S protein may contribute to a decrease in angiotensin II level in SARS-CoV-2 infection. In addition, pre-existing autoimmune disease leads to a stronger response to S protein, accompanied by a stronger decrease in angiotensin II level.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2 S protein, angiotensin II, angiotensin-converting enzyme 2, autoantibodies, experimental autoimmune encephalomyelitis

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (FEWS-2024-0002).

Введение

Ренин-ангиотензиновая система (РАС) является одной из систем, атакуемых при COVID-19. У некоторых COVID-19 пациентов обнаружи-

ваются аутоантитела против ключевых молекул РАС – ангиотензина II и ангиотензинпревращающего фермента 2 (АПФ2) [1, 2, 5]. Ангиотензин II – пептид, состоящий из 8 аминокислот, биологические эффекты которого включают вазоконстрикцию, воспаление, фиброз и пролиферацию клеток [8]. АПФ2 – фермент, играющий важную роль в регуляции артериального давления пу-

тем преобразования суживающего провоспалительного октапептида ангиотензина II в сосудорасширяющий противовоспалительный пептид ангиотензин-(1-7) [6]. Экспрессия АПФ2 обнаружена на мембране многих клеток, в том числе на поверхности альвеолярных эпителиальных клеток и сосудистых эндотелиальных клеток.

Аутоантитела против молекул ренин-ангиотензиновой системы вмешиваются в регуляцию кровяного давления и усиливают тяжесть COVID-19 [1, 5]. У больных, имеющих аутоантитела к ангиотензину II, наблюдались эпизоды гипотонии, потребовавшие назначения вазопрессоров, большие суточные колебания артериального давления, снижение оксигенации крови [2]. Показано, что антитела против ангиотензина II образуются как перекрестно реагирующие антитела к Spike (S) белку или RBD домену S белка SARS-CoV-2 [2]. Аутоантитела против АПФ2 также обнаружены у больных COVID-19 [1]. Они образуются в ходе инфекции как антиидиотипические к антителам против S белка SARS-CoV-2 [1]. Аутоантитела против АПФ2 снижают активность АПФ2 [1, 7], что может привести к увеличению содержания ангиотензина II и развитию гипертензии.

Целью работы было изучить влияния антител к S белку SARS-CoV-2 и аутоантител к АПФ2 на уровень ангиотензина II в модели индуцированного полиорганного поражения, вызванного у крыс иммунизацией S белком SARS-CoV-2, а также влияние предсуществующего аутоиммунного энцефаломиелимита на вызываемые иммунизацией S белком изменения уровня ангиотензина II.

Материалы и методы

10 крыс Wistar (питомник «Рапполово», Россия) иммунизировали S белком SARS-CoV-2 (ACROBiosystems, США) в неполном адьюванте Фрейнда (НАФ, InvivoGen, США) внутривенно в дозе 20 мкг на крысу. У 4 из них предварительно был вызван экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит (ЭАЭ) иммунизацией основным белком миелина (ОБМ) морской свинки в полном адьюванте Фрейнда (ПАФ, InvivoGen, США) в дозе 100 мкг на крысу. ЭАЭ проявлялся параличами одной или нескольких конечностей. На момент введения S белка симптомы энцефаломиелимита уже не обнаруживались. Остальные 6 крыс были интактными в день введения S белка. Контрольной группе крыс (n = 4) вводили НАФ. Ежедневно отбирали кровь из хвостовой вены. В плазме крови определяли антитела к S белку (при разведении в 400 раз) и антитела к АПФ2 ферменту (при разведении в 100 раз) не-

прямым твердофазным иммуноферментным анализом (ИФА). Уровень ангиотензина II в плазме определяли методом конкурентного ИФА с помощью готового коммерческого набора (Cloud-Clone Corp., США). За норму принимали уровень ангиотензина II у интактных крыс (n = 16), вычисленный как среднее \pm 2SD, он составил 350-625 пк/мл. Статистический анализ результатов проводили с помощью программы GraphPad Prism 8.4.3, различия считали значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

В группе интактных крыс, иммунизированных S белком (группа S), и в группе крыс, иммунизированных S белком после перенесенного аутоиммунного энцефаломиелимита (группа ЭАЭ + S), выявлено транзиторное снижение уровня ангиотензина II в крови. Наиболее существенные изменения уровня ангиотензина II наблюдались на 6 неделе после иммунизации S белком (рис. 1). На 6 неделе после иммунизации S белком в группе S уровень ангиотензина II в крови ниже нормы у 3 из 6 крыс (50%), в группе ЭАЭ + S у 3 из 4 (75%) (рис. 1). В группе ЭАЭ + S на 6 неделе после иммунизации S белком уровень ангиотензина II достоверно ниже, чем у контрольных крыс (рис. 1, ANOVA, $p = 0,0423$). Полученные данные о снижении уровня ангиотензина II в крови крыс, иммунизированных S белком, согласуются с данными литературы, где показано, что у больных COVID-19 наблюдается снижение уровня ангиотензина II в плазме крови по сравнению со здоровыми донорами, которое ассоциировано с необходимостью госпитализации и развитием острого респираторного дистресс-синдрома, и в целом со степенью тяжести заболевания [3, 4].

Анализ продукции антител к S белку показал, что у крыс группы ЭАЭ + S, уровень антител к S белку достоверно выше в течение 1-6 недель после иммунизации S белком, чем у крыс группы S (рис. 2А). Briquez et al. показали, что у больных COVID-19 антитела, вырабатываемые к S белку, могут перекрестно реагировать с ангиотензином II. У больных COVID-19 наличие таких антител ассоциировано с тяжелым течением заболевания, в частности с нарушением регуляции артериального давления, и снижением оксигенации крови [2]. Поэтому можно предполагать, что более глубокое снижение уровня ангиотензина II в крови у крыс группы ЭАЭ + S, чем у крыс группы S, связано с более высоким уровнем антител к S белку, часть которых могут перекрестно связываться с ангиотензином II.

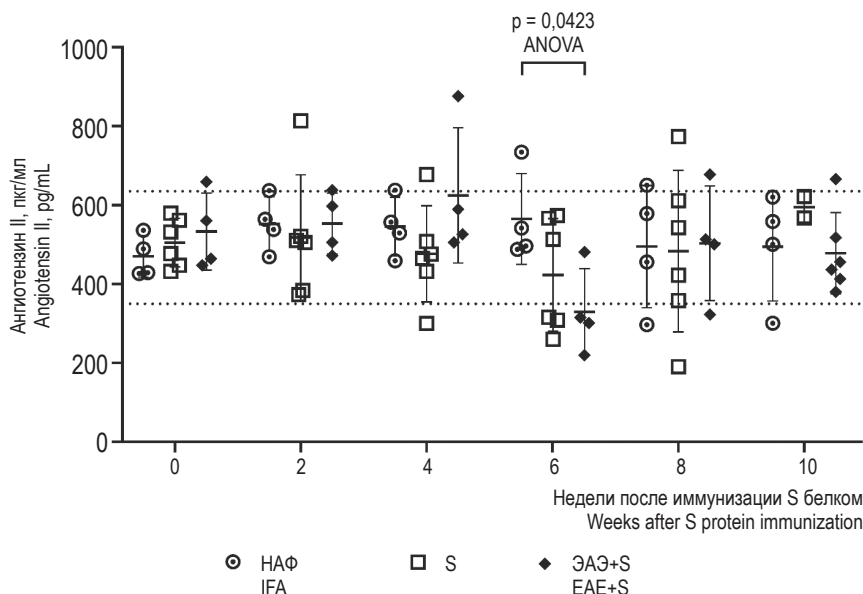


Рисунок 1. Уровень ангиотензина II в плазме крыс, иммунизированных S белком (группа S), крыс, перенесших аутоиммунный энцефаломиелит и иммунизированных S белком (группа ЭАЭ + S), и контрольных крыс, получивших инъекцию НАФ

Примечание. Пунктирными линиями обозначен диапазон нормы, вычисленный по уровню ангиотензина II у интактных крыс как среднее \pm 2SD.

Figure 1. The angiotensin II level in the plasma of rats immunized with S protein (S group), and rats that previously had an autoimmune encephalomyelitis and immunized with S protein (EAE + S group), and control rats that received an injection of IFA

Note. The dotted lines indicate the normal range calculated from the level of angiotensin II in intact rats as mean \pm 2SD.

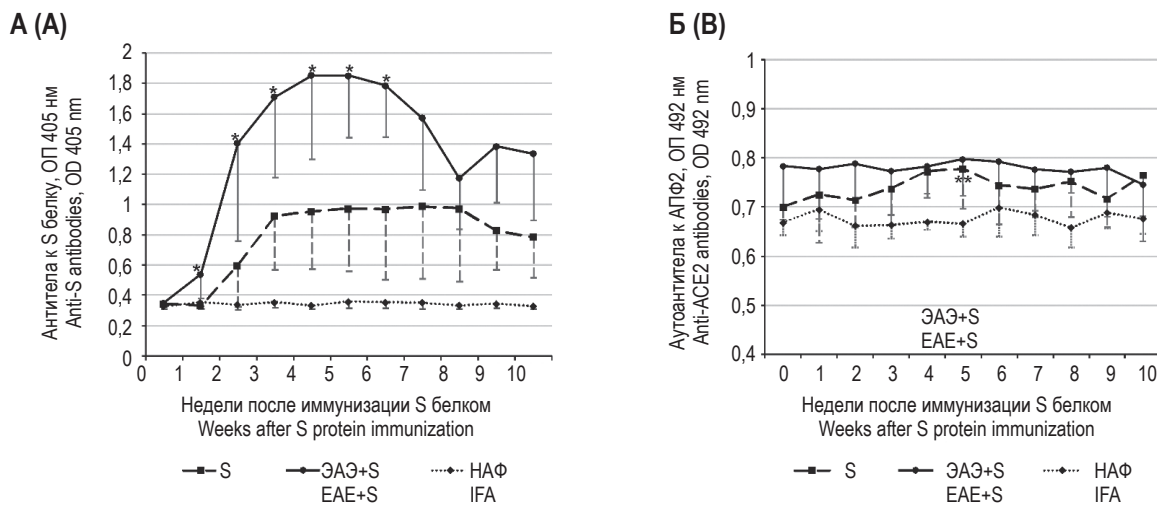


Рисунок 2. А – антитела к S белку в плазме крыс, иммунизированных S белком (группа S), крыс, перенесших аутоиммунный энцефаломиелит и иммунизированных S белком (группа ЭАЭ + S), и контрольных крыс, получивших инъекцию НАФ. Среднее \pm SD. * – достоверные отличия по отношению к группе S, $p \leq 0,05$, критерий Манна–Уитни. **Б** – аутоантитела к АПФ2 в плазме крыс, иммунизированных S белком (группа S), крыс, перенесших аутоиммунный энцефаломиелит и иммунизированных S белком (группа ЭАЭ + S), и контрольных крыс, получивших инъекцию НАФ. Среднее \pm SD. ** - достоверные отличия по отношению 0 дню, $p = 0,0308$, ANOVA, критерий Фридмана

Figure 2. A, antibodies to S protein in the plasma of rats immunized with S protein (S group), rats that previously had an autoimmune encephalomyelitis and immunized with S protein (EAE + S group), and control rats that received an injection of IFA. Mean \pm SD. *, statistically significant differences in relation to rats of S group, $p \leq 0.05$, Mann–Whitney test. B, autoantibodies to ACE2 in the plasma of rats immunized with S protein (S group), rats that previously had an autoimmune encephalomyelitis and immunized with S protein (group EAE + S), and control rats that received an injection of IFA. Mean \pm SD. **, statistically significant differences in relation to day 0, $p = 0.0308$, ANOVA, Friedman test

Исследование уровня аутоантител к АПФ2 показало, что иммунизация крыс S белком не вызвала продукцию анти-АПФ2 аутоантител в группе ЭАЭ + S (рис. 2Б, ANOVA, Friedmann test, сравнение относительно 0 дня). В группе S продукция аутоантител к АПФ2 была слабой, достоверное увеличение уровня аутоантител к АПФ2 относительно 0 дня обнаружено только на 5 неделе после иммунизации S белком ($p = 0,0308$, ANOVA, Friedmann test). Значительного увеличения уровня ангиотензина II (рис. 1), которое у больных COVID-19 связывают с аутоантителами к АПФ2 [1, 5], у крыс, иммунизированных S белком, не выявлено.

Заключение

Таким образом, у крыс, иммунизированных S белком, выявлено транзиторное снижение уровня ангиотензина II. Снижение уровня ангиотензина II наблюдалось на пике продукции антител к S белку. Данный факт вместе с данными о перекрестной реактивности антител к S белку с ангиотензином II свидетельствуют о том, что антитела к S белку могут вносить вклад в снижение ангиотензина II и связанных с этим физиологических эффектов. Предсуществующее аутоиммунное заболевание приводит к более сильному ответу на S белок, сопровождающемуся более сильным снижением уровня ангиотензина II.

Список литературы / References

1. Arthur J.M., Forrest J.C., Boehme K.W., Kennedy J.L., Owens S., Herzog C., Liu J., Harville T.O. Development of ACE2 autoantibodies after SARS-CoV-2 infection. *PLoS One*, 2021, Vol. 16, e0257016. doi: 10.1371/journal.pone.0257016.
2. Briquez P.S., Rouhani S.J., Yu J., Pyzer A.R., Trujillo J., Dugan H.L., Stamper C.T., Changrob S., Sperling A.I., Wilson P.C., Gajewski T.F., Hubbell J.A., Swartz M.A. Severe COVID-19 induces autoantibodies against angiotensin II that correlate with blood pressure dysregulation and disease severity. *Sci. Adv.*, 2022, Vol. 8, eabn3777. doi: 10.1126/sciadv.abn3777.
3. Elrayess M.A., Zedan H.T., Alattar R.A., Abusriwil H., Al-Ruweidi M.K.A.A., Almuraikhy S., Parengal J., Alhariri B., Yassine H.M., Hssain A.A., Nair A., Samawi M.A., Abdelmajid A., Suwaidi J.A., Saad M.O., Al-Maslamani M., Omrani A.S., Yalcin H.C. Soluble ACE2 and angiotensin II levels are modulated in hypertensive COVID-19 patients treated with different antihypertension drugs. *Blood Press.*, 2022, Vol. 31, pp. 80-90.
4. Ozkan S., Cakmak F., Konukoglu D., Biberoglu S., Ipekci A., Akdeniz Y.S., Bolayirli I.M., Balkan I.I., Dumanli G.Y., Ikizceli I. Efficacy of serum angiotensin II levels in prognosis of patients with coronavirus disease 2019. *Crit. Care Med.*, 2021, Vol. 49, pp. e613-e623.
5. Rodriguez-Perez A.I., Labandeira C.M., Pedrosa M.A., Valenzuela R., Suarez-Quintanilla J.A., Cortes-Ayaso M., Mayan-Conesa P., Labandeira-Garcia J.L. Autoantibodies against ACE2 and angiotensin type-1 receptors increase severity of COVID-19. *J. Autoimmun.*, 2021, Vol. 122, 102683. doi: 10.1016/j.jaut.2021.102683.
6. Simoes e Silva A.C., Silveira K.D., Ferreira A.J., Teixeira M.M. ACE2, angiotensin-(1-7) and Mas receptor axis in inflammation and fibrosis. *Br. J. Pharmacol.*, 2013, Vol. 169, pp. 477-492.
7. Takahashi Y., Haga S., Ishizaka Y., Mimori A. Autoantibodies to angiotensin-converting enzyme 2 in patients with connective tissue diseases. *Arthritis. Res. Ther.*, 2010, Vol. 12, R85. doi: 10.1186/ar3012.
8. Vargas Vargas R.A., Varela Millan J.M., Fajardo Bonilla E. Renin-angiotensin system: Basic and clinical aspects-A general perspective. *Endocrinol. Diabetes Nutr. (Engl. Ed.)*, 2022, Vol. 69, pp. 52-62.

Авторы:

Храмова Т.В. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной иммунологии ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет»; научный сотрудник лаборатории биосовместимых материалов ФГБУН «Удмуртский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Ижевск, Россия

Сидоров А.Ю. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной иммунологии ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет»; научный сотрудник лаборатории биосовместимых материалов ФГБУН «Удмуртский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Ижевск, Россия

Authors:

Khramova T.V., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Molecular and Cell Immunology, Udmurt State University; Research Associate, Laboratory of Biocompatible Materials, Udmurt Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Izhevsk, Russian Federation

Sidorov A.Yu., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Molecular and Cell Immunology, Udmurt State University; Research Associate, Laboratory of Biocompatible Materials, Udmurt Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Izhevsk, Russian Federation

Бедулева Л.В. — д.б.н., доцент, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной иммунологии ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет»; ведущий научный сотрудник лаборатории биосовместимых материалов ФГБУН «Удмуртский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Ижевск, Россия

Меньшиков И.В. — д.б.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной иммунологии ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет»; главный научный сотрудник лаборатории биосовместимых материалов ФГБУН «Удмуртский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Ижевск, Россия

Шкляева Н.П. — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной иммунологии ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет», г. Ижевск, Россия

Beduleva L.V., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Chief Research Associate, Laboratory of Molecular and Cell Immunology, Udmurt State University; Leading Research Associate, Laboratory of Biocompatible Materials, Udmurt Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Izhevsk, Russian Federation

Menshikov I.V., PhD, MD (Biology), Professor, Leading Research Associate, Laboratory of Molecular and Cell Immunology, Udmurt State University; Chief Research Associate, Laboratory of Biocompatible Materials, Udmurt Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Izhevsk, Russian Federation

Shklyayeva N.P., Junior Research Associate, Laboratory of Molecular and Cell Immunology, Udmurt State University, Izhevsk, Russian Federation

Поступила 26.03.2024
Принята к печати 30.03.2024

Received 26.03.2024
Accepted 30.03.2024

ЛЕЙКОЦИТАРНЫЕ ИНДЕКСЫ У СОБАК ПРИ ПРИБРЕТЕННОМ ПЕРВИЧНОМ ГИПОТИРЕОЗЕ

Козицына А.И., Карпенко Л.Ю., Бахта А.А.

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

Резюме. Гипотиреоз собак по общемировой статистике является широко-распространенной болезнью, однако, в связи с определенными трудностями в проведении лабораторной диагностики, а также межвидовой специфичности таких показателей, как тиреотропный гормон, аутоантитела к тиреоглобулину, своевременная диагностика и дифференцировка гипотиреоза у собак в практике ветеринарного врача затруднена. Таким образом, актуальным является поиск вторичных вспомогательных методов диагностики и выявления гипотиреоза собак, основанных на комплексе показателей и диагностических коэффициентах-индексах. Так как при гипотиреозе наблюдается нарушение работы иммунной системы, то такими показателями могут оказаться лейкоцитарные индексы, характеризующие показатели неспецифического клеточного иммунитета и реакционную способность организма.

Целью представленного исследования была оценка лейкоцитарных индексов собак с первичным приобретенным гипотиреозом для дальнейшего использования их с целью облегчения диагностики нарушения функции щитовидной железы у собак, а также для изучения формирования иммунного ответа у разных видов животных с последующим его возможным использованием в экспериментальных работах по изучению влияния разных факторов на неспецифический клеточный иммунитет животных и человека.

Была проведена оценка показателей лейкограммы крови 15 собак с установленным первичным гипотиреозом до начала заместительной терапии, сравнение с аналогичными показателями лейкограммы клинически-здоровых собак ($n = 19$).

Выявлено достоверное повышение лейкоцитарного индекса интоксикации ($p \leq 0,05$), индекса сдвига лейкоцитов крови ($p \leq 0,1$), ядерного индекса Г.Д. Даштаянца ($p \leq 0,05$) в группе больных собак по сравнению с группой здоровых собак.

Повышение лейкоцитарного индекса интоксикации может свидетельствовать о развитии воспалительных процессов и повышение степени эндогенной интоксикации организма. Повышение индекса сдвига лейкоцитов крови в крови больных собак может указывать на активные воспалительные процессы, а также на снижение степени иммунологической реактивности при гипотиреозе. Повышение ядерного индекса Г.Д. Даштаянца характеризует увеличение скорости регенерации нейтрофилов и моноцитов и повышение продолжительности циркуляции данных типов лейкоцитов в кровеносном русле. Это в свою очередь говорит о хроническом процессе. Таким образом, при выявлении одновременного повышения в крови собаки указанных выше лейкоцитарных индексов следует обратить внимание и включить в перечень возможных дифференциальных или сопутствующих диагнозов ги-

Адрес для переписки:

Козицына Анна Ивановна
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный
университет ветеринарной медицины»
196084, Россия, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, 5.
Тел.: 8 (921) 343-13-08.
E-mail: Anna.kozitsyna@yandex.ru

Address for correspondence:

Anna I. Kozitsyna
St. Petersburg State University of Veterinary Medicine
5 Chernigovskaya St
St. Petersburg
196084 Russian Federation
Phont: +7 (921) 343-13-08.
E-mail: Anna.kozitsyna@yandex.ru

Образец цитирования:

А.И. Козицына, Л.Ю. Карпенко, А.А. Бахта
«Лейкоцитарные индексы у собак при приобретенном
первичном гипотиреозе» // Российский
иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 477-482.
doi: 10.46235/1028-7221-16747-LII

© Козицына А.И. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.I. Kozitsyna, L.Yu. Karpenko, A.A. Bakhta "Leukocyte
indices in dogs with acquired primary hypothyroidism",
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 477-482.
doi: 10.46235/1028-7221-16747-LII

© Kozitsyna A.I. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16747-LII

потиреоз. В дальнейшем исследование планируется расширить с увеличением выборки животных, захватом и анализом отдельных физиологических состояний и породных особенностей, а также особенностями рациона, соотношением со степенью тяжести состояния, анализом продолжительности жизни и выживаемости.

Ключевые слова: гипотиреоз, лейкоцитарные индексы, собаки, лабораторная диагностика, неспецифический иммунитет, эндокринология

LEUKOCYTE INDICES IN DOGS WITH ACQUIRED PRIMARY HYPOTHYROIDISM

Kozitsyna A.I., Karpenko L.Yu., Bakhta A.A.

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. According to global statistics, hypothyroidism in dogs is a widespread disease. However, due to certain difficulties in conducting laboratory diagnostics, as well as the cross-species specificity of such indicators as thyroid-stimulating hormone, thyroglobulin autoantibodies, prompt diagnosis and differentiation of hypothyroidism in dogs in the practice of a veterinarian is difficult. Thus, it is relevant to search for secondary auxiliary methods of diagnosis and detection of hypothyroidism in dogs based on a set of indicators and diagnostic coefficients-indices. Since hypothyroidism causes an immune system malfunction, such indicators may be leukocyte indices characterizing indicators of nonspecific cellular immunity and the organism reactivity.

The purpose of the presented study was to evaluate the leukocyte indices of dogs with primary acquired hypothyroidism for further use in order to facilitate the diagnosis of thyroid dysfunction in dogs, as well as to study the formation of an immune response in different animal species, followed by its possible use in experimental studies of the influence of various factors on the nonspecific cellular immunity of animals and humans.

The blood leukogram parameters of 15 dogs with established primary hypothyroidism were evaluated before the start of replacement therapy and compared with similar leukogram parameters of clinically healthy dogs (n = 19).

There was a significant increase in the leukocyte intoxication index ($p \leq 0.05$), the leukocyte shift index ($p \leq 0.1$), the nuclear index of G. D. Dashtayants ($p \leq 0.05$) in the group of hypothyroid dogs compared with the group of healthy dogs (n = 19).

An increase in the leukocyte intoxication index may indicate the development of inflammatory processes and an increase in the degree of endogenous intoxication of the body. An increase in shift index in the blood of sick dogs may indicate active inflammatory processes, as well as a decrease in the degree of immunological reactivity in hypothyroidism. The increase of nuclear index of G. D. Dashtayants characterizes an elevation in the rate of regeneration of neutrophils and monocytes and an increase in the duration of circulation of these types of leukocytes in the bloodstream. This, in turn, indicates a chronic process. Thus, when detecting a simultaneous increase in the blood of a dog of such leukocyte indices as mentioned above, attention should be paid and included in the list of possible differential or concomitant diagnoses of hypothyroidism. In the future, the study is planned to expand with an increase in the sample of animals, record and analysis of individual physiological conditions and breed characteristics, as well as dietary characteristics, correlation with the severity of the condition, analysis of life expectancy and survival.

Keywords: hypothyroidism, leukocyte indices, dogs, laboratory diagnostics, nonspecific immunity, endocrinology

Введение

Гипотиреоз, или пониженная функция щитовидной железы, — это часто встречающаяся эндокринная болезнь собак. Наиболее часто встречается первичный гипотиреоз, т. е. возникающий в результате снижения выработки тиреоидных гормонов щитовидной железой при неизменной работе гипоталамо-гипофизарной системы. Возникает это в результате аутоиммунного лимфоци-

тарного тиреоидита [4]. Основными трудностями в постановке данного диагноза можно отметить следующие факторы:

1. Отсутствие специфических клинических признаков при медленном прогрессировании болезни.
2. Появление клинических признаков только после разрушения более тканей щитовидной железы, что может занимать несколько лет.

3. Уровни общего тироксина и тиреотропного гормона могут значительно меняться в течение хода болезни и не всегда помогают точно установить наличие болезни, а зачастую могут быть ложно занижены.

4. Отсутствие в широкой ветеринарной лабораторной диагностике специфических показателей, таких как аутоантитела к тиреоглобулину.

В связи с этим актуальным является поиск вторичных вспомогательных методов диагностики и выявления гипотиреоза собак, основанных на комплексе показателей и диагностических коэффициентах-индексах. Такими показателями могут оказаться лейкоцитарные индексы [5, 8]. Также своевременным является изучение формирования иммунного ответа у разных видов животных с последующим его возможным использованием в экспериментальных работах по изучению влияния разных факторов на организм животных и человека.

Лейкоцитарные индексы – это набор расчетных показателей, позволяющих наиболее полно оценить соотношение процентного содержания лейкоцитов относительно друг друга. Считается, что лейкоцитарные индексы характеризуют неспецифические адаптационные механизмы организма и неспецифический иммунитет [2, 6, 10]. При приобретенном гипотиреозе собак в 95% случаев развивается аутоиммунный процесс, направленный против собственных тканей щитовидной железы [9]. Кроме этого, влияние тиреоидных гормонов на иммунную систему также велико. Так, они оказывают влияние на развитие, дифференцировку и активацию клеток иммунной системы, на производство и секрецию цитокинов [11]. Нарушение в уровне гормонов щитовидной железы приводит к риску развития инфекций, аутоиммунных заболеваний и пр. [1, 7].

Целью представленного исследования была оценка лейкоцитарных индексов собак с первичным приобретенным гипотиреозом для дальнейшего использования их с целью облегчения диагностики нарушения функции щитовидной железы у собак, а также для изучения формирования иммунного ответа у разных видов животных с последующим его возможным использованием в экспериментальных работах по изучению влияния разных факторов на неспецифический клеточный иммунитет животных и человека.

Материалы и методы

В представленном исследовании была проведена оценка морфологических показателей крови собак. Было сформировано 2 группы собак. Первая группа включала 15 животных в возрасте от 3 до 16 лет ($10,01 \pm 3,30$ лет) с подтвержденным диа-

гнозом приобретенный первичный гипотиреоз. Вторая группа собак была подобрана по методу пар-аналогов и включала 19 клинически здоровых животных в возрасте от 1 до 13 лет ($5,37 \pm 3,65$ лет) с адекватной функцией щитовидной железы. У собак с гипотиреозом до начала лечения были отобраны пробы крови в пробирку со стабилизатором для оценки морфологических показателей крови, определения лейкограммы и вычисления лейкоцитарных индексов. У собак с адекватной функцией щитовидной железы были также отобраны пробы крови для морфологического исследования, определения уровня гемоглобина, подсчета количества лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов, определения лейкограммы и вычисления лейкоцитарных индексов: лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ), индекс сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК), лейкоцитарный индекс (ЛИ), индекс Кребса (ИК), ядерный индекс Г.Д. Даштаянца (ЯИ), индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов (ИСНМ), индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов (ИСЛМ). Исследования проб крови проводили по общепринятым методикам.

Статистическая обработка полученных данных включала вычисление среднего арифметического, определение стандартного отклонения, расчет достоверности по Стьюденту с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2007.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты представлены в таблице 1.

Выявлено достоверное повышение ЛИИ ($p \leq 0,05$), ИСЛК ($p \leq 0,1$), ЯИ ($p \leq 0,05$) в группе больных собак по сравнению с группой здоровых собак. Повышение индекса ЛИИ может свидетельствовать о развитии воспалительных процессов и повышении степени эндогенной интоксикации организма. Данный показатель является отношением общего количества нейтрофилов к сумме лимфоцитов, эозинофилов и моноцитов и характеризует степень нейтрофильного сдвига лейкограммы. Повышение ИСЛК в крови больных собак может указывать на активные воспалительные процессы, а также на снижение степени иммунологической реактивности при гипотиреозе. Данный индекс является результатом соотношения количества гранулоцитов к количеству агранулоцитов и характеризует повышение уровня гранулоцитов. ЯИ – это отношение суммы количества моноцитов и палочкоядерных нейтрофилов к количеству сегментоядерных нейтрофилов, и его повышение характеризует увеличение скорости регенерации нейтрофилов и моноцитов и повышение продолжительности циркуляции данных типов лейкоцитов в крове-

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ И ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ ИНДЕКСОВ КРОВИ СОБАК
TABLE 1. RESULTS OF GENERAL BLOOD TEST AND LEUKOCYTE INDICES OF DOG BLOOD

Показатель Index	Ед. изм. Units	Группа 1 собаки с гипотиреозом 1 st group hypothyroid dogs (n = 15)	Группа 2 здоровые собаки 2 nd group clinically healthy dogs (n = 19)
Гемоглобин Hemoglobin	г/л g/L	156,14±27,21**	131,32±19,19
Гематокрит Packed cell volume	%	47,79±6,55	48,79±5,16
Эритроциты Red blood cells count	млн/мкл M/ μ L	7,11±0,89*	6,59±0,72
Лейкоциты White blood cells count	тыс/мкл K/ μ L	10,10±4,36	8,95±2,83
Тромбоциты Platelets	тыс/мкл K/ μ L	399,29±153,19*	315,89±95,67
ЛИИ LII	усл. ед. relative units	3,92±2,99**	2,32±1,06
ИСЛК LSI	усл. ед. relative units	4,67±3,41*	2,98±1,58
ЛИ LI	усл. ед. relative units	0,32±0,25	0,45±0,28
ИК KI	усл. ед. relative units	11,52±22,71	3,31±2,14
ЯИ NI	усл. ед. relative units	0,14±0,09**	0,07±0,05
ИСНМ NMRI	усл. ед. relative units	27,58±20,48	37,93±26,35
ИСЛМ LMRI	усл. ед. relative units	8,49±9,55	14,37±10,92

Примечание. ЛИИ – лейкоцитарный индекс интоксикации, ИСЛК – индекс сдвига лейкоцитов крови, ЛИ – лейкоцитарный индекс, ИК – индекс Кребса, ЯИ – ядерный индекс Г.Д. Даштаянца, ИСНМ – индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов, ИСЛМ – индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов. * – $p \leq 0,1$ при сравнении с группой клинически здоровых животных; ** – $p \leq 0,05$ при сравнении с группой клинически здоровых животных.

Note. LII, leukocyte intoxication index; LSI, leukocyte shift index; LI, leukocyte index; KI, Krebs index; NI, nuclear index of G.D. Dashtayants; NMRI, neutrophil-monocyte ratio index; LMRI, lymphocyte-monocyte ratio index. *, $p \leq 0.1$ when compared with a group of clinically healthy animals; **, $p \leq 0.05$ when compared with a group of clinically healthy animals.

носном русле. Это в свою очередь говорит о хроническом процессе [3, 10].

Заключение

Таким образом, при выявлении одновременного повышения в крови собаки таких лейкоцитарных индексов, как ЛИИ – лейкоцитарный индекс интоксикации, ИСЛК – индекс сдвига лейкоцитов крови, ЯИ – ядерный индекс

Г.Д. Даштаянца, следует обратить внимание и включить в перечень возможных дифференциальных или сопутствующих диагнозов гипотиреоз. В дальнейшем исследование планируется расширить с увеличением выборки животных, захватом и анализом отдельных физиологических состояний и породных особенностей, а также особенностями рациона, соотношением со степенью тяжести состояния, анализом продолжительности жизни и выживаемости [4].

Список литературы / References

1. Борисова Т.А., Курникова И.А. Показатели иммунной регуляции в диагностике гипотиреоза // Фундаментальные исследования, 2010. № 9. С. 72-75. [Borisova T.A., Kournikova I.A. Indicators of immune regulation in the diagnosis of hypothyroidism. *Fundamentalnye issledovaniya = Fundamental Research*, 2010, no. 9, pp. 72-75. (In Russ.)]
2. Гапонова В.Н., Крячко О.В., Лукоянова Л.А., Анисимова К.А. Анализ эффективности применения гематологических лейкоцитарных индексов при оценке степени интоксикации и реактивности организма у животных с хроническими патологическими процессами // Международный вестник ветеринарии, 2020. № 4. С. 124-128. [Gaponova V.N., Kryachko O.V., Lukoyanova L.A., Anisimova K.A. Analysis of the effectiveness of hematological leukocyte indices in assessing the degree of intoxication and reactivity of the body in animals with chronic pathological processes. *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii = International Bulletin of Veterinary Medicine*, 2020, no. 4, pp. 124-128. (In Russ.)]
3. Дерхо М.А., Самойлова Е.С. Интегральные индексы интоксикации как критерий оценки уровня эндогенной интоксикации при бабезиозе собак // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана, 2011. Т. 207. С. 177-182. [Derkho M.A., Samoilova Ye.S. Integral intoxication indices as a criteria of endogenous intoxication level estimation at babesiasis in dogs. *Uchenye zapiski Kazanskoy gosudarstvennoy akademii veterinarnoy meditsiny im. N.E. Baumana = Academic Notes of N. Bauman Kazan State Academy of Veterinary Medicine*, 2011, Vol. 207, pp. 177-182. (In Russ.)]
4. Карпенко Л.Ю., Бахта А.А., Козицына А.И., Ершова О.Н. Диагностика первичного гипотиреоза собак в условиях города Санкт-Петербург // Сборник научных трудов двенадцатой международной межвузовской конференции по клинической ветеринарии в формате Partners : материалы конференции, Москва, 17-18 ноября 2022 года. М.: Сельскохозяйственные технологии, 2022. С. 257-261. [Karpenko L.Yu., Bakhta A.A., Kozitsyna A.I., Ershova O.N. Diagnostics of primary hypothyroidism of dogs in the conditions of the city of St. Petersburg Collection of scientific papers of the twelfth international interuniversity conference on clinical veterinary medicine in the format of Partners Moscow, November 17-18, 2022]. Moscow: Selskokhozyaystvennyye tekhnologii, 2022. pp. 257-261.
5. Карпенко Л.Ю., Козицына А.И., Бахта А.А. Лейкоцитарные индексы клинически здоровых кошек // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии, 2023. № 2. С. 153-156. [Karpenko L.Yu., Kozitsyna A.I., Bakhta A.A. Leucocytal indexes in apparently healthy cats. *Normativno-pravovoe regulirovanie v veterinarii = Legal Regulation in Veterinary Medicine*, 2023, no. 2, pp. 153-156. (In Russ.)]
6. Краснолобова Е.П., Череменина Н.А., Ковалев С.П. Диагностическое значение лейкоцитарных индексов у животных // Международный вестник ветеринарии, 2018. № 4. С. 140-143. [Krasnolobova E.P., Cheremenina N.A., Kovalev S.P. Diagnostic value of leukocyte indices in animals. *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii = International Bulletin of Veterinary Medicine*, 2018, no. 4, pp. 140-143. (In Russ.)]
7. Матвеева С.Л. Влияние функционального состояния щитовидной железы на показатели иммунитета больных туберкулезом // Туберкулез, легочные болезни, ВИЧ-инфекция, 2016. № 2 (25). С. 40-43. [Matveyeva S.L. Influence of thyroid function activity on the indexes of immunity in tuberculosis patients. *Tuberkulez, legochnye bolezni, VICH-infektsiya = Tuberculosis, Lung diseases, HIV Infection*, 2016, no. 2(25), pp. 40-43. (In Russ.)]
8. Самсонова Т.С., Рыженкова А.Ю., Сорокина С.А. Гематологические индексы в оценке состояния здоровья животных // Актуальные вопросы биотехнологии и ветеринарных наук: теория и практика: Материалы национальной научной конференции Института ветеринарной медицины, Троицк, 27-28 июня 2019 года. Троицк: Южно-Уральский государственный аграрный университет, 2019. С. 98-105. [Samsonova T.S., Ryzhenkova A.Yu., Sorokina S.A. Hematological indices in the assessment of animal health. Topical Issues of Biotechnology and Veterinary Sciences: theory and Practice, June 27-28, 2019]. Troitsk: South Ural State Agrarian University, 2019. pp. 98-105.
9. Сарсекулова М.Д., Курмангалиева М.Б. Аутоиммунный тиреоидит щитовидной железы // Устойчивое развитие науки и образования, 2023. № 6 (81). С. 104-108. [Sarsekulova M.D., Kurmangalieva M.B. Autoimmune thyroiditis of the thyroid gland. *Sustainable Ustoychivoe razvitie nauki i obrazovaniya = Development of Science and Education*, 2023, no. 6 (81), pp. 104-108. (In Russ.)]

10. Ткаченко Е.А., Дерхо М.А. Лейкоцитарные индексы при экспериментальной кадмиевой интоксикации мышей // Известия Оренбургского государственного аграрного университета, 2014. № 3 (47). С. 81-83. [Tkachenko Ye.A., Derkho M.A. Leukocytic indices in experimental cadmium intoxication of mice. *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* = News of the Orenburg State Agrarian University, 2014, no. 3 (47), pp. 81-83. (In Russ)]

11. Polistovskaya P., Bakhta A., Karpenko L. Thyroid hormones levels evaluation in pregnant Saanen goats. *Reprod. Domest. Anim.*, 2019, Vol. 54, no. S3, p. 107.

Авторы:

Козицына А.И. — к.вет.н., доцент кафедры биохимии и физиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Карпенко Л.Ю. — д.б.н., профессор, заведующий кафедрой биохимии и физиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Бахта А.А. — к.б.н., доцент кафедры биохимии и физиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Kozitsyna A.I., PhD (Veterinary Medicine), Associate Professor, Department of Biochemistry and Physiology, St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Karpenko L. Yu., PhD, MD (Biology), Professor, Head, Department of Biochemistry and Physiology, St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Bakhta A.A., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Biochemistry and Physiology, St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Поступила 29.03.2024

Отправлена на доработку 06.04.2024

Принята к печати 18.04.2024

Received 29.03.2024

Revision received 06.04.2024

Accepted 18.04.2024

СОВМЕСТНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МАСТОЦИТОВ И КУМУЛЮСНЫХ КЛЕТОК ПРИ СИНДРОМЕ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ

Валикова О.В.^{1,2,3}, Здор В.В.^{1,4}, Тихонов Я.Н.¹, Борода А.В.⁵,
Колбин К.Г.⁶

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

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

³ Клиника «Пластэк хирургия», г. Владивосток, Россия

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

⁵ ФГБУН «Национальный научный центр морской биологии имени А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук, г. Владивосток, Россия

⁶ Клиника репродукции и генетики “Next Generation Clinic”, г. Владивосток, Россия

Резюме. Синдром поликистозных яичников (СПКЯ) характеризуется нарушением менструального цикла, гиперандрогенией, морфологией поликистозных яичников. Распространенность СПКЯ у женщин репродуктивного возраста достаточно высокая, составляет от 6-9% до 19,9%. По современной номенклатуре аллергических заболеваний и реакций гиперчувствительности, к VI типу относится СПКЯ. Гены, связанные с врожденными иммунными реакциями, экспрессируются в кумулюсных клетках, соответственно кумулюсные клетки приобретают функции иммунных клеток в преовуляторном периоде и во время овуляции. Мастоциты вовлечены в патологию «женское бесплодие» при имплантации, беременности, потерях беременности. Количество мастоцитов в яичниках у пациенток с СПКЯ значительно ниже, в сравнении с яичниками пациенток без СПКЯ. При отсутствии у овулирующего ооцита кумулюсного оофорного комплекса, он остается неоплодотворенным. Целью исследования является изучение функциональных возможностей кумулюсных клеток яичника при СПКЯ по их цитокинпродуцирующей функции, в том числе при сокультивировании кумулюсных клеток с мастоцитами для выявления их взаимного влияния и роли в иммунопатогенезе синдрома поликистозных яичников. Использовалась постоянная линия тучных клеток человека НМС-1 (Human mast cell, АТСС, США) и первичная культура кумулюсных клеток. Ежедневное наблюдение за клетками осуществляли с помощью инвертированного микроскопа. Состояние кумулюсных клеток и мастоцитов определяли с помощью флуоресцентных красителей с последующей проточной цитометрией перед посадкой клеток и через 7 суток их сокультивирования. Исследовались уровни IL-6, IL-10,

Адрес для переписки:

Валикова Ольга Владимировна
ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
690012, Россия, г. Владивосток,
ул. Фастовская, 14 кв. 184.
Тел.: 8 (902) 521-77-72.
E-mail: renalex.99@mail.ru

Address for correspondence:

Olga V. Valikova
Pacific State Medical University
14 Fastovskaya St, Apt 184.
Vladivostok
690012 Russian Federation
Phone: +7 (902) 521-77-72.
E-mail: renalex.99@mail.ru

Образец цитирования:

О.В. Валикова, В.В. Здор, Я.Н. Тихонов, А.В. Борода,
К.Г. Колбин «Совместное культивирование
мастоцитов и кумулюсных клеток при синдроме
поликистозных яичников» // Российский
иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 483-492.
doi: 10.46235/1028-7221-16802-CCO

© Валикова О.В. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

O.V. Valikova, V.V. Zdor, Ya.N. Tikhonov, A.V. Boroda,
K.G. Kolbin “Co-cultivation of mastocytes and cumulus cells in
polycystic ovary syndrome”, Russian Journal of Immunology/
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3,
pp. 483-492.
doi: 10.46235/1028-7221-16802-CCO

© Valikova O.V. et al., 2024

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16802-CCO

IFN γ на 1-е, 3-и, 7-е сутки эксперимента. Выявлено, что как в монокультуре, так и при совместном культивировании клеток продолжается синтез цитокинов IL-6, IL-10, IFN γ , но в разной степени выраженности и в зависимости от наличия СПКЯ. В постоянной линии тучных клеток происходит планомерное увеличение IL-6, IL-10, IFN γ на 1-е, 3-и, 7-е сутки культивирования. В первые сутки эксперимента баланс Th1/ Th2 цитокинов при СПКЯ двукратно превышал аналогичный показатель у здоровых женщин, а в динамике соотношение нарастало и на 7-е сутки эксперимента достигло 3,83 раза выше показателя соотношения Th1/ Th2 цитокинов в группе контроля. Гиперпродукция IFN γ мастоцитами была наиболее значима при сокультивировании их с кумулюсными клетками, так как в монокультуре тучные клетки синтезировали избыточно цитокин только двукратно от исходных значений IFN γ , а среда с монокультурой кумулюсные клетки при СПКЯ практически не содержала IFN γ к 7-м суткам эксперимента. Исследуемые цитокины являются регуляторами функции кумулюсных клеток яичника и факторами, повышающими компетентность ооцита, свидетельствующие о необходимости их коррекции, что позволит реально влиять на звенья патогенеза в СПКЯ в дальнейшем.

Ключевые слова: синдром поликистозных яичников, кумулюсные клетки, мастоциты, цитокины, культивирование, клеточные культуры

CO-CULTIVATION OF MASTOCYTES AND CUMULUS CELLS IN POLYCYSTIC OVARY SYNDROME

Valikova O.V.^{a, b, c}, Zdor V.V.^{a, d}, Tikhonov Ya.N.^a, Boroda A.V.^e, Kolbin K.G.^f

^a Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

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

^c Clinic "Plastic Surgery", Vladivostok, Russian Federation

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

^e A. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far East Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russian Federation

^f Clinic for Reproduction and Genetics "Next Generation Clinic", Vladivostok, Russian Federation

Abstract. The purpose of the study was to study the cytokine-producing function of cumulus cells of the ovaries in PCOS during co-cultivation of cumulus cells with mast cells to identify their mutual influence in the immunopathogenesis of PCOS.

The study was approved by the Interdisciplinary Ethics Committee of the FSBEI of HE of the Ministry of Health of the Russian Federation. A permanent human mast cell line HMC-1 (Human mast cell, ATCC, USA) and a primary culture of cumulus cells were used. The condition of cumulus cells and mastocytes was determined using fluorescent dyes followed by flow cytometry before co-cultivation and after 7 days co-cultivation. The levels of IL-6, IL-10, and IFN γ were studied on days 1, 3, and 7 of the experiment.

In monoculture and during co-culture of cells, the synthesis of cytokines IL-6, IL-10, and IFN γ continues, but to varying degrees of severity. In the permanent mast cell line, an increase in IL-6, IL-10, and IFN γ is observed on the 1st, 3rd, and 7th days of cultivation. On the first day, cytokine levels of donor cumulus cells and mastocytes did not differ significantly ($p > 0.05$). In the culture of donor cumulus cells, the synthesis of IL-6, IL-10, and IFN γ progressively increases by the 7th day of the experiment ($p < 0.05$). On the first day of the experiment, the balance of Th1/Th2 cytokines in PCOS was twice as high as in healthy women. The ratio increased, and on the 7th day reached 3.83 times higher than the ratio of Th1/Th2 cytokines in the control group. Hyperproduction of IFN γ by mastocytes was most significant when they were co-cultured with cumulus cells, in monoculture mast cells synthesized excessively cytokine twice from the initial values of IFN γ , and the monoculture cumulus cells in PCOS it practically did not contain.

The studied cytokines are regulators of the function of ovarian cumulus cells and factors that increase the competence of the oocyte, indicating the need for their correction, which will allow a real influence on the links of pathogenesis in PCOS in the future.later on.

Keywords: polycystic ovary syndrome, cumulus cells, mastocytes, cytokines, cultivation, cell cultures

Введение

Синдром поликистозных яичников (СПКЯ) характеризуется нарушением менструального цикла, гиперандрогенией, морфологией поликистозных яичников [1, 3]. Диагноз СПКЯ основывается минимум на двух из трех вышеперечисленных признаках [3]. Распространенность СПКЯ у женщин репродуктивного возраста по данным Клинических рекомендаций «Современные подходы к лечению и диагностике синдрома поликистозных яичников в репродуктивном возрасте» 2022 года под редакцией Л.В. Адамян достаточно высокая, составляет от 6-9% до 19,9% [1]. Нарушение менструального цикла, бесплодие, гирсутизм – это симптомы, которые заставляют пациентку обратиться на прием, но это только малая часть изменений присущих СПКЯ, иммунологическая дисрегуляция при СПКЯ, затрагивает не только женскую репродуктивную систему, но и весь организм [13]. Гиперандрогения и инсулинорезистентность обуславливают дисфункцию иммунных клеток и влияют на дисбаланс цитокинов [13]. Согласно современной номенклатуре аллергических заболеваний и реакций гиперчувствительности, пересмотренной Европейской академией аллергии и клинической иммунологии [5], реакции гиперчувствительности расширены до девяти типов, VI тип, включает метаболически – индуцированную иммунную дисфункцию, к VI типу относится СПКЯ [5]. В 1988 г. Thibault С. и Levasseur М.С. изучали влияние гистамина на овуляцию [11], в норме во время фолликулогенеза происходят биохимические и цитологические изменения в стенке фолликула, распад апикальной части фолликула, созревание ооцита. В разрушении верхушки фолликула играет роль коллагеназа, гистамин, плазмин [11]. Годом позже Krishna А. и его коллеги выявили, что у человека тучные клетки распределены во всех частях яичника, гистамин принимает участие в регуляции проницаемости капилляров и кровотока в яичниках, под воздействием лютеинизирующего гормона [6]. Гены, связанные с врожденными иммунными реакциями и функциями иммунных клеток (фактор комплемента q1, CD14 и Toll-подобные рецепторы (TLR) 4, 8 и 9, медиаторы активации TLR, регуляторный фактор интерферона 3) экспрессируются в кумулюсных клетках, соответственно кумулюсные клетки приобретают функции иммунных клеток в преовуляторном периоде и во время овуляции [9, 10]. Выявлено, что интерлейкин-6 действует как мощный аутокринный регулятор функции кумулюсных клеток (КК) яичников, расширения кумулюсно-ооцитарного комплекса (КОК) и качества ооцитов [7]. Проведенные исследования доказывают, что МС вовлечены в патологию «женское бесплодие» при

имплантации, беременности, потерях беременности [2]. МС могут продуцировать эстрадиол и прогестерон [2]. Гистамин МС (тучных клеток) благоприятно влияет на имплантацию благодаря участию гистамина в ремоделировании тканей. Триптаза и химаза активируют матриксные металлопротеиназы 2-го типа (ММР2) и матриксные металлопротеиназы 9-го типа (ММР9), влияя на деградацию внеклеточного матрикса во время физиологического менструального цикла [2]. МС сосредотачиваются на внешней теке доминантного фолликула, в интерстициальной коре и мозговом веществе яичника больше триптазо-положительных МС, чем химазо-положительных [4], было выявлено, что количество МС в яичниках у пациенток с СПКЯ значительно ниже, в сравнении с яичниками пациенток без СПКЯ [4]. Обнаружены значимые количества триптазы в фолликулярной жидкости и семенной жидкости человека и МС – триптазо-положительных клетки в стенке фаллопиевых труб человека [14]. Во время естественного оплодотворения только сперматозоиды, которые пересекают КОК получают возможность достичь и проникнуть в зону пеллюцидов и оплодотворить ооцит. Если овулированный ооцит полностью лишен кумулюсного оофорного комплекса, он остается неоплодотворенным [12]. Выявлено, что триптаза напрямую взаимодействует со сперматозоидами человека во время их миграции по женской репродуктивной системе [14], эти открытия позволяют думать о взаимодействии кумулюсных клеток и сперматозоида, при помощи триптазы, т. е. продукта деградации МС. Изучение КК, находящихся в тесном контакте с ооцитом позволяет судить о качестве яйцеклетки и прогнозировать исход ее оплодотворения [12]. Роль клеток врожденного иммунитета является предметом активного исследования при аутоиммунной патологии эндокринной системы и при синдроме поликистозных яичников (СПКЯ).

Целью исследования является изучение функциональных возможностей кумулюсных клеток яичника при СПКЯ по их цитокинпродуцирующей функции, в том числе при сокультивировании КК с мастоцитами для выявления их взаимного влияния и роли в иммунопатогенезе синдрома поликистозных яичников. Необходимы дальнейшие исследования с использованием первичных культур кумулюсных клеток и МС для изучения их возможных межклеточных взаимодействий и влияния половых гормонов на активацию КК и МС в яичнике.

Материалы и методы

Исследование одобрено Междисциплинарным этическим комитетом ФГБОУ ВО ТГМУ Мин-

здрави России (протокол № 9 от 16.05.2022 г.). Использовалась постоянная линия тучных клеток человека НМС-1 (Human mast cell, АТСС, США) и первичная культура кумулюсных клеток. После подписания добровольного информированного согласия в исследовании, использовались кумулюсные клетки пациенток, отделенных от ооцита, не используемые в дальнейшей процедуре ИКСИ при ЭКО после проведения трансвагинальной пункции в условиях стерильной операционной в асептических условиях специализированной клиники. Механическое отделение КК от ооцита без нарушения его целостности делает возможным применение КК в исследованиях, что никак не нарушает права эмбриона. КК человека были получены от 12 здоровых доноров (средний возраст $28,6 \pm 5,3$ лет) и 10 пациенток СПКЯ (средний возраст $29,4 \pm 3,6$ лет), прошедших процедуру ЭКО-ИКСИ в клинике репродукции г. Владивостока. Для стимуляции яичников и созревания фолликула использовались стандартные протоколы вспомогательных репродуктивных технологий.

После получения кумулюсно-ооцитарных комплексов происходит механическое отделение КК от ооцита. Изолированные КК – в лаборатории клеточных технологий ННЦМБ ДВО РАН механически диссоциированы на отдельные клетки и посажены в 6-луночные планшеты для адгезивных культур (TPP, Швейцария). Кумулюсные и тучные клетки (МС, постоянная линия тучных клеток человека НМС-1 – Human mast cell, АТСС, США) сокультивировали в соотношении 2:1 при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 и влажности 95%. В качестве среды использовали IMDM (модифицированную по Дульбекко среду Игла, Sigma-Aldrich; Дармштадт, Германия) с добавлением 20%-ной эмбриональной бычьей сыворотки FBS (HyClone, США), смеси заменимых аминокислот MEM NEAA (Gibco, США), смеси незаменимых аминокислот MEM EAA (Sigma-Aldrich, США), 1 мМ пирувата натрия (Gibco, США), 50 ед/мл пенициллина и 50 мкг/мл стрептомицина (Gibco, США). Смена среды производили каждые 3 суток. Состояние КК и МС определяли с помощью флуоресцентных красителей с последующей проточной цитометрией перед посадкой клеток и через 7 суток их сокультивирования. Клетки открепляли из лунок планшета с помощью смеси 0,05% трипсин – 0,02% EDTA осаждали центрифугированием при 500 g в течение 5 мин при RT. К осадкам клеток из индивидуальных лунок добавляли 100 мкл смеси красителей: 4',6 диамидино-2-фенилиндол (ДАПИ, Sigma-Aldrich) в конечной концентрации 1 мкг/мл для окрашивания мертвых клеток, H2DCFDA (Sigma-Aldrich, США) в конечной концентрации 10 мкг/мл для окрашивания кле-

ток с функционально-активными митохондриями, TO-PRO-3™ (Thermo Scientific, США) в конечной концентрации 1 мкМ для окрашивания апоптотических клеток. Окрашивание производили в течение 10 мин при RT. После этого суспензии анализировали на проточном цитофлуориметре CytoFLEX S (Beckman Coulter, США), подключенном к компьютеру с лицензионным программным обеспечением CytExpert (v. 2.5, Beckman Coulter, США). Для анализа использовали не менее 10 тыс. событий. Открепление клеток смесью 0,05% трипсин – 0,02% EDTA (среда из лунок отбираем, ополаскиваем 2 мл DPBS (Sigma-Aldrich, США) без ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} , добавляли смесь трипсина по 700 мкл/лунку на 10 минут при $+37\text{ }^{\circ}\text{C}$, суспендировали содержимое лунок, переносили в центрифужную пробирку, ополаскивали лунки 2 мл среды, переносили в центрифужную пробирку, центрифугировали 5 мин при 500 g, супернатант убирал, к осадку добавляли свежую среду. В использованной среде на 1-е, 3-и, 7-е сутки при помощи ИФА определялись показатели цитокинов (IL-6, IL-10, IFN γ). Ежедневное наблюдение за клетками осуществляли с помощью инвертированного микроскопа СКХ41 (Olympus, Япония), оснащенного системой фазового контраста. Съемку проводили камерой AxioCam5 (Carl Zeiss, Германия) с помощью лицензионного программного обеспечения Zen 2, Blue Edition (Carl Zeiss, Германия). Для расчета использовался непараметрический U-критерий Манна–Уитни; при значении $p < 0,05$ отличия считались значимыми.

Результаты и обсуждение

Параметры изменения цитокинов в различные сутки эксперимента в постоянной линии МС (тучных клеток человека НМС-1) и адгезивной культуре кумулюсных клеток, а также во время совместного культивирования постоянной линии тучных клеток человека НМС-1 и адгезивной культуры кумулюсных клеток представлены на рисунках 1 и 2. Выявлено, что, как в монокультуре, так и при совместном культивировании клеток продолжается синтез цитокинов IL-6, IL-10, IFN γ , но в разной степени выраженности и в зависимости от наличия СПКЯ. В постоянной линии тучных клеток происходит планомерное увеличение IL-6, IL-10, IFN γ на 1-е, 3-и, 7-е сутки культивирования. На первые сутки показатели цитокинов КК доноров и МС значимо не отличаются ($p > 0,05$). В культуре КК доноров синтез IL-6, IL-10, IFN γ значимо и поступательно увеличивается к 7-м суткам эксперимента ($p < 0,05$).

В культуре КК при СПКЯ уровень IL-6 был изначально выше, в сравнении с контрольной группой и на 3-и, 7-е сутки так же, как и в кон-

троле, повышался, но динамика роста была значительно слабее и показатель цитокина был в 4 раза ниже контроля ($p < 0,05$). Что может свидетельствовать об истощении КК. При совместном культивировании МС и КК доноров происходит планомерное нарастание IL-6 к 7-м суткам эксперимента (рис. 2). При совместном культивировании КК и МС при СПКЯ происходит наоборот (рис. 1), значимое снижение показателя, что может прямо свидетельствовать о взаимном подавлении цитокинпродуцирующей функции клеток, так как подобного явления в монокультуре мастоцитов не наблюдалось. Значимое исходное повышение после гормональной подготовки к ЭКО уровня IL-6 в среде КК при СПКЯ и дальнейшее его более слабое, по сравнению с контролем, нарастание в динамике свидетельствует о возможно более слабой экспрессии генов IL-6SR на кумулюсных клетках при СПКЯ и прямую зависимость экспрессии от уровня половых гормонов. Более того, значимое снижение IL-6 в случае СПКЯ при сокультивировании КК и МС, может свидетельствовать о слабом восприятии КК активационных сигналов, вероятно, из-за слабой

экспрессии генов IL-6SR, и как следствие, активационное истощение КК [9], что требует дальнейших исследований. Сниженный синтез IL-6, как аутокринного регулятора функции кумулюсных клеток яичников и фактора, повышающего компетентность ооцитов [7], свидетельствует о необходимости его коррекции, что позволит реально влиять на звенья иммунопатогенеза СПКЯ в дальнейшем.

Уровень IFN γ в монокультуре КК при СПКЯ снижался, но при совместном культивировании с МС, как в группе контроля, так и при СПКЯ на 7-е сутки эксперимента увеличения достигло более, чем пятикратного в сравнении с первыми сутками ($p < 0,05$). Показатели на 1-е и 3-и сутки в культуре МС и при совместном культивировании МС и КК доноров и СПКЯ значимо не отличались ($p > 0,05$). В монокультуре КК группы контроля также произошло снижение показателя на 3-и сутки, но на 7-е сутки увеличение составило более чем в 10 раз. В первые сутки эксперимента баланс Th1/Th2 цитокинов при СПКЯ двукратно превышал аналогичный показатель у здоровых женщин, а в динамике соотношение

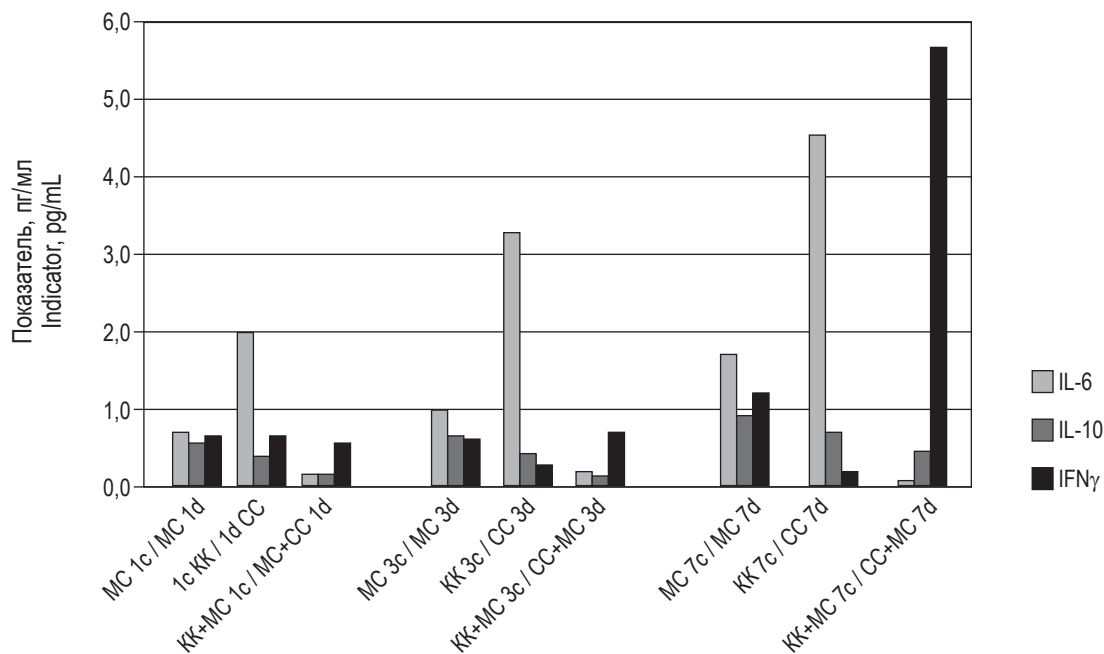


Рисунок 1. Уровень цитокинов при совместное культивирование постоянной линии тучных клеток человека HMC-1 и кумулюсных клеток пациенток с синдромом поликистозных яичников

Figure 1. Cytokine levels during co-cultivation of a permanent line of human mast cells HMC-1 and cumulus cells of patients with polycystic ovary syndrome

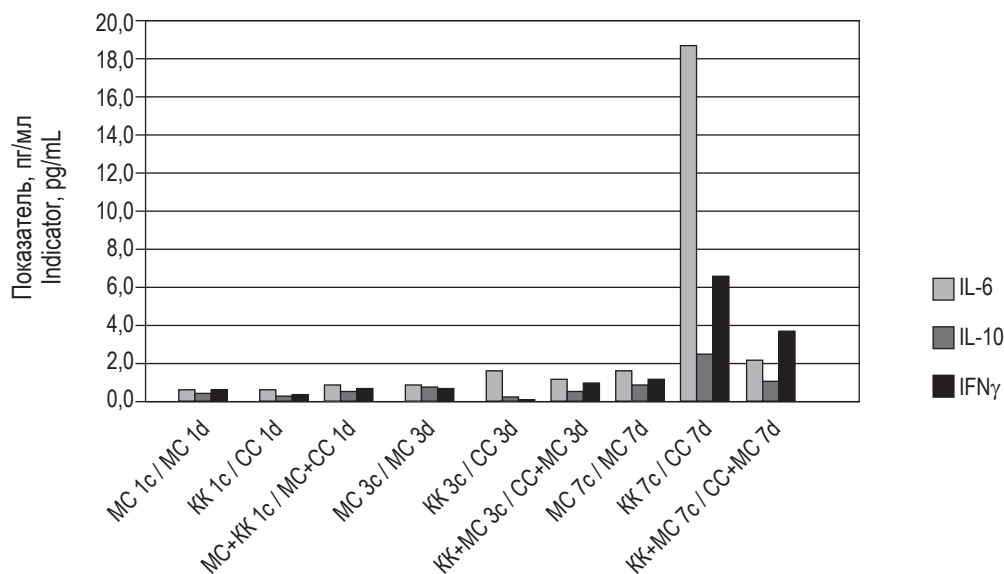


Рисунок 2. Уровень цитокинов при совместное культивирование постоянной линии тучных клеток человека HMC-1 и кумулюсных клеток здоровых доноров

Figure 2. Cytokine levels during co-cultivation of a permanent line of human mast cells HMC-1 and cumulus cells of healthy donors

нарастало и на 7-е сутки эксперимента достигло 3,83 раза выше показателя соотношения Th1/Th2 цитокинов в группе контроля.

Содержание IFN γ значительно нарастает при сокультивировании мастоцитов и кумулюсных клеток как в норме, так и при СПКЯ. Однако конечные значения при сокультивировании при СПКЯ достоверно превышают аналогичные показатели донорских клеток, и эти данные могут быть созвучны с данными о позитивном влиянии прогестерона на синтез IFN γ и негативном влиянии IFN γ на вынашивание беременности при СПКЯ [8]. Синтез интерферона- γ при сокультивировании КК и МС при СПКЯ происходит исключительно за счет его продукции тучными клетками, так как в монокультуре КК при СПКЯ синтез IFN γ значительно падает практически до следовых значений к 7-м суткам эксперимента, что свидетельствует о функциональном дефиците кумулюсных клеток при данной патологии.

Гиперпродукция IFN γ мастоцитами была наиболее значима (в 9,5 раз от исходной) при сокультивировании иммуноцитов с КК, так как в монокультуре тучные клетки синтезировали избыточно цитокин только двукратно от исходных значений IFN γ , а среда с монокультурой КК при СПКЯ практически не содержала IFN γ к 7-м суткам эксперимента.

IL-10, как известно, оказывает ингибирующее влияние на Th1 ответы и способствует толерант-

ности к аллотрансплантату и, следовательно, может улучшать выживаемость плода. Уровень IL-10 в нашей культуре КК доноров, при СПКЯ и в культуре МС повышался ($p < 0,05$), но на 7 сутки увеличение показатели в группе контроля было выше более, чем в 5 раз в сравнении с СПКЯ, и более чем в 3 раза в сравнении с МС ($p < 0,05$). При совместном культивировании показатель IL-10 снизился на 3-и сутки при СПКЯ, но затем на 7-е сутки увеличился в 2 раза в сравнении с 1-ми сутками, при культивировании КК доноров и МС происходило увеличение IL-10 ($p < 0,05$).

Продукция IL-10 в клеточных культурах и ее динамика были аналогичны динамике продукции IL-6 — нарастание в монокультурах в норме и при СПКЯ. Однако в случае патологии — КК синтезировали цитокин слабее. При сокультивировании КК и МС данная тенденция сохранялась в целом для IL-6 и IL-10, за исключением продукции интерферона- γ , что нарушало баланс IFN γ /IL-10 в сторону цитокинов Th1-типа, и это, в конечном счете, могло определять прогноз течения беременности при СПКЯ и ставить под угрозу вынашивание беременности по сравнению со здоровыми женщинами [13].

По результатам показателей проточной цитометрии, представленных на рисунке 3, показано состояние при совместном культивировании КК от здоровых доноров и МС, на рисунке 4 показа-

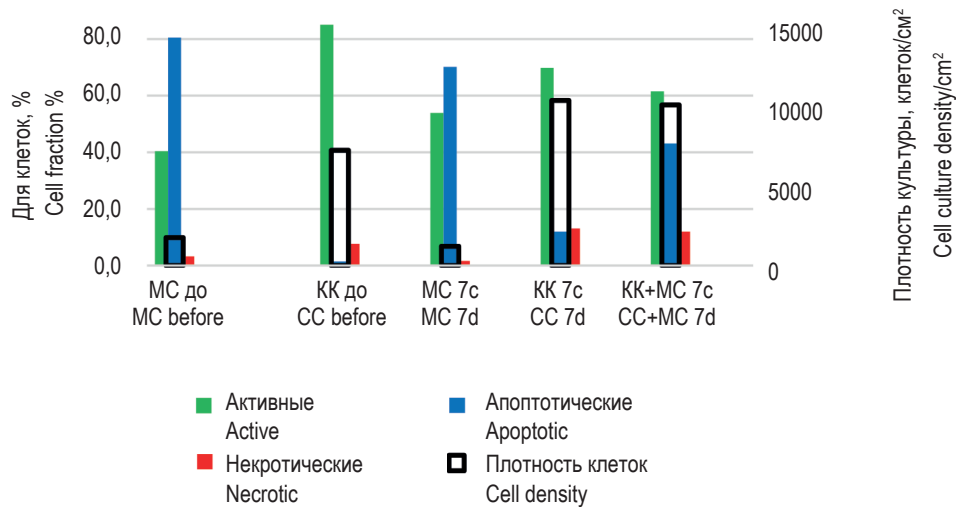


Рисунок 3. Показатели цитометрии при совместное культивирование постоянной линии тучных клеток человека НМС-1 и кумулюсных клеток здоровых доноров

Figure 3. Cytometry parameters in the co-cultivation of a permanent line of human mast cells HMC-1 and cumulus cells of healthy donors

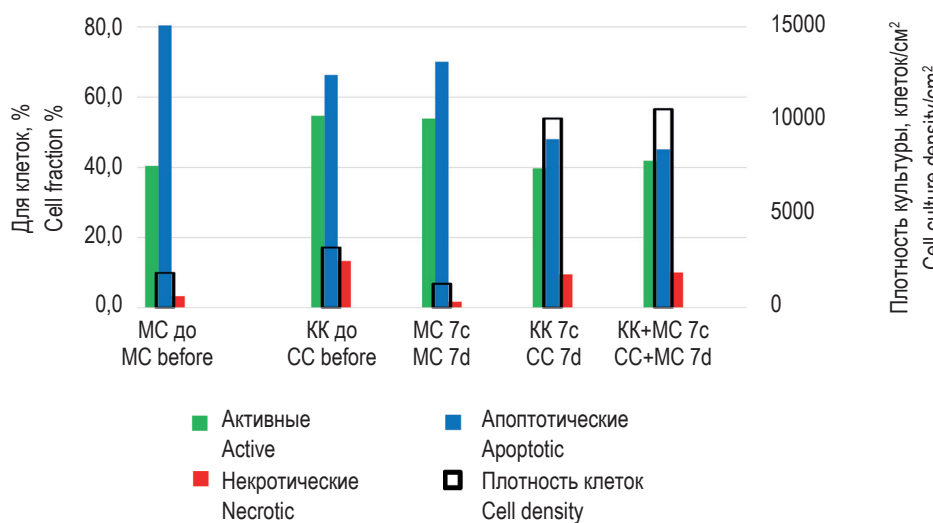


Рисунок 4. Показатели цитометрии при совместном культивирование постоянной линии тучных клеток человека НМС-1 и кумулюсных клеток пациенток с синдромом поликистозных яичников

Figure 4. Cytometry parameters in the joint cultivation of a permanent line of human mast cells HMC-1 and cumulus cells of patients with polycystic ovary syndrome

но состояние при совместном культивировании КК от пациенток с СПКЯ и МС.

Характеристики КК пациенток с СПКЯ и здоровых доноров отличались изначально со

значимым превышением как количества, так и функциональной активности у клеток здоровых лиц. У пациенток СПКЯ плотность клеток изначально составила 3024 клетки/см²; активных

клеток 54,7%, а на 7-е сутки плотность клеток увеличилась до 9516 клеток/см², но при этом процент активных клеток снизился до 39,7% (рис. 3). У здоровых доноров плотность клеток изначально составила 7187 клеток /см² и активных клеток было 86,9%, а на 7-е сутки плотность клеток увеличилась до 10285 клеток/см², но при этом активных клеток было 69,8% (рис. 4). При совместном культивировании КК и МС плотность клеток нарастала, но количество активных клеток на 7-е сутки было все равно выше у здоровых доноров, что подтверждает данные, полученные нами при исследовании продукции цитокинов клеточными культурами. В заключение, мы хотели отметить, что исследуемые нами цитокины являются регуляторами функции кумулюсных клеток яичника и факторами повышающими компетент-

ность ооцита свидетельствующие о необходимости их коррекции, что позволит реально влиять на звенья патогенеза в СПКЯ в дальнейшем.

Благодарности

Благодарность за техническую поддержку экспериментального исследования авторы статьи выражают Федеральному государственному бюджетному учреждению науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук сотрудникам лаборатории клеточных технологий; Грачевой Алине Максимовне, главному врачу клиники репродукции и генетики Next Generation Clinic, г. Владивосток; клинике «Пластэк хирургия», г. Владивосток.

Список литературы / References

1. Адамян Л.В., Андреева Е.Н., Абсаратова Ю.С., Григорян О.Р., Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Сутурин Л.В., Филиппов О.С., Чернуха Г.Е., Шереметьева Е.В., Ярмолинская М.И. Синдром поликистозных яичников в репродуктивном возрасте (современные подходы к диагностике и лечению): Клинические рекомендации (протокол лечения) // Проблемы эндокринологии, 2022, Т. 68, № 2. С. 112-127. [Adamyany L.V., Andreeva E.N., Absatarova Y.S., Grigoryan O.R., Dedov I.I., Melnichenko G.A., Suturina L.V., Filippov O.S., Sheremetyeva E.V., Chernukha G.E., Yarmolinskaya M.I. Clinical guidelines "Polycystic Ovary Syndrome". *Problemy endokrinologii = Problems of Endocrinology*, 2022, Vol. 68, no. 2, pp. 112-127. (In Russ.)]
2. Elieh Ali Komi D., Shafaghat F., Haidl G. Significance of mast cells in spermatogenesis, implantation, pregnancy, and abortion: Cross talk and molecular mechanisms. *Reprod. Immunol.*, 2020, Vol. 83, no. 5, e13228. doi: 10.1111/aji.13228.
3. Goodman N.F., Cobin R.H., Futterweit W., Glueck J.S., Legro R.S., Carmina E.; American Association of Clinical Endocrinologists (AACE); American College of Endocrinology (ACE); Androgen Excess and PCOS Society (AES). American Association of Clinical Endocrinologists, American College of Endocrinology, and Androgen Excess and PCOS Society Disease State Clinical Review: Guide to the Best Practices in the Evaluation and Treatment of Polycystic Ovary Syndrome – Part 1. *Endocr. Pract.*, 2015, Vol. 21, no. 11, pp. 1291-1300.
4. Heider U., Pedal I., Spanel-Borowski K.. Increase in nerve fibers and loss of mast cells in polycystic and postmenopausal ovaries. *Fertil. Steril.*, 2001, Vol. 75, no. 6, pp. 1141-1147.
5. Jutel M., Agache I., Zemelka-Wiacek M., Akdis M., Chivato T., Del Giacco S., Gajdanowicz P., Gracia I.E., Klimek L., Lauerma A., Ollert M., O'Mahony L., Schwarze J., Shamji M.H., Skypala I., Palomares O., Pfaar O., Torres M.J., Bernstein J.A., Cruz A.A., Durham S.R., Galli S.J., Gómez R.M., Guttman-Yassky E., Haahtela T., Holgate S.T., Izuhara K., Kabashima K., Larenas-Linnemann D.E., von Mutius E., Nadeau K.C., Pawankar R., Platts-Mills T.A.E., Sicherer S.H., Park H.S., Vieths S., Wong G., Zhang L., Bilò M.B., Akdis C.A. Nomenclature of allergic diseases and hypersensitivity reactions: Adapted to modern needs: An EAACI position paper. *Allergy. Eur. J. Allergy Clin. Immunol.*, 2023, Vol. 78, no. 11, pp. 2851-2874.
6. Krishna A., Beesley K., Terranova P.F. Histamine, mast cells and ovarian function. *Am. J. Endocrinol.*, 1989, Vol. 120, no. 3, pp. 363-371.
7. Liu Z., de Matos D.G., Fan H.Y., Shimada M., Palmer S., Richards J.S. Interleukin-6: an autocrine regulator of the mouse cumulus cell-oocyte complex expansion process. *Am. J. Endocrinol.*, 2009, Vol. 150, no. 7, pp. 3360-3368.
8. Piccinni M.P. Role of T-cell cytokines in decidua and in cumulus oophorus during pregnancy. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 2007, Vol. 64, no. 3, pp. 144-148.
9. Richards J.S. Genetics of ovulation. *Semin Reprod. Med.*, 2007, Vol. 25, no. 4, pp. 235-242.
10. Shimada M., Hernandez-Gonzalez I., Gonzalez-Robanya I., Richards J.S. Induced expression of pattern recognition receptors in cumulus oocyte complexes: novel evidence for innate immune-like functions during ovulation. *Mol Endocrinol.*, 2006, Vol. 20, no. 12, pp. 3228-3239.
11. Thibault C., Levasseur M.C. Ovulation. *Hum. Reprod.*, 1988, Vol. 3, no. 4, pp. 513-523.

12. Wang C., Feng G., Shu J., Zhou H., Zhang B., Chen H., Lin R., Gan X., Wu Z., Wei T. Cumulus oophorus complexes favor physiologic selection of spermatozoa for intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.*, 2018, Vol. 109, no. 5, pp. 823-831.
13. Wang J., Yin T., Liu S. Dysregulation of immune response in PCOS organ system. *Front. Immunol.*, 2023, Vol. 14, 1169232. doi: 10.3389/fimmu.2023.1169232.
14. Weidinger S., Mayerhofer A., Frungieri M.B., Meineke V., Ring J., Kohn F.M. Mast cell-sperm interaction: evidence for tryptase and proteinase-activated receptors in the regulation of sperm motility. *Hum. Reprod.*, 2003, Vol. 18, no. 12, pp. 2519-2524.

Авторы:

Валикова О.В. — младший научный сотрудник, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, врач-эндокринолог ГБУЗ Краевая клиническая больница № 2; Клиника «Пластэк хирургия», г. Владивосток, Россия

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

Authors:

Valikova O.V., Junior Research Associate, Pacific State Medical University; Endocrinologist, Regional Clinical Hospital No. 2; Clinic "Plastic Surgery", Vladivostok

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

Тихонов Я.Н. — старший преподаватель кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Борода А.В. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, заместитель директора по научной работе, ФГБУН «Национальный научный центр морской биологии имени А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук, г. Владивосток, Россия

Колбин К.Г. — к.б.н., эмбриолог, Клиника репродукции и генетики “Next Generation Clinic”, г. Владивосток, Россия

Tikhonov Ya.N., Senior Lecturer, Department of Pathological Anatomy, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Boroda A.V., PhD, Senior Research Associate, Laboratory of Cell Technology, Deputy Director for Scientific Activities, A. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far East Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russian Federation

Kolbin K.G., PhD (Biology), Embryologist, Clinic for Reproduction and Genetics “Next Generation Clinic”, Vladivostok, Russian Federation

Поступила 31.03.2024
Отправлена на доработку 03.04.2024
Принята к печати 24.04.2024

Received 31.03.2024
Revision received 03.04.2024
Accepted 24.04.2024

ВЛИЯНИЕ КОМПОЗИЦИОННОГО СОСТАВА НА ОСНОВЕ ЭКЗОМЕТАБОЛИТОВ *SACCHAROMYCES BOULARDII* В ОТНОШЕНИИ ПАТОГЕННЫХ И ПЕРСИСТЕНТНЫХ СВОЙСТВ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA*

Барышникова Н.В., Васева Е.М., Сивкова Д.С., Борисенко А.И.,
Малишевская О.И., Приходько Ю.С., Николенко М.В.

ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
г. Тюмень, Россия

Резюме. Клинические проявления микозов широко варьируют от слабовыраженных повреждений слизистых до тяжелых инвазивных форм. В настоящее время на фармацевтическом рынке представлен широкий спектр антимикотических препаратов, включающих в себя пероральные и инъекционные препараты системного и наружного, местного применения. Разная степень эффективности, обусловлена химической структурой и особенностями фармакокинетики. Существенную проблему представляют рецидивы кандидоза слизистых оболочек. Одним из возможных вариантов решения этой проблемы можно рассматривать использование экзометаболитов бактериального или грибкового происхождения, воздействующих на морфофункциональные структуры грибов рода *Candida spp.* Целью исследования было получение бесклеточного супернатанта *Saccharomyces boulardii* (*S. boulardii*) и экстрактов трав, являющихся основой композиции с профилактическим действием против грибов рода *Candida*. Авторами предложен композиционный состав на основе экзометаболита *S. boulardii* и экстрактов трав для профилактики кандидоза. Контролем служил пропиленгликоль. Эффективность композиции оценивали на клинических изолятах *C. albicans*, *C. glabrata* и *C. krusei*, выделенных из вагинального биотопа в разведении 10^3 - 10^6 КОЕ/мл. На первом этапе изучили влияние метаболитов *S. boulardii*, на биологические свойства грибов. Далее определяли фунгицидную активность метаболитов и экстрактов методом серийных разведений в отношении изолятов микромицетов. На заключительном этапе исследовали влияние композиционного состава с наиболее эффективными экстрактами. Под влиянием супернатанта *S. boulardii* микромицеты утратили способность формировать ростовые трубки, наблюдалось снижение каталазной активности *Candida spp.* как при носитель-

Адрес для переписки:

Барышникова Наталья Викторовна
ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения РФ
625023, Россия, г. Тюмень, ул. Одесская, 54.
Тел.: 8 (3452) 69-07-82, 8 (912) 397-52-32.
E-mail: barnv7600@mail.ru

Address for correspondence:

Natalia V. Baryshnikova
Tyumen State Medical University
54 Odesskaya St
Tyumen
625023 Russian Federation
Phone: +7 (3452) 69-07-82, +7 (912) 397-52-32.
E-mail: barnv7600@mail.ru

Образец цитирования:

Н.В. Барышникова, Е.М. Васева, Д.С. Сивкова,
А.И. Борисенко, О.И. Малишевская, Ю.С. Приходько,
М.В. Николенко «Влияние композиционного состава
на основе экзометаболитов *Saccharomyces boulardii*
в отношении патогенных и персистентных свойств
грибов рода *Candida*» // Российский иммунологический
журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 493-498.
doi: 10.46235/1028-7221-16693-TIO

© Барышникова Н.В. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

N.V. Baryshnikova, E.M. Vaseva, D.S. Sivkova,
A.I. Borisenok, O.I. Malishevskaya, Yu.S. Prikhodko,
M.V. Nikolenko "The influence of a composition based on
exometabolites of *Saccharomyces boulardii* in relation to
the pathogenic and persistent properties of fungi of the genus
Candida", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 493-498.
doi: 10.46235/1028-7221-16693-TIO

© Baryshnikova N.V. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16693-TIO

стве, так и при болезни. Экзометаболиты достоверно снижали способность к пленкообразованию у культур, выделенных от больных вагинальным кандидозом. Наибольшую эффективность среди экстрактов показали экстракты зверобоя продырявленного и кориандра. Фунгицидные свойства композиции сохранялись на протяжении 12 часов после соинкубирования со всеми изолятами *Candida spp.* Таким образом, композиция эффективна как в отношении *C. albicans*, так и *C. non-albicans* при носительстве и болезни.

Ключевые слова: *Candida*, кандидоз, супернатант, биопленкообразование, морфогенез, каталаза

THE INFLUENCE OF A COMPOSITION BASED ON EXOMETABOLITES OF *SACCHAROMYCES BOULARDII* IN RELATION TO THE PATHOGENIC AND PERSISTENT PROPERTIES OF FUNGI OF THE GENUS *CANDIDA*

Baryshnikova N.V., Vaseva E.M., Sivkova D.S., Borisenok A.I., Malishevskaya O.I., Prikhodko Yu.S., Nikolenko M.V.

Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

Abstract. Clinical manifestations of mycoses vary widely from mild mucosal damage to severe invasive forms. Currently, the pharmaceutical market offers a wide range of antimycotic drugs, including oral and injectable drugs for systemic and external and local use. Varying degrees of effectiveness are due to the chemical structure and pharmacokinetics. A significant problem is the recurrence of mucosal candidiasis. One of the possible solutions to this problem can be considered the use of exometabolites of bacterial or fungal origin, affecting the morphofunctional structures of fungi of the genus *Candida spp.* The purpose of the study was to obtain cell-free supernatant of *Saccharomyces boulardii* (*S. boulardii*) and herbal extracts, which are the basis of a composition with a preventive effect against fungi of the genus *Candida*. The authors proposed a composition based on the exometabolite of *S. boulardii* and herbal extracts for the prevention of candidiasis. Propylene glycol served as a control. The effectiveness of the composition was assessed on clinical isolates of *C. albicans*, *C. glabrata* and *C. krusei* isolated from the vaginal biotope at a dilution of 10^3 - 10^6 CFU/mL. At the first stage, we studied the effect of *S. boulardii* metabolites on the biological properties of fungi. Next, the fungicidal activity of metabolites and extracts was determined by serial dilution against micromycete isolates. At the final stage, the effect of the composition with the most effective extracts was studied. Under the influence of the supernatant of *S. boulardii*, micromycetes lost the ability to form growth tubes, and a decrease in the catalase activity of *Candida spp.* was observed both during carriage and disease. Exometabolites significantly reduced the ability to form film in cultures isolated from patients with vaginal candidiasis. The most effective among the extracts were the extracts of St. John's wort and coriander. The fungicidal properties of the composition were maintained for 12 hours after co-incubation with all isolates of *Candida spp.* Thus, the composition is effective against both *C. albicans* and *C. non-albicans* carriage and disease.

Keywords: *Candida*, candidiasis, supernatant, biofilm formation, morphogenesis, catalase

Введение

Среди микотических оппортунистических инфекций кандидоз, вызванный грибами рода *Candida*, играет ведущую роль. В подавляющем большинстве случаев (85-90%) возбудителем кандидоза является *Candida albicans* (*C. albicans*), наиболее патогенный и значимый в клинической практике вид. Среди остальных видов *Candida sp.* клиническое значение имеют преиму-

щественно *Candida glabrata* (*C. glabrata*) – 5-10%, *Candida tropicalis* (*C. tropicalis*) – 3-5%, *Candida parapsilosis* (*C. parapsilosis*) – 3-5%, *Candida krusei* (*C. krusei*) – 1-3%, а также *Candida guilliermondi* (*C. guilliermondi*) и значительно реже – *Candida pseudotropicalis* (*C. pseudotropicalis*) [3, 10, 11].

Последнее десятилетие наблюдается устойчивая тенденция к росту кандидозов. Около 75% женщин за всю жизнь имеет хотя бы один эпизод

вагинального кандидоза (ВК), доминирующим возбудителем которого является *C. albicans*. Около 50% пациенток фиксируют 2 и более эпизодов ВК на протяжении своей жизни. Примерно 15% женщин являются бессимптомными носителями грибов [9, 14]. Зачастую ВК протекает как рецидивирующая инфекция, трудно поддающаяся лечению. Ежегодно в мире фиксируется около 3 млн случаев рецидивирующих форм кандидоза, что является достаточно серьезным вызовом. Исходя из имеющихся данных, можно предположить, что заболеваемость ВК будет возрастать вследствие роста инфицирования грибами рода *Candida* других видов, обладающих резистентностью к большинству антимикотических препаратов. Анализ распространенности заболевания в разных возрастных группах показал, что чаще всего ВК страдают женщины репродуктивного возраста от 21 до 40 лет [9]. Решение данной проблемы может быть многосторонним. Получение композиции, содержащей экзометаболиты и экстракты трав, может стать одним из возможных вариантов комбинированного терапевтического подхода.

Материалы и методы

Эффективность композиции оценивали на 17 клинических изолятах *C. albicans*, 6 штаммов *C. glabrata* и 5 штаммов *C. krusei*, выделенных из вагинального биотопа в разведении 10^3 - 10^4 КОЕ/мл и от больных вагинальным кандидозом с высеваемостью 10^6 КОЕ/мл. Бесклеточный супернатант из *Saccharomyces boulardii* (*S. boulardii*) получали по методике Маркова А.А. с соавт [6]. Культивирование *S. boulardii* проводилось на бульоне Шедлера при 37 °С в течение 24 часов.

Биологические свойства дрожжей в условиях межмикробных взаимоотношений изучали, добавляя в питательную среду стерильный бесклеточный супернатант.

Стерильность метаболитов проверяли путем посева на 5% кровяной агар с последующим инкубированием при 37 °С в течение 24 ч.

Полученный экзометаболит *S. boulardii* являлся основой предлагаемой композиции с профилактическим действием против грибов рода *Candida*. В состав композиции добавлялись экстракты трав полыни горькой, розы лепестков высококонцентрированный, хвоща, шалфея, ромашки аптечной, коры осины, зверобоя продырявленного, донника, коры березы, масло полыни таврической, масло кориандра. Получено было 11 образцов. Контролем служил пропиленгликоль.

В первой серии экспериментов изучали влияние метаболитов *S. boulardii* на биологические

свойства грибов: пролиферации [8], морфогенеза [13], пленкообразование [7] и каталазы [1].

Во второй серии исследований определялась фунгицидная активность метаболитов методом серийных разведений [4] на *Candida spp.* каждые 6, 12, 18 и 24 часа.

Следующий этап включал изучение фунгицидной активности экстрактов на предложенные изоляты микромицетов.

На заключительном этапе изучалось влияние композиционного состава: бесклеточный супернатант с наиболее эффективными экстрактами зверобоя продырявленного и масла кориандра.

Статистическую обработку материалов и графическое изображение результатов осуществляли с использованием программ: Primer of Biostatics Version 4.03 by Stanton A. Glantz, 1998; Microsoft Office Excel 2010. Определяли M – среднее арифметическое, δ – среднее квадратичное отклонение, m – средняя ошибка среднего арифметического, данные представляли по форме $M \pm m$ или $M \pm \delta$. В случае соответствия сравниваемых выборок нормальному закону распределения (по χ^2) использовали t – критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение

В ряде экспериментов была установлена минимальная действующая концентрация экзометаболитов, оптимальное время соинкубирования, исключающее рост грибов. Также был подобран наиболее действенный состав экстрактов, ингибирующих *Candida spp.*

Доказано, что под влиянием бесклеточного супернатанта *S. boulardii* микромицеты грибов утратили способность формировать ростовые трубки – важнейший фактор патогенности. Воздействие экзометаболитов *S. boulardii* способствовало утрате возможности образовывать псевдомицелий, регистрировались единичные клетки, деформированные очень крупные или наоборот мелкие. Морфогенез дрожжей в гифальные элементы может быть отнесен к факторам патогенности, так как встречается только у больных инвазивным кандидозом, в то время как для состояния носительства и не инвазивного кандидоза характерно нахождение грибов на поверхности эпителия [12].

В настоящее время описаны следующие морфологические варианты *Candida sp.*: дрожжи, гифальные элементы (несептированный мицелий) и псевдогифы (псевдомицелий) – тонкие удлиненные клетки, расположенные друг за другом в виде нитей и не имеющие общей оболочки. Установлено, что штаммы *C. albicans*, не образующие псевдогиф и настоящего мицелия, постепенно теряют вирулентность.

Наблюдалось снижение каталазной активности *Candida spp.* всех изучаемых культур как при носительстве, так и при болезни под влиянием метаболитов. Каталаза — гемсодержащий фермент, защищающий от действия перекиси водорода эндогенного и экзогенного происхождения.

Экзометаболиты достоверно снижали способность к пленкообразованию у культур, выделенных от больных вагинальным кандидозом с высеваемостью 10^6 КОЕ/мл ($p < 0,05$).

Для усиления действия композиции в отношении *Candida spp.* использовали экстракты растений. Наибольшую эффективность показали экстракты зверобоя продырявленного и кориандра, которые влияли на пролиферативные свойства грибов, ингибируя их рост. В химический состав данных экстрактов входят флавоноиды и эфирные масла. Флавоноиды — это обширная группа фенольных соединений, которая относится к продуктам метаболизма растений и играет важнейшую роль в их росте и жизнедеятельности. Изменяя проницаемость цитоплазматической мембраны микроорганизмов, флавоноиды способствуют выходу ионов калия из клетки. Нарушение ионных градиентов ведет к изменению водного баланса и гибели клеток грибов [5].

Экспериментальными исследованиями установлено, что наряду с подавлением роста эфир-

ные масла обладали способностью к инактивации факторов персистенции грибов рода *Candida*. Следующая серия экспериментов позволила определить, что фунгицидные свойства композиции сохраняются на протяжении 12 часов после соинкубирования со всеми изолятами *Candida spp.* [2].

Формирование кандидозной биопленки происходит через три отличные друг от друга фазы роста, в течение которых происходит преобразование отдельных бластоспор в четкие клеточные сообщества с матрицей из полисахарида, заключенные в кожух волокнистой структуры [2].

Заключение

Таким образом, композиция, в состав которой входит бесклеточный супернатант *S. boulardii* и экстракты трав кориандра и зверобоя продырявленного, эффективна как в отношении *C. albicans*, так и *C. non-albicans* при носительстве и болезни.

Благодарности

Исследования проведены коллективом за счет средств программы «Приоритет 2030». Коллектив авторов выражает благодарность ректору Тюменского ГМУ И.М. Петрову, проректору по научно-исследовательской работе и инновационной политике Е.Б. Храмовой.

Список литературы / References

1. Бухарин О.В. Проблемы персистенции патогенов в инфектологии // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии, 2006. № 4. С. 4-8. [Bukharin O.V. Problems of pathogen persistence in infectology. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2006, no. 4, pp. 4-8. (In Russ.)]
2. Капустина О.А., Карташова О.Л. Факторы патогенности грибов рода *Candida* и возможность их регуляции эфирными маслами // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2013. № 1. С. 1-10. [Kapustina O.A., Kartashova O.L. Factors of pathogenicity of fungi of the genus *Candida* and the possibility of their regulation by essential oils. *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2013, no. 1, pp. 1-10. (In Russ.)]
3. Климко Н.Н., Васильева Н.В., Антонов В.Б. Проект рекомендаций по лечению кандидоза // Проблемы медицинской микологии, 2001. Т. 3. № 3. С. 12-25. [Klimko N.N., Vasilyeva N.V., Antonov V.B. Draft recommendations for the treatment of candidiasis. *Problemy meditsinskoj mikologii = Problems in Medical Mycology*, 2001, Vol. 3, no. 3, pp. 12-25. (In Russ.)]
4. Клиническая лабораторная диагностика / под ред. В.В. Меншикова. Лабинформ – РАМЛД. 1999. 352 с. [Clinical laboratory diagnostics / ed. V.V. Menshikov]. Labinform, RAMLD, 1999. 352 p.
5. Куркин В.А., Куркина А.В., Авдеева Е.В. Флавоноиды как биологически активные соединения лекарственных растений // Фундаментальные исследования, 2013. № 11-9. С. 1897-1901. [Kurkin V.A., Kurkina A.V., Avdeeva E.V. The flavonoids as biologically active compounds of medicinal plants. *Fundamentalnye issledovaniya = Fundamental Research*, 2013, no. 11-9, pp. 1897-1901. (In Russ.)]
6. Марков А.А., Тимохина Т.Х., Перунова Н.Б., Паромова Я.И. Регулирующее влияние экзометаболитов *Bifidobacterium bifidum* на пролиферативную активность условно-патогенных микроорганизмов // Вестник Смоленской государственной медицинской академии, 2018. № 1 (17). С. 56-62. [Markov A.A., Timokhina T.Kh., Perunova N.B., Paromova Ya.I. Regulatory effect of exometabolites *Bifidobacterium bifidum* on the proliferative activity of conditionally pathogenic microorganisms. *Vestnik Smolenskoy gosudarstvennoy meditsinskoj akademii = Bulletin of the Smolensk State Medical Academy*, 2018, no. 1 (17), pp. 56-62. (In Russ.)]
7. Николенко М.В., Барышникова Н.В., Малишевская О.И., Еноктаева О.В., Васева Е.М. Изучение динамики биопленкообразования *Candida sp.* в течение суток модифицированным макрометрическим

методом // Инфекция и иммунитет, 2022. Т.12, № 6. С. 1129-1135. [Nikolenko M.V., Baryshnikova N.V., Malishevskaya O.I., Enoктаeva O.V., Vaseva E.M. A 24-hour Candida sp. biofilm formation dynamically assessed with modified macrometric method. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, Vol. 12, no. 6, pp. 1129-1135. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-АНС-1929.

8. Патент на изобретение № 2285258 РФ Способ диагностики госпитальных штаммов / Э.А. Кашуба, Т.Х. Тимохина, Н.А. Курлович.; опуб. 27.04.2006 // Бюллетень, 2006, № 28. 11 с. [The patent for the invention № 2285258 of the Russian Federation. Ability to diagnose hospital strains / E.A. Kashuba, T.H. Timokhina, N.A. Kurlovich.; publ. 27/04/2006. // Bull. 2006, no. 28. 11 p. (In Russ.)]

9. Руководство по амбулаторно-поликлинической помощи в акушерстве и гинекологии / под ред. В.Н. Серова, Г.Т. Сухих, В.Н. Прилепской, В.Е. Радзинского. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. 1136 с. [Guidelines for outpatient care in obstetrics and gynecology / ed. V.N. Serova, G.T. Suhih, V.N. Prilepskoj, V.E. Radzinskogo]. Moscow: GEOTAR-Media, 2018. 1136 p.

10. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции: Руководство для врачей. М.: Биномпресс, 2003. 440 с. [Sergeev A.Yu., Sergeev Yu.V. Fungal infections: A guide for doctors]. Moscow: Binompress, 2003. 440 p.

11. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Кандидоз: Природа инфекции, механизмы агрессии и защиты, лабораторная диагностика, клиника и лечение. М.: Триада-Х, 2001. 472 с. [Sergeev A.Yu., Sergeev Yu.V. Candidiasis: Nature of infection, mechanisms of aggression and defense, laboratory diagnostics, clinical picture and treatment]. Moscow: Triada-X, 2001. 472 p.

12. Шевяков М.А. Кандидоз пищевода: диагностика и современный выбор лечения // Лечащий врач, 2008. № 9. С. 16-18. [Shevyakov M.A. Esophageal candidiasis: diagnosis and modern choice of treatment. *Lechashchiy vrach = Attending Physician*, 2008, no. 9, pp. 16-18. (In Russ.)]

13. Candida. Кандидозы. Лабораторная диагностика / Н.П. Елинов, Н.В. Васильева, А.А. Степанова, Г.А. Чилина, под ред. Н.П. Елинова. СПб.: Коста, 2010. 224 с. [Candida. Candidiasis. Laboratory diagnostics / N.P. Elinov, N.V. Vasilyeva, A.A. Stepanova, G.A. Chilina, ed. N.P. Elinova]. St. Petersburg: Costa, 2010. 224 p.

14. Mendling W. Guideline vulvovaginal candidosis of the German Society for gynecology and Obstetrics, the Working Group for Infections and Infectimmynology in Gynecology and Obstetrics. *Mucoses*, 2012, Vol. 55, Suppl. 3, pp. 1-13.

Авторы:

Барышникова Н.В. — старший преподаватель кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Тюмень, Россия

Васева Е.М. — к.фарм.н., доцент кафедры фармацевтических дисциплин ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Тюмень, Россия

Сивкова Д.С. — ассистент кафедры микробиологии, младший научный сотрудник лаборатории микробиома, регенеративной медицины и клеточных технологий ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Тюмень, Россия

Authors:

Baryshnikova N.V., Senior Lecturer, Department of Microbiology, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

Vaseva E.M., PhD (Pharmaceuticals), Associate Professor, Department of Pharmaceutical Disciplines, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

Sivkova D.S., Assistant Professor of the Department of Microbiology, Junior Research Associate of the Laboratory of Microbiome, Regenerative Medicine and Cellular Technologies, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

Борисенок А.И. — к.фарм.н., доцент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Тюмень, Россия

Малишевская О.И. — к.фарм.н., доцент кафедры фармацевтических дисциплин ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Тюмень, Россия

Приходько Ю.С. — ассистент кафедры фармацевтических дисциплин ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Тюмень, Россия

Николенко М.В. — д.б.н., профессор кафедры микробиологии, заведующий лабораторией микробиома, регенеративной медицины и клеточных технологий ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Тюмень, Россия

Borisenok A.I., PhD (Pharmaceuticals), Associate Professor, Department of Microbiology, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

Malishevskaya O.I., PhD (Pharmaceuticals), Associate Professor, Department of Pharmaceutical Disciplines, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

Prikhodko Yu.S., Assistant Professor, Department of Pharmaceutical Disciplines, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

Nikolenko M.V., PhD, MD (Biology), Professor of Microbiology Department, Head of the Laboratory of Microbiome, Regenerative Medicine and Cellular Technologies, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

Поступила 28.03.2024

Отправлена на доработку 06.04.2024

Принята к печати 18.04.2024

Received 28.03.2024

Revision received 06.04.2024

Accepted 18.04.2024

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ ТРАНСЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ТРАНСПОРТА ЛПНП И МИГРАЦИИ МАКРОФАГОВ

Чередниченко В.Р.¹, Хованцева У.С.¹, Кузьмин В.В.²,
Чертович Н.Ф.¹, Маркин А.М.¹

¹ ГНЦ РФ ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

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

Резюме. Атеросклероз можно рассматривать как многофакторный процесс, включающий различные патологические механизмы, такие как воспаление, модификация липопротеинов, накопление холестерина, дисфункция эндотелия, окислительный стресс и, в конечном счете, образование атеросклеротической бляшки. Основными участниками развития данного заболевания являются эндотелиальные клетки, лейкоциты и гладкомышечные клетки интимы. Эндотелий взрослого человека содержит гетерогенные клетки, включая типичные эндотелиальные клетки (ТЭК) и гигантские многоядерные варианты ЭК (МВЭК). Процесс пропускания молекул называется трансэндотелиальным транспортом (ТЭТ).

Цель данной работы: моделирование процессов трансэндотелиального транспорта липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и миграции моноцитов с использованием различных вариантов эндотелиальных клеток.

В настоящем исследовании использовали клеточную линию эндотелиальных клеток (ЭК) человека (EA.hy926). Многоядерные варианты эндотелиальных клеток (МВЭК) получали путем обработки ЭК 50%-ным раствором полиэтиленгликоля 6000. Для исследования трансцитоза ЛПНП и миграции моноцитов использовали планшеты со вставками (0,4 или 3,0 мкм диаметр пор, соответственно), формирующими двухуровневую систему. Скорость пропускания ЛПНП оценивали путем измерения количества холестерина в верхней и нижней камере через каждые 2, 5 и 24 часа. Для измерения количества холестерина использовали модифицированный метод Фолча. Содержание холестерина корректировали по общему уровню белка в лунке, измеренному методом Лоури. Миграцию макрофагов оценивали прямым подсчетом количества клеток.

Содержание интернализированного холестерина в МВЭК было статистически значимо выше, чем в ЭК, в то время как скорость транспорта ЛПНП не различалась. Скорость прохождения макрофагами эндотелиального барьера, сформированного МВЭК, была выше в точках 2 и 5 часов, однако через 24 часа количество мигрировавших клеток не отличалось.

Адрес для переписки:

Чередниченко Вадим Романович
ГНЦ РФ ФГБНУ «Российский научный центр хирургии
имени академика Б.В. Петровского»
119435, Россия, Москва, Абрикосовский пер., 2.
Тел.: 8 (920) 429-70-30.
E-mail: cherednichenko_vadim@bk.ru

Address for correspondence:

Vadim R. Cherednichenko
Petrovsky National Research Centre of Surgery
2 Abrikosovsky Lane
Moscow
119435 Russian Federation
Pphone: +7 (920) 429-70-30.
E-mail: cherednichenko_vadim@bk.ru

Образец цитирования:

В.Р. Чередниченко, У.С. Хованцева, В.В. Кузьмин,
Н.Ф. Чертович, А.М. Маркин «Моделирование
процессов трансэндотелиального транспорта
ЛПНП и миграции макрофагов» // Российский
иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 499-504.
doi: 10.46235/1028-7221-16678-MTP

© Чередниченко В.Р. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

V.R. Cherednichenko, U.S. Khovantseva, V.V. Kuzmin,
N.F. Chertovich, A.M. Markin "Modeling the processes
of transendothelial transport of LDL and macrophage
migration", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 499-504.
doi: 10.46235/1028-7221-16678-MTP

© Cherednichenko V.R. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16678-MTP

Обнаружено, что скорость трансэндотелиального транспорта для типичных и многоядерных вариантов эндотелиальных клеток статистически не различается через 2, 5 и 24 часа. Хотя наличие МВЭК не влияет на транспорт липопротеидов в субэндотелиальный слой, тот факт, что многоядерные клетки аккумулируют липидные капли активнее, чем типичные ЭК, может указывать на важное значение в патогенезе атеросклероза. Скорость миграции макрофагов спустя 2 и 5 часов была выше для МВЭК, чем для ТЭК, тогда как незрелые макрофаги в течение 24 часов не мигрировали через эндотелиальный барьер.

Ключевые слова: эндотелий, эндотелиальные клетки, многоядерные варианты эндотелиальных клеток, липопротеиды низкой плотности, моноциты, макрофаги, трансэндотелиальный транспорт, миграция, атеросклероз, EA.hy926

MODELING THE PROCESSES OF TRANSENDOTHELIAL TRANSPORT OF LDL AND MACROPHAGE MIGRATION

Cherednichenko V.R.^a, Khovantseva U.S.^a, Kuzmin V.V.^b,
Chertovich N.F.^a, Markin A.M.^a

^a Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russian Federation

^b Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Abstract. Atherosclerosis is a multifactorial process involving various pathological mechanisms: inflammation, lipoprotein modification, cholesterol accumulation, endothelial dysfunction, oxidative stress and formation of atherosclerotic plaque. The main participants in the development of this disease are endothelial cells, leukocytes and smooth muscle cells of intima. The adult endothelium contains heterogeneous cells, including typical endothelial cells (TEC) and giant multinucleated EC variants (MVEC). The process of passing molecules is called transendothelial transport (TET). The purpose of this work is to model the processes of TET of low-density lipoproteins (LDL) and monocyte migration using various EC variants. In the study, a human EC line (EA.hy926) was used. Multicore variants of EC (MVEC) were obtained by treating EC with a 50% solution of polyethylene glycol 6000. To study LDL transcytosis and monocyte migration, tablets with inserts (0.4 or 3.0 micron pore diameter, respectively) forming a two-level system were used. The LDL transmission rate was assessed by measuring the amount of cholesterol in the upper and lower chambers every 2, 5 and 24 hours. A modified Folch method was used to measure the amount of cholesterol. The cholesterol content was adjusted according to the total protein level in the well, measured by the Lowry method. The migration of macrophages was estimated by direct counting of cells. The content of internalized cholesterol in the MVEC was statistically significantly higher than in the EC. The rate of LDL transport did not differ. The rate of passage of the endothelial barrier formed by MVEC by macrophages was higher at points 2 and 5 hours. After 24 hours the number of migrated cells did not differ. The rate of transendothelial transport for typical and multinucleated variants of EC did not statistically differ. Although the presence of MBEC does not affect the transport of lipoproteins into the subendothelial layer, the fact that multinucleated cells accumulate lipid droplets more actively than typical ECS may indicate an important role in the pathogenesis of atherosclerosis. The rate of macrophage migration after 2 and 5 hours was higher for MVEC than for TEC, whereas immature macrophages did not migrate through the endothelial barrier for 24 hours.

Keywords: endothelium, endothelial, multinucleated variant endothelial cells, low-density lipoproteins, monocytes, macrophages, transendothelial transport, migration, atherosclerosis, EA.hy926

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (НИОКТР № 123030700024-4).

Введение

Атеросклероз представляет собой хроническое иммуновоспалительное заболевание средних и

крупных артерий. Атеросклероз можно рассматривать как многофакторный процесс, включающий различные патологические механизмы, такие как воспаление, модификация липопротеинов, накопление холестерина, дисфункция эндотелия, окислительный стресс и, в конечном счете, образование атеросклеротической бляш-

ки. Основными участниками развития данного заболевания являются эндотелиальные клетки, лейкоциты и гладкомышечные клетки интимы. В результате атеросклеротического изменения стенки сосудов утрачивают эластичность, атеросклеротические бляшки постепенно увеличиваются и закрывают просвет сосуда, что ведет к нарушению кровоснабжения внутренних органов. Огромное количество исследований к настоящему моменту не может в полной мере дать ответ на вопрос о начале развития атеросклеротического поражения. В России атеросклерозом страдает до 30% взрослого населения в возрасте до 45 лет, и до 80% в возрасте после 60 лет [8, 10, 12].

Эндотелий – тонкий слой клеток (ЭК), выстилающий внутреннюю поверхность кровеносных сосудов, является важным связующим звеном между кровью и всеми тканями. Эндотелий взрослого человека содержит гетерогенные клетки, включая типичные ЭК (около 100 мкм в диаметре) (ТЭК) и гигантские многоядерные варианты ЭК (МВЭК) (свыше 200 мкм в диаметре). Процесс пропускания молекул называется трансэндотелиальным транспортом (ТЭТ). За счет сети межклеточных контактов достигается избирательность пропускания веществ и клеток в интиму сосуда [7].

Эндотелиальную дисфункцию (ЭД) рассматривают как один из первых этапов атерогенеза. Развитие ЭД сопровождается активной секрецией ЭК молекул адгезии, цитокинов и хемокинов, привлекающих моноциты в очаг поражения, где они дифференцируются в макрофаги поглощают липопротеиды и накапливаются в субэндотелиальном слое [8]. В этом контексте также следует отметить, что в крови пациентов, страдающих атеросклерозом, моноциты преактивированы и обладают некоторыми чертами макрофагов – их адгезия к эндотелию в 1,5 раза выше, чем у здоровых людей [1].

Материалы и методы

Использовали эндотелиоциты человека линии EA.hy926 подтвержденным эндотелиальным фенотипом (наличием основного маркера эндотелия фактора фон Виллебранда) (ATCC, США). Для получения МВЭК монослой эндотелиальных клеток (EA.hy 926) обрабатывали 50%-ным раствором полиэтиленгликоля (ПЭГ) 6000 (НПП «ПанЭко», Россия).

Исследование проводили в 2-камерной системе, верхняя камера (ВК) которой представляет собой пористую вставку (трансвелл) с диаметром пор 0,4 для оценки скорости ТЭТ и 3,0 мкм для оценки скорости миграции макрофагов (BIOFIL,

Китай), а нижняя камера (НК) – лунку 24-луночного планшета (Sarstedt, Германия), в которой расположена указанная вставка. Поверхность трансвеллы засеивали клетками, в количестве 10^5 . Клетки культивировали в среде DMEM (НПП «ПанЭко», Россия) с 10% Fetal bovine serum (FBS) (Biosera, Южная Америка) при 37 °C и 5% CO₂ в течение 2-3 суток до формирования визуального монослоя. Затем в ВК добавляли по 500 мкл среды DMEM, содержащей 100 мкг/мл выделенных ЛПНП человека (обозначали как ВК (O)), для оценки скорости ТЭТ, или 10^5 макрофагов для оценки скорости миграции. Через 2, 5 и 24 часа проводили измерение оцениваемых параметров.

ЛПНП выделяли из сыворотки крови человека в соответствии с ранее описанным протоколом [3].

Определение концентрации холестерина в среде из лунок и вставок, а также в клетках после экстракции проводили ферментативным колориметрическим методом с использованием коммерческого набора CHOLESTEROL liquidcolor (HUMAN, Германия) по модифицированной методике Фолча [2]. Содержание холестерина корректировали по общему уровню белка в лунке, измеренному методом Лоури [4]. Скорость трансэндотелиального транспорта (ТЭТ) определяли как изменение концентрации холестерина в среде, отобранной из НК.

Моноциты CD14⁺ получали из образцов цельной крови стандартным методом выделения лейкоцитарной фракции в градиенте фикола с последующей магнитной сепарацией с использованием наночастиц (Miltenyi Biotec, США) в соответствии с протоколом производителя. Протокол исследования был одобрен Локальным этическим комитетом РНЦХ им. Б.В. Петровского (протокол № 5 от 11 декабря 2022 г.). Далее моноциты инкубировали в среде с гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором (GM-CSF) (незрелые макрофаги) и/или с липополисахаридом (ЛПС) (GM-CSF+ЛПС) из Escherichia coli серотипа 026:B6 (Sigma-Aldrich, Израиль) в концентрации 1 мкг/мл для дифференцировки в макрофаги M1. После чего добавляли в ВК в количестве 10^5 клеток.

Измеряли количество мигрировавших клеток в НК через 2, 5 и 24 часа.

Статистический анализ полученных данных был проведен с использованием языка программирования Python и пакетов scipy, numpy, pandas, а также matplotlib, seaborn для визуализации результатов. В работе были использованы критерий Фишера с поправкой Данна для множественных сравнений, U-критерий Манна–Уитни с поправкой Бонферони, а также критерий Краскела–

ТАБЛИЦА 1. НОРМИРОВАННЫЕ МЕДИАННЫЕ ЗНАЧЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ХОЛЕСТЕРИНА В ЛУНКАХ И ВСТАВКАХ ДЛЯ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТОВ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК, 25-Й И 75-Й ПРОЦЕНТИЛИ

TABLE 1. NORMALIZED MEDIAN CHOLESTEROL CONCENTRATIONS IN WELLS AND INSERTS FOR VARIOUS ENDOTHELIAL CELL VARIANTS, 25TH AND 75TH PERCENTILES

Тип клеток Cell type	Время инкубации, часы Incubation time, hours	НК (К-) Well control		НК (О) Well test		ВК (К-) Insert control		ВК (О) Insert test	
		25	75	25	75	25	75	25	75
		Медиана Median	Медиана Median	Медиана Median	Медиана Median	Медиана Median	Медиана Median	Медиана Median	Медиана Median
ТЭК TEC	0	0,941	0,969	1,068	1,083	0,887	0,984	1,158	1,014
	2	1,007	1,091	1,129	1,235	0,821	0,874	1,074	0,971
	5	0,975	1,049	1,234	1,504	0,922	0,949	1,063	0,915
	24	0,746	1,146	1,228	1,842	0,483	0,736	0,957	0,797
МВЭК MVEC	0	0,957	1,027	1,075	1,098	0,856	1,082	1,090	0,932
	2	0,773	1,038	1,112	1,042	0,801	0,886	1,117	0,870
	5	0,883	0,954	1,117	1,402	0,681	0,831	1,176	0,812
	24	0,777	0,887	1,080	1,794	0,861	0,985	1,126	0,657

Примечание. * МВЭК – многоядерные варианты эндотелиальных клеток

Note. * MVEC, Multinucleated variant endothelial cells

Уоллиса с апостериорным тестом Коновера. Для описания результатов использовали медианное значение, а также 25-й и 75-й процентиля. Нормирование показателя накопления холестерина в НК и ВК проводили по среднему значению контроля, а для сравнения показателя соотношения холестерина к общему белку на 5×10^5 клеток использовали нормирование по минимальному и максимальному значению в эксперименте, которое приводит значения признака к диапазону от 0 до 1.

Результаты и обсуждение

Ранее исследователями было обнаружено, что МВЭК аккумулируют холестерин активнее, чем ТЭК [5, 9], однако никто до настоящего времени не оценивал ТЭТ и миграцию макрофагов через эндотелиальный барьер, состоящий из преимущественно многоядерных клеток.

Мы не увидели статистически значимой разницы через 2 и 5 часов, различия были найдены только спустя 24 часа измерений, причем содержание холестерина в НК для ТЭК спустя 24 часа выросло в 1,43 раза ($p < 0,05$), а для МВЭК – в 1,83 раза ($p < 0,05$). Статистических различий в скорости ТЭТ между ТЭК и МВЭК найдено не было (табл. 1).

Однако при сравнении содержания холестерина в ВК нами было обнаружено, что концентрация общего холестерина для ТЭК статистически значимо снижается спустя 24 часа в 1,27 раз ($p < 0,05$), в то время как для МВЭК – в 1,15 раз ($p < 0,05$) уже спустя 5 часов с момента добавления ЛПНП. Мы предположили, что подобные отличия могут свидетельствовать о разнице в степени накопления холестерина самими клетками, и МВЭК интернализуют ЛПНП активнее, чем ТЭК.

Для проверки гипотезы мы измеряли соотношение холестерина к общему белку на 500 тыс. клеток, было подтверждено, что концентрация холестерина в МВЭК в 1,17 раз выше, чем в клетках EA.hy926 ($p < 0,05$) (рис. 1).

В результате исследования скорости миграции макрофагов через монослой различных вариантов эндотелиальных клеток было показано, что при обработке моноцитов GM-CSF, миграции на протяжении 24 часов не происходило. В случае с макрофагами M1, спустя 2 часа и 5 часов скорость миграции выше для МВЭК ($p < 0,001$). Однако спустя 24 часа скорость миграции для ТЭК и для МВЭК статистически не различалась.

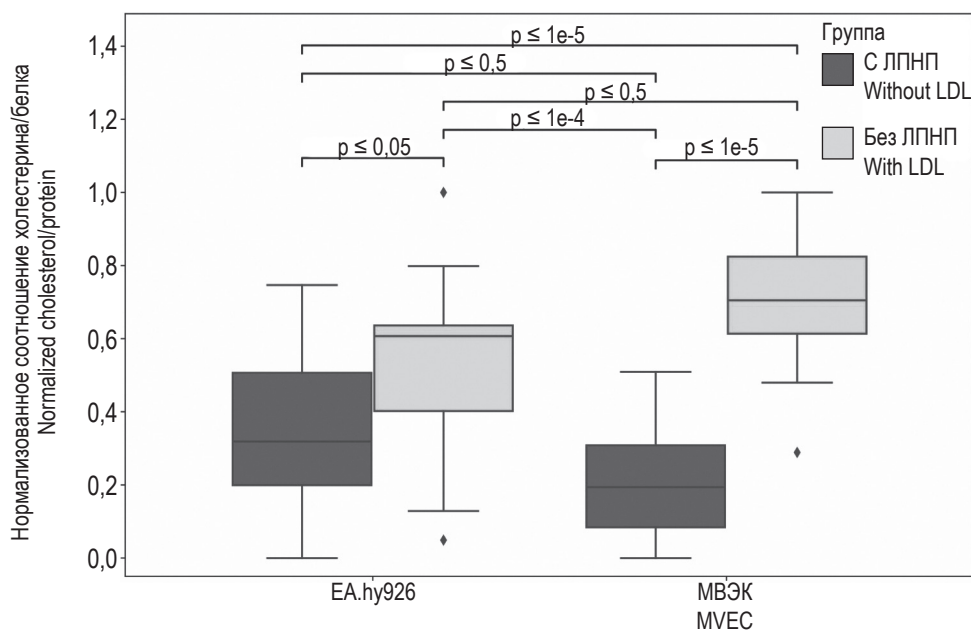


Рисунок 1. Нормализованное соотношение холестерина к белку для EA.hy926 и ГМЭК

Примечание. p – достоверность различий показателей между группами рассчитана согласно непараметрического критерия Вилкоксона, различия считаются достоверными и статистически значимыми при $p < 0,05$.

Figure 1. Normalized cholesterol to protein ratio for EA.hy926 and GMEC

Note. p , significance of differences in indicators between groups is calculated according to the non-parametric Wilcoxon test, the differences are considered reliable and statistically significant when $p < 0.05$.

Заключение

В настоящее время хорошо известно, что артериальные ЭК морфологически гетерогенны по размеру и ploидности: в эндотелии кроме одноядерных встречаются также многоядерные варианты эндотелиальных клеток. В стенке сосудов с атеросклеротическими поражениями в большом количестве встречались МВЭК, что дало основание исследователям предположить, что эти клетки участвуют в патогенезе атеросклероза [5, 6, 10]

Хотя уже было известно, что МВЭК имеют повышенную способность поглощать ЛПНП [5, 9], оставалось выяснить влияет ли наличие многоядерных вариантов эндотелиальных клеток на скорость трансэндотелиального транспорт липопротеидов и миграцию клеток иммунной системы в субэндотелиальный слой.

В настоящем исследовании было обнаружено, что скорость трансэндотелиального транспорта для типичных и многоядерных вариантов эндотелиальных клеток статистически не различается через 2, 5 и 24 часа. Хотя наличие МВЭК не влияет на транспорт липопротеидов в субэндотелиальный слой, тот факт, что многоядерные клетки аккумулируют липидные капли активнее, чем типичные ЭК, может указывать на важное значение в патогенезе атеросклероза.

Также было обнаружено, что скорость миграции макрофагов спустя 2 и 5 часов была выше для МВЭК, чем для ТЭК, тогда как незрелые макрофаги в течение 24 часов не мигрировали через эндотелиальный барьер.

Публикация размещена при участии Балтийского федерального университета им. И. Канта.

Список литературы / References

1. Челомбитко М.А., Шишкина В.С., Ильинская О.П., Каминный А.И., Павлунина Т.О., Самовилова Н.Н., Грачева Е.В., Тарарак Э.М., Проказова Н.В. Цитофлуориметрическое изучение мембранных рафтов на субпопуляциях моноцитов человека при атеросклерозе // *Acta Naturae*, 2014. № 4 (23). С. 86-94. [Chelombitko M.A., Shishkina V.S., Ilyinskaya O.P., Kaminsky A.I., Pavlunina T.O., Samovilova N.N., Gracheva E.V., Tararak E.M., Prokazova N.V. Cytofluorimetric study of membrane rafts on subpopulations of human monocytes in atherosclerosis. *Acta Naturae = Acta Naturae*, 2014, no. 4 (23). pp. 86-94. (In Russ.)]
2. Folch J., Lees M., Sloane Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 1957. no. 1 (226), pp. 497-509.

3. Kiseleva D., Kolmogorov V., Cherednichenko V., Khovantseva U., Bogatyreva A., Markina Y., Gorelkin P., Erofeev A., Markin A. Effect of LDL Extracted from human plasma on membrane stiffness in living endothelial cells and macrophages via scanning ion conductance microscopy. *Cells*, 2024, Vol 13, no. 4, 358. doi: 10.3390/cells13040358.
4. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, Vol. 193, no. 1. pp. 265-275.
5. Nikiforov N.G., Zlenko D.V., Orekhova V.A., Melnichenko A.A., Orekhov A.N. Local Accumulation of Lymphocytes in the Intima of Human Aorta Is Associated with Giant Multinucleated Endothelial Cells: Possible Explanation for Mosaicism of Atherosclerosis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, Vol. 23, no. 3, 1059. doi: 10.3390/ijms23031059.
6. Shirinsky V.P., Antonov AS, Birukov KG, Sobolevsky AV, Romanov YA, Kabaeva NV, Antonova GN, Smirnov VN. Mechano-chemical control of human endothelium orientation and size. *J. Cell Biol.*, 1989, Vol. 109, no. 1, pp. 331-339.
7. Sun X., Belkin N., Feinberg M.W. Endothelial microRNAs and atherosclerosis. *Curr. Atheroscler. Rep.*. 2013, Vol. 12, no. 15, 372. doi: 10.1007/s11883-013-0372-2.
8. Tabas I., Bornfeldt K.E. Macrophage phenotype and function in different stages of atherosclerosis. *Circ. Res.*, 2016, Vol. 118, no. 4, pp. 653-667.
9. Tokunaga O., Satoh T., Yamasaki F., Wu L. Multinucleated variant endothelial cells (MVECs) in human aorta: chromosomal aneuploidy and elevated uptake of LDL. *Semin. Thromb. Hemost.*, 1998, Vol. 24, no. 3, pp. 279-284.
10. Tokunaga O., Fan J.L., Watanabe T. Atherosclerosis- and age-related multinucleated variant endothelial cells in primary culture from human aorta. *Am. J. Pathol.*, 1989, Vol. 135, no. 6, pp 967-976.

Авторы:

Чердниченко В.Р. — младший научный сотрудник отдела патологической морфологии лаборатории клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы ГНЦ РФ ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

Хованцева У.С. — младший научный сотрудник отдела патологической морфологии лаборатории клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы ГНЦ РФ ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

Кузьмин В.В. — студент биотехнологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Чертович Н.Ф. — инженер-исследователь отдела патологической морфологии лаборатории клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы ГНЦ РФ ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

Маркин А.М. — младший научный сотрудник отдела патологической морфологии лаборатории клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы ГНЦ РФ ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

Authors:

Cherednichenko V.R., Junior Research Associate, Department of Pathological Morphology, Laboratory of Cellular and Molecular Pathology of the Cardiovascular System, Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russian Federation

Khovantseva U.S., Junior Research Associate, Department of Pathological Morphology, Laboratory of Cellular and Molecular Pathology of the Cardiovascular System, Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russian Federation

Kuzmin V.V., Student, Biotechnology Faculty, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Chertovich N.F., Research Engineer, Laboratory of Cellular and Molecular Pathology of the Cardiovascular System, Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russian Federation

Markin A.M., Junior Research Associate, Laboratory of Cellular and Molecular Pathology of the Cardiovascular System, Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russian Federation

Поступила 01.04.2024
Отправлена на доработку 06.04.2024
Принята к печати 17.04.2024

Received 01.04.2024
Revision received 06.04.2024
Accepted 17.04.2024

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИНУКЛЕАРНЫХ АНТИТЕЛ: РОЛЬ В СВОЕВРЕМЕННОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Пашнина И.А.¹, Крицкая И.С.², Власова Е.В.¹, Криволапова И.М.¹

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

² ФКУЗ «Медико-санитарная часть Министерства внутренних дел Российской Федерации по Свердловской области», г. Екатеринбург, Россия

Резюме. В настоящее время отмечается рост заболеваемости аутоиммунными болезнями среди всех возрастных групп, особенно справедливо это для ревматических заболеваний. Диагностика этой группы болезней часто затруднена, так как на ранних стадиях может отсутствовать специфическая симптоматика. Нередко аутоиммунные заболевания имеют симптомы, схожие с клиническими проявлениями патологии не аутоиммунной природы. В таких ситуациях стоит серьезный вопрос о дифференциальной диагностике между заболеваниями аутоиммунной и другой этиологии, а также — о дифференцировке разных форм аутоиммунной патологии.

Наиболее часто для лабораторной диагностики системных заболеваний соединительной ткани используют определение антинуклеарных аутоантител. Аутоантитела могут обнаруживаться у пациентов задолго до постановки диагноза, но их наличие достоверно не предсказывает развитие аутоиммунного заболевания. Постановка точного диагноза имеет критическое значение, т. к. терапия различных нозологий, даже ревматических, может существенно различаться. Особенно актуальным это становится с началом использования таргетной терапии.

Соответственно, дальнейший анализ диагностической ценности определения аутоантител, как на больших выборках, так и на уровне отдельных пациентов, представляется крайне актуальным. В настоящей работе представлены данные обследования и динамического наблюдения трех детей. Проведен анализ амбулаторных карт и выписок из историй болезни. Проанализирована роль определения аутоантител в дифференциальной диагностике аутоиммунных заболеваний соединительной ткани.

У первой пациентки с синдромом Шегрена клиническая картина основного заболевания развернулась минимум через 5 лет после выявления высоких уровней аутоантител к антигенам SS-A, SS-B и Ro-52 в иммуноблоттинге и гранулярного типа свечения при определении антинуклеарного фактора. Во втором случае у пациента появление антител к центромерам — специфических лабораторных

Адрес для переписки:

Пашнина Ирина Александровна
ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница»
620149, Россия, г. Екатеринбург, ул. С. Дерябиной, 32
Тел.: 8 (343) 231-91-39.
E-mail: Irina_pashnina@list.ru

Address for correspondence:

Irina A. Pashnina
Regional Children's Clinical Hospital
32 S. Deryabina St
Yekaterinburg
620149 Russian Federation
Phone: +7 (343) 231-91-39.
E-mail: Irina_pashnina@list.ru

Образец цитирования:

И.А. Пашнина, И.С. Крицкая, Е.В. Власова, И.М. Криволапова «Определение антинуклеарных антител: роль в своевременной дифференциальной диагностике аутоиммунных заболеваний соединительной ткани» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 505-514.
doi: 10.46235/1028-7221-16686-DOA

© Пашнина И.А. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

I.A. Pashnina, I.S. Kritskaia, E.V. Vlasova, I.M. Krivolapova
“Determination of antinuclear antibodies: role in modern differential diagnosis of connective tissue autoimmune diseases”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 505-514.
doi: 10.46235/1028-7221-16686-DOA

© Pashnina I.A. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16686-DOA

маркеров системной склеродермии, было минимум на 2 года опережало клиническую картину заболевания. У третьей девочки на протяжении 5 лет выявляются специфические для системной склеродермии маркеры – антитела к центромерам в иммуноблоттинге, высокий титр и центромерный тип флюоресценции при определении антинуклеарного фактора, однако никаких клинических симптомов, характерных для этого заболевания, за это время у пациентки не появилось.

Таким образом, анализ представленных клинических случаев показывает, что аутоантитела могут быть обнаружены у пациентов задолго до появления клинических проявлений, характерных для конкретного аутоиммунного заболевания. Во всех трех вышеописанных случаях первое иммунологическое обследование проводилось на фоне симптомов заболевания, но стертых и нетипичных.

Выявление аутоантител, специфичных для конкретного заболевания, является важным, иногда – решающим фактором дифференциальной диагностики. При отсутствии клинической симптоматики, наличие аутоантител, особенно в высоких титрах, является основанием для динамического наблюдения пациента.

Ключевые слова: антинуклеарные антитела, аутоиммунные заболевания, дети, лабораторная диагностика, ревматология

DETERMINATION OF ANTINUCLEAR ANTIBODIES: ROLE IN MODERN DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF CONNECTIVE TISSUE AUTOIMMUNE DISEASES

Pashnina I.A.^a, Kritskaia I.S.^b, Vlasova E.V.^a, Krivolapova I.M.^a

^a Regional Children's Clinical Hospital, Yekaterinburg, Russian Federation

^b Medical and Sanitary Unit of the Ministry of Internal Affairs of the Russian Federation for the Sverdlovsk Region, Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. There is an increase in autoimmune rheumatic diseases among all age population groups globally. Diagnosis is often difficult, because the early stages of the diseases usually do not have specific symptoms. Often, clinical manifestations of autoimmune diseases and non-autoimmune pathologies have similar symptoms. Therefore, the differential diagnosis could be very difficult. Most often, the determination of antinuclear autoantibodies is used for laboratory diagnosis of connective tissue systemic diseases. Autoantibodies can be detected in patients long time before the appearance of symptoms. The correct diagnosis is very important because the therapy of various nosologies can be different. It is especially significant with the invention of targeted therapy. Further analysis of the diagnostic value of autoantibody determination is very important. This article presents examination and follow-up data of three children. The analysis of medical documentation was carried out. The role of determining autoantibodies in the differential diagnosis of autoimmune connective tissue diseases was analyzed. In the first patient with Sjgren's syndrome, the clinical picture of the underlying disease developed at least 5 years after the detection of high levels anti-SS-A, SS-B and Ro-52 antibodies (immunoblotting) and the speckled pattern (indirect immunofluorescence assay). In the second patient, antibodies against centromeres (specific markers of systemic scleroderma) appeared at least 2 years before clinical symptoms. In the third patient, the specific markers of systemic scleroderma have been detected for 5 years. There were antibodies against centromeres (immunoblotting), high titer and the centromere pattern (indirect immunofluorescence assay). However, the patient has not developed any clinical symptoms of this disease during all time of observation. Thus, the analysis of the presented clinical cases shows that autoantibodies can be detected in patients long time before the onset of clinical manifestations of a specific autoimmune disease. In all three cases, the first immunological examination has been carried out in the background of the disease symptoms, but they were atypical. Identification of specific autoantibodies, is very important for differential diagnosis. In the absence of clinical symptoms, the presence of autoantibodies, is the reason for dynamic observation of the patients.

Keywords: antinuclear antibodies, autoimmune diseases, children, laboratory diagnostics, rheumatology

Введение

Аутоиммунные заболевания (АИЗ) в настоящее время широко распространены, общая заболеваемость в разных странах составляет 5-30% [16, 21]. Особенное значение тема приобрела во время пандемии COVID-19, коронавирусная инфекция стала триггером дебюта АИЗ у многих пациентов [9].

Одной из наиболее широких групп АИЗ являются аутоиммунные заболевания соединительной ткани (ревматические). Их диагностика часто затруднена и занимает длительное время, так как у многих пациентов на ранних стадиях заболевания отсутствует специфическая симптоматика [12, 14, 15]. Наиболее значимым для лабораторной диагностики системных АИЗ соединительной ткани является определение антинуклеарных аутоантител (АНА) [1, 7, 8, 10, 11]. Эти антитела связываются с рибонуклеиновыми кислотами и ассоциированными белками. Они встречаются более чем у 90% больных с диффузными болезнями соединительной ткани [11, 23].

Аутоантитела (ААТ) могут быть обнаружены не только у больных, но и у здоровых лиц, что затрудняет диагностический процесс [13, 17, 20]. Не ясно, являются ААТ у здоровых предвестниками заболевания или вариантами нормы [4]. Большой интерес представляют проспективные исследования пациентов с повышенными концентрациями аутоантител и отсутствием клинической симптоматики. Аутоантитела могут обнаруживаться у пациентов задолго до постановки диагноза, но их наличие достоверно не предсказывает развитие соответствующего аутоиммунного заболевания [1, 9].

В США были проанализированы истории болезни 130 пациентов с СКВ, у которых за несколько лет до постановки диагноза изучали уровень АНА [3]. Выявлено, что у 88% обследованных лиц присутствовало хотя бы одно аутоантитело, в среднем антитела обнаруживались за 3,3 года до клинических проявлений [3]. Аналогичные результаты получены в исследовании D. Pérez и соавт., которые обследовали 411 лиц с положительным титром аутоантител, без установленного аутоиммунного заболевания [18]. После трехлетнего наблюдения в 87% случаев было диагностировано АИЗ. Обнаружено, что наличие более трех различных типов специфических аутоантител свидетельствует о 100% риске развития АИЗ [18].

Помимо раннего бессимптомного носительства ААТ, актуален вопрос своевременной дифференциальной диагностики аутоиммунной патологии при наличии стертой симптоматики.

Нередко АИЗ, особенно в начале болезни, имеют симптомы, которые могут наблюдаться при многих нозологиях: субфебрилитет, боли в суставах, различные высыпания [12, 14, 15]. В таких ситуациях стоит серьезный вопрос о дифференциальной диагностике между АИЗ и заболеваниями другой этиологии, а также о дифференцировке разных форм аутоиммунной патологии. Постановка точного диагноза имеет критическое значение, так как терапия различных нозологий может существенно различаться. Особенно актуальным это становится с началом использования таргетной терапии [1, 6].

Соответственно, дальнейший анализ диагностической ценности определения аутоантител, как на больших выборках, так и на уровне отдельных пациентов, представляется крайне актуальным. В настоящей работе представлены данные обследования и динамического наблюдения пациентов ГАУЗ СО Областной детской клинической больницы (ОДКБ) г. Екатеринбурга.

Материалы и методы

Проведен анализ амбулаторных карт и выписок из историй болезни. Оценена роль определения аутоантител в дифференциальной диагностике аутоиммунных заболеваний соединительной ткани на примере конкретных клинических случаев. Авторы приносят искреннюю благодарность врачу-ревматологу ГАУЗ СО ОДКБ Скоробогатовой О.В. за помощь в работе с медицинской документацией.

Результаты и обсуждение

Клинический случай № 1

Девочка Р., 18.12.1998 года рождения, 05.09.2014 года поступила в кардиоревматологическое отделение ОДКБ с жалобами на боли в суставах, подъем температуры, высыпания, выпадение волос, сухость слизистых полости рта и глаз.

Из анамнеза известно: с пятилетнего возраста у ребенка наблюдалась умеренная лейкопения и анемия, повышение СОЭ до 20-40 мм/ч (как при интеркуррентных заболеваниях, так и на фоне относительного здоровья). Летом 2007 года в возрасте 8 лет появлялась эритема на лице в виде «бабочки», держалась 3 месяца и самопроизвольно исчезала.

Впервые к ревматологу пациентка обратилась в 2008 году в возрасте 9 лет с жалобами на утреннюю скованность, боли в коленных и голеностопных суставах в течение 6 месяцев. Весной того же года девочка была госпитализирована в кардиоревматологическое отделение одной из

больниц г. Екатеринбурга. При поступлении отмечались боль и умеренное ограничение движений в локтевых, коленных, тазобедренных, голеностопных суставах.

При лабораторном обследовании: лейкопения, высокие уровни СОЭ и С-реактивного белка. В связи с цитопенией проведена костномозговая пункция, исключена онкопатология. При иммунологическом обследовании: антитела к ДНК — отрицательно; очень высокие уровни антител к экстрагируемым ядерным антигенам (ЭНА) и антинуклеарного фактора (АНФ), исследованного в реакции непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ); методом иммуноблоттинга обнаружены антитела к SS-A-антигену, SS-B и Ro-52 (табл. 1). Также выявлено повышение концентрации ревматоидного фактора — 768 Ед/мл (N до 24 Ед/мл).

На основе анамнестических, клинических и лабораторных данных был выставлен диагноз: недифференцированное диффузное заболевание соединительной ткани (ДЗСТ), реактивный артрит, полиартрит, монопарез левой нижней конечности. Следует отметить, что клинических проявлений ДЗСТ на тот момент не было, диагноз был выставлен с учетом выявления специфических аутоантител. Проведено лечение сосудистыми и нестероидными противовоспалительными препаратами (НПВП), местно на суставы мазь с НПВП, с клиническим улучшением. Девочка была выписана в удовлетворительном состоянии. В последующем, за период 2009-2013 годы пациентка неоднократно проходила аналогичное лечение в том же отделении.

С 2008 до 2013 года суставной синдром без прогрессирования. Пациентку периодически беспокоила утренняя скованность в коленных и локтевых суставах, иногда боли в них после нагрузки. В разное время отмечались субфебрилитет; сухость во рту, жажда, повышенное выпадение волос. При попытке назначения цитостатиков, у ребенка прогрессировала лейкопения, в связи с чем, препарат был отменен. Необходимо отметить, что на тот период было недостаточно клинических критериев ни для одного системного заболевания, в том числе и для ДЗСТ.

Летом 2013 года девочка была госпитализирована в отделение челюстно-лицевой хирургии одной из больниц г. Екатеринбурга с жалобами на сухость полости рта, болезненное увеличение околоушных слюнных желез. На основании клинических и лабораторных данных выставлен диагноз «хронический неспецифический интерстициальный сиалоаденит околоушных, подчелюстных слюнных желез, синдром Шегрена».

Для уточнения диагноза рекомендована госпитализация в ОДКБ.

При поступлении в кардиоревматологическое отделение ОДКБ 05.09.2014: жалобы на боли в лучезапястных, коленных и голеностопных суставах, подъем температуры, высыпания на коже лица, нижних конечностях, выпадение и истончение волос, сухость слизистых полости рта и глаз. В отделении у девочки отмечались постоянная слабость, вялость, сонливость, бледность и мраморность кожи без высыпаний. Внешне суставы без признаков активного артрита, выраженной сухости полости рта и языка не отмечено, наблюдалась осиплость голоса.

Пациентке было проведено определение уровня антинуклеарных антител в иммунологической лаборатории ОДКБ, результаты согласовались с предыдущими данными (табл. 1). Учитывая анамнез, клинические проявления и данные иммунологического обследования был поставлен диагноз — болезнь Шегрена, хроническое течение, развернутая стадия с поражением слюнных желез, глаз, суставов, кожи. Назначен глюкокортикостероидный (ГКС) препарат, на фоне терапии отмечалось значительное улучшение клинического состояния.

Весь период болезни в 2008-2014 гг. у пациентки сопровождался высокими титрами АНФ с гранулярным типом свечения (табл. 1). Данный тип флюоресценции ядра является наименее специфичным для конкретных заболеваний. Он часто встречается у пациентов с синдромом Шегрена, ревматоидным артритом, ювенильными артритами и целым рядом других аутоиммунных заболеваний [6, 22]. К основным причинно-значимым антигенам относят RNP, SS-A, SS-B, Ro-52 [5, 22], довольно часто встречаются Sm-антиген и PCNA-антиген [22], иногда могут присутствовать антитела к двуспиральной ДНК и к PM-Scl [2].

Можно заключить, что клиническая симптоматика у обследованной пациентки на протяжении длительного периода жизни была стертой и нетипичной для какой-то конкретной формы АИЗ соединительной ткани. Однако высокие уровни аутоантител (титр АНФ 1/10240, даже на фоне относительного клинического благополучия в возрасте 10-13 лет) были одной из причин пристального внимания ревматолога. Дебют основного заболевания отмечался через 5 лет после выявления высоких уровней аутоантител к SS-A, SS-B и Ro-52 в иммуноблоттинге и гранулярного свечения при определении АНФ.

Клинический случай № 2

Мальчик Г., 05.10.1991 года рождения, обратился на прием к ревматологу ОДКБ 28.11.2000 г.

ТАБЛИЦА 1. РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ АУТОАНТИТЕЛ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ПАЦИЕНТКИ Р.

TABLE 1. THE RESULTS OF THE LEVEL OF AUTOANTIBODIES DETERMINATION IN THE PATIENT'S R. BLOOD SERUM

Дата обследования Date of examination	Аутоантитела к ДНК (ИФА) (n < 100,0 Ед/мл) Anti-DNA antibody (ELISA) (n < 100.0 U/mL)	ЭНА (ИФА), отношение (n < 1,0 Ед/мл) ENA (ELISA), ratio (n < 1.0 U/mL)	АНФ (РНИФ), титр/тип свечения (n < 1/320) ANF (IIF), titre/fluorescence pattern (n < 1/320)	АНА-профиль (блоттинг) ANA-profile (blotting)
15.04.2008	0,0	13,4	1/10240, гранулярный 1/10240, granular	Ro-52, SS-A, SS-B
01.03.2011	Не определяли Not determined	5,0	1/10240, гранулярный 1/10240, granular	Не определяли Not determined
26.08.2013	47,9	Не определяли Not determined	1/640, гранулярный 1/640, granular	Ro-52, SS-A, SS-B
06.09.2014	0,0	Не определяли Not determined	1/1280, гранулярный 1/1280, granular	Ro-52, SS-A, SS-B, Sm
31.03.2015	6,0	Не определяли Not determined	Не определяли Not determined	Не определяли Not determined

с жалобами на боли в коленных суставах в вечернее и утреннее время, скованность движений по утрам, болезненность в пальцах рук и ног при охлаждении.

Из анамнеза: в возрасте 8 лет ребенка стали беспокоить боли и припухлость мелких суставов кистей, поставлен на учет с диагнозом: болезнь Рейно, реактивный артрит. Наследственность отягощена по ревматическим заболеваниям: у деда по линии отца – деформирующий остеоартроз, у брата – ювенильный ревматоидный артрит, у отца – болезнь Бехтерева.

В октябре 2000 года ребенок прошел стационарное лечение в кардиоревматологическом отделении одной из городских больниц г. Екатеринбурга, установлен диагноз «ювенильный ревматоидный артрит, суставно-висцеральная форма, олигоартрит, синдром Рейно, первично-хроническое течение». Назначена базисная терапия противомикробным и противовоспалительным препаратом; также получал НПВП и сосудистые препараты.

При обращении к ревматологу ОДКБ в 2000 г. отмечались: отечность пальцев рук, кожные покровы рук холодные, имели красный оттенок, боль в проксимальном межфаланговом суставе III пальца левой кисти, ограничение движений лучезапястных, локтевых, коленных, тазобедренных суставах. В общем анализе крови: умеренная

лейкопения и анемия, СОЭ – 6 мм/ч, уровень антител к нативной ДНК в норме. Клинический диагноз «ювенильный ревматоидный артрит, суставно-висцеральная форма, олигоартрикулярный вариант, синдром Рейно».

На фоне проводимого лечения у ребенка было отмечено непродолжительное улучшение по суставному синдрому. В последующем пациент многократно проходил стационарное лечение. При этом, клинические проявления нарастали: усиление боли в мелких суставах кистей рук, трудности при сжатии кисти в кулак, сосискообразная форма пальцев, деструктивные изменения ногтевых пластинок, ограничение сгибания в локтевых суставах, ограничение движения в шейном отделе позвоночника. Терапия противомикробным и противовоспалительным препаратом не приводила к положительному эффекту, смена базисной терапии на цитостатик – также без существенного эффекта. В течение 8 лет с 1999 по 2007 год проводимое лечение не было достаточно эффективным.

В 2005-2007 гг. в иммунологической лаборатории ОДКБ были внедрены методы непрямой иммунофлюоресценции и иммуноблоттинга, расширен спектр аутоантител, появились новые диагностические возможности. В 2007, в возрасте 15 лет мальчику Г. было впервые проведено определение уровня АНА (табл. 2).

В результатах иммунологических исследований особое внимание заслуживает наличие антител к центромерам, выявленные методом непрямой иммунофлюоресценции (центромерный тип свечения) и методом иммуноблоттинга (CENP-B). Антицентромерные антитела характерны для CREST-варианта (от первых букв: calcinosis, Raynaud's phenomenon, esophageal dysmotility, sclerodactyly, and telangiectasia) системной склеродермии. Они могут обнаруживаться в сыворотке больных за несколько лет до появления специфических клинических симптомов, что позволяет рассматривать их в качестве предиктора заболевания [6, 19, 22].

Результаты лабораторных исследований явились причиной повторной консультации ревматолога. Выявлены кальцинаты на коже в области локтей и правой голени, плотный отек кожи кистей, расширение капилляров ногтевого ложа, ограничение движений в суставах, отсутствие возможности широко открывать рот, синдром Рейно, поражение ЖКТ – гастроэзофагальный рефлюкс, эзофагит, эрозивный гастрит. Учитывая клинические проявления и данные иммунологического исследования, диагноз был изменен: «системная склеродермия, лимитированная форма, хроническое течение». Мальчику назначен противифиброзный препарат, что дало значимое

улучшение клинического состояния в течение двух лет. Отец и брат пациента были повторно проконсультированы ревматологом, отцу установлен диагноз «системная склеродермия».

Однако спустя два года, к возрасту 17 лет, у пациента выросла симптоматика, характерная для склеродермии: сужение аперттуры рта (формирование симптома «кисета»), уплотнение кожи пальцев рук, кальцинаты кожи, синдром Рейно (сформировался неполный CREST-синдром). Появились ограничения движения в шейном отделе позвоночника, локтевых, лучезапястных, коленных, тазобедренных суставах, мелких суставов кистей и стоп. При многократном иммунологическом обследовании титр АНФ увеличился до 1/20480, в иммуноблоттинге постоянно выявлялись антитела к центромерам (табл. 2).

Таким образом, появление специфических лабораторных маркеров системной склеродермии было намного раньше, чем специфическая симптоматика и опережало клиническую картину заболевания не менее, чем на 2 года. Выявление специфических аутоантител к центромерам позволило скорректировать диагноз и лечение пациенту. Более того, диагноз был пересмотрен и отцу пациента. То есть определение конкретных разновидностей аутоантител сыграло решающую роль в постановке корректного диагноза.

ТАБЛИЦА 2. РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ АУТОАНТИТЕЛ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ПАЦИЕНТКИ Г.

TABLE 2. THE RESULTS OF THE LEVEL OF AUTOANTIBODIES DETERMINATION IN THE PATIENT'S G. BLOOD SERUM

Дата обследования Date of examination	Аутоантитела к ДНК (ИФА) (n < 25,0 Ед/мл) Anti-DNA antibody (ELISA) (n < 25.0 U/mL)	ЭНА (ИФА), отношение (n < 1,0 Ед/мл) ENA (ELISA), ratio (n < 1.0 U/mL)	АНФ (РНИФ), титр/тип свечения (n < 1/320) ANF (IIF), titre/fluorescence pattern (n < 1/320)	АНА-профиль (блоттинг) ANA-profile (blotting)
21.05.2007	10,0	14,9	1/2560, центромерный 1/2560, centromere fluorescence	Ro-52 CENP-B
06.03.2008	7,0	10,6	1/5120, центромерный 1/5120, centromere fluorescence	Не определяли Not determined
22.08.2008	Не определяли Not determined	10,3	1/20480, центромерный 1/20480, centromere fluorescence	Ro-52 CENP-B
23.06.2009	6,0	6,4	1/10240, центромерный 1/10240, centromere fluorescence	Ro-52 CENP-B

ТАБЛИЦА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ АУТОАНТИТЕЛ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ПАЦИЕНТКИ Ч.

TABLE 3. THE RESULTS OF THE LEVEL OF AUTOANTIBODIES DETERMINATION IN THE PATIENT'S CH. BLOOD SERUM

Дата обследования Date of examination	Аутоантитела к ДНК (ИФА) (n < 25,0 Ед/мл) Anti-DNA antibody (ELISA) (n < 25.0 U/mL)	ЭНА (ИФА), отношение (n < 1,0 Ед/мл) ENA (ELISA), ratio (n < 1.0 U/mL)	АНФ (РНИФ), титр/тип свечения (n < 1/320) ANF (IIF), titre/fluorescence pattern (n < 1/320)	АНА-профиль (блоттинг) ANA-profile (blotting)
30.08.2018	Не определяли Not determined	2,9	1/2560, центромерный 1/2560, centromere fluorescence	Не определяли Not determined
22.02.2019	Не определяли Not determined	3,0	1/2560, центромерный 1/2560, centromere fluorescence	CENP-B
18.11.2020	10,0	2,8	1/1280, центромерный 1/1280, centromere fluorescence	Не определяли Not determined
29.11.2021	Не определяли Not determined	Не определяли Not determined	1/1280, центромерный 1/1280, centromere fluorescence	CENP-B
14.02.2022	Не определяли Not determined	2,4	1/1280, центромерный 1/1280, centromere fluorescence	CENP-B

Клинический случай № 3

Девочка Ч., 29.11.2012 года рождения, 10.01.2017 года обратилась на прием к иммунологу ОДКБ с жалобами на выпадение волос.

Из анамнеза известно: до года девочка развивалась по возрасту, в год ей сбрили волосы на голове, после чего они стали расти неравномерно. В августе 2016 года находилась в стационаре с диагнозом «гнездная алопеция». Терапия сосудистыми препаратами и использование мазей с ГКС не приводила к положительному эффекту. Наследственность: по материнской линии: у 2 прабабушек сахарный диабет I типа; по отцовской линии: у прабабушки – ревматоидный артрит.

На приеме при обращении к иммунологу ОДКБ состояние ребенка было удовлетворительным. Клинический диагноз: «нарушение, связанное с иммунными механизмами, неуточненное; гнездная алопеция прогрессирующая». Рекомендовано исключение иммуномодулирующей терапии и проведение определения уровня антинуклеарных антител для исключения участия аутоиммунных механизмов развития алопеции.

При обследовании выявлен высокий титр АНФ, гранулярный и центромерный типы свечения; высокий уровень ЭНА, в иммуноблоттинге – антитела к центромерам (CENP-B). (табл. 3). Антитела к ДНК и циклическому цитруллинированному пептиду не обнаружены. Как уже говорилось выше, антитела к центромерам являются маркером системной склеродермии и CREST-синдрома. Пациентка была проконсультирована ревматологом, однако клинических данных за склеродермию обнаружено не было.

С сентября 2017 года девочка наблюдалась гастроэнтерологом ОДКБ с диагнозом «целиакия, атипичная стертая форма», однако в 10-летнем возрасте диагноз был снят. В течение этого периода ребенок не соблюдал элиминационную диету. В октябре 2017 года была проконсультирована врачом-генетиком – данных за синдромальную патологию не выявлено. Проведен обширный поиск возможной причины алопеции, исключены гормональные, соматические, онкологические факторы. В ноябре 2017 года проведен курс глюкокортикостероидными препаратами с не-

значительным положительным эффектом — появился рост пушковых волос.

В марте, октябре и ноябре 2021 года пациентка проходила лечение в одном из Федеральных медицинских центров. Во время госпитализации в октябре у девочки появился суставной синдром — небольшое количество выпота в локтевых, коленных, голеностопных суставах. Поставлен диагноз «ювенильный идиопатический артрит, алопеция универсальная». С июля 2022 года пациентке назначен генно-инженерный биологический препарат, однако без положительного эффекта.

В настоящее время ребенок наблюдается иммунологом и ревматологом ОДКБ с диагнозом «ювенильный идиопатический артрит недифференцированный, многоочаговая алопеция». У девочки постоянно выявляются антитела к центромерам в иммуноблоттинге, определяется высокий титр АНФ с центромерным типом флюоресценции (табл. 3), что вызывает особую настороженность. Однако никаких клинических маркеров, характерных для системной склеродермии, за это время у пациентки не появилось. Тем не менее исключать, что с возрастом у девочки может развиться склеродермия или другое системное заболевание соединительной ткани, нельзя. Как уже продемонстрировано на предыдущих двух примерах, характерная клиническая

симптоматика может появляться спустя годы после обнаружения высоких титров аутоантител. В таких случаях оптимальной тактикой является динамическое наблюдение и лабораторное обследование.

Заключение

Таким образом, анализ представленных клинических случаев показывает, что аутоантитела могут быть обнаружены у пациентов задолго до появления клинических проявлений, характерных для конкретного аутоиммунного заболевания. Во всех трех вышеописанных случаях первое иммунологическое обследование проводилось на фоне симптомов заболевания, хотя и стертых и нетипичных. Не исключено, что аутоантитела можно было обнаружить в еще более ранние сроки.

Выявление аутоантител, специфичных для конкретного заболевания, является важным, иногда решающим фактором дифференциальной диагностики. Для принятия решения о назначении болезнь-модифицирующей терапии основными аргументами выступают клинические проявления заболевания. Однако наличие аутоантител, особенно в высоких титрах, дает ценную диагностическую информацию и может быть основанием для динамического наблюдения пациента, даже при отсутствии симптоматики.

Список литературы / References

1. Александрова Е.Н., Новиков А.А., Насонов Е.Л. Современные подходы к лабораторной диагностике ревматических заболеваний: роль молекулярных и клеточных биомаркеров // Научно-практическая ревматология, 2016. Т. 54, № 3. С. 324-338. [Aleksandrova E.N., Novikov A.A., Nasonov E.L. Current approaches to the laboratory diagnosis of rheumatic diseases: Role of molecular and cellular biomarkers. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2016, Vol. 54, no. 3, pp. 324-338. (In Russ.)].
2. Пашнина И.А., Криволапова И.М., Тузанкина И.А., Черешнев В.А. Использование различных лабораторных методов для определения антиядерных антител у пациентов с аутоиммунными заболеваниями соединительной ткани // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН, 2012. № 3 (85), ч. 2. С. 143-147. [Pashnina I.A., Krivolapova I.M., Tuzankina I.A., Chereshev V.A. Application of different laboratory methods for antinuclear autoantibodies investigation in patients with autoimmune connective tissue diseases. *Byulleten VSNTS SO RAMN = Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2012, no. 3 (85), part 2, pp. 143-147. (In Russ.)]
3. Arbuckle M.R., McClain M.T., Rubertone M.V., Scofield R.H., Dennis G.J., James J.A., Harley J.B. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N. Engl. J. Med.*, 2003, Vol. 349, no. 16, pp. 1526-1533.
4. Bieber K., Hundt J.E., Yu X., Ehlers M., Petersen F., Karsten C.M., Köhl J., Kridin K., Kalies K., Kasprick A., Goletz S., Humrich J.Y., Manz R.A., Künstner A., Hammers C.M., Akbarzadeh R., Busch H., Sadik C.D., Lange T., Grasshoff H., Hackel A.M., Erdmann J., König I., Raasch W., Becker M., Kerstein-Stähle A., Lamprecht P., Riemekasten G., Schmidt E., Ludwig R.J. Autoimmune pre-disease. *Autoimmun. Rev.*, 2023. Vol. 22, no. 2, 103236. doi: 10.1016/j.autrev.2022.103236.

5. Dellavance A., Viana V.S.T., Leon E.P., Bonfa E.S.D.O., Andrade L.E.C., Leser P.G. The clinical spectrum of antinuclear antibodies associated with the nuclear dense fine speckled immunofluorescence pattern. *J. Rheumatol.*, 2005, Vol. 32, no. 11, pp. 2144-2149.
6. Didier K., Bolko L., Giusti D., Toquet S., Robbins A., Antonicelli F., Servettaz A. Autoantibodies associated with connective tissue diseases: what meaning for clinicians? *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, 541. doi: 10.3389/fimmu.2018.00541.
7. Enocsson H., Sjöwall C., Wirestam L., Dahle C., Kastbom A., Rönnelid J., Wetterö J., Skogh T. Four anti-dsDNA antibody assays in relation to systemic lupus erythematosus disease specificity and activity. *J. Rheumatol.*, 2015, Vol. 42, no. 5, pp. 817-825.
8. Giacomelli R., Afeltra A., Alunno A., Bartoloni-Bocci E., Berardicurti O., Bombardieri M., Bortoluzzi A., Caporali R., Caso F., Cervera R., Chimenti M.S., Cipriani P., Coloma E., Conti F., d'Angelo S., de Vita S., di Bartolomeo S., Distler O., Doria A., Feist E., Fisher B.A., Gerosa M., Gilio M., Guggino G., Liakouli V., Margiotta D.P.E., Meroni P., Moroncini G., Perosa F., Prete M., Priori R., Rebuffi C., Ruscitti P., Scarpa R., Shoenfeld Y., Todoerti M., Ursini F., Valesini G., Vettori S., Vitali C., Tzioufas A.G. Guidelines for biomarkers in autoimmune rheumatic diseases – evidence based analysis. *Autoimmun. Rev.*, 2019, Vol. 18, no. 1, pp. 93-106.
9. Hundt J.E., Hoffmann M.H., Amber K.T., Ludwig R.J. Editorial: Autoimmune pre-disease. *Front. Immunol.*, 2023, Vol. 14, 1159396. doi: 10.3389/fimmu.2023.1159396.
10. Infantino M., Pregnolato F., Bentow C., Mahler M., Benucci M., Gobbi F.L., Damiani A., Grossi V., Franceschini F., Bodio C., Borghi M.O., Manfredi M. Only monospecific anti-DFS70 antibodies aid in the exclusion of antinuclear antibody associated rheumatic diseases: an Italian experience. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2019, Vol. 57, pp. 1764-1769.
11. Kumar Y., Bhatia A., Minz R.W. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn. Pathol.*, 2009, Vol. 4, 1. doi: 10.1186 / 1746-1596-4-1.
12. Lee K.H., Lee H.J., Lee C.-H., Kim J.Y., Kim J.M., Kim S.S., Jeong S., Hwang I.S., Kim N., Kim N.E., Shin S., Shin D., Song J.S., Shin D.H., Kim J.D., Kim J., Lee Y.S., Kang H., Kim D.H., Moon S.H., Rho W.S., Lee J.Y., Kronbichler A., Shin J.I. Adrenal insufficiency in systemic lupus erythematosus (SLE) and antiphospholipid syndrome (APS): A systematic review. *Autoimmun. Rev.*, 2019, Vol. 18, pp. 1-8.
13. Marin G.G., Cardiel M.H., Cornejo H., Viveros M.E. Prevalence of antinuclear antibodies in 3 groups of healthy individuals: blood donors, hospital personnel, and relatives of patients with autoimmune diseases. *J. Clin. Rheumatol.* 2009, Vol. 7, no. 15, pp. 325-329.
14. Martini A., Ravelli A., Avcin T., Beresford M.W., Burgos-Vargas R., Cuttica R., Ilowite N.T., Khubchandani R., Laxer R.M., Lovell D.J., Petty R.E., Wallace C.A., Wulffraat N.M., Pistorio A., Ruperto N.; Pediatric Rheumatology International Trials Organization (PRINTO) toward new classification criteria for juvenile idiopathic arthritis: first steps, pediatric rheumatology international trials organization international consensus. *J. Rheumatol.*, 2019, Vol. 46, no. 2, pp. 190-197.
15. Mirouse A., Seror R., Vicaut E., Mariette X., Dougados M., Fauchais A.-L., Deroux A., Dellal A., Costedoat-Chalumeau N., Denis G., Sellam J., Arlet J.-B., Lavigne C., Urbanski G., Fischer-Dumont D., Diallo A., Fain O., Mékinian A.; Club Rhumatismes Inflammation and SNFMI Arthritis in primary Sjögren's syndrome: Characteristics, outcome and treatment from French multicenter retrospective study. *Autoimmun. Rev.*, 2019, Vol. 18, no. 1, pp. 9-14.
16. Missoum H., Alami M., Bachir F., Arji N., Bouyahya A., Rhajaoui M., El Aouad R., Bakri Y. Prevalence of autoimmune diseases and clinical significance of autoantibody profile: Data from National Institute of Hygiene in Rabat, Morocco. *Hum. Immunol.*, 2019, Vol. 80, no. 7, pp. 523-532.
17. Pashnina I.A., Krivolapova I.M., Fedotkina T.V., Ryabkova V.A., Cheresheva M.V., Churilov L.P., Chereshev V.A. Antinuclear autoantibodies in health: autoimmunity is not a synonym of autoimmune disease. *Antibodies*, 2021, Vol. 10, no. 1, 9. doi: 10.3390/antib10010009.
18. Pérez D., Gilburd B., Cabrera-Marante Ó., Martínez-Flores J.A., Serrano M., Naranjo L., Pleguezuelo D., Morillas L., Shovman O., Paz-Artal E., Shoenfeld Y., Serrano A. Predictive autoimmunity using autoantibodies: screening for anti-nuclear antibodies. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2018, Vol. 56, no. 10, pp. 1771-1777.
19. Saikia B., Rawat A., Vignesh P. Autoantibodies and their judicious use in pediatric rheumatology practice. *Indian J. Pediatr.*, 2016, Vol. 183, no. 1, pp. 53-62.
20. Siloși I., Siloși C.A., Boldeanu M.V., Cojocaru M., Biciușcă V., Avrănescu C.S., Cojocaru I.M., Bogdan M., Folcuți R.M. The role of autoantibodies in health and disease. *Rom. J. Morphol. Embryol.*, 2016, Vol. 57, no. 2, Suppl., pp. 633-638.
21. Sisó-Almirall A., Kostov B., Martínez-Carbonell E., Brito-Zerón P., Ramirez P.B., Acar-Denizli N., Delicado P., González-Martínez S., Muñoz C.V., Àreu J.B., Ramos-Casals M. The prevalence of 78 autoimmune

diseases in Catalonia (MASCAT-PADRIS Big Data Project). *Autoimmun. Rev.*, 2020, Vol. 19, no. 2, 102448. doi: 10.1016/j.autrev.2019.102448.

22. Sur L.M., Floca E., Sur D.G., Colceriu M.C., Samasca G., Sur G. Antinuclear antibodies: marker of diagnosis and evolution in autoimmune diseases. *Lab. Med.*, 2018, Vol. 49, no. 3, pp. e62-e73.

23. Suurmond J., Diamond B. Autoantibodies in systemic autoimmune diseases: specificity and pathogenicity. *J. Clin. Investig.*, 2015, Vol. 125, no. 6, pp. 2194-2202.

Авторы:

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

Крицкая И.С. — врач клинической лабораторной диагностики ФКУЗ «Медико-санитарная часть Министерства внутренних дел Российской Федерации по Свердловской области», г. Екатеринбург, Россия

Власова Е.В. — к.м.н., врач — аллерголог-иммунолог ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», г. Екатеринбург, Россия

Криволапова И.М. — биолог клинико-диагностической лаборатории ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», г. Екатеринбург, Россия

Authors:

Pashnina I.A., PhD MD (Biology), Head, Clinical and Diagnostic Laboratory, Regional Children's Clinical Hospital, Yekaterinburg, Russian Federation

Kritskaya I.S., Doctor, Clinical Diagnostic Laboratory, Medical and Sanitary Unit of the Ministry of Internal Affairs of the Russian Federation for the Sverdlovsk Region, Yekaterinburg, Russian Federation

Vlasova E.V., PhD (Medicine), Allergologist-Immunologist, Regional Children's Clinical Hospital, Yekaterinburg, Russian Federation

Krivolapova I.M., Biologist, Clinical Diagnostic Laboratory, Regional Children's Clinical Hospital, Yekaterinburg, Russian Federation

Поступила 28.03.2024

Отправлена на доработку 31.03.2024

Принята к печати 10.04.2024

Received 28.03.2024

Revision received 31.03.2024

Accepted 10.04.2024

ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ СЕМЕЙНОЙ СРЕДИЗЕМНОМОРСКОЙ ЛИХОРАДКИ

Калягин А.Н.^{1,2,3}, Стельмах Ю.Л.³, Антипова О.В.³,
Меньшикова Л.В.⁴, Орлова Г.М.¹, Синькова Г.М.¹, Синьков А.В.¹,
Рыжкова О.В.¹, Козлова Н.М.¹, Балабина Н.М.¹

¹ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Иркутск, Россия

² ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет», Москва, Россия

³ ОГБУЗ «Иркутская городская клиническая больница № 1», г. Иркутск, Россия

⁴ ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. Целью настоящей работы является попытка сформировать обзор актуальных рекомендаций по диагностике и терапии семейной средиземноморской лихорадки, а также представить собственное клиническое наблюдение данной патологии.

Проведен выборочный анализ литературы за последние 5 лет (2020–2024) в наукометрических базах данных PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>) и Российском индексе научного цитирования (www.elibrary.ru).

Рассматриваются современные данные об аутовоспалительном заболевании – семейной средиземноморской лихорадке. Делается акцент на эпидемиологии, генетике, клинических особенностях, диагностике, динамическом наблюдении и терапии данной патологии. Важным является понимание такого факта, как возможность сочетания данного патологического состояния с широким спектром аутоиммунных заболеваний, среди которых воспалительные заболевания кишечника, ювенильный идиопатический артрит, ревматоидный артрит и др. Отсутствие терапии опасно развитием серьезных осложнений, в частности – системного амилоидоза. Обращается внимание на применение колхицина, его дозовый режим, а также в случае колхицинорезистентности и недостаточной эффективности колхицина – ингибиторов IL-1. Приводится собственное клиническое наблюдение этого заболевания с акцентом на особенности течения и этапности терапии данной патологии. Мужчина молодого возраста, армянин, в течение 3 лет обращался по поводу острых состояний с повышением температуры тела до фебрильных значений, выраженными болями в животе и умеренными артралгиями. Состояния сопровождались лейкоцитозом, повышением С-реактивного белка, но никаких признаков острого хирургического заболевания не выявлялось. После проведения молекулярно-генетического

Адрес для переписки:

Калягин Алексей Николаевич
ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» 664003, Россия, г. Иркутск,
ул. Красного Восстания, 1.
Тел.: 8 (395) 224-36-61.
E-mail: akalagin@mail.ru

Address for correspondence:

Aleksey N. Kalyagin
Irkutsk State Medical University
1 Krasnogo Vosstaniya St
Irkutsk
664003 Russian Federation.
Phone: +7 (395) 224-36-61.
E-mail: akalagin@mail.ru

Образец цитирования:

А.Н. Калягин, Ю.Л. Стельмах, О.В. Антипова,
Л.В. Меньшикова, Г.М. Орлова, Г.М. Синькова,
А.В. Синьков, О.В. Рыжкова, Н.М. Козлова,
Н.М. Балабина «Особенности диагностики и терапии
семейной средиземноморской лихорадки» // Российский
иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 515-522.
doi: 10.46235/1028-7221-16843-FOD

© Калягин А.Н. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.N. Kalyagin, Yu.L. Stelmakh, O.V. Antipova,
L.V. Menshikova, G.M. Orlova, G.M. Sinkova, A.V. Sinkov,
O.V. Ryzhkova, N.M. Kozlova, N.M. Balabina “Features
of diagnostics and therapy of familial mediterranean fever”,
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskiy
Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 515-522.
doi: 10.46235/1028-7221-16843-FOD

© Kalyagin A.N. et al., 2024

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16843-FOD

исследования верифицирован диагноз семейной средиземноморской лихорадки. Был назначен колхицин, который позволил купировать многие проявления болезни, принимает его регулярно в течение 5 лет. В настоящее время эпизоды обострений стали существенно реже, нормализовались лабораторные маркеры острого воспаления, однако применение колхицина в максимальной суточной дозе вызывает дискомфорт в животе. Редкие эпизоды обострений на фоне лечения позволяют подозревать недостаточную эффективность применения этого лекарственного средства. Вариантом достижения результата в такой ситуации является использование такого класса генно-инженерных биологических препаратов, как ингибиторы IL-1.

Семейная средиземноморская лихорадка является редким патологическим состоянием, однако настороженность в отношении его выявления должна быть у врачей различных клинических специальностей. Достижение успеха лечения требует постоянного мониторинга состояния пациента, назначения терапии колхицином или ингибиторами IL-1 с момента установления диагноза.

Ключевые слова: аутовоспалительные синдромы, семейная средиземноморская лихорадка, периодическая болезнь, колхицин, колхицинорезистентность, ингибиторы IL-1, клиническое наблюдение

FEATURES OF DIAGNOSTICS AND THERAPY OF FAMILIAL MEDITERRANEAN FEVER

Kalyagin A.N.^{a, b, c}, Stelmakh Yu.L.^c, Antipova O.V.^c, Menshikova L.V.^d, Orlova G.M.^a, Sinkova G.M.^a, Sinkov A.V.^a, Ryzhkova O.V.^a, Kozlova N.M.^a, Balabina N.M.^a

^a Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation

^b Russian Biotechnological University, Moscow, Russian Federation

^c Irkutsk Municipal Clinical Hospital No. 1, Irkutsk, Russian Federation

^d Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation

Abstract. The purpose of this work is to attempt to provide an overview of current recommendations for the diagnosis and treatment of familial Mediterranean fever, as well as to present our own clinical observation of this pathology.

A selective analysis of the literature over the past 5 years (2020-2024) was carried out in the scientometric databases PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>) and the Russian Science Citation Index (www.elibrary.ru).

Current data on the autoinflammatory disease familial Mediterranean fever are reviewed. It is important to understand the fact that this pathological condition can be combined with a wide range of autoimmune diseases. The lack of therapy is dangerous for the development of serious complications (systemic amyloidosis). Attention is drawn to the use of colchicine, as well as in the case of colchicine resistance and insufficient effectiveness of colchicine – IL-1 inhibitors. We present our own clinical observation of this disease with an emphasis on the features of the course and stages of therapy for this pathology. A young man, Armenian, was treated for 3 years due to acute conditions with an increase in body temperature to febrile levels, severe abdominal pain and moderate arthralgia. The conditions were accompanied by leukocytosis and increased CRP, but no signs of acute surgical disease were detected. After a molecular genetic study, the diagnosis of familial Mediterranean fever was verified. Colchicine was prescribed, which helped stop many manifestations of the disease; she has been taking it regularly for 5 years. Currently, episodes of exacerbations have become significantly less frequent, laboratory markers of acute inflammation have normalized, but the use of colchicine in the maximum daily dose causes abdominal discomfort. Rare episodes of exacerbations during treatment suggest insufficient effectiveness of this drug. An option to achieve results in such a situation is to use a class of genetically engineered biological drugs such as IL-1 inhibitors.

Familial Mediterranean fever is a rare pathological condition, but doctors of various clinical specialties should be wary of its detection. Achieving treatment success requires constant monitoring of the patient's condition, prescribing therapy with colchicine or IL-1 inhibitors from the moment of diagnosis.

Keywords: autoinflammatory syndromes, familial Mediterranean fever, FMF, periodic disease, colchicine, colchicine resistance, IL-1 inhibitors, clinical case

Введение

Благодаря внедрению современных технологий диагностики увеличивается частота выявления пациентов с различными орфанными заболеваниями, в том числе с аутовоспалительными синдромами (АВС). К числу таких АВС относится семейная средиземноморская лихорадка (ССМЛ, периодическая болезнь) [5].

ССМЛ представляет собой аутовоспалительное аутосомно-рецессивное заболевание, обусловленное мутацией гена *MEFV*, которое характеризуется возникновением рецидивирующей лихорадки и воспаления брюшины, плевры, перикарда и синовиальных оболочек суставов, сопровождающимися сильными болями в них.

Несмотря на то, что ССМЛ и другие семейные синдромы периодической лихорадки были описаны только во второй половине XX века, упоминания периодических лихорадок можно найти в медицинских трактатах с глубокой древности [7].

Данное патологическое состояние встречается особенно часто среди турок, армян, сефардских евреев и жителей Северной Африки [6]. Распространенность ССМЛ во всем мире примерно оценивается в 100 тыс. человек [6].

В России наибольшая частота встречаемости этого АВС наблюдается в Северо-Кавказском и Южном федеральных округах, где чаще всего базируются армяне, азербайджанцы, турки, аварцы, ингуши и др. Кроме того, предполагается увеличение таких пациентов в таких мегаполисах, как Москва и Санкт-Петербург [4].

Ген *MEFV*, мутации которого наблюдаются при ССМЛ, кодирует экспрессию белка пирин. Пирин вырабатывается в моноцитах, эозинофилах, дендритных клетках, нейтрофилах, фибробластах и принимает участие в синтезе $IL-1$, являющегося самым сильным индуктором воспаления [1].

Заболевание имеет выраженную медико-социальную значимость, т. к. поражает молодых и социально-активных людей, что нарушает их способность к обучению и трудовой деятельности, а в ряде случаев приводит к преждевременной смертности. У женщин отмечается негативное влияние на фертильность из-за риска развития тубоовариальных спаек, связанных с фиброзом брюшины в исходе воспалительных эпизодов [3]. Имеются указания на возможность коморбидной ассоциации с болезнью Бехчета, что рядом специалистов связывается с носительством мутантного гена *MEFV* [8]. Мутации гена *MEFV* также ассоциированы с воспалительными процессами, не связанными с ССМЛ, включая

ювенильный идиопатический артрит, ревматоидный артрит, синдром фибромиалгии, язвенный колит, анкилозирующий спондилит [2, 6].

Цель работы — сформировать обзор актуальных рекомендаций по диагностике и терапии ССМЛ, а также представить собственное клиническое наблюдение данной патологии.

Материалы и методы

Проведен выборочный анализ литературы за последние 5 лет (2020–2024) в наукометрических базах данных PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>) и Российском индексе научного цитирования (www.elibrary.ru). Проанализированы актуальные рекомендации по диагностике и лечению пациентов с ССМЛ.

Представлено собственное клиническое наблюдение пациента с ССМЛ. Добровольное информированное согласие больного на обезличенную публикацию данных его медицинской документации получено.

Результаты и обсуждение

Сочетание рецидивирующих приступов серозитов различных локализаций (брюшная, плевральная, перикардиальная полость или синовиальная оболочка сустава) в сочетании с гипертермией у молодого пациента или ребенка должно ориентировать врача на выявление ССЛ с возможной генетической верификацией патологии.

Первый приступ ССМЛ часто возникает в детском возрасте, и обычно он приходится на период до 20 лет. Все приступы развиваются в течение 2–4 часов и длятся от 6 часов до 4 дней. Иногда она сопровождается эритематозной сыпью (иногда — «рожеподобной») или головной болью. Провоцировать приступы могут разнообразные факторы, в частности это переохлаждение, инфекционные заболевания, травмы, а также высококалорийная диета, богатая легко усваиваемыми углеводами и триглицеридами.

Основными клиническими проявлениями болезни являются лихорадка — у 93,3%, абдоминалгии — у 80,7%, артралгии — у 66,9%, торакалгии — у 40,2%, мышечные симптомы — у 36,3%, вовлечение кожи — у 31,2%, афты ротовой полости — у 28,6%, поражение почек — у 15,4%, рецидивирующий орхит — у 3,5% пациентов [1].

Классическая клиническая картина системной средиземноморской лихорадки в отсутствие настороженности врачей первичного звена (врачей-педиатров, врачей общей практики (семей-

ТАБЛИЦА 1. МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОГО И ИНСТРУМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ССМЛ

TABLE 1. METHODS OF LABORATORY AND INSTRUMENTAL RESEARCH FOR FMF

Показатель Index	На этапе диагностики At the diagnostic stage	При обострениях During exacerbations	Для выявления осложнений To identify complications	Для оценки эффективности / безопасности терапии To assess the effectiveness / safety of therapy
Молекулярно-генетическая идентификация гена MEVF Molecular genetic identification of the MEVF gene	Да Yes	Нет No	Нет No	Нет No
Клинический анализ крови включая определение СОЭ Clinical blood test including determination of ESR	Да Yes	Да Yes	Да Yes	Да Yes
Высокочувствительный СРБ High sensitivity SRP	Да Yes	Да Yes	Да Yes	Да Yes
Протеинурия Proteinuria	Да Yes	Да Yes	Да Yes	Да Yes
АЛТ, АСТ, КФК Aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, creatine phosphokinase	Да Yes	Да Yes	Да Yes	Да Yes
Сывороточный амилоид Serum amyloid	Да Yes	Да Yes	Да Yes	Да Yes
УЗИ серозных полостей и почек Ultrasound of serous cavities and kidneys	Да Yes	Да Yes	Да Yes	Да Yes
Эндоскопическое исследование с биопсией для получения материала и анализ на амилоид Endoscopic examination with biopsy to obtain material and analysis for amyloid	Да Yes	Нет No	Да Yes	Нет No
Нефробиопсия Nephrobiopsy	Нет No	Нет No	Да Yes	Нет No

ных врачей), врачей-терапевтов) и отделений экстренной медицинской помощи (врачей-хирургов, врачей-гастроэнтерологов и др.) затрудняет установление диагноза.

Диагноз ССМЛ должен устанавливаться врачами-ревматологами, врачами-генетиками или врачами-нефрологами, имеющими опыт выявления и ведения таких пациентов. В основе диагностики применение нескольких вариантов критериев, среди которых наиболее чувствительными считаются Eurofever/PRINTO [1, 4, 5, 7].

Пациенты для установления диагноза и дальнейшего мониторинга состояния нуждаются в

динамическом лабораторном и инструментальном исследовании (табл. 1).

Несмотря на то, что приступы, как правило, проходят спонтанно, ССМЛ имеет важное клиническое значение. Без лечения, предотвращающего обострения, ССМЛ может привести к серьезному вторичному системному амилоидозу, с потенциальным развитием снижения почечной функции. Кроме того, у пациентов нередко развивается анемия хронического заболевания, спаечная болезнь в результате рецидивирующих серозитов и возможных ревизий брюшной полости, которые выполняются при неясных болях в

животе, для женщин типично развитие бесплодия [4].

Как и при многих других заболеваниях терапия проводится до намеченной цели, которая заключается в следующих элементах [6]:

- добиться полного разрешения эпизодов обострения ССМЛ в отсутствии явных провоцирующих факторов;

- нормализовать субклиническое воспаление в период между обострениями;

- предотвратить отдаленные осложнения, включая АА амилоидоз, или замедлить их прогрессирование.

В качестве начального терапевтического агента, который назначается в обязательном порядке после установления диагноза ССМЛ, используется колхицин. Первоначальная доза колхицина составляет $\leq 0,5$ мг/сут для детей в возрасте менее 5 лет, $0,5$ мг/сут – для детей от 5 до 10 лет и 1 мг/сут для детей от 10 до 18 лет и для взрослых. При сохранении эпизодов обострения доза постепенно увеличивается до максимальной, это 1 мг/сут для детей в возрасте младше 5 лет, 2 мг/сут – для детей препубертатного периода и 3 мг/сут для подростков в постпубертатный период и взрослых [7]. Несмотря на оптимальное лечение, около 5% пациентов вообще не реагируют на максимально переносимую дозу колхицина, а от 20% до 40% – характеризуются неполным ответом в виде частичного контроля эпизодов лихорадки и серозитов [8]. Лабораторными маркерами колхицинорезистентности являются появление клинически значимой протеинурии на фоне применения данного препарата, сохраняющийся повышенный уровень высокочувствительного СРБ, а также выявление сывороточного амилоида.

Прием колхицина требует мониторинга токсичности – диспепсические симптомы, повышение АЛТ, АсТ, ЩФ, ГГТП, лейкопения, нейромиопатия, азооспермия [6].

При колхицино-резистентности и неполном контроле симптомов используется группа ингибиторов ИЛ-1. Существует три различных типа ингибиторов ИЛ-1: 1) анакинра является человеческим рекомбинантным негликозилированным аналогом антагониста рецептора ИЛ-1 (ИЛ-1ra); 2) рилонацепт представляет собой гибридный белок, сконструированный таким образом, чтобы содержать внеклеточный домен рецептора интерлейкина-1 типа I, слитый с Fc-частью IgG1; 3) канакинумаб – это полностью гуманизированное моноклональное антитело класса IgG1, специфично действующее против ИЛ-1 β [4, 6, 7]. Изучается возможность использования препаратов, которые действуют на ИЛ-6 [6].

Клиническое наблюдение

Больной мужчина, армянин, 31 год. Отмечает жалобы на 4–5-дневные крайне выраженные приступы болей в животе с явлениями вздутия на фоне повышения температуры тела в подмышечной впадине до 39 °С, артралгии, прием спазмолитиков и анальгетиков не эффективен. С течением времени наблюдается нарастание продолжительности приступов с 1 до 5 дней, более высокая гипертермия во время приступа. До диагностики заболевания неоднократно поступал по экстренным показаниям в приемно-диагностические отделения многопрофильных больниц, исключалась картина «острого живота».

По образованию врач, заболел 8 лет назад с болей в животе, артралгий, гипертермии. Учитывая этническую принадлежность (армянин), заподозрена ССМЛ и был направлен на молекулярно-генетическое исследование.

Лабораторные данные на момент постановки диагноза лейкоцитоз – $15,2 \times 10^9$ /л, СОЭ 35 мм/ч, СРБ – до 238 мг/л (норма до 5), ферритин – 405 нг/л, мочевиная кислота – 428 ммоль/л, сывороточный амилоид SSA – $0,8$ мг/л, креатинин – 88 мкмоль/л, СКФ (ЕРІ) – 94 мл/мин/м².

До получения результатов молекулярно-генетического тестирования был выставлен предварительный диагноз: «Вероятная семейная средиземноморская лихорадка: приступы лихорадки, суставной синдром, абдоминальный синдром, вторичная артериальная гипертензия, хроническая болезнь почек С1». Возможность заподозрить ССМЛ возникла в связи с наличием 2 критериев Eurofever/PRINTO: продолжительность эпизодов 1–3 дня в сочетании с болями в животе.

Генетическое исследование позволило выявить мутацию гена MEFV с.2080A>G (p.Met694Val; p.M694V) и с.2177T>C (p.V726A) в компаунд-гетерозиготном состоянии. Был выставлен достоверный диагноз ССМЛ.

5 лет назад начат прием колхицина $1,5$ – 3 мг/сут. После начала приема колхицина частота приступов снизилась с 2–4 раз в месяц до 3 раз в год, и их длительность сократилась с 5 до 2 дней, также практически перестали болеть суставы. После приема колхицина возникают 2–3-часовые эпизоды дискомфорта в животе, тошнота, диарея, преимущественно в вечерние часы. Полного купирования симптомов заболевания не отмечается. Пациент по образованию врач, понимает потенциальные осложнения, что обуславливает его высокую комплаентность.

Учитывая недостаточную эффективность терапии колхицином, принято решение о назначении ГИБП блокатора ИЛ-1, однако лечение еще

не начато. Выполнена биопсия двенадцатиперстной кишки — исключен амилоидоз. С учетом сопутствующей артериальной гипертензии пациент получает периндоприл А 2,5 мг 1 раз в сутки (целевой уровень АД 120/80 мм рт. ст.). Осуществляется динамическое наблюдение.

В приведенном наблюдении отмечается, что у пациента молодого возраста, армянина, выявлялись повторяющиеся эпизоды лихорадки и болей в животе, а также легких артралгий. Эти симптомы требовали периодических обращений в приемно-диагностические отделения многопрофильных стационаров. Диагноз ССМЛ был заподозрен спустя 3 года от начала этих клинических проявлений, вначале установлен на основании критериев Eurofever/PRINTO, а затем подтвержден молекулярно-генетическим методом.

Иницированная терапия колхицином в значительной степени позволила контролировать симптомы заболевания, однако полной ликвидации проявлений не обеспечила. Использование ингибиторов ИЛ-1 в таких условиях более перспективно для пациента, т. к. позволяет минимизировать возможные побочные эффекты колхицина, более надежно предупредить развитие

такого грозного осложнения, как АА-амилоидоз, также рациональным является назначение этого класса лекарственных средств при выявлении амилоидоза на фоне проводимой терапии колхицином.

Заключение

ССМЛ является редким АВС, который встречается у особых этнических групп (армяне, азербайджанцы, турки, аварцы, ингуши и др.) и требует своевременной диагностики в детском или молодом возрасте. Пациенты могут оказаться в поле зрения врачей-педиатров, врачей-терапевтов, врачей общей практики (семейных врачей), врачей — аллергологов-иммунологов, врачей-ревматологов и врачей-нефрологов, которые должны иметь диагностическую настороженность. Лечение осуществляется колхицином или ингибиторами ИЛ-1. Своевременная и эффективная терапия способна предупредить возникновение жизнеопасных осложнений или сдержать их прогрессирование, в частности системного АА-амилоидоза.

Список литературы / References

1. Ахмедов В.А., Морова Н.А., Бикбавова Г.Р., Панова Т.Ю., Баранова О.Е., Егорова К.А. Семейная средиземноморская лихорадка: обзор литературы и случай из практики // Медицинский оппонент, 2023. № 1. С. 59-64. [Akhmedov V.A., Morova N.A., Bikbavova G.R., Panova T.Yu., Baranova O.E., Egorova K.A. Family Mediterranean fever: literature review and case study. *Meditisinskiy opponent = Medical Opponent*, 2023, no. 1, pp. 59-64. (In Russ.)]
2. Бикбавова Г.Р., Ахмедов В.А., Третьякова Т.В., Панова Т.Ю. Семейная средиземноморская лихорадка: вопросы диагностики и лечения // Лечащий врач, 2023. Т. 26, № 6. С. 101-104. [Bikbavova G.R., Akhmedov V.A., Tretyakova T.V., Panova T.Yu. Familial Mediterranean fever: issues of diagnosis and treatment. *Lechashchiy vrach = Attending Doctor*, 2023, Vol. 26, no. 6, pp. 101-104. (In Russ.)]
3. Кирсанова Т.В., Яроцкая В.Ю., Клименченко Н.И., Владыкина М.А. Некупируемое обострение периодической болезни во время беременности // Акушерство и гинекология, 2021. № 8. С. 230-235. [Kirsanova T.V., Yarotskaya V.Yu., Klimenchenko N.I., Vladykina M.A. Unrelieved exacerbation of familial mediterranean fever during pregnancy. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*, 2021, no. 8, pp. 230-235. (In Russ.)]
4. Насонов Е.Л., Мазуров В.И., Куцев С.И., Лиля А.М., Поляков А.В., Дубиков А.И., Захарова Е.Ю., Моисеев С.В., Рамеев В.В., Бабаева А.Р., Елисеева Л.Н., Никишина И.П., Торгашина А.В., Самигуллина Р.Р., Салугина С.О., Федоров Е.С., Аношенкова О.Н. Резолюция совещания экспертов: нерешенные проблемы семейной средиземноморской лихорадки в России // Научно-практическая ревматология, 2021. Т. 9, № 1. С. 111-114. [Nasonov E.L., Mazurov V.I., Kutsev S.I., Lila A.M., Polyakov A.V., Dubikov A.I., Zakharova E.Yu., Moiseev S.V., Rameev V.V., Babaeva A.R., Eliseeva L.N., Nikishina I.P., Torgashina A.V., Samigullina R.R., Salugina S.O., Fedorov E.S., Anoshenkova O.N. Resolution of the scientific advisory board: unresolved issues of familial mediterranean fever in Russia. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Scientific and Practical Rheumatology*, 2021, Vol. 59, no. 1, pp. 111-114. (In Russ.)]
5. Салугина С.О., Федоров Е.С., Каледа М.И. Генно-инженерные биологические препараты при основных моногенных аутовоспалительных заболеваниях. Опыт применения в ревматологической практи-

ке // Современная ревматология, 2021. Т. 15, № 4, С. 24-30. [Salugina S.O., Fedorov E.S., Kaleda M.I. Biological disease-modifying antirheumatic drugs in the main monogenic autoinflammatory diseases treatment. Experience of application in rheumatological practice. *Sovremennaya revmatologiya = Modern Rheumatology*, 2021, Vol. 15, no. 4, pp. 24-30. (In Russ.)]

6. Georjin-Lavialle S., Savey L., Cuisset L., Boursier G., Boffa J.J., Delplanque M., Bourguiba R., Monfort J.B., Touitou I., Grateau G.; Collaborators; Kone-Paut I, Hentgen V. French protocol for the diagnosis and management of familial Mediterranean fever. *Rev. Med. Interne*, 2023, Vol. 44, no. 11, pp. 602-616.

7. Lancieri M., Bustaffa M., Palmeri S., Prigione I., Penco F., Papa R., Volpi S., Caorsi R., Gattorno M. An Update on Familial Mediterranean Fever. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, Vol. 24, no. 11, 9584. doi: 10.3390/ijms24119584.

8. Mir A., Ivory C., Cowan J. Concurrence of familial Mediterranean fever and Behçet's disease: a case report and review of the literature. *J. Med. Case Rep.*, 2023, Vol. 17, no. 1, 438. doi: 10.1016/j.revmed.2023.10.441.

Авторы:

Калягин А.Н. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Иркутск; профессор кафедры естественно-научных дисциплин Пуцунского филиала ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет», Москва; врач-ревматолог ОГБУЗ «Иркутская городская клиническая больница № 1», г. Иркутск, Россия

Стельмах Ю.Л. — врач-ревматолог ОГБУЗ «Иркутская городская клиническая больница № 1», г. Иркутск, Россия

Антипова О.В. — заведующая ревматологическим центром ОГБУЗ «Иркутская городская клиническая больница № 1», г. Иркутск, Россия

Меньшикова Л.В. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой семейной медицины Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования — филиала ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Орлова Г.М. — д.м.н., профессор кафедры госпитальной терапии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Иркутск, Россия

Authors:

Kalyagin A.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Introduce of Internal Medicine, Irkutsk State Medical University, Irkutsk; Professor, Department of Natural Sciences, Russian Biotechnological University, Moscow; Rheumatologist, Irkutsk Municipal Clinical Hospital No. 1, Irkutsk, Russian Federation

Stelmakh Yu.L., Rheumatologist, Irkutsk Municipal Clinical Hospital No. 1, Irkutsk, Russian Federation

Antipova O.V., Head, Rheumatology Center, Irkutsk Municipal Clinical Hospital No. 1, Irkutsk, Russian Federation

Menshikova L.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Family Medicine, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation

Orlova G.M., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Hospital Therapy, Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation

Синькова Г.М. — д.м.н., доцент, профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Иркутск, Россия

Синьков А.В. — д.м.н., доцент, профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Иркутск, Россия

Рыжкова О.В. — д.м.н., доцент, профессор кафедры факультетской терапии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Иркутск, Россия

Козлова Н.М. — д.м.н., доцент, заведующая кафедрой факультетской терапии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Иркутск, Россия;

Балабина Н.М. — д.м.н., доцент, профессор кафедры поликлинической терапии и общей врачебной практики ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Иркутск, Россия

Sinkova G.M., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Professor, Department of Introduce of Internal Medicine, Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation

Sinkov A.V., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Professor, Department of Introduce of Internal Medicine, Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation

Ryzhkova O.V., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Professor, Department of Faculty Therapy, Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation

Kozlova N.M., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Head, Department of Faculty Therapy, Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation

Balabina N.M., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Professor, Department of Polyclinic Therapy and General Medical Practice, Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation

Поступила 01.04.2024

Отправлена на доработку 06.04.2024

Принята к печати 18.04.2024

Received 01.04.2024

Revision received 06.04.2024

Accepted 18.04.2024

ОДНОНУКЛЕОТИДНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ IL-17F КАК ВОЗМОЖНЫЙ БИОМАРКЕР РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА В РУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ И ЕГО НЕРАВНОВЕСНОЕ СЦЕПЛЕНИЕ С IL-17A

Шмелькова Д.М.¹, Сташкевич Д.С.¹, Сулова Т.А.^{1, 2}, Девальд И.В.^{1, 3}

¹ ФГБОУ «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

² ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови», г. Челябинск, Россия

³ ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Челябинск, Россия

Резюме. На данный момент проводится много исследований, направленных на изучение семейства интерлейкина 17 (IL-17) и его роли в иммунном ответе и различных патологиях. Белки IL-17 выполняют различные функции, включая регуляцию иммунитета и активацию воспаления. IL-17A и IL-17F относятся к провоспалительным цитокинам и являются наиболее изученными представителями семейства интерлейкина-17 и обладают схожими функциями и наибольшей активностью, продуцируются основным типом иммунокомпетентных клеток – Т-хелперов 17-го типа, которые играют ключевую роль в иммунном ответе при аутоиммунных заболеваниях, в том числе при ревматоидном артрите. Ключевым моментом регуляции количества и функциональной активности цитокинов, в том числе IL-17A и IL-17F, является полиморфизм их генов. Ввиду того, что полиморфизм гена IL-17F 7488 T/C расположен на 6-й хромосоме вблизи полиморфизма гена IL-17A -197G/A и они оба принимают участие в иммунопатогенезе РА, возможно их аллельные варианты наследуются сцеплено и формируют гаплотипы. Целью нашего исследования является выявление возможной ассоциации полиморфизма гена IL-17F с предрасположенностью к ревматоидному артриту, в том числе в зависимости от возраста и пола пациентов русской популяции Челябинской области, а также оценка формирования гаплотипов IL-17A ~ IL-17F в группе больных в сравнении с группой условно здоровых лиц. Результат нашего исследования достоверно указывает, что гомозиготный генотип по предковому аллелю 7488*ТТ гена IL-17F ($p < 0,001$) вносит огромный вклад в предрасположенность к ревматоидному артриту, в том числе и в группе мужчин. Кроме того, в ходе проведенных нами исследований было установлено, что полиморфизмы в генах IL-17A и IL-17F сцеплены друг с другом, а также

Адрес для переписки:

Сташкевич Дарья Сергеевна
ФГБОУ «Челябинский государственный университет»
454001, Россия, г. Челябинск,
ул. Братьев Кашириных, 129.
Тел.: 8 (999) 585-63-25.
E-mail: stashkevich_dary@mail.ru

Address for correspondence:

Daria S. Stashkevich
Chelyabinsk State University
129 Kashirin Brothers St
Chelyabinsk
454001 Russian Federation
Phone: +7 (999) 585-63-25.
E-mail: stashkevich_dary@mail.ru

Образец цитирования:

Д.М. Шмелькова, Д.С. Сташкевич, Т.А. Сулова, И.В. Девальд «Однонуклеотидный полиморфизм IL-17F как возможный биомаркер ревматоидного артрита в русской популяции Челябинской области и его неравновесное сцепление с IL-17A» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 523-530. doi: 10.46235/1028-7221-16775-SNP

© Шмелькова Д.М. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

D.M. Shmelkova, D.S. Stashkevich, T.A. Suslova, I.V. Devald "Single nucleotide polymorphism of IL-17F as a possible biomarker of rheumatoid arthritis in the russian population of the Chelyabinsk region and its non-equilibrium linkage with IL-17A", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 523-530. doi: 10.46235/1028-7221-16775-SNP

© Shmelkova D.M. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16775-SNP

образуют два гаплотипа. Один из них IL-17A -197*G ~ IL-17F 7488*С связан с сниженным риском развития ревматоидного артрита. Особенность данного гаплотипа заключается в том, что между собой сцеплены предковый аллель гена IL-17A и мутантный аллель гена IL-17F, который берет на себя основную функцию и уменьшает уровень активности белка и, вероятно, тем самым снижает риск развития РА.

Ключевые слова: полиморфизм, IL-17F, IL-17A, ревматоидный артрит, русская популяция, полиморфизм гена IL-17F

SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM OF IL-17F AS A POSSIBLE BIOMARKER OF RHEUMATOID ARTHRITIS IN THE RUSSIAN POPULATION OF THE CHELYABINSK REGION AND ITS NON-EQUILIBRIUM LINKAGE WITH IL-17A

Shmelkova D.M.^a, Stashkevich D.S.^a, Suslova T.A.^{a, b}, Devald I.V.^{a, c}

^a Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

^b Chelyabinsk Regional Blood Transfusion Station, Chelyabinsk, Russian Federation

^c South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. The interleukin 17 (IL-17) family and its role in the immune response and various pathologies is studied in different research. IL-17A and IL-17F belong to proinflammatory cytokines and are the most studied members of the interleukin 17 family and have similar functions and the greatest activity. They play a key role in the immune response in autoimmune diseases, including rheumatoid arthritis. The key point in the regulation of the amount and functional activity of cytokines, including IL-17A and IL-17F, is polymorphism of their genes. Due to the fact that the polymorphism of the IL-17F gene 7488 T/C is located on chromosome 6 near the polymorphism of the IL-17A gene -197G/A and they both take part in the immunopathogenesis of RA, it is possible that their allelic variants are inherited linked and form haplotypes. The purpose of our study is to identify a possible association of IL-17F gene polymorphism with a predisposition to rheumatoid arthritis, including depending on the age and gender of patients in the Russian population of the Chelyabinsk region, as well as to assess the formation of IL-17A ~ IL-17F haplotypes in a group of patients in comparison with a group of conditionally healthy individuals. The result of our study reliably indicates that the homozygous genotype for the ancestral allele 7488 TT of the IL-17F gene ($p \ll 0.001$) makes a huge contribution to the susceptibility to rheumatoid arthritis, including in the group of men. In addition, polymorphisms in the IL-17A and IL-17F genes are linked to each other and form two haplotypes. One of them, IL-17A -197*G ~ IL-17F 7488*С, is associated with a reduced risk of developing rheumatoid arthritis. This haplotype is formed by the ancestral allele of the IL-17A gene and the mutant allele of the IL-17F gene, which takes over the main function and reduces the protein activity level and probably thereby reduces the risk of developing RA.

Keywords: polymorphism, IL-17F, IL-17A, rheumatoid arthritis, Russian population, IL-17F gene polymorphism

Введение

В настоящее время проводится большое количество исследований, направленных на изучение особенностей функционирования представителей семейства интерлейкина-17 как для поддержания иммунного гомеостаза, так и при различных патологиях. Несмотря на сходство строения белковых молекул члены этого семей-

ства выполняют разные биологические функции, кроме IL-17A и IL-17F, обладающих практически сходным действием. Спектр их функциональной активности направлен на регулирование иммунитета, связь между активацией врожденного и приобретенного иммунитета и стимуляцию воспаления за счет активации синтеза провоспалительных цитокинов [1].

Важной особенностью IL-17A и IL-17F является их продукция преимущественно одним типом иммунокомпетентных клеток – Т-хелперов 17-го типа. Данный вид клеток продуцирует целый ряд белков, которые являются ключевыми модуляторами воспаления, поэтому Th17 являются непосредственными участниками иммунного ответа организма при аутоиммунных заболеваниях, в том числе, при ревматоидном артрите за счет синтеза цитокинов [5]. В их число входят два представителя семейства интерлейкина 17: IL-17A и IL-17F; представители семейства интерлейкина 12: IL-12 и IL-23 и др. IL-17A, IL-17F и IL-23 могут играть важную роль в воспалении, запускаемом Т-клетками, путем усиления регуляции некоторых генных продуктов, участвующих в активации, пролиферации и росте клеток, и это важный индуктор различных цитокинов и хемокинов, которые имеют решающее значение в регуляции воспалительной реакции. Кроме того, в своем функционировании эти цитокины вовлекаются в формирование цитокиновых сетей и образуют сигнальный путь IL-23/Th17, включающий основные цитокины: IL-23, IL-12, IL-17A и IL-17F и рецептор к IL-23 (IL-23R) Также предполагается, что «ось IL-23/IL-17» является ключевым фактором, а IL-23, и IL-17A, и IL-17F являются важнейшими медиаторами аутоиммунных заболеваний, таких как ревматоидный артрит [3].

Ключевым моментом регуляции количества и функциональной активности цитокинов, в том числе IL-17A и IL-17F, является полиморфизм их генов. Гены, кодирующие IL-17A и IL-17F, расположены на хромосоме 6 (6p12) [5]. В их генах обнаружены функционально значимые полиморфизмы (IL-17F rs763780 и IL-17A rs2275913), которые изменяют экспрессию мРНК и белка [11].

SNP гена IL-17F 7488 Т/С находится в кодирующей области гена IL-17F (позиция +7488) и представляет собой транзицию пиримидиновых азотистых оснований Т → С. В результате чего, происходит аминокислотная замена в точке 161 (His161Arg), формирующий белок 161Arg действует как естественный антагонист IL-17F дикого типа, так как он может прикрепляться к своему рецептору без активации сигнала. Более того, было показано, что это коррелирует с тяжестью заболевания и низкой выживаемостью при нескольких воспалительных заболеваниях [9].

Ввиду того, что полиморфизм гена IL-17F 7488 Т/С расположен на 6-й хромосоме вблизи полиморфизма гена IL-17A -197G/A и они оба принимают участие в иммунопатогенезе РА, воз-

можно их аллельные варианты наследуются сцеплено и формируют гаплотипы.

Цель исследования – установить возможную ассоциацию однонуклеотидного полиморфизма T7488C гена IL-17F с предрасположенностью к ревматоидному артриту в зависимости от возраста дебюта заболевания и пола больных и оценить формирование двухлокусных гаплотипов IL-17A ~ IL-17F у больных РА.

Задачи:

1. Установить распределение частот аллелей и генотипов полиморфизма T7488C гена IL-17F у больных ревматоидным артритом в сравнении с условно здоровыми лицами русской популяции Челябинской области.

2. Выявить особенности частот встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма T7488C гена IL-17F у больных ревматоидным артритом в зависимости от возраста дебюта заболевания и пола больных.

3. Оценить параметры сцепления и частоты гаплотипов IL-17A ~ IL-17F в группах условно здоровых лиц и больных ревматоидным артритом с целью выявления возможных факторов риска.

Материалы и методы

Данное исследование является ретроспективным. Отбор больных с верифицированным диагнозом «ревматоидный артрит» осуществлялся врачами-ревматологами г. Челябинска вне зависимости от тяжести и клинического варианта заболевания. В группу больных вошли 325 человек: мужчин – 57 (17,5%), женщин – 268 (82,5%), средний возраст – $50,2 \pm 1,3$. В качестве группы сравнения использовали коллекцию образцов ДНК 175 кадровых доноров стволовой клетки ГБУЗ «ЧОСПК», проживающих в г. Челябинске и Челябинской области, сформированную случайным образом (среди них: мужчин – 113 (64,6%), женщин – 62 (35,4%), средний возраст – $30,9 \pm 0,75$). Этническая принадлежность определялась согласно критериям общепринятым в иммуногенетических исследованиях. Для определения SNPs в полиморфных сайтах T7488C IL-17F и -197G/A IL17A использовали метод аллель-специфической ПЦР, диагностические наборы «SNP-ЭКСПРЕСС» с последующей электрофоретической детекцией продуктов производства компании ООО НПФ «Литех» г. Москва. Детекция продуктов амплификации проводится в 3%-ном агарозном геле, приготовленном на ТАЕ буфере, методом горизонтального электрофореза. Фрагменты анализируемой ДНК проявляются под УФ-излучением с длиной волны 310 нм в виде светящихся оранжево-красных полос. Для расчета достоверности различий в ча-

стотах встречаемости аллелей и генотипов (представляются в процентах) использовали онлайн-приложение: Медицинская статистика [https://medstatistic.ru] и критерии χ^2 , точный двухсторонний критерий Фишера (для частот меньше 5), OR с расчетом 95% ДИ. Подсчет сцепления (D') аллелей полиморфизмов -197G/A IL-17A и 7488T/C IL-17F и частот двухлокусных гаплотипов с ошибкой среднего ($HF \pm se$, представляются в долях единицы) был произведен с помощью компьютерной программы Arlequin v. 3.5 [4].

Результаты и обсуждение

Распределение частот аллелей и генотипов IL-17A было установлено нами ранее [2]. Полученные в исследовании частоты аллелей, генотипов и гаплотипов соответствуют равновесию Харди–Вайнберга. При решении первой задачи получены следующие результаты, представленные в таблице 1.

Полученные результаты показывают, что в группе больных РА повышена частота носительства аллеля дикого типа (85% против 75% $\chi^2 = 15,485$; $p < 0,001$) и снижена частота мутантного аллеля по сравнению с условно здоровыми лицами (15% против 25%).

Нами было зафиксировано увеличение частоты гомозиготного генотипа 7488 T/T у больных по сравнению с условно здоровыми лицами (52,6% против 72,3%, $\chi^2 = 19,581$, $p < 0,001$). Отношение шансов указывает на то, что гомозиготный генотип по предковому аллелю 7488 T/T возможно

является биомаркером в предрасположенности к заболеванию РА OR = 2,356 CI = (1,605-3,457--).

В группе больных снижена частота гетерозиготного генотипа 7488 T/C по сравнению с условно здоровыми лицами (45,1% против 25,8%, $\chi^2 = 19,277$, $p < 0,001$). Отношение шансов указывает на то, что гетерозиготный генотип 7488 T/C также имеет протективные свойства в предрасположенности к заболеванию РА (OR = 0,424 CI = (0,287-0,624)).

На втором этапе нашего исследования мы провели оценку особенностей распределения в частотах встречаемости аллелей и генотипов 7488T/C IL-17F в зависимости от возраста дебюта заболевания и пола больных ревматоидным артритом. Полученные данные у больных разного пола представлены в таблицах 2, 3.

Как видно, распределение частот SNP7488T/C гена IL-17F было одинаковым в группах женщин, больных РА и условно здоровых.

В то же время группа мужчин, больных РА, характеризовалась особенностями в частотах встречаемости полиморфизма 7488T/C гена IL-17F (табл. 3).

У больных РА мужчин было установлено увеличение частоты носительства аллеля дикого типа (85% против 75% $\chi^2 = 7,078$; $p = 0,008$) и уменьшение частоты мутантного аллеля по сравнению с условно здоровыми лицами (15% против 28%).

Распределение генотипов также имело свои особенности в группе больных, а именно, часто-

ТАБЛИЦА 1. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ ПОЛИМОРФИЗМА 7488T/C ГЕНА IL-17F МЕЖДУ БОЛЬНЫМИ РА И ГРУППОЙ СРАВНЕНИЯ

TABLE 1. DISTRIBUTION OF FREQUENCIES OF ALLELES AND GENOTYPES OF IL-17F GENE POLYMORPHISM 7488T/C BETWEEN RA PATIENTS AND THE COMPARISON GROUP

Аллель Allele	Больные РА RA patients (n = 325)	Контроль Control (n = 175)	Достоверность χ^2 , p, OR, CI Reliability χ^2 , p, OR, CI
Генотип Genotype	%	%	
T	85,2	75,1	$\chi^2 = 15,485$; $p < 0,001$ OR = 1,909 CI = (1,379-2,642)
C	14,8	24,9	
T/T	72,3	52,6	$\chi^2 = 19,581$; $p < 0,001$ OR = 2,356 CI = (1,605-3,457)
T/C	25,8	45,1	$\chi^2 = 19,277$; $p < 0,001$ OR = 0,424 CI = (0,287-0,624)
C/C	1,8	1,1	$p > 0,05$

ТАБЛИЦА 2. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ ПОЛИМОРФИЗМА 7488Т/С ГЕНА IL-17F МЕЖДУ БОЛЬНЫМИ РА ЖЕНЩИНАМИ И ГРУППОЙ СРАВНЕНИЯ

TABLE 2. DISTRIBUTION OF FREQUENCIES OF ALLELES AND GENOTYPES OF THE IL-17F GENE POLYMORPHISM 7488T/C BETWEEN FEMALE RA PATIENTS AND THE COMPARISON GROUP

Аллель Allele	Больные РА женщины RA patients women (n = 268)	Контроль женщины Control women (n = 62)	Достоверность χ^2 , p, OR, CI Reliability χ^2 , p, OR, CI
Генотип Genotype	%	%	
Т	85,2	80,6	$\chi^2 = 1,629$; p = 0,202
С	14,7	19,4	
Т/Т	72,4	61,2	$\chi^2 = 2,970$; p = 0,085
Т/С	25,7	38,8	$\chi^2 = 4,181$; p = 0,041
С/С	1,9	0	p > 0,05

ТАБЛИЦА 3. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ ПОЛИМОРФИЗМА 7488Т/С ГЕНА IL-17F МЕЖДУ БОЛЬНЫМИ РА МУЖЧИНАМИ И ГРУППОЙ СРАВНЕНИЯ

TABLE 3. FREQUENCY DISTRIBUTION OF ALLELES AND GENOTYPES OF IL-17F GENE POLYMORPHISM 7488T/C BETWEEN MALE PATIENTS WITH RA AND THE COMPARISON GROUP

Аллель Allele	Больные РА мужчины RA patients men (n = 57)	Контроль, мужчины Control men (n = 113)	Достоверность χ^2 , p, OR, CI Reliability χ^2 , p, OR, CI
Генотип Genotype	%	%	
Т	85,1	72,1	$\chi^2 = 7,078$; p = 0,008 OR = 2,21 CI = (1,220-3,985)
С	14,9	27,9	
Т/Т	71,9	47,8	$\chi^2 = 8,957$; p = 0,003 OR = 2,8 CI = (1,410-5,557)
Т/С	26,3	48,7	$\chi^2 = 7,818$; p = 0,006 OR = 0,377 CI = (0,188-0,755)
С/С	1,8	3,5	$\chi^2 = 0,423$; p = 0,516

та гомозиготного генотипа 7488 Т/Т была повышена (71,9% против 47,8%, $\chi^2 = 8,957$, p = 0,003). Отношение шансов указывает на то, что гомозиготный генотип без замены 7488 Т/Т возможно является биомаркером в предрасположенности к заболеванию РА у мужчин OR = 2,8 CI = (1,410-5,557).

В группе больных мужчин снижена частота гетерозиготного генотипа 7488 Т/С по сравнению с условно здоровыми (49% против 26%, $\chi^2 = 7,818$, p = 0,006). Согласно критерию отношения шан-

сов, гетерозиготный генотип 7488 Т/С может выступать протектором РА (OR = 0,38 CI = (0,188-0,755)).

Оценка ассоциации между носительством SNP 7488Т/С гена IL-17F и возрастом начала заболевания показала отсутствие значимых различий (табл. 4).

На третьем этапе нашего исследования был произведен анализ параметров неравновесного сцепления и оценка распределения частот гапло-

ТАБЛИЦА 4. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ ПОЛИМОРФИЗМА 7488Т/С ГЕНА IL-17F В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА ПЕРВОЙ АТАКИ РА

TABLE 4. FREQUENCY DISTRIBUTION OF ALLELES AND GENOTYPES OF IL-17F POLYMORPHISM 7488T/C DEPENDING ON THE AGE OF THE FIRST ATTACK OF RA

Аллель Allele	Больные РА до 40 RA patients before 40 (n = 117)	Больные РА после 40 RA patients after 40 (n = 198)	Достоверность χ^2 , p, OR, CI Reliability χ^2 , p, OR, CI
Генотип Genotype	%	%	
Т	85,5	85,4	$\chi^2 = 0,002$; p = 0,969
С	14,5	14,6	
Т/Т	72,6	72,7	$\chi^2 = 0,000$; p = 0,989
Т/С	25,6	25,3	$\chi^2 = 0,006$; p = 0,955
С/С	1,7	2	$\chi^2 = 0,038$; p = 0,846

ТАБЛИЦА 5. НЕРАВНОВЕСНОЕ СЦЕПЛЕНИЕ И ЧАСТОТЫ ВСТРЕЧАЕМОСТИ IL-17A-197 ~ IL-17F-7488 В ГРУППАХ БОЛЬНЫХ РА И УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ЛИЦ

TABLE 5. LINKAGE DISEQUILIBRIUM AND FREQUENCIES OF IL-17A-197 ~ IL-17F-7488 IN GROUPS OF RA PATIENTS AND RELATIVELY HEALTHY INDIVIDUALS

Гаплотипы	Больные РА RA patients		Контроль Control		χ^2 , p, OR, CI
	Hftse	D', χ^2 , p	Hftse	D', χ^2 , p	
IL-17A-197*G ~ IL-17F-7488*C	0,10±0,02	D' = 0,44; $\chi^2 = 16,4$; p << 0,001	0,21±0,02	D' = 0,55; $\chi^2 = 24,4$; p << 0,001	$\chi^2 = 15,4$; p << 0,001 OR = 0,5 CI = (0,348-0,707)
IL-17A-197*A ~ IL-17F-7488*T	0,39±0,04	D' = 0,44; $\chi^2 = 16,4$; p << 0,001	0,36±0,03	D' = 0,55; $\chi^2 = 24,4$; p << 0,001	$\chi^2 = 0,8$; p = 0,4 OR = 1,1 CI = (0,866-1,483)

типов IL-17A-197 ~ IL-17F-7488 в исследуемых группах. Данные представлены в таблице 5.

В результате было получено 4 комбинации аллельных вариантов, только две из которых имеют достоверные положительные параметры сцепления и представляют собой два гаплотипа IL-17A-197*G ~ IL-17F-7488*C и IL-17A-197*A ~ IL-17F-7488*T.

Частота гаплотипа IL-17A-197*G ~ IL-17F-7488*C была достоверно снижена в группе больных, а критерий отношения шансов показывает, что носительство гаплотипа снижает вероятность формирования ревматоидного артрита. Данный гаплотип содержит предковый аллель IL-17A-197*G, ассоциированный с нормальным уровнем

продукции IL-17A и аллель с заменой IL-17F-7488*C, кодирующий альтернативный вариант белка IL-17F, отвечающий за нарушение передачи сигнала и меняющий функцию белка [7].

Заключение

В нашем исследовании впервые получена значимость однонуклеотидного полиморфизма в гене IL-17F для формирования предрасположенности к ревматоидному артриту у европеоидного населения Челябинской области. Детальный анализ позволил выявить факторы риска формирования предрасположенности к ревматоидному артриту: предковый аллель IL-17F-7488*T и его гомозиготный генотип 7488 T/T. В доступной ли-

температуре приводятся противоречивые данные об ассоциации полиморфизма IL-17F-7488 Т/С с развитием и течением заболеваний, в том числе с ревматоидным артритом. В работах коллективов авторов Gomes da Silva I.I.F. и соавт. [6] и Pawlik и соавт. [10] продемонстрировано отсутствие значимых ассоциаций между возникновением РА и SNP IL-17F 7488 Т/С. Однако в исследовании 2024 года Jahan T. и соавт. данный полиморфизм рассматривается как значимый фактор для возникновения патологии [8]. Исследование Kawaguchi M. и соавт. [9] показало, что функциональными последствиями полиморфизма IL-17F-7488 Т/С, могут быть снижение экспрессии и активность IL-17F у носителей редкого ал-

леля 7488*С, в то время как предковый аллель отвечает за нормальное функционирование IL-17F.

Кроме того, в ходе проведенных нами исследований было установлено, что полиморфизмы в генах IL-17A и IL-17F сцеплены друг с другом, а также образуют два гаплотипа. Один из них IL-17A-197*G ~ IL-17F-7488*С связан с сниженным риском развития ревматоидного артрита. Особенность данного гаплотипа заключается в том, что между собой сцеплены предковый аллель гена IL-17A и мутантный аллель гена IL-17F, который берет на себя основную функцию и уменьшает уровень активности белка и, вероятно, тем самым снижает риск развития ревматоидного артрита.

Список литературы / References

1. Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека : монография. СПб.: Фолиант, 2018. 512 с. [Simbirtsev A.S. Cytokines in the pathogenesis and treatment of human diseases : a monograph]. St. Petersburg: Foliant, 2018. 512 p.
2. Шашкевич Д.С., Девальд И.В., Хромова Е.Б., Евдокимов А.В., Сулова Т.А. Полиморфизм гена интерлейкина 17А у больных ревматоидным артритом // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 3. С. 285-290. [Stashkevich D.S., Devald I.V., Khromova E.B., Evdokimov A.V., Suslova T.A. Polymorphism of the interleukin 17A gene in patients with rheumatoid arthritis. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2020, Vol. 23, no. 3, pp. 285-290. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-382-IGP.
3. Bogunia-Kubik K., Świerkot J., Malak A., Wysoczańska B., Nowak B., Białowas K., Gębura K., Korman L., Wiland P. IL-17A, IL-17F and IL-23R Gene Polymorphisms in Polish Patients with Rheumatoid Arthritis. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*, 2015, Vol. 63, no. 3, pp. 215-221.
4. Arlequin ver 3.5 [Электронный ресурс] / Интегрированное программное обеспечение для анализа популяционно-генетических данных / авт. Excoffier, L. 2005. Режим доступа: <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin35/>. Arlequin ver 3.5 [Electronic resource] / Integrated software for the analysis of population genetic data / author. Excoffier, L. 2005. Access mode: <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin35/>.
5. Gaffen S.L. Structure and signalling in the IL-17receptor family. *Nat. Rev. Immunol.*, 2009, Vol. 9, pp. 556-567.
6. Gomes da Silva I.I.F., Angelo H.D., Rushansky E., Mariano M.H., Maia M. de M.D., Eleuterio de Souza P.R. Interleukin (IL)-23 receptor, IL-17A and IL-17F gene polymorphisms in Brazilian patients with rheumatoid arthritis. *Arch. immunol. Ther. Exp. (Warsz)*, 2017, Vol. 65, pp. 537-543.
7. He, Y., Du Y., Wei S., Shi J., Mei Z., Qian L., Chen Z., Jie Z. IL-17A and IL-17F single nucleotide polymorphisms associated with lung cancer in Chinese population. *Clin. Respir. J.*, 2017, Vol. 11, pp. 230-242.
8. Jahan T., Saleh A.A., Anwar S. Association of Cytokine IL-17, IL-4, IL-6, and IL-12 Gene Polymorphisms in Rheumatoid Arthritis Patients in a Tertiary Care Hospital in Bangladesh. *Int. J. Rheumatol.*, 2024, Vol. 2024, 3728179. doi: 10.1155/2024/3728179.
9. Kawaguchi M., Takahashi D., Hizawa N., Suzuki S., Matsukura S., Kokubu F., Maeda Y., Fukui Y., Konno S., Huang S.-K., Nishimura M., Adachi M. IL-17F sequence variant (His161Arg) is associated with protection against asthma and antagonizes wild-type IL-17F activity. *J Allergy Clin. Immunol.*, 2006, Vol. 117, pp. 795-801.

10. Pawlik A., Kotrych D., Malinowski D., Dziedziejko V., Czerewaty M., Safranow K. IL17A and IL17F gene polymorphisms in patients with rheumatoid arthritis. *BMC Musculoskelet. Disord.*, 2016, Vol. 17, 208. doi: 10.1186/s12891-016-1064-1.

11. Tang H., Pei H., Xia Q., Tang Y., Huang J., Pei F. Role of gene polymorphisms/haplotypes and serum levels of interleukin-17A in susceptibility to viral myocarditis. *Exp. Mol. Pathol.*, 2018, Vol. 104, no. 2, pp. 140-145.

Авторы:

Шмелькова Д.М. — ассистент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии ФГБОУ «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Сташкевич Д.С. — к.б.н., доцент, декан биологического факультета, ФГБОУ «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Суслова Т.А. — к.м.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии ФГБОУ «Челябинский государственный университет»; заведующая отделом молекулярно-биологической диагностики ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови», г. Челябинск, Россия

Девальд И.В. — к.м.н., врач-ревматолог, доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии ФГБОУ «Челябинский государственный университет»; доцент кафедры терапии института дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Челябинск, Россия

Authors:

Shmelkova D.M., Assistant Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Stashkevich D.S., PhD (Biology), Associate Professor, Dean, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Suslova T.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Chelyabinsk State University; Head, Department of Molecular Biological Diagnostics, Chelyabinsk Regional Blood Transfusion Station, Chelyabinsk, Russian Federation

Devald I.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Rheumatologist, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Chelyabinsk State University; Associate Professor, Department of Therapy, Institute of Additional Professional Education, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Поступила 30.03.2024
Отправлена на доработку 06.04.2024
Принята к печати 18.04.2024

Received 30.03.2024
Revision received 06.04.2024
Accepted 18.04.2024

КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФЕНОМЕНА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ КИСЛОРОДЗАВИСИМЫХ ФУНКЦИЙ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ АНКИЛОЗИРУЮЩЕМ СПОНДИЛИТЕ

Карян Б.Г.¹, Ильин М.В.², Романов В.А.², Романова Н.В.²,
Семечкин Н.В.², Лилеева Е.Г.²

¹ ГБУЗ Ярославской области «Областная клиническая больница», г. Ярославль, Россия

² ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
г. Ярославль, Россия

Резюме. Нейтрофилы способны проявлять разнообразные варианты воздействия на другие клетки иммунной системы, что свидетельствует об их гетерогенности. При различных ревматических заболеваниях наблюдается вовлеченность нейтрофилов в иммунопатологический процесс. Состав субпопуляций нейтрофилов может зависеть от стадии и активности конкретного заболевания, иметь диагностическое значение и быть объектом терапевтического воздействия. Изучение феномена функциональной гетерогенности нейтрофилов, связанного с патогенезом ревматических заболеваний, является перспективным направлением исследований в иммунологии и ревматологии. Цель исследования — изучение факторов, оказывающих влияние на кислородзависимые функции нейтрофилов при анкилозирующем спондилите (АС).

Было обследовано 82 пациента с АС, в возрасте от 27 до 69 лет (в среднем $50,2 \pm 9,1$ года). Функциональную активность нейтрофилов оценивали по данным определения показателей кислородзависимых функций хемилюминесцентным методом. Функциональный резерв нейтрофилов (ФРН) оценивали по коэффициентам активации (отношение индуцированного взвесью убитых нагреванием клеток стафилококка показателя хемилюминесценции к спонтанному). Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Statistica 10.0.

Установлено, что нарастание кислородзависимых функций нейтрофилов при АС сопровождалось увеличением активности заболевания. Наибольшее влияние на повышение функциональной активности клеток оказывали возраст пациентов, стадия заболевания и уровень циркулирующих иммунных комплексов. На процесс стабилизации метаболической активности нейтрофилов существенно

Адрес для переписки:

Семечкин Николай Викторович
ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ
150000, Россия, г. Ярославль, ул. Революционная, 5.
Тел.: 8 (915) 966-89-43.
E-mail: nikolay1@gmail.com

Address for correspondence:

Nikolay V. Semechkin
Yaroslavl State Medical University
5 Revolyutsionnaya St
Yaroslavl
150000 Russian Federation
Phone: +7 (915) 966-89-43.
E-mail: nikolay1@gmail.com

Образец цитирования:

Б.Г. Карян, М.В. Ильин, В.А. Романов, Н.В. Романова, Н.В. Семечкин, Е.Г. Лилеева «Клинико-патогенетическое значение феномена функциональной гетерогенности кислородзависимых функций нейтрофилов при анкилозирующем спондилите» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 531–538.
doi: 10.46235/1028-7221-16699-CAP

doi: 10.46235/1028-7221-16699-CAP

© Карян Б.Г. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

B.G. Karyan, M.V. Ilyin, V.A. Romanov, N.V. Romanova, N.V. Semechkin, E.G. Lileeva “Clinical and pathogenetic significance of the phenomenon of functional heterogeneity of oxygen-dependent functions of neutrophils in ankylosing spondylitis”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 531–538.
doi: 10.46235/1028-7221-16699-CAP

© Karyan B.G. et al., 2024

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16699-CAP

влияти возраст пациентов, СОЭ, γ -глобулины, общий холестерин, холестерин липопротеидов низкой плотности. Среди лабораторных показателей у большинства больных АС со средним и высоким ФРН были повышены уровни СОЭ, СРБ, IgM; отмечалась тенденция к повышению IgA у больных АС с высоким ФРН. Результаты статистического анализа свидетельствовали о наличии связи между ФРН и активностью заболевания; не было выявлено статистически значимой зависимости ФРН от стадии, течения и формы АС. Исследование метаболической активности нейтрофилов при динамическом наблюдении выявило группу пациентов со стабилизацией показателей ФРН на фоне терапии с достижением нормального уровня кислородзависимого метаболизма. Таким образом, при анкилозирующем спондилите по данным определения кислородзависимого метаболизма установлена функциональная гетерогенность нейтрофилов, связанная с активностью заболевания.

Ключевые слова: нейтрофил, функции, метаболизм, кислородзависимый, гетерогенность, анкилозирующий спондилит

CLINICAL AND PATHOGENETIC SIGNIFICANCE OF THE PHENOMENON OF FUNCTIONAL HETEROGENEITY OF OXYGEN-DEPENDENT FUNCTIONS OF NEUTROPHILS IN ANKYLOSING SPONDYLITIS

Karyan B.G.^a, Ilyin M.V.^b, Romanov V.A.^b, Romanova N.V.^b, Semechkin N.V.^b, Lileeva E.G.^b

^a Regional Clinical Hospital, Yaroslavl, Russian Federation

^b Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation

Abstract. Neutrophils are able to exert a variety of effects on other cells of the immune system, which indicates their heterogeneity. In various rheumatic diseases, neutrophils are involved in the immunopathological process. The study of the phenomenon of functional heterogeneity of neutrophils associated with the pathogenesis of rheumatic diseases is a promising area of research in immunology and rheumatology. The purpose of the research: study of factors influencing oxygen-dependent neutrophil functions in ankylosing spondylitis (AS). A total of 82 patients with AS were examined. The functional activity of neutrophils was assessed according to the data of determining the indicators of oxygen-dependent functions by the chemiluminescence method. Functional neutrophil reserve (FNR) was assessed by activation coefficients (the ratio of chemiluminescence induced by suspension of heat-killed staphylococcus cells to spontaneous value). Statistical data processing was carried out using Statistica 10.0 program.

An increase in oxygen-dependent neutrophil functions in AS was accompanied by an increase in disease activity. The greatest influence on the increase in the functional activity of cells was exerted by the age of patients, the stage of the disease and the level of circulating immune complexes. The process of stabilizing the metabolic activity of neutrophils was significantly influenced by the age of patients, ESR, γ -globulins, total cholesterol, and low-density lipoprotein cholesterol. Among the laboratory parameters, the majority of AS patients with moderate and high FNR had elevated levels of ESR, CRP, and IgM; there was a tendency to increase IgA in AS patients with high FNR. Statistical analyses showed an association between FNR and disease activity; there was no statistically significant dependence of FNR on the stage, course, and form of AS. The study of the metabolic activity of neutrophils during dynamic observation revealed a group of patients with stabilization of FNR parameters against the background of therapy with the achievement of a normal level of oxygen-dependent metabolism. Thus, in ankylosing spondylitis, the functional heterogeneity of neutrophils associated with disease activity was established according to the determination of oxygen-dependent metabolism.

Keywords: neutrophil, function, metabolism, oxygen-dependent, heterogeneity, ankylosing spondylitis

Введение

Нейтрофилы представляют собой универсальные клетки, продуцирующие большое количество биологически активных молекул и демонстрирующие значительные различия в функциях [1]. В патологических условиях нейтрофилы могут дифференцироваться в субпопуляции с различными характеристиками, а также взаимодействовать с иными клетками иммунной системы [2].

С учетом этапов созревания в костном мозге, распределения в органах и тканях организма человека, процессов рециркуляции, апоптоза и активации нейтрофилов как у здорового человека, так и при различных патологических состояниях, выделяют различные иммунофенотипические субпопуляции клеток [10], однако характеристики этих субпопуляций не отражают напрямую их функций.

Нейтрофилы демонстрируют способность проявлять разнообразные, порой антагонистические варианты воздействия на другие клетки иммунной системы, что свидетельствует об их гетерогенности [3], способствуя выполнению нейтрофилами разнообразных функций в системе гомеостаза и при ряде патологических ситуаций [6]. Состав субпопуляций нейтрофилов зависит от стадии и активности конкретного заболевания, может иметь диагностическое значение и быть объектом терапевтического воздействия [7]. С учетом изложенного целью исследования являлось изучение факторов, оказывающих влияние на кислородзависимые функции нейтрофилов при анкилозирующем спондилите (АС).

Материалы и методы

Обследовано 82 пациента с АС, в возрасте от 27 до 69 лет (в среднем $50,2 \pm 9,1$ года), в том числе 63 (76,8%) мужчины и 19 (23,2%) женщин. Группу контроля составили 25 относительно здоровых доноров, сопоставимых по полу и возрасту с группой наблюдения. Работа прошла этическую экспертизу. Дизайн исследования – открытое одноцентровое нерандомизированное проспективное исследование. Исследование состояло из стационарного и амбулаторного этапов: больные обследовались при поступлении в стационар (D1), через 14 дней (D14) и через 90 дней (D90).

Диагноз АС устанавливался на основании модифицированных Нью-Йоркских критериев и классификационных критериев Европейской группы по изучению спондилоартритов. Учитывались варианты начала, характер течения и форма заболевания, наличие системных проявлений,

а также степень активности и тяжесть патологического процесса, определяемые по индексам BASDAI и BASFI.

Функциональную активность (ФА) нейтрофилов исследовали хемилюминесцентным методом [4]. Функциональный резерв нейтрофилов (ФРН) оценивали по коэффициентам активации, которые рассчитывали как отношение индуцированного взвесью убитых нагреванием клеток *Staphylococcus aureus* (штамм р-209) показателя хемилюминесценции к спонтанному.

Статистическая обработка данных проводилась при помощи пакета прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Осуществлялась проверка нормальности распределения количественных признаков. Для сравнения двух независимых групп по одному признаку применяли критерий χ^2 . При установлении принятого нормального диапазона значений для количественных признаков использовалось процентильное определение нормы, основанное на измерениях, предпринятых в здоровой популяции. Определен принятый нормальный диапазон значений для показателя спонтанной хемилюминесценции, отражающего общую продукцию нейтрофилами свободных радикалов кислорода. На основании принятого нормального диапазона выделены группы с низким, средним и высоким ФРН. Для определения факторов, оказывающих влияние на кислородзависимый метаболизм нейтрофилов, применялся мультиномиальный логистический регрессионный анализ. Критическое значение уровня статистической значимости составляло 5,0%.

Результаты и обсуждение

Наиболее постоянные клинические признаки АС – боли в нижней части спины и нарушения функции позвоночника; частые системные проявления – увеит (иридоциклит), артрит, поражение клапанного аппарата сердца, фиброз легких, IgA-нефропатия, амилоидоз с преимущественным поражением почек и кишечника.

Результаты сопоставления клинических и лабораторных данных у больных АС в зависимости от уровня функциональной активности нейтрофилов не выявили статистически значимых различий этих показателей у пациентов со средним и высоким уровнем ФРН (табл. 1).

Среди лабораторных показателей у большинства больных АС со средним и высоким ФРН были повышены уровни СОЭ, СРБ, IgM; отмечалась тенденция ($p = 0,06$) к повышению IgA у больных АС с высоким ФРН. На начальном этапе

ТАБЛИЦА 1. ЧАСТОТА ОБНАРУЖЕНИЯ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ПРИЗНАКОВ (n (%)) У БОЛЬНЫХ АС (n = 82) В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ (ФРН)

TABLE 1. FREQUENCY OF DETECTION OF CLINICAL AND LABORATORY SIGNS (n (%)) IN PATIENTS WITH AS (n = 82) DEPENDING ON THE LEVEL OF FUNCTIONAL ACTIVITY OF NEUTROPHILS (FRN)

Показатель Index	I. Средний ФРН I. Average FNR (n = 10)	II. Высокий ФРН II. High FNR (n = 72)	p
СОЭ > 20 мм/ч ESR > 20 mm/h	5 (50,0)	24 (33,3)	0,49
СРБ > 5 мг/л CRP > 5 mg/L	1 (10,0)	11 (15,2)	0,97
IgA > 3,5 г/л IgA > 3.5 g/L	0 (0)	25 (34,7)	0,06
IgM > 2,5 г/л IgM > 2.5 g/L	3 (30,0)	41 (56,9)	0,21
IgG > 18 г/л IgG > 18 g/L	0 (0)	0 (0)	–
ЦИК > 65 ед. опт. пл. CIC > 65 unit w. p.	1 (10,0)	7 (9,7)	0,59
Аlb < 35 г/л Alb < 35 g/L	0 (0)	0 (0)	–
Нb < 120 г/л Hb < 120 g/L	0 (0)	0 (0)	–
ВASDAI > 4,0 баллов BASDAI > 4.0 points	9 (90,0)	41 (56,9)	0,09
Симптом Форестье Symptom Forestier	6 (60,0)	32 (44,4)	0,56
Проба Шобера < 5 см Sample Schobera < 5 cm	9 (90,0)	57 (79,1)	0,70
Артрит Arthritis	9 (90,0)	41 (56,9)	0,09
Поражение сердца Disease of Heart	0 (0)	4 (5,5)	0,98
Поражение легких Disease of Lung	1 (10,0)	10 (13,8)	0,87
Поражение почек Disease of Kidney	0 (0)	15 (20,8)	0,24
Поражение ЖКТ Disease of Stomach and intestines	0 (0)	4 (5,5)	0,98
Лейкоцитоз Leucocytosis	2 (20,0)	10 (13,8)	0,97
Лейкопения Leukopenia	0 (0)	9 (12,5)	0,52

наблюдения у большинства больных выявлялись симптомы Форестье, проба Шобера, артрит, лейкоцитоз.

Результаты мультиномиального логистического регрессионного анализа, где в качестве независимой переменной выступает функциональная активность нейтрофилов (средняя и высокая), а к зависимым переменным отнесена

активность АС (1, 2, 3) свидетельствуют о наличии связи между ФРН и активностью заболевания. Коэффициент регрессии ($F = 4,89$) значим на уровне $p = 0,028$. Аналогичным образом проведен анализ с такими клиническими показателями, как стадия, течение и форма, который не выявил статистически значимой зависимости от функциональной активности нейтрофилов.

ТАБЛИЦА 2. РЕЗУЛЬТАТЫ МНОГОМЕРНОГО ЛОГИСТИЧЕСКОГО РЕГРЕССИОННОГО АНАЛИЗА В ГРУППЕ БОЛЬНЫХ АС (n = 6) С ПОЛОЖИТЕЛЬНОЙ ДИНАМИКОЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО РЕЗЕРВА НЕЙТРОФИЛОВ (ФРН)

TABLE 2. RESULTS OF MULTIVARIATE LOGISTIC REGRESSION ANALYSIS IN A GROUP OF AS PATIENTS (n = 6) WITH POSITIVE DYNAMICS OF INDICATORS FUNCTIONAL NEUTROPHIL RESERVE (FNR)

Показатель Index	Beta	St. Err. of Beta	B	St. Err. of B	t(55)	p-value
Intercpt			0,52	0,49	1,04	0,30
Возраст Age	-0,24	0,11	-0,01	0,01	-2,21	0,031
Стадия Stage	0,26	0,11	0,15	0,07	2,25	0,028
Лейкоциты Leukocytes	0,15	0,12	0,02	0,02	1,30	0,19
СОЭ ESR	-0,02	0,11	-0,01	0,01	-0,16	0,86
β-глобулины β-globulins	-0,09	0,10	-0,01	0,01	-0,85	0,39
γ-глобулины γ-globulins	-0,12	0,10	-0,01	0,01	-1,13	0,26
Калий K	-0,11	0,10	-0,07	0,08	-0,97	0,33
Магний Mg	-0,02	0,10	-0,01	0,01	-0,16	0,87
Холестерин Cholesterol	0,17	0,14	0,04	0,03	1,18	0,24
ЛПНП Low-density lipoproteins	0,03	0,14	0,01	0,04	0,18	0,85
ЦИК CIC	-0,30	0,12	-0,01	0,01	-2,53	0,014

Исследование метаболической активности нейтрофилов при динамическом наблюдении выявило группу пациентов (n = 6), в которой обнаружена стабилизация показателей ФРН на фоне терапии с достижением принятого нормального уровня кислородзависимого метаболизма, что расценивалось как положительная динамика.

При проведении факторного анализа в группе пациентов с положительной динамикой ФРН были исследованы факторы, оказывающие влияние на кислородзависимый метаболизм нейтрофилов.

Совокупный уровень объясненной дисперсии на уровне фактора 4 достигал приемлемо высокого значения (57,9%). По результатам факторного анализа установлено, что наибольший вклад в процесс стабилизации метаболической активности нейтрофилов вносят возраст пациентов, скорость оседания эритроцитов, гамма-глобулины, общий холестерин, холестерин ЛПНП.

Для определения характера влияния различных показателей на ФРН у больных АС был проведен многомерный логистический регрессионный анализ (табл. 2).

В группе больных АС с положительной динамикой показателей ФРН установлено, что наибольшим влиянием на ФРН обладал возраст пациентов, стадия заболевания и уровень циркулирующих иммунных комплексов.

Возраст и пол, по данным литературы, существенно влияют на транскрипционный ответ большинства генов, связанных с иммунной системой, причем возраст играет более существенную роль в стимуляции иммунного ответа по сравнению с полом и является фундаментальной характеристикой иммунной системы [5]. Более молодой возраст является предиктором позитивного клинического ответа на лечение ингибиторами фактора некроза опухоли (TNFα) у пациентов с АС, что может быть опосредовано TNFα-продуцирующими CD8-клетками [11].

Показано, что активация нейтрофилов, связанная с рядом аутоиммунных ревматических заболеваний, опосредована циркулирующими иммунными комплексами. Участие Toll-подобных рецепторов в активации нейтрофилов в ходе процессов утилизации иммунных комплексов остается неясным, однако активация TLR7/8 иммунными комплексами приводит к фурин-зависимому протеолитическому расщеплению N-концевой части FcγRIIA, вызывая переход нейтрофилов от фагоцитоза к нетозу [8], вызывая агрегацию нейтрофилов с тромбоцитами с образованием тромбов, содержащих нейтрофилы, внеклеточную ДНК, цитруллинированный гистон H3 и тромбоциты *in vivo*, в то время как истощение нейтрофилов отменяет образование тромбов [9]. Расщепление FcγRIIA нейтрофилами приводит к нарушению общего клиренса

циркулирующих иммунных комплексов и увеличению выработки C5a комплемента. Полученные *ex vivo* активированные нейтрофилы демонстрируют аналогичное расщепление FcγRIIA, которое коррелирует с активностью заболевания [8].

Заключение

Проведенные исследования демонстрируют существование при АС феномена функциональной гетерогенности нейтрофилов, характеризующегося преобладанием клеток с высокой функциональной активностью и отсутствием клеток, обладающих низкой метаболической активностью. Функциональная гетерогенность нейтрофилов является фактором, связанным с активностью заболевания, и имеет самостоятельное клинико-патогенетическое значение.

Список литературы / References

1. Андрюков Б.Г., Богданова В.Д., Ляпун И.Н. Фенотипическая гетерогенность нейтрофилов: новые антимикробные характеристики и диагностические технологии // Гематология и трансфузиология, 2019. Т. 64, № 2. С. 211-221. [Andryukov B.G., Bogdanova V.D., Lyapun I.N. Phenotypic heterogeneity of neutrophils: new antimicrobial characteristics and diagnostic technologies. *Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and Transfusiology*, 2019, Vol. 64, no. 2, pp. 211-221. (In Russ.)]
2. Богданова В.Д., Андрюков Б.Г., Ляпун И.Н., Бынина М.П. Фенотипические субпопуляции нейтрофилов: новые диагностические и иммуномодулирующие стратегии // Здоровье. Медицинская экология. Наука, 2019. Т. 1, № 77. С. 5-10. [Bogdanova V.D., Andryukov B.G., Lyapun I.N., Bynina M.P. Phenotypic subpopulations of neutrophils: new diagnostic and immunomodulatory strategies. *Zdorovye. Meditsinskaya ekologiya. Nauka = Health. Medical Ecology, Science*, 2019, Vol. 1, no. 77, pp. 5-10. (In Russ.)]
3. Долгушин И.И., Мезенцева Е.А., Савочкина А.Ю., Кузнецова Е.К. Нейтрофил как «многофункциональное устройство» иммунной системы // Инфекция и иммунитет, 2019. Т. 9, № 1. С. 9-38. [Dolgushin I.I., Mezentseva E.A., Savochkina A.Yu., Kuznetsova E.K. Neutrophil as a «multifunctional device» of the immune system. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2019, Vol. 9, no. 1, pp. 9-38. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2019-1-9-38.
4. Земсков В.М., Барсуков А.А., Безносенко С.А. Изучение функционального состояния фагоцитов человека (кислородзависимый метаболизм и подвижность клеток). Экологическая иммунология. М.: ВНИРО. 1995. С. 154-162. [Zemskov V.M., Barsukov A.A., Beznosenko S.A. Study of the functional state of human phagocytes (oxygen-dependent metabolism and cell mobility. *Environmental Immunology*. Moscow: VNIRO, 1995, pp. 154-162.
5. Каральник Б.В. На путях к индивидуализации вакцинации: значение возраста и пола // Эпидемиология и вакцинопрофилактика, 2021. Т. 20, № 6. С. 88-99. [Karalnik B.V. On the path to individualization of vaccination: the importance of age and gender. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccine Prevention*, 2021, Vol. 20, no. 6, pp. 88-99. (In Russ.)]
6. Cerecedo D., Martínez-Vieyra I., López-Villegas E.O., Hernández-Cruz A., Loza-Huerta A.D.C. Heterogeneity of neutrophils in arterial hypertension. *Exp. Cell Res.*, 2021, Vol 402, no. 2, 112577. doi: 10.1016/j.yexcr.2021.112577.

7. Chatfield S.M., Thieblemont N., Witko-Sarsat V. Expanding neutrophil horizons: new concepts in inflammation. *J. Innate Immun.*, 2018, Vol. 10, no. 5-6, pp. 422-431.
8. Lood C., Arve S., Ledbetter J., Elkon K.B. TLR7/8 activation in neutrophils impairs immune complex phagocytosis through shedding of FcγRIIA. *J. Exp. Med.*, 2017, Vol. 214, no. 7, pp. 2103-2119.
9. Perdomo J., Leung H.H., Ahmadi Z. Neutrophil activation and NETosis are the major drivers of thrombosis in heparin-induced thrombocytopenia. *Nat. Commun.*, 2019, Vol. 10, no. 1, 1322. doi: 10.1038/s41467-019-09160-7.
10. Qui X., Li J., Yang X. Is neutrophil CD11b a specific marker for the early diagnosis of sepsis in neonates? A systemic review and meta-analysis. *BMJ Open.*, 2019, no. 9, e025222. doi: 10.1136/bmjopen-2018-025222.
11. Schramm-Luc A., Schramm J., Siedliński M. Age determines response to anti-TNFα treatment in patients with ankylosing spondylitis and is related to TNFα-producing CD8 cells. *Clin. Rheumatol.*, 2018, no. 37, pp. 1597-1604.

Авторы:

Карян Б.Г. — врач-кардиолог ГБУЗ Ярославской области «Областная клиническая больница», г. Ярославль, Россия

Ильин М.В. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой терапии имени профессора Е.Н. Дормидонтова ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ярославль, Россия

Романов В.А. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой микробиологии с вирусологией и иммунологией ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ярославль, Россия

Authors:

Karyan B.G., Cardiologist, Regional Clinical Hospital, Yaroslavl, Russian Federation

Ilyin M.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Dormidontov Department of Therapeutics, Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation

Romanov V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Microbiology with Virology and Immunology, Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation

Романова Н.В. — д.м.н., доцент, заведующая кафедрой кожных и венерических болезней ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ярославль, Россия

Romanova N.V., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Head, Department of Skin and Venereal Diseases, Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation

Семечкин Н.В. — к.м.н., старший преподаватель кафедры микробиологии с вирусологией и иммунологией федерального ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ярославль, Россия

Semechkin N.V., PhD (Medicine), Senior Lecturer, Department of Microbiology with Virology and Immunology, Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation

Лилеева Е.Г. — к.м.н., заведующая базовой кафедрой инновационной фармации ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ярославль, Россия

Lileeva E.G., PhD (Medicine), Head, Basic Department of Innovative Pharmacy, Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation

Поступила 29.03.2024
Отправлена на доработку 06.04.2024
Принята к печати 18.04.2024

Received 29.03.2024
Revision received 06.04.2024
Accepted 18.04.2024

СВЯЗЬ МЕЖДУ ПОКАЗАТЕЛЯМИ СИАЛОВОЙ КИСЛОТЫ, СИАЛИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ И ХОЛЕСТЕРИНА ЛИПИДСОДЕРЖАЩИХ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ, БОЛЬНЫХ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ

Суркова Р.С.^{1,2}, Марасаева Е.А.¹, Каширских Д.А.^{1,2}, Собенин И.А.^{1,3},
Орехов А.Н.^{1,2}

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

² Научно-исследовательский институт атеросклероза, Москва, Россия

³ Научно-исследовательский институт экспериментальной кардиологии имени академика В.Н. Смирнова
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова»
Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. Атеросклероз — это наиболее распространенное хроническое неинфекционное заболевание, в патогенезе которого значительную роль играет накопление липидов в субэндотелиальном слое артерий и локальная воспалительная реакция. Источником накопления липидов в сосудистой стенке артерий являются модифицированные липопротеиды низкой плотности. ДесИАлирование представляет одну из известных модификаций, которая приводит к возникновению атерогенных свойств у липопротеидов низкой плотности. В крови человека циркулируют ферменты, обладающие сИАлидазной активностью, т. е. способностью отщеплять сИАлиловую кислоту от липопротеидов низкой плотности. ДесИАлированные липопротеиды низкой плотности являются аутоантигенами и индуцируют выработку аутоантител IgG, которые образуют с липопротеидами низкой плотности иммунные комплексы, что усугубляет течение атеросклероза. Целью исследования было установление ассоциаций между показателями содержания сИАлиловой кислоты в липопротеидах низкой плотности, сИАлидазной активностью и содержания холестерина липидсодержащих циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови пациентов, больных атеросклерозом. Сыворотки крови больных ишемической болезнью сердца использовали в качестве биологического материала для определения показателей сИ-

Адрес для переписки:

Суркова Раиса Сергеевна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
общей патологии и патофизиологии»
125315, Россия, Москва, ул. Балтийская, 8.
Тел.: 8 (495) 151-17-56.
Факс: 8 (495) 601-23-66.
E-mail: raisasurkova850@gmail.com

Address for correspondence:

Raisa S. Surkova
Research Institute of General Pathology and Pathophysiology
8 Baltiyskaya St
Moscow
125315 Russian Federation
Phone: +7 (499) 151-17-56.
Fax: +7 (495) 601-23-66.
E-mail: raisasurkova850@gmail.com

Образец цитирования:

Р.С. Суркова, Е.А. Марасаева, Д.А. Каширских,
И.А. Собенин, А.Н. Орехов «Связь между показателями
сИАлиловой кислоты, сИАлидазной активности
и холестерина липидсодержащих циркулирующих
иммунных комплексов в сыворотке крови
пациентов, больных атеросклерозом» // Российский
иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 539-544.
doi: 10.46235/1028-7221-16714-ABS

© Суркова Р.С. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

R.S. Surkova, E.A. Marasaeva, D.A. Kashirskikh,
I.A. Sobenin, A.N. Orekhov "Association between sialic acid,
sialidase activity and cholesterol of lipid-containing circulating
immune complexes in the blood serum of patients with
atherosclerosis", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 539-544.
doi: 10.46235/1028-7221-16714-ABS

© Surkova R.S. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16714-ABS

алидазной активности, содержания холестерина липидсодержащих циркулирующих иммунных комплексов и сиаловой кислоты в липопротеидах низкой плотности, которые выделяли из сыворотки крови. Пробы сывороток были получены из лаборатории клинической биохимии Института клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова ФГБУ Национального медицинского исследовательского центра кардиологии им. академика Е.И. Чазова как неутрализованные остатки после выполнения рутинных биохимических анализов. Проанализирован 51 образец сыворотки крови и выделенных из нее липопротеидов низкой плотности. Выявлена значимая положительная связь между содержанием холестерина циркулирующих иммунных комплексов и сиалидазной активностью в сыворотке крови ($r = 0,305$ при $p = 0,029$). При этом корреляции между содержанием сиаловой кислоты в липопротеидах низкой плотности и сиалидазной активностью в сыворотке крови, а также между содержанием холестерина циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови и сиаловой кислоты в липопротеидах низкой плотности не выявлено. Следует предположить, что повышенная сиалидазная активность в сыворотке крови приводит к образованию десалированных иммуногенных липопротеидов низкой плотности с последующим появлением аутоантител и формированием липидсодержащих циркулирующих иммунных комплексов.

Ключевые слова: сиаловая кислота, сиалидазная активность, атеросклероз, липопротеиды низкой плотности, циркулирующие иммунные комплексы, десалирование

ASSOCIATION BETWEEN SIALIC ACID, SIALIDASE ACTIVITY AND CHOLESTEROL OF LIPID-CONTAINING CIRCULATING IMMUNE COMPLEXES IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH ATHEROSCLEROSIS

Surkova R.S.^{a, b}, Marasaeva E.A.^a, Kashirskikh D.A.^{a, b}, Sobenin I.A.^{a, c}, Orekhov A.N.^{a, b}

^a Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russian Federation

^b Institute for Atherosclerosis Research, Moscow, Russian Federation

^c V. Smirnov Institute of Experimental Cardiology, E. Chazov National Medical Research Center of Cardiology, Moscow, Russian Federation

Abstract. Atherosclerosis is the most common chronic non-infectious diseases, in the pathogenesis of which the accumulation of lipids in the subendothelial layer of the arteries and the local inflammatory reaction play a significant role. The source of lipid accumulation in the vascular wall is modified low-density lipoproteins. Desialylation is one of the known modifications that leads to the emergence of atherogenic properties in low-density lipoproteins. Enzymes that have sialidase activity circulate in human blood, i.e., the ability to cleave sialic acid from low-density lipoproteins. Desialylated low-density lipoproteins are autoantigens and induce the production of IgG autoantibodies, which form immune complexes with low-density lipoproteins, which aggravates the course of atherosclerosis. The purpose of the study was to establish associations between the levels of sialic acid in low-density lipoproteins, sialidase activity and the cholesterol content of lipid-containing circulating immune complexes in the blood serum of patients with atherosclerosis. Blood sera from patients with coronary heart disease were used as biological material to determine indicators of sialidase activity, cholesterol content of lipid-containing circulating immune complexes and sialic acid in low-density lipoproteins, which were isolated from blood serum. Serum samples were obtained from the laboratory of clinical biochemistry of the Institute of Clinical Cardiology, A.L. Myasnikov Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center of Cardiology named after Academician E.I. Chazov as unutilized residues after performing routine biochemical tests. Fifty-one samples of blood serum and low-density lipoproteins isolated from it were analyzed. A significant positive relationship was revealed between the cholesterol content of circulating immune complexes and sialidase activity in the blood serum ($r = 0.305$ at $p = 0.029$). At the same time, no correlation was found between the content of sialic acid in low-density lipoproteins and sialidase activity in the blood

serum, as well as between the cholesterol content of circulating immune complexes in the blood serum and sialic acid in low-density lipoproteins. It should be assumed that increased sialidase activity in the blood serum leads to the formation of desialylated immunogenic low-density lipoproteins with the subsequent appearance of autoantibodies and the formation of lipid-containing circulating immune complexes.

Keywords: sialic acid, sialidase activity, atherosclerosis, low-density lipoproteins, circulating immune complexes, desialylation

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (Грант № 22-65-00005).

Введение

Атеросклероз – сложное, прогрессирующее воспалительное заболевание артерий среднего и крупного калибра, характеризующееся эндотелиальной дисфункцией и накоплением в субэндотелиальном пространстве липопротеидов низкой плотности (ЛНП), иммунных клеток и некротического детрита, что приводит к образованию атеросклеротической бляшки [2, 5]. Атеросклероз обуславливает большую часть глобальной заболеваемости и смертности от таких заболеваний, как ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда и острые нарушения мозгового кровообращения [10].

Развитие атеросклеротического поражения начинается с накопления циркулирующих модифицированных ЛНП в субэндотелиальном пространстве артериальной стенки. ЛНП претерпевают многочисленные модификации, которые придают частицам атерогенные свойства [12]. Одной из наиболее известных атерогенных модификаций ЛНП является десИАлирование, т. е. потеря терминальной сиАлиевой кислоты гликоконъюгатами, входящими в состав ЛНП [1, 4]. В крови человека могут циркулировать белки, обладающие нейраминидазной (сиАлидазной) активностью, т. е. способные отщеплять остатки сиАлиевых кислот от двухантенных полисахаридных цепей протеогликанов [7].

ДесИАлированные ЛНП обладают высокой иммуногенностью и индуцируют выработку аутоантител IgG, которые, связываясь с ЛНП, образуют циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) [6]. ЦИК вызывают секрецию провоспалительных цитокинов и апоптоз макрофагов, тем самым способствуя атерогенезу [9]. Некоторые исследования продемонстрировали, что множественно модифицированные ЛНП, как часть ЦИК, обладают более высоким атерогенным потенциалом по сравнению со свободными модифицированными ЛНП [8, 13]. Более того, была выявлена положительная корреляция между уровнями ЦИК, содержащих ЛНП, и тяжестью атеросклероза [3].

Целью данной работы было определить наличие ассоциации между показателями содержания сиАлиевой кислоты в липопротеидах низкой плотности, сиАлидазной активности и содержания холестерина липидсодержащих циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови пациентов, больных атеросклерозом.

Материалы и методы

Сыворотки крови больных ишемической болезнью сердца использовали в качестве биологического материала для определения показателей сиАлидазной активности, содержания холестерина ЦИК и сиАлиевой кислоты в ЛНП, которые выделяли из сыворотки крови. Пробы сывороток были получены из лаборатории клинической биохимии Института клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова Национального медицинского исследовательского центра кардиологии им. академика Е.И. Чазова как неутрализованные остатки после выполнения рутинных биохимических анализов.

Измерение сиАлидазной активности сыворотки крови проводили с использованием коммерческих наборов Abcam ab138888 Neuraminidase Assay Kit Fluorimetric-Blue (Abcam, США) в соответствии с инструкцией.

ЛНП выделяли с помощью ультрацентрифугирования в градиенте плотности КВг. Содержание сиАлиевой кислоты ЛНП измеряли по модифицированному методу Уоррена.

Для определения содержания холестерина в липидсодержащих ЦИК, иммунные комплексы предварительно высаживали из сыворотки с помощью PEG6000. Содержание холестерина измеряли, применяя коммерческий набор реагентов для определения концентрации общего холестерина в сыворотке и плазме крови ферментативным методом (АО «Вектор-Бест», Россия).

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета статистических программ IBM SPSS Statistics 23 с использованием коэффициента корреляции Пирсона. Уровень значимости был принят за 0,05.

Результаты и обсуждение

Проанализирован 51 образец сыворотки крови от пациентов, больных атеросклерозом, и выде-

ТАБЛИЦА 1. ОПИСАТЕЛЬНЫЕ СТАТИСТИКИ ДЛЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СОДЕРЖАНИЯ ХОЛЕСТЕРИНА ЦИК, СИАЛИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И СОДЕРЖАНИЯ СИАЛОВОЙ КИСЛОТЫ В ЛИПОПРОТЕИДАХ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ

TABLE 1. DESCRIPTIVE STATISTICS FOR SERUM CIC CHOLESTEROL LEVELS, SERUM SIALIDASE ACTIVITY AND LOW-DENSITY LIPOPROTEIN SIALIC ACID LEVELS

	Среднее, стандартное отклонение и 95%-ный доверительный интервал для среднего Mean, standard deviation, and 95% confidence interval	Медиана и межквартильный диапазон Median and interquartile range
Холестерин ЦИК (мкг/мл) Cholesterol CIC (µg/mL)	5,5 (5,1) 4,1-6,9	4,0 (1,6-7,9)
Сиаловая кислота (мкг/мг) Sialic acid (µg/mg)	45,1 (37,6) 34,5-55,6	33,0 (14,3-65,6)
Сиалидазная активность (ммоль/мкл) Sialidase activity (mM/µL)	0,14 (0,04) 0,13-0,15	0,15 (0,13-0,16)

ленных из нее липопротеидов низкой плотности. Для каждого показателя рассчитаны описательные статистики (табл. 1).

В результате корреляционного анализа выявлена значимая положительная связь между содержанием холестерина циркулирующих иммунных комплексов и сиалидазной активностью в сыворотке крови ($r = 0,305$ при $p = 0,029$) (рис. 1). Поскольку десиалированные ЛНП являются аутоантигенами, то они приводят к выработке ан-

тител. Антитела приводят к образованию и накоплению холестеринсодержащих ЦИК [11].

При сравнении содержания холестерина ЦИК в сыворотке крови и сиаловой кислоты в ЛНП (рис. 2) выявлена статистически не значимая связь ($r = -0,041$ при $p = 0,775$). Т. е. между данными показателями корреляции не выявлено. Таким образом, повышенное содержание холестерина в ЦИК напрямую не связано с содержанием сиаловой кислоты в ЛНП. По-видимому, образо-

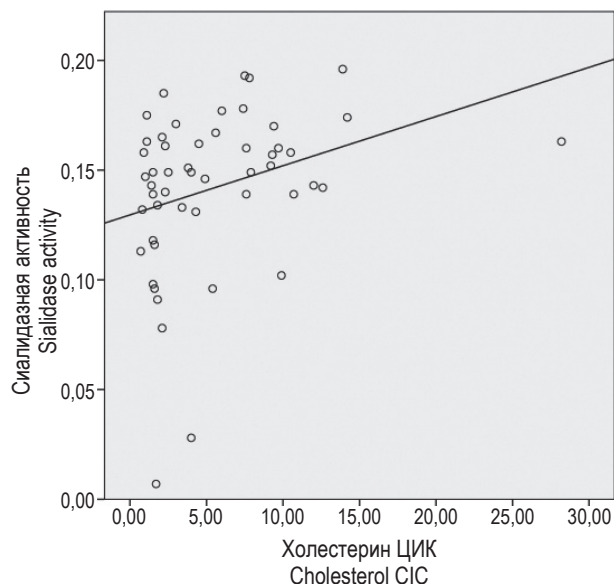


Рисунок 1. Матрица диаграммы рассеяния для показателей содержания холестерина ЦИК и сиалидазной активности в сыворотке крови

Figure 1. Scatterplot matrix for serum CIC cholesterol and sialidase activity

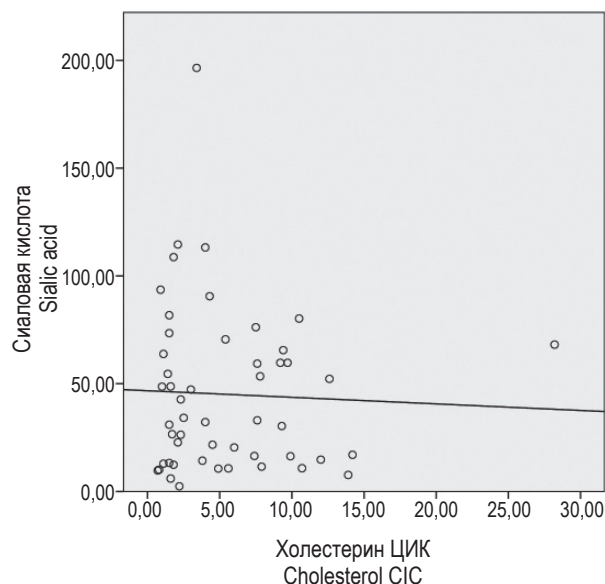


Рисунок 2. Матрица диаграммы рассеяния для показателей содержания холестерина ЦИК в сыворотке крови и сиаловой кислоты в липопротеидах низкой плотности

Figure 2. Scatterplot matrix for serum CIC cholesterol and low-density lipoprotein sialic acid

вание ЦИК зависит от степени иммуногенности десиалированных ЛНП и иммунореактивности организма.

Между показателями содержания сиаловой кислоты в ЛНП и сиалидазной активности в сыворотке крови (рис. 3) корреляции не выявлено ($r = -0,056$ при $p = 0,695$). Отсюда можно предположить, что влияние сиалидаз на десиалирование ЛНП характеризуется высокой индивидуальной вариабельностью.

Заключение

Выявлена значимая положительная связь между показателями содержания холестерина ЦИК и сиалидазной активности в сыворотке крови. Следует предположить, что повышенная сиалидазная активность в сыворотке крови приводит к образованию десиалированных иммуногенных ЛНП с последующим появлением аутоантител и формированием ЦИК.

Публикация размещена при участии Балтийского федерального университета им. И. Канта.

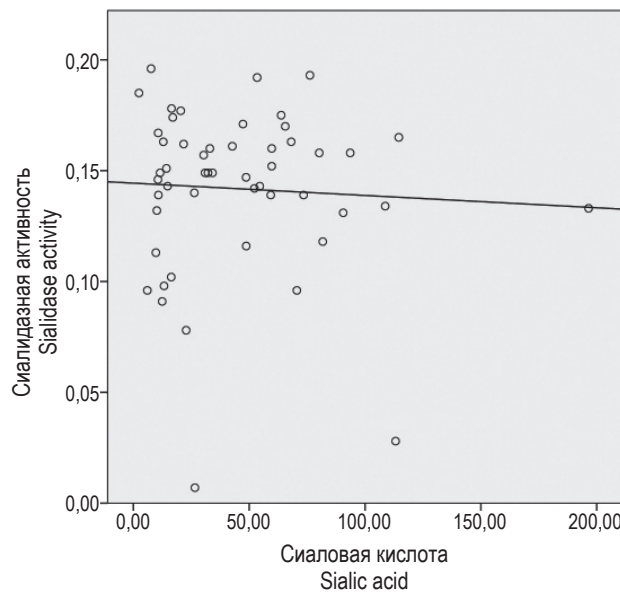


Рисунок 3. Матрица диаграммы рассеяния для показателей содержания сиаловой кислоты в липопротеидах низкой плотности и сиалидазной активности в сыворотке крови

Figure 3. Scatterplot matrix for low-density lipoprotein sialic acid and serum sialidase activity

Список литературы / References

1. Glanz V., Bezsonov E.E., Soldatov V., Orekhov A.N. Thirty-five-year history of desialylated lipoproteins discovered by Vladimir Tertov. *Biomedicines*, 2022, Vol. 10, no. 5, 1174. doi: 10.3390/biomedicines10051174.
2. Herrero-Fernandez B., Gomez-Bris R., Somovilla-Crespo B., Gonzalez-Granado J.M. Immunobiology of atherosclerosis: a complex net of interactions. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, Vol. 20, no. 21, 5293. doi: 10.3390/ijms20215293.
3. Hirayama S., Miida T. Small dense LDL: An emerging risk factor for cardiovascular disease. *Clin. Chim. Acta*, 2012, Vol. 414, pp. 215-224.
4. Ivanova E.A., Myasoedova V.A., Melnichenko A.A., Grechko A.V., Orekhov A.N. Small dense low-density lipoprotein as biomarker for atherosclerotic diseases. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2017, Vol. 2017, 1273042. doi: 10.1155/2017/1273042.
5. Kong P., Cui Z., Huang X., Zhang D., Guo R., Han M. Inflammation and atherosclerosis: signaling pathways and therapeutic intervention. *Signal. Transduct. Target. Ther.*, 2022, Vol. 7, 131. doi: 10.1038/s41392-022-00955-7.
6. Mezentssev A., Bezsonov E., Kashirskikh D., Baig M.S., Eid A.H., Orekhov A. Proatherogenic sialidases and desialylated lipoproteins: 35 years of research and current state from bench to bedside. *Biomedicines*, 2021, Vol. 9, no. 6, 600. doi: 10.3390/biomedicines9060600
7. Minami A., Kurebayashi Y., Takahashi T., Otsubo T., Ikeda K., Suzuki T. The function of sialidase revealed by sialidase activity imaging probe. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, Vol. 22, no. 6, 3187. doi: 10.3390/ijms22063187.
8. Orekhov A.N., Kalenich O.S., Tertov V.V., Novikov I.D. Lipoprotein immune complexes as markers of atherosclerosis. *Int. J. Tissue React.*, 1991, Vol. 13, pp. 233-236.
9. Orekhov A.N., Tertov V.V., Kabakov A.E., Adamova I.Yu., Pokrovsky S.N., Smirnov V.N. Autoantibodies against modified low density lipoprotein. Nonlipid factor of blood plasma that stimulates foam cell formation. *Arterioscler. Thromb.*, 1991, Vol. 11, pp. 316-326.
10. Poznyak A.V., Silaeva Y.Y., Orekhov A.N., Deykin A.V. Animal models of human atherosclerosis: current progress. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 2020, Vol. 53, no. 6, e9557. doi: 10.1590/1414-431X20209557.
11. Sobenin I.A., Salonen J.T., Zhelankin A.V., Melnichenko A.A., Kaikkonen J., Bobryshev Y.V., Orekhov A.N. Low density lipoprotein-containing circulating immune complexes: role in atherosclerosis and diagnostic value. *Biomed. Res. Int.*, 2014, Vol. 2014, 205697. doi: 10.1155/2014/205697.

12. Tertov V.V., Bittolo-Bon G., Sobenin I.A., Cazzolato G., Orekhov A.N., Avogaro P. Naturally occurring modified low density lipoproteins are similar if not identical: more electronegative and desialylated lipoprotein subfractions. *Exp. Mol. Pathol.*, 1995, Vol. 62, pp. 166-172.

13. Tertov V.V., Orekhov A.N., Sayadyan K.S., Serebrennikov S.G., Kacharava A.G., Lyakishev A.A., Smirnov V.N. Correlation between cholesterol content in circulating immune complexes and atherogenic properties of CHD patients' serum manifested in cell culture. *Atherosclerosis*, 1990, Vol. 81, pp. 183-189.

Авторы:

Суркова Р.С. — аспирант второго года обучения, старший лаборант лаборатории молекулярно-генетического моделирования инфламейджинга ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; младший научный сотрудник Научно-исследовательского института атеросклероза, Москва, Россия

Марасаева Е.А. — аспирант первого года обучения, старший лаборант лаборатории молекулярно-генетического моделирования инфламейджинга ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

Каширских Д.А. — младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетического моделирования инфламейджинга ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; младший научный сотрудник Научно-исследовательский институт атеросклероза, Москва, Россия

Собенин И.А. — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории ангиопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; главный научный сотрудник лаборатории медицинской генетики, Научно-исследовательский институт экспериментальной кардиологии имени академика В.Н. Смирнова ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Орехов А.Н. — д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории ангиопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; директор Научно-исследовательского института атеросклероза, Москва, Россия

Authors:

Surkova R.S., Second-year Postgraduate Student, Senior Laboratory Assistant, Laboratory of Molecular Genetic Modeling of Inflammation, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology; Junior Research Associate, Institute for Atherosclerosis Research, Moscow, Russian Federation

Marasaeva E.A., First-year Postgraduate Student, Senior Laboratory Assistant, Laboratory of Molecular Genetic Modeling of Inflammation, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russian Federation

Kashirskikh D.A., Junior Research Associate, Laboratory of Molecular Genetic Modeling of Inflammation, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology; Junior Research Associate Institute for Atherosclerosis Research, Moscow, Russian Federation

Sobenin I.A., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Angiopathology, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology; Chief Research Associate, Laboratory of Medical Genetics, V. Smirnov Institute of Experimental Cardiology, E. Chazov National Medical Research Center of Cardiology, Moscow, Russian Federation

Orekhov A.N., PhD, MD (Biology), Professor, Chief Research Associate, Laboratory of Angiopathology, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology; Director, Institute for Atherosclerosis Research, Moscow, Russian Federation

Поступила 29.03.2024
Принята к печати 30.03.2024

Received 29.03.2024
Accepted 30.03.2024

WNT-СИГНАЛЬНЫЙ ПУТЬ И ЕГО СВЯЗЬ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМИ НАРУШЕНИЯМИ: РОЛЬ DVL-1 И WIF-1

**Снимщикова И.А., Плотникова М.О., Кулакова А.С.,
Якушкина Н.Ю.**

ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», г. Орел, Россия

Резюме. Ожирение является глобальной проблемой здравоохранения на протяжении последних десятилетий. Поиск новых путей в борьбе с избыточным весом и ожирением приводит к более глубокому пониманию патогенетических механизмов, лежащих в основе данного состояния, и с каждым новым исследованием происходит расширение взгляда на проблему с точки зрения, в первую очередь, иммунологических аспектов. Несмотря на активное изучение WNT сигнальной системы в последние годы, в доступной литературе имеется небольшое количество работ, посвященных определению компонентов данного сигнального пути в сыворотке крови людей, страдающих ожирением, и практически нет работ по исследованию WIF-1 и DVL-1. Цель работы – изучение белков WNT-сигнальной системы (DVL-1, WIF-1) в сыворотке крови лиц с избыточной массой тела и ожирением. Обследовано 210 пациентов в возрасте от 19 до 65 лет, распределенных на 4 группы: I – лица с нормальной массой тела, II – пациенты с избыточной массой тела; III – лица с метаболически здоровым ожирением, IV – пациенты с метаболически нездоровым ожирением с использованием общеклинических и иммунологических методов исследования. В ходе исследования получены данные о концентрации DVL-1 и WIF-1 в сыворотке крови пациентов с избыточной массой тела, метаболически здоровым и нездоровым ожирением, описаны корреляционный взаимосвязи данных протеинов WNT-сигнального пути с клинико-лабораторными показателями. У пациентов, страдающих ожирением, выявлены статистически значимые изменения значений компонентов WNT-сигнальной системы в сыворотке крови: повышение уровня DVL-1, а также нарастание уровня WIF-1 с увеличением степени ожирения у метаболически здоровых лиц. Выявлены корреляции DVL-1 и показателями липидного спектра; WIF-1 с показателями холестерина профиля, лейкоцитами и скоростью оседания эритроцитов. Таким образом, патогенез ожирения представляет собой многогранный процесс, в котором принимают участие различные иммунопатологические механизмы, включая основные сигнальные системы, где одну из ведущих ролей играет WNT-сигнальный путь. И хотя некоторые эффекты, опосредованные DVL-1 и WIF-1, были в последнее время выяснены, детали их интеграции являются тем недостающим

Адрес для переписки:

*Плотникова Мария Олеговна
ФГБОУ ВО «Орловский государственный
университет имени И.С. Тургенева»
302026, Россия, г. Орел, ул. Комсомольская, 95.
Тел.: 8 (910) 748-29-29.
E-mail: snimshikova@mail.ru*

Address for correspondence:

*Maria O. Plotnikova
Turgenev State University of Orel
95 Komsomolskaya St
Orel
302026 Russian Federation
Phone: + 7 (910) 748-29-29.
E-mail: snimshikova@mail.ru*

Образец цитирования:

*И.А. Снимщикова, М.О. Плотникова, А.С. Кулакова,
Н.Ю. Якушкина «WNT-сигнальный путь и его связь с
метаболическими нарушениями: роль DVL-1 и WIF-1»
// Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27,
№ 3. С. 545-552.
doi: 10.46235/1028-7221-16930-WSP*

© Снимщикова И.А. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

*I.A. Snimshchikova, M.O. Plotnikova, A.S. Kulakova,
N.Yu. Yakushkina “WNT signaling pathway and its connection
with metabolic disorders: the role of DVL-1 and WIF-1”,
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 545-552.
doi: 10.46235/1028-7221-16930-WSP*

© Snimshchikova I.A. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16930-WSP

звенном, которое необходимо дополнительно исследовать, чтобы лучше понять иммунопатогенез метавоспаления при ожирении.

Ключевые слова: ожирение, DVL-1, WIF-1, WNT-сигнальный путь, метаболически здоровое ожирение, метаболически нездоровое ожирение

WNT SIGNALING PATHWAY AND ITS CONNECTION WITH METABOLIC DISORDERS: THE ROLE OF DVL-1 AND WIF-1

Snimshchikova I.A., Plotnikova M.O., Kulakova A.S., Yakushkina N.Yu.

Turgenev State University of Orel, Orel, Russian Federation

Abstract. Obesity has been a global health problem over the past decades. The search for new ways in the fight against overweight and obesity leads to a deeper understanding of the pathogenetic mechanisms underlying this condition, and with each new study, the understanding of the problem expands first of all from the immunological approach. Despite the active study of the WNT signaling system in recent years, the available literature contains a small number of studies devoted to determining the components of this signaling pathway in the blood serum of obese people, and virtually no studies on WIF-1 and DVL-1. Purpose of the work: to study DVL-1 and WIF-1 in the blood serum of overweight and obese individuals. Patients (n = 210, aged 19 to 65) were examined, divided into 4 groups: I – people with normal body weight, II – patients with excess body weight; III – patients with metabolically healthy obesity, and IV – patients with metabolically unhealthy obesity using general clinical and immunological research methods. The study obtained data on the concentrations of DVL-1 and WIF-1 in the blood serum of patients with overweight, metabolically healthy and unhealthy obesity, and described the correlation between these proteins of the WNT-signaling pathway and clinical and laboratory parameters. In obese patients, statistically significant changes in the values of the components of the WNT signaling system in the blood serum were detected: an increase in the level of DVL-1, as well as an increase in the level of WIF-1 with an increase in the degree of obesity in metabolically healthy individuals. Correlations between DVL-1 and lipid spectrum indicators; between WIF-1 with cholesterol profile, leukocytes and erythrocyte sedimentation rate were revealed. The pathogenesis of obesity is a complex process in which various immunopathological mechanisms, where the WNT signaling pathway plays one of the leading roles. Although some of the effects mediated by DVL-1 and WIF-1 have recently been elucidated, the details of their integration are a missing link that must be further explored for better understanding of the immunopathogenesis of metainflammation in obesity.

Keywords: obesity, DVL-1, WIF-1, WNT-signaling system, metabolically healthy obesity, metabolically unhealthy obesity

Введение

Ожирение является одной из наиболее актуальных проблем современного общества. В настоящее время более 650 миллионов взрослых и 340 миллионов детей в мире страдают ожирением. По оценкам ВОЗ в 2022 г. ожирение регистрировалось у каждого восьмого человека. При сохранении аналогичных тенденций к 2030 году каждый пятый житель планеты будет страдать ожирением, что обосновывает актуальность поиска новых путей в борьбе с избыточным весом и ожирением и необходимость более глубокого изучения его патогенетических механизмов [11, 14].

Согласно современным данным, ожирение представляет собой хронический воспалительный процесс низкой степени активности с метаболической дисрегуляцией (метавоспаление), наблюдающийся во всех тканях, участвующих в энергетическом гомеостазе, и характеризующийся дисфункцией адипоцитов, рекрутированием иммунцитов, аномальной выработкой цитокинов и других регуляторных пептидов [15]. Вместе с тем, молекулярные события, опосредующие развитие метавоспаления остаются недостаточно изученными.

Достижения в области изучения клеточных и сигнальных основ взаимодействия иммунитета

и метаболизма позволило расширить понимание патофизиологических механизмов ожирения и сформулировать концепцию иммунометаболизма [15].

Многочисленными исследованиями установлена взаимосвязь ожирения с высоким риском развития метаболических нарушений (инсулинорезистентность, атерогенная дислипидемия и др.) и ассоциированных с ними заболеваний, таких как ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет и др. [6, 14, 15].

Однако в целом ряде работ приводятся данные о том, что ожирение не всегда сопровождается метаболическими нарушениями, что позволило выделить фенотип ожирения, при котором отсутствуют какие-либо значимые кардиометаболические нарушения, обозначаемый как «метаболически здоровое ожирение» (МЗО) и фенотип, относящийся к «метаболически нездоровому ожирению» (МНЗО) у лиц, имеющих помимо ожирения, сопутствующие кардиометаболические нарушения [3, 6].

В доступной литературе приводятся данные, в которых МЗО не является стабильным фенотипом и представляет собой ряд непрерывных ассоциаций между ожирением и дисфункциональными метаболическими, воспалительными и иммунными процессами, а пациенты с МЗО в долгосрочной перспективе имеют высокий риск развития кардиометаболических заболеваний [3, 6]. Вместе с тем, фундаментальные механизмы, лежащие в основе иммунометаболического профилирования при различных фенотипах ожирения, остаются недостаточно изученными.

В настоящее время активно изучаются как регуляторные механизмы метаболической адаптации иммунных клеток, так и особенности влияния иммунной системы на метаболическую передачу сигналов при ожирении [15].

Одним из перспективных направлений изучения иммунопатогенеза метавоспаления при ожирении является исследование WNT-сигналинга, связанного с множеством иммунобиологических процессов как в эмбриональном, так и постнатальном периоде, отвечающего за дифференцировку, пролиферацию и миграцию клеток, а также вовлеченного в патогенез кардиометаболического синдрома и сердечно-сосудистых заболеваний [4, 5].

На сегодняшний день описано три сигнальных каскада, активируемых морфогенными белками семейства WNT: сигнальный путь с участием β -катенина – канонический, а также два неканонических: WNT/ Ca^{2+} и путь планарной клеточной поляриности (PCP), не зависящих от β -катенина [4, 5, 8]. Канонический WNT-сигналинг регулируется на разных уровнях. Ключевым событием при активации канонического

сигнального каскада WNT является стабилизация β -катенина. В отсутствие активирующего сигнала концентрация β -катенина в ядре и цитоплазме поддерживается на сравнительно низком уровне. Это достигается при помощи специального комплекса «деградации», включающего белки Axin, APC (adenomatous polyposis coli) и протеинкиназу GSK-3 β (glycogen synthase kinase 3 β). В составе комплекса β -катенин подвергается фосфорилированию, что служит сигналом для его последующего разрушения.

Активация канонического сигнального пути WNT связана с образованием тройственного комплекса, состоящего из WNT-лиганда, рецептора из семейства Fzd и корецептора LRP5/6, и сопровождается рекрутированием во внутриклеточный домен рецептора Fzd морфогенного белка DVL (Dishevelled), который, ингибируя компоненты комплекса деградации, способствует накоплению β -катенина в цитоплазме, транслокации в ядро и запуску каскада активации транскрипционных факторов и генов-мишеней, связанных с WNT [4, 5]. Несмотря на то, что в фундаментальных исследованиях показана центральная роль DVL в распространении WNT-сигнала [13], молекулярные механизмы, опосредующие участие DVL в неканонических WNT/ Ca^{2+} и PCP-путях передачи сигнала еще предстоит выяснить.

На сегодняшний день DVL-1 является наименее изученным среди компонентов WNT-сигнального пути, а его роль в метавоспалении до конца не определена.

Передача сигналов WNT модулируется различными внеклеточными антагонистами. Большинство авторов сходится во мнении, что WIF-1 (WNT-ингибирующий фактор 1) – один из основных регуляторов WNT-каскада, который может напрямую взаимодействовать с различными WNT лигандами и препятствовать их связыванию с рецепторами. Кроме того, результаты ряда экспериментальных исследований по профилированию экспрессии WIF-1 показали, что WIF-1, по всей видимости, является центральным игроком в динамическом контроле передачи сигналов WNT посредством механизма регуляторной обратной связи [12].

Несмотря на активное изучение WNT-сигнального пути во всем мире, имеется небольшое количество работ, посвященных определению компонентов данной системы в сыворотке крови людей, страдающих ожирением [4], и практически нет работ, исследующих WIF-1 и DVL-1. Этим был обусловлен наш интерес к изучению данных морфогенных белков WNT-сигнальной системы у лиц с избыточной массой тела и ожи-

рением, что и определило цель нашего исследования.

Материалы и методы

Нами было обследовано 210 пациентов (от 19 до 65 лет) с избыточной массой тела и ожирением, которые были разделены на 4 группы, сопоставимые по возрасту и полу: I (контрольная группа) – лица с нормальной массой тела ($n = 45$); II – пациенты с избыточной массой тела и индексом массы тела (ИМТ) 25–29,9 ($n = 77$); III – пациенты с МЗО (ИМТ ≥ 30 , без кардиометаболических нарушений по результатам лабораторного и инструментального обследования и данным анамнеза; $n = 56$); IV – пациенты с МНЗО (ИМТ ≥ 30 с наличием кардиометаболических нарушений по результатам обследования; $n = 32$).

Для определения метаболического статуса лиц с ожирением использовались критерии в соответствии с международными стандартами [6]. Диагностика избыточной массы тела, ожирения и оценка его степени проводилась методом Кетле.

В исследование не включались пациенты при наличии сопутствующей патологии в стадии обострения и/или декомпенсации, острых инфекционных заболеваний, сахарного диабета, беременности, получавшие иммуносупрессивную терапию.

Работа выполнена в соответствии со стандартами GCP и одобрена Этическим комитетом ОГУ им. И.С. Тургенева. От каждого пациента получено добровольное информированное согласие.

В исследовании был применен комплекс общеклинических и иммунологических методов, включавших определение и оценку антропометрических данных, клинических и биохимических показателей периферической крови (общий анализ крови, биохимический анализ крови: общий белок, билирубин, АЛТ, АСТ, глюкоза, липидный профиль, креатинин).

В соответствии с целью работы у всех больных определяли уровень белков DVL-1, WIF-1 в сыворотке крови. Забор венозной крови осуществлялся утром натощак в объеме 10 мл. Полученную центрифугированием сыворотку хранили при температуре $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ до проведения исследования методом иммуноферментного анализа с использованием наборов Sunlong Biotech Co (Китай).

Статистический анализ проводился с использованием программы StatTech 3.1.10 (Россия, 2023). Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критериев Шапиро–Уилка и Колмогорова–Смирнова. Направление и теснота корреляционной связи оценивались с помощью коэффициента ранговой корреля-

ции Спирмена. Все данные в статье представлены в виде (Me) и нижнего и верхнего квартилей ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$). Сравнение двух групп производилось с помощью U-критерия Манна–Уитни. Направление и теснота корреляционной связи между двумя количественными показателями оценивались с помощью шкалы Чеддока. Все статистические сравнения были двусторонними, значение $p < 0,05$ считались статистически значимым.

Работа выполнена в ОГУ имени И.С. Тургенева в рамках государственного задания № 075-00196-24-02 на 2024 год, проект № FSGN-2024-0007 (1023110800218-7-3.2.4;3.1.3;2.6.1).

Результаты и обсуждение

Учитывая, что в настоящее время имеются лишь единичные работы, описывающие роль DVL-1, участвующего как в канонической, так и неканонической передаче WNT-сигналов при адипогенезе, представляло интерес оценить его концентрацию в сыворотке крови пациентов. В результате определения содержания белка DVL-1 в сыворотке крови исследуемых лиц выявлена широкая вариабельность значений. Так, у пациентов II группы уровень DVL-1 находился в диапазоне от 108,0 до 575,0 пг/мл, и в среднем лишь незначительно превышал показатели контрольной группы (110 (100–260,0) пг/мл). В то время как у больных III и IV групп сывороточная концентрация DVL-1 в 4–5 раз превышала аналогичные показатели, полученные у лиц с нормальной массой тела ($p < 0,001$), составив 505 (325–700) и 482,5 (360–696,75) пг/мл соответственно. При этом у 40,0% пациентов с нормальной массой тела регистрировалось минимальное пороговое значение DVL-1, а у 32,1% лиц с МЗО и у 25,0% пациентов с МНЗО были установлены максимальные значения показателя, превышающие 700 пг/мл, что может свидетельствовать об увеличении экспрессии DVL-1 в процессе адипогенеза.

Не было установлено достоверных корреляционных зависимостей между DVL-1 и уровнем артериального давления, показателями общего анализа крови, глюкозы, АЛТ, АСТ, общим белком, билирубином, креатинином, возрастом и полом.

Статистически значимые результаты проведенного нами корреляционного анализа сывороточного уровня DVL-1 с лабораторными показателями и ИМТ пациентов с МНЗО и МЗО представлены в таблице 1.

Статистически значимые корреляционные зависимости, отмеченные между DVL-1, общим холестерином, ЛПНП, ЛПВП подтверждают роль DVL-1 в качестве молекулярного медиатора, объ-

ТАБЛИЦА 1. РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА ВЗАИМОСВЯЗИ DVL-1 И КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПЕРЕМЕННЫХ У ПАЦИЕНТОВ С МЗО И МНЗО

TABLE 1. RESULTS OF THE ANALYSIS OF THE CORRELATION BETWEEN DVL-1 AND QUANTITATIVE VARIABLES IN PATIENTS WITH MHO AND MUHO

Показатели Indicators	Характеристика корреляционной связи Characteristics of correlation					
	МЗО MHO			МНЗО MUHO		
	ρ	Теснота связи Connection tightness	ρ	ρ	Теснота связи Connection tightness	ρ
DVL-1 – ИМТ DVL-1 – BMI	0,629	Заметная Noticeable	< 0,001*	0,530	Заметная Noticeable	0,002*
DVL-1 – триглицериды DVL-1 – triglycerides	0,277	Слабая Weak	0,153	0,410	Умеренная Moderate	0,020*
DVL-1 – ЛПВП DVL-1 – HDL	-0,175	Слабая Weak	0,372	-0,359	Умеренная Moderate	0,043*
DVL-1 – ЛПНП DVL-1 – LDL	0,401	Умеренная Moderate	0,034*	0,302	Умеренная Moderate	0,093
DVL-1 – ЛПОНП DVL-1 – VLDL	0,305	Умеренная Moderate	0,114	0,208	Слабая Weak	0,254
DVL-1 – коэффициент атерогенности DVL-1 – atherogenic coefficient	0,291	Слабая Weak	0,133	0,407	Умеренная Moderate	0,021*
DVL-1 – общий холестерин DVL-1 – total cholesterol	0,319	Умеренная Moderate	0,098	0,395	Умеренная Moderate	0,025*
DVL-1 – β-катенин DVL-1 – β-catenin	0,596	Заметная Noticeable	< 0,001*	0,351	Умеренная Moderate	0,049*

Примечание. * – $p < 0,05$; ИМТ – индекс массы тела, ЛПВП – липопротеины высокой плотности, ЛПНП – липопротеины низкой плотности, ЛПОНП – липопротеины очень низкой плотности.

Note. *, $p < 0.05$; BMI, body mass index; HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; VLDL, very low-density lipoprotein.

единяющего WNT-сигналинг и гиперлипидемию, и согласуются с данными литературы [7, 10].

Кроме того, учитывая результаты предыдущих наших исследований [1], продемонстрировавших вовлеченность β-катенина в молекулярный сигнальный каскад WNT, заслуживают внимания данные о выявленной прямой корреляционной взаимосвязи DVL-1 с уровнем β-катенина (табл. 1, $p < 0,001$), что подтверждает участие DVL-1 в активации канонического сигнального каскада WNT у лиц, имеющих избыток жировой ткани, и свидетельствует о возможной компенсаторной гиперпродукции DVL-1, необходимой для деградации чрезмерной продукции β-катенина [9].

Стоит отметить, что с увеличением степени ожирения уровень DVL-1 возрастал, что подтверждается установленной заметной прямой

корреляционной зависимостью DVL-1 и ИМТ ($p < 0,001$).

Известно, что WIF-1 является внеклеточным антагонистом WNT-сигнального пути и отражает измененную передачу сигналов WNT в раннем атерогенезе, являясь важным предиктором будущих неблагоприятных дисметаболических и сердечно-сосудистых событий [2, 4, 5].

Согласно полученным данным, не было установлено достоверных различий между уровнем WIF-1 в сыворотке крови пациентов контрольной группы (235 (140,75-521,25) пг/мл), больных с избыточной массой тела (272,50 (138,75-531,25) пг/мл), с МЗО и МНЗО (160,0 (130,0-612,50) пг/мл и 140,0 (124,75-171,25) пг/мл соответственно).

Однако у 20,0% пациентов I группы и 18,2% – II группы концентрация WIF-1 была максимально высокой (1030-1262 пг/мл), в то время как у

ТАБЛИЦА 2. РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА ВЗАИМОСВЯЗИ WIF-1 И КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПЕРЕМЕННЫХ У ПАЦИЕНТОВ С МЗО И МНЗО

TABLE 2. RESULTS OF THE ANALYSIS OF WIF-1 CORRELATION WITH QUANTIFIED VARIABLES IN PATIENTS WITH MHO AND MUHO

Показатели Indicators	Характеристика корреляционной связи Characteristics of correlation					
	МЗО MHO			МНЗО MUHO		
	ρ	Теснота связи Connection tightness	ρ	ρ	Теснота связи Connection tightness	ρ
WIF-1 – лейкоциты WIF-1 – leukocytes	0,434	Умеренная Moderate	0,021*	0,083	Нет связи No connection	0,650
WIF-1 – СОЭ WIF-1 – ESR	0,420	Умеренная Moderate	0,026*	0,186	Слабая Weak	0,309
WIF-1 – триглицериды WIF-1 – triglycerides	0,233	Слабая Weak	0,232	0,553	Заметная Noticeable	0,001*
WIF-1 – ЛПВП WIF-1 – HDL	-0,153	Слабая Weak	0,437	-0,376	Умеренная Moderate	0,034*
WIF-1 – ЛПНП WIF-1 – LDL	0,376	Умеренная Moderate	0,048*	0,292	Слабая Weak	0,105
WIF-1 – ЛПОНП WIF-1 – VLDL	0,232	Слабая Weak	0,236	0,474	Умеренная Moderate	0,006*
WIF-1 – коэффициент атерогенности WIF-1 – atherogenic coefficient	0,425	Умеренная Moderate	0,024*	0,309	Умеренная Moderate	0,085
WIF-1 – общий холестерин WIF-1 – total cholesterol	0,440	Умеренная Moderate	0,019*	0,134	Слабая Weak	0,465
WIF-1 – β-катенин WIF-1 – β-catenin	0,413	Умеренная Moderate	0,029*	0,603	Заметная Noticeable	< 0,001*

Примечание. * – $p < 0,05$; СОЭ – скорость оседания эритроцитов, ЛПВП – липопротеины высокой плотности, ЛПНП – липопротеины низкой плотности, ЛПОНП – липопротеины очень низкой плотности.

Note. *, $p < 0.05$; ESR, erythrocyte sedimentation rate; HDL, high density lipoproteins; LDL, low density lipoproteins; VLDL, very low density lipoproteins.

34,4% пациентов IV группы наблюдались минимальные пороговые значения (105-125 пг/мл), что может быть обусловлено расходом WIF-1 на блокирование WNT/β-катенин сигнального пути и свидетельствовать об aberrантной передаче WNT-сигнала при ожирении с сопутствующими метаболическими нарушениями.

Статистически значимые результаты корреляционного анализа сывороточного уровня WIF-1 с лабораторными показателями у пациентов с метаболически здоровым и нездоровым ожирением представлены в таблице 2.

С учетом ранее полученных нами данных [1], следует отметить наличие статистически значимой прямой корреляционной зависимости WIF-1 и β-катенина, что, возможно, может быть связа-

но со способностью WIF-1 ингибировать другие (неканонические) пути WNT в дополнение к канонической передаче сигналов WNT/β-катенин.

Кроме того, при оценке показателя WIF-1 у пациентов III группы были выявлены его внутригрупповые статистически значимые различия, характеризующиеся увеличением концентрации WIF-1 по мере возрастания степени ожирения. При этом уровень WIF-1 составил 140,50 (130-165) пг/мл у пациентов с 1-й степенью ожирения с его достоверным повышением до 650 (620-665) и 1120 (1035-1225) пг/мл – при 2-й и 3-й степени ожирения соответственно ($p < 0,001$), что согласуется с данными литературы о способности WIF-1 не только ингибировать передачу WNT-

сигналов, но и стимулировать экспрессию адипогенных генов [2].

Как видно из таблицы 2, повышенная концентрация WIF-1 ассоциировалась с нарушениями липидного спектра, преимущественно с ЛПНП в группе пациентов с МЗО и ЛПОНП у больных с МНЗО.

Сывороточный уровень WIF-1 показал положительную корреляцию с показателями лейкоцитов и скоростью оседания эритроцитов лишь в группе пациентов с МЗО (табл. 2), что, по всей видимости, связано с повышенной востребованностью и расходом WIF-1 при возрастании метаболических нарушений у пациентов с ожирением и, вероятно, может служить маркером неблагоприятного течения метавоспаления при ожирении без клинических признаков метаболического синдрома.

нии без клинических признаков метаболического синдрома.

Заключение

Таким образом, патогенез ожирения представляет собой многогранный процесс, в котором принимают участие различные иммунопатологические механизмы, включая основные сигнальные системы, где одну из ведущих ролей играет WNT-сигнальный путь. И хотя некоторые эффекты, опосредованные DVL-1 и WIF-1, были в последнее время выяснены, детали их интеграции являются тем недостающим звеном, которое необходимо дополнительно исследовать, чтобы лучше понять иммунопатогенез метавоспаления при ожирении.

Список литературы / References

1. Кулакова А.С., Снимщикова И.А., Плотникова М.О. Роль морфогенных белков WNT-сигнального пути (склеростина и β -катенина) в адипогенезе // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 2. С. 133-138. [Kulakova A.S., Snimshchikova I.A., Plotnikova M.O. Role of WNT signaling morphogenic proteins (sclerostin and β -catenin) in adipogenesis. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2020, Vol. 23, no. 2, pp. 133-138. (In Russ.)] doi:10.46235/1028-7221-326-ROW.
2. Alsaedi M. The role of WNT inhibitory factor I in adipose tissue development. ETD Collection for Tennessee State University, 2016, AAI10158616. Available at: <https://digitalscholarship.tnstate.edu/dissertations/AAI10158616>.
3. Brandão I., Martins M.J., Monteiro R. Metabolically healthy obesity-heterogeneity in definitions and unconventional factors. *Metabolites*, 2020, Vol. 10, no. 2, 48. doi: 10.3390/metabo10020048.
4. Chen N., Wang J. Wnt/ β -Catenin Signaling and Obesity. *Front. Physiol.*, 2018, Vol. 9, 792. doi: 10.3389/fphys.2018.00792.
5. Das B., Das M., Kalita A., Baro M. R. The role of Wnt pathway in obesity induced inflammation and diabetes: a review. *J. Diabetes Metab. Disord.*, 2021, Vol. 20, no. 2, pp. 1871-1882.
6. Elías-López D., Vargas-Vázquez A., Mehta, R., Cruz Bautista I., Del Razo Olvera F., Gómez-Velasco D., Almeda Valdes P., Aguilar-Salinas C.A. Metabolic Syndrome Study Group. Natural course of metabolically healthy phenotype and risk of developing Cardiometabolic diseases: a three years follow-up study. *BMC Endocr. Disord.*, 2021, Vol. 21, no. 1, 85. doi: 10.1186/s12902-021-00754-1.
7. Karczewska-Kupczewska M., Stefanowicz M., Matulewicz N., Nikołaјuk A., Strączkowski M. Wnt signaling genes in adipose tissue and skeletal muscle of humans with different degrees of insulin sensitivity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2016, Vol. 101, no. 8, pp. 3079-3087.
8. Liu J., Xiao Q., Xiao J., Niu C., Li Y., Zhang X., Zhou Z., Shu G., Yin G. Wnt/ β -catenin signalling: function, biological mechanisms, and therapeutic opportunities. *Signal Transduct. Target. Ther.*, 2022, Vol. 7, no. 1, 3. doi: 10.1038/s41392-021-00762-6.
9. Louie S.H., Yang X.Y., Conrad W.H., Muster J., Angers S., Moon R.T., Cheyette B.N. Modulation of the beta-catenin signaling pathway by the dishevelled-associated protein Hipk1. *PLoS One*, 2009, Vol. 4, no. 2, e4310. Doi: 10.1371/journal.pone.0004310.
10. Mani A., Radhakrishnan J., Wang H., Mani A., Mani M.A., Nelson-Williams C., Carew K.S., Mane S., Najmabadi H., Wu D., Lifton R.P. LRP6 mutation in a family with early coronary disease and metabolic risk factors. *Science (New York, N.Y.)*, 2007, Vol. 315, no. 5816, pp. 1278-1282.

11. Obesity and overweight, 2024, 1 March, Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
12. Poggi L., Casarosa S., Carl M. An eye on the Wnt inhibitory gactor Wif1. *Front. Cell Dev. Biol.*, 2018, Vol. 6, 167. doi: 10.3389/fcell.2018.00167.
13. Sharma M., Castro-Piedras I., Simmons G.E. Jr, Pruitt K. Dishevelled: A masterful conductor of complex Wnt signals. *Cell. Signal.*, 2018, Vol. 47, pp. 52-64.
14. Tutor A.W., Lavie C.J., Kachur S., Milani R.V., Ventura H.O. Updates on obesity and the obesity paradox in cardiovascular diseases. *Progr. Cardiovasc. Dis.*, 2023, Vol. 78, pp. 2-10.
15. Začiragić A. The role of meta-inflammation in the adipose tissue dysfunction and obesity. *Meta-Inflammation and Obesity*, Bentham Science Publishers, 2020, pp. 63-80.

Авторы:

Снимщикова И.А. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой иммунологии и специализированных клинических дисциплин, директор Медицинского института ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», г. Орел, Россия

Плотникова М.О. — к.м.н., доцент кафедры иммунологии и специализированных клинических дисциплин ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», г. Орел, Россия

Кулакова А.С. — ассистент кафедры иммунологии и специализированных клинических дисциплин ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», г. Орел, Россия

Якушкина Н.Ю. — доцент кафедры иммунологии и специализированных клинических дисциплин ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», г. Орел, Россия

Authors:

Snimshchikova I.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Immunology and Specialized Clinical Disciplines, Director of the Medical Institute, Turgenev State University of Orel, Orel, Russian Federation

Plotnikova M.O., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Immunology and Specialized Clinical Disciplines, Turgenev State University of Orel, Orel, Russian Federation

Kulakova A.S., Assistant Professor, Department of Immunology and Specialized Clinical Disciplines, Turgenev State University of Orel, Orel, Russian Federation

Yakushkina N.Yu., Associate Professor, Department of Immunology and Specialized Clinical Disciplines, Turgenev State University of Orel, Orel, Russian Federation

Поступила 03.04.2024

Отправлена на доработку 09.04.2024

Принята к печати 17.04.2024

Received 03.04.2024

Revision received 09.04.2024

Accepted 17.04.2024

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ИНГИБИТОРНЫХ РЕЦЕПТОРОВ PD-1 И TIGIT НА CD4⁺ И CD8⁺Т-ЛИМФОЦИТАХ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ЗРЕЛОСТИ

Власова В.В., Сайдакова Е.В.

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

Резюме. Т-лимфоциты являются сложной и гетерогенной популяцией клеток, играющей центральную роль в адаптивном иммунном ответе. Среди Т-клеток выделяют две крупные популяции – CD4⁺Т-хелперы и CD8⁺ цитотоксические Т-лимфоциты, каждая из которых состоит из клеток разной функциональной направленности и степени зрелости. Известно, что активность Т-лимфоцитов строго регулируется различными ингибиторными рецепторами, в том числе PD-1 и TIGIT. Как правило, действие этих супрессорных молекул направлено на поддержание гомеостаза. Однако экспрессию ингибиторных рецепторов на Т-клетках также связывают с феноменом истощения. Особенности экспрессии данных супрессорных молекул на CD4⁺ и CD8⁺Т-лимфоцитах разной степени зрелости остаются малоизученными. Целью данного исследования было оценить экспрессию ингибиторных рецепторов PD-1 и TIGIT на различных субпопуляциях CD4⁺ и CD8⁺Т-лимфоцитов здоровых людей. Исследование включало 10 относительно здоровых добровольцев со средним возрастом 43 года. Идентификацию субпопуляций Т-лимфоцитов проводили методом проточной цитофлуориметрии. Среди CD4⁺ и CD8⁺Т-клеток выделяли наивные лимфоциты (CD45R0⁻CCR7⁺), клетки центральной (CD45R0⁺CCR7⁺) и эффекторной (CD45R0⁺CCR7⁻) памяти или терминально-дифференцированные эффекторы (CD45R0⁻CCR7⁻), на поверхности которых оценивали экспрессию ингибиторных рецепторов PD-1 и TIGIT. Было установлено, что экспрессия супрессорных молекул PD-1 и TIGIT на Т-лимфоцитах здоровых людей в значительной степени определяется стадией их дифференцировки. Так, в пуле наивных CD4⁺ и CD8⁺Т-лимфоцитов содержание клеток, несущих рецепторы PD-1 и TIGIT было существенно меньше, чем в более зрелых субпопуляциях ($p < 0,05$). Принадлежность к CD4⁺ или CD8⁺Т-клеткам также существенно влияла на характер экспрессии ингибиторных рецепторов. Установлено, что CD8⁺Т-лимфоциты отличаются от CD4⁺Т-клеток значительно большей долей TIGIT-позитивных элементов ($p < 0,01$). Важно отметить, что ингибиторный рецептор TIGIT присутствовал на подавляющем большинстве CD8⁺Т-лимфоцитов памяти и терминально-дифференцированных эффекторов, что не соответствует профилю экспрессии PD-1. Полученные результаты расширяют представление об особенностях экспрессии ингибиторных рецепторов на Т-клетках и подчеркивают необходимость пересмотра подходов к интерпретации данных в контексте функционального истощения.

Ключевые слова: CD4⁺Т-клетки, CD8⁺Т-клетки, наивные клетки, клетки центральной памяти, клетки эффекторной памяти, терминальные эффекторы, PD-1, TIGIT

Адрес для переписки:

Власова Виолетта Викторовна
Институт экологии и генетики микроорганизмов
Уральского отделения Российской академии наук
614081, Россия, г. Пермь, ул. Голева, 13.
Тел.: 8 (342) 280-83-34.
Факс: 8 (342) 280-92-11.
E-mail: violetbaudelaire73@gmail.com

Address for correspondence:

Violetta V. Vlasova
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms
13 Golev St
Perm
614081 Russian Federation
Phone: +7 (342) 280-83-34.
Fax: +7 (342) 280-92-11.
Email: violetbaudelaire73@gmail.com

Образец цитирования:

В.В. Власова, Е.В. Сайдакова «Особенности экспрессии ингибиторных рецепторов PD-1 и TIGIT на CD4⁺ и CD8⁺Т-лимфоцитах различной степени зрелости» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 553-558.
doi: 10.46235/1028-7221-16619-TEP

© Власова В.В., Сайдакова Е.В., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

V.V. Vlasova, E.V. Saidakova "The expression patterns of the inhibitory receptors PD-1 AND TIGIT on CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes at different stages of differentiation", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 553-558.
doi: 10.46235/1028-7221-16619-TEP

© Vlasova V.V., Saidakova E.V., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16619-TEP

THE EXPRESSION PATTERNS OF THE INHIBITORY RECEPTORS PD-1 AND TIGIT ON CD4⁺ AND CD8⁺T LYMPHOCYTES AT DIFFERENT STAGES OF DIFFERENTIATION

Vlasova V.V., Saidakova E.V.

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

Abstract. T lymphocytes are a highly diverse group of cells that play a pivotal role in the adaptive immune response. The T cell population consists of two subsets: CD4⁺T-helper cells and CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes, each comprising cells with varying functionality and maturity levels. Inhibitory receptors such as PD-1 and TIGIT tightly regulate T lymphocyte functions to maintain immune homeostasis. However, the presence of inhibitory receptors on T cells is also associated with exhaustion. The specific characteristics of inhibitory receptor expression on CD4⁺ and CD8⁺T lymphocyte subsets are not fully understood. This study aimed to assess the expression of inhibitory receptors PD-1 and TIGIT on different subsets of CD4⁺ and CD8⁺T lymphocytes in healthy individuals. The study involved 10 relatively healthy volunteers, averaging 43 years. T lymphocyte subsets were identified using flow cytometry. CD4⁺ and CD8⁺T cells were classified as naive (CD45R0⁻CCR7⁺), central memory (CD45R0⁺CCR7⁺), effector memory (CD45R0⁺CCR7⁻), or terminally differentiated effectors (CD45R0⁻CCR7⁻) followed by analysis of PD-1 and TIGIT expression. The study showed that the expression of suppressor molecules PD-1 and TIGIT on T lymphocytes in healthy individuals is closely linked to their differentiation stage. The presence of cells carrying PD-1 and TIGIT receptors was significantly lower in naive T lymphocytes compared to more mature subsets ($p < 0.05$). Affiliation with CD4⁺ or CD8⁺T cells also significantly influenced the nature of inhibitory receptor expression. CD8⁺T lymphocytes had more TIGIT-positive elements than CD4⁺T cells ($p < 0.01$). Moreover, unlike PD-1, TIGIT was found on most memory and terminally differentiated effector CD8⁺T lymphocytes. These findings improve our understanding of how inhibitory receptors regulate T cell functions and emphasize the need to reconsider how we interpret data in the context of T lymphocyte exhaustion.

Keywords: CD4⁺T cells, CD8⁺T cells, naïve cells, central memory cells, effector memory cells, terminally differentiated effector cells, PD-1, TIGIT

Работа выполнена в рамках государственного задания 124021900006-5 («Исследование функциональной активности лейкоцитов и клеток опухолевых линий в условиях хронических инфекций и под влиянием соединений химического и биологического происхождения») с использованием оборудования ЦКП «Исследования материалов и вещества» ПФИЦ УрО РАН.

Введение

Центральная роль в адаптивном иммунном ответе принадлежит Т-лимфоцитам. Эти клетки представляют собой гетерогенную популяцию, включающую CD4⁺T-хелперы и цитотоксические CD8⁺T-лимфоциты. И те, и другие содержат клетки различной степени зрелости: наивные лимфоциты, клетки центральной и эффекторной памяти, терминально-дифференцированные эффекторы. Субпопуляции Т-клеток обладают разным спектром эффекторных функций — от продукции цитокинов до уничтожения инфицированных клеток, — что позволяет им обеспечивать защиту организма от внутриклеточных и внеклеточных патогенов [8].

Эффекторные действия Т-лимфоцитов могут быть разрушительны для здоровых тканей организма, поэтому функции Т-клеток, как правило, строго регулируются. Одним из механизмов контроля выступают ингибиторные рецепторы — группа молекул (PD-1, TIGIT, Lag-3, Tim-3, CTLA-4, CD160, LAIR1 и др.), способных подавлять или замедлять биохимические реакции и сигнальные пути, связанные с активацией, пролиферацией и эффекторными функциями Т-клеток [10, 11]. Среди супрессорных молекул наиболее изучен рецептор программируемой клеточной гибели 1 (англ. Programmed death-1 — PD-1). Сигнал, поступающий от PD-1 при его взаимодействии с лигандами (PD-L1 или PD-L2), подавляет пролиферацию, продукцию цитокинов и цитолитическую функцию Т-лимфоцитов, а также повышает их чувствительность к апоптозу [5]. Механизм действия ингибиторного рецептора TIGIT (англ. T cell immunoglobulin and ITIM domain — Т-клеточный иммуноглобулин и тирозинсодержащий ингибиторный мотив иммунорецепторов) также активно изучается. Этот рецептор реализует свои эффекты через пода-

вление экспрессии молекул, входящих в состав T-клеточного рецептора, и препятствие прохождению ко-стимулирующего сигнала от CD226 [3]. Какой бы механизм ни был задействован, ключевая функция ингибиторных рецепторов заключается в поддержании гомеостаза и иммунологической толерантности [12].

Вместе с тем экспрессию ингибиторных рецепторов на клетках связывают с феноменом истощения T-лимфоцитов. Под иммунным истощением понимают процесс постепенной утраты T-клетками способности производить цитокины и делиться [14]. Самым распространенным маркером, используемым для определения истощенных T-клеток, является PD-1. Возможность применения других супрессорных молекул, например TIGIT, для идентификации истощенных T-клеток находится в стадии апробации. Предварительные исследования показали, что число T-клеток, экспрессирующих рецепторы PD-1 и TIGIT, повышается при онкологических и аутоиммунных заболеваниях, а также хронических инфекциях [11, 15]. Тем не менее мало известно о том, как эти ингибиторные рецепторы экспрессируются в норме. В частности, отсутствуют данные о том, как данные молекулы экспрессируются на CD4⁺ и CD8⁺T-лимфоцитах, принадлежащих к различным субпопуляциям. Кроме того, открытым остается вопрос о том, как соотносятся профили экспрессии TIGIT и наиболее распространенного маркера – PD-1 – в T-клетках здоровых людей.

Целью настоящей работы была оценка экспрессии ингибиторных рецепторов PD-1 и TIGIT на CD4⁺ и CD8⁺T-лимфоцитах, относящихся к различным субпопуляциям.

Материалы и методы

План исследования был утвержден этическим комитетом (рег. № IRB00008964). Каждый обследованный подписал форму информированного согласия. В исследование были включены 10 относительно здоровых добровольцев средним возрастом 43 года (37,0–45,8 лет), половина обследуемых были женщинами.

Забор крови осуществляли натошак из локтевой вены в пробирки типа Vacutainer, содержащие этилендиаминтетрауксусную кислоту (Weihai Hongyu Medical Devices Co Ltd, Китай). Мононуклеарные клетки выделяли путем центрифугирования двукратно разведенной раствором фосфатно-солевого буфера Дульбекко (DPBS, Gibco, США) периферической крови в градиенте плотности Диаколл (1,077 г/мл, ООО «Диаэм», Россия). Изолированные мононуклеарные лейкоциты отмывали в растворе DPBS и подвергали контролируемому замораживанию в среде, содержащей 90% эмбриональной телячьей сыворотки (Biowest,

Франция) и 10% диметилсульфоксида (AppliChem, Германия). Затем пробы помещали в жидкий азот для длительного хранения. Перед проведением исследования клетки размораживали.

Идентификацию T-лимфоцитов проводили на проточном цитофлюориметре CytoFLEX S (Beckman Coulter, США) с использованием моноклональных анти-CD3-BV605, анти-CD4-PE, анти-CD8-BV510, анти-CCR7-PE/Cy7 (BioLegend, США), анти-CD45R0-APC-eFluor™780 (Thermo Fisher Scientific, США) антител и витального красителя Zombie UV Fixable Viability Kit (BioLegend, США). В пулах CD4⁺ и CD8⁺T-лимфоцитов выделяли наивные (CD45R0-CCR7⁺) элементы, клетки центральной (CD45R0⁺CCR7⁺) и эффекторной (CD45R0⁺CCR7⁻) памяти, терминально-дифференцированные эффекторы (CD45R0-CCR7⁻). Экспрессию ингибиторных рецепторов PD-1 и TIGIT оценивали с использованием анти-PD-1-PB (BioLegend, США) и анти-TIGIT-AF488 (Thermo Fisher Scientific, США) антител соответственно.

Проведение статистических расчетов и построение графиков осуществляли с использованием программного обеспечения Statistica 6. Данные представлены в виде медиан, интерквартильных размахов (25–75 перцентиль) и 10–90 %-ных интервалов. Достоверность различий между группами устанавливали на основе U-критерия Манна–Уитни.

Результаты и обсуждение

Анализ субпопуляционного состава CD4⁺ и CD8⁺T-лимфоцитов здоровых субъектов показал следующее. Среди CD4⁺T-клеток 56,3% (37,0–61,7%) относились к наивным лимфоцитам; 1,0% (0,5–4,2%) к терминально-дифференцированным T-клеткам; 36,5% (28,0–47,8%) и 9,1% (6,6–12,5%) к клеткам центральной и эффекторной памяти соответственно. Популяция CD8⁺T-лимфоцитов на 24,8% (20,8–45,9%) состояла из наивных клеток, на 31,9% (24,6–45,9%) из терминально-дифференцированных лимфоцитов, на 11,3% (7,6–17,5%) и 20,1% (15,3–27,4%) из клеток центральной и эффекторной памяти. Полученные данные согласуются со сведениями, представленными в литературе [7].

Доля клеток, экспрессирующих PD-1, в двух популяциях T-лимфоцитов была примерно одинаковой (p > 0,05) и составила 9,0% (6,7–14,3%) для CD4⁺T-клеток и 12,6% (6,0–19,8%) для CD8⁺T-лимфоцитов. Относительное количество TIGIT-позитивных клеток, напротив, существенно различалось: среди CD8⁺T-лимфоцитов оно составило 56,1% (34,4–66,6%), а среди CD4⁺T-клеток – 18,1% (15,6–22,5%; p < 0,01). В обеих популяциях T-лимфоцитов доля клеток, экспресси-

рующих TIGIT, превышала относительное число PD-1-позитивных элементов ($p < 0,01$).

Уровень экспрессии ингибиторных рецепторов на CD4⁺ и CD8⁺T-лимфоцитах различной степени зрелости существенно отличался. При этом в обеих субпопуляциях наблюдались схожие паттерны. Так, минимальное содержание PD-1-позитивных элементов было отмечено в наивных лимфоцитах (рис. 1). Среди T-клеток памяти доля PD-1⁺ элементов была повышена относительно наивных и терминально-дифференцированных эффекторов и достигала максимума в пуле T-лимфоцитов эффекторной памяти. Клетки центральной памяти содержали меньше PD-1⁺ элементов, чем T-лимфоциты эффекторной памяти. В пуле CD4⁺T-клеток, в отличие от CD8⁺T-лимфоцитов, эти различия достигли уровня статистической значимости. Терминально-дифференцированные T-клетки, при их сравнении с клетками эффекторной памяти, содержали меньше PD-1-позитивных элементов. В популяции CD4⁺T-лимфоцитов терминально-дифференцированные T-клетки не отличались от клеток центральной памяти долей PD-1⁺ элементов. Напротив, в пуле CD8⁺T-лимфоцитов содержание PD-1⁺ клеток среди терминально-дифференцированных эффекторов было ниже, чем среди лимфоцитов центральной памяти.

Относительное количество T-клеток, экспрессирующих TIGIT, существенно зависело не только от стадии их дифференцировки, но и от принадлежности к CD4⁺ или CD8⁺ субпопуляции (рис. 2). Наивные лимфоциты всегда характеризовались наименьшим содержанием TIGIT-позитивных элементов. В более высокодифференцированных субпопуляциях их количество возрастало. Наибольшее содержание TIGIT-позитивных CD4⁺T-клеток было отмечено среди лимфоцитов центральной и эффекторной памяти. В субпопуляции терминально-дифференцированных CD4⁺T-лимфоцитов относительное количество TIGIT⁺ клеток существенно снижалось, приближаясь к значениям, характерным для наивных CD4⁺T-лимфоцитов. Напротив, среди CD8⁺T-лимфоцитов экспрессия молекул TIGIT в субпопуляциях клеток памяти и терминально-дифференцированных элементах была одинаково высока, достигая максимума в пуле последних. В среднем более 60% клеток в каждой из субпопуляций клеток памяти и терминально-дифференцированных эффекторов экспрессировали TIGIT.

Полученные данные демонстрируют, что у здоровых субъектов экспрессия ингибиторных рецепторов PD-1 и TIGIT на CD4⁺ и CD8⁺T-лимфоцитах существенно зависит от стадии дифференцировки клеток. Этот факт необходимо учитывать при анализе данных, особенно в контексте истощения T-лимфоцитов. Вероят-

нее всего, что у здоровых лиц наличие большой доли T-лимфоцитов памяти, несущих на своей мембране ингибиторные рецепторы, служит для регуляции иммунных реакций и поддержания гомеостаза и не свидетельствует о развитии истощения. Данные о том, что у здоровых людей T-клетки, экспрессирующие супрессорные молекулы, способны активно функционировать, были представлены ранее. Так, было показано, что цитотоксическая активность CD8⁺T-лимфоцитов прямо коррелирует с относительным количеством TIGIT⁺ клеток в популяции [1].

Экспрессии ингибиторного рецептора TIGIT на CD8⁺T-клетках следует уделить пристальное внимание. Наши исследования показали, что данная супрессорная молекула представлена на более чем 60% CD8⁺T-лимфоцитов памяти здоровых доноров. Участники исследования не сообщали об онкологических или хронических инфекционных заболеваниях. Поэтому данную особенность едва ли можно связать с истощением. Более того, характер экспрессии TIGIT на CD8⁺T-лимфоцитах существенно отличался от такового PD-1. Можно предположить, что экспрессия TIGIT прямо связана с фенотипом CD8⁺T-лимфоцитов памяти. Ранее было показано, что для формирования и поддержания CD8⁺T-клеток памяти необходима экспрессия транскрипционного фактора эомезодермина (EOMES) [9]. В популяциях CD8⁺T-лимфоцитов памяти доля клеток, экспрессирующих EOMES, превышает 40% и возрастает в направлении клетки центральной памяти → клетки эффекторной памяти → терминально-дифференцированные эффекторы [6]. EOMES, связываясь с промотором гена, кодирующего TIGIT, способен усиливать его экспрессию [4]. В популяции CD4⁺T-лимфоцитов EOMES экспрессируют меньшинство клеток. Из вышесказанного следует, что отличия в экспрессии молекулы TIGIT CD4⁺ и CD8⁺T-клетками памяти могут быть обусловлены различными транскрипционными программами.

Среди CD8⁺T-клеток максимальное содержание TIGIT-позитивных элементов было отмечено в субпопуляции терминально-дифференцированных лимфоцитов. При этом доля TIGIT⁺ клеток в пуле терминально-дифференцированных CD8⁺T-лимфоцитов во много раз превышала показатели терминально-дифференцированных CD4⁺T-клеток. Различия в экспрессии этой супрессорной молекулы могут быть связаны с разными эффекторными потенциалами двух субпопуляций. Доля терминально-дифференцированных клеток в популяции CD8⁺T-лимфоцитов составила почти 32%. Такие лимфоциты продуцируют цитотоксические факторы, такие как перфорин и гранзимы, а также провоспалительные цитокины, в том числе IFN γ , TNF α , IL-1 β и IL-6 [2]. Высокий эффекторный потенциал этих

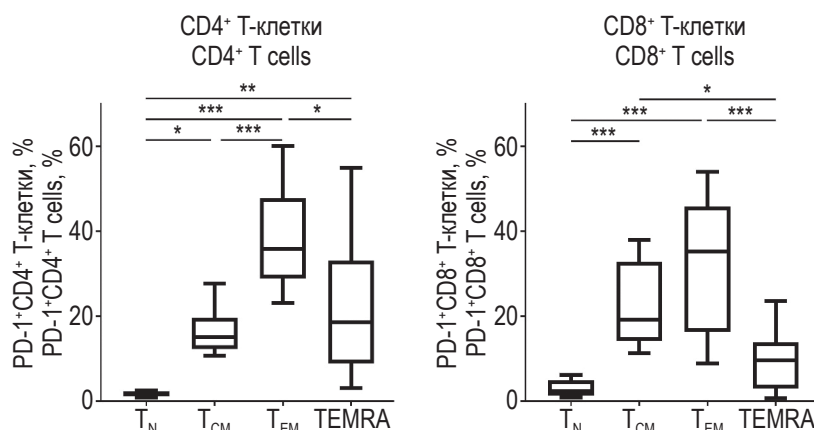


Рисунок 1. Особенности экспрессии ингибиторного рецептора PD-1 в популяциях CD4⁺ и CD8⁺Т-лимфоцитов относительно здоровых доноров

Примечание. Представлены медианы (горизонтальные линии внутри прямоугольников), интерквартильные размахи (прямоугольники) и 10-90%-ые перцентили (вертикальные отрезки); * – p < 0,05; ** – p < 0,01; *** – p < 0,001 (U-критерий Манна-Уитни).

Figure 1. The expression of the inhibitory receptor PD-1 in CD4⁺ and CD8⁺T lymphocyte populations from healthy donors

Note. The medians are represented by horizontal lines inside the rectangles, the interquartile ranges by the rectangles, and the 10-90% percentiles by vertical lines; * , p < 0.05; ** , p < 0.01; *** , p < 0.001 (Mann–Whitney U test).

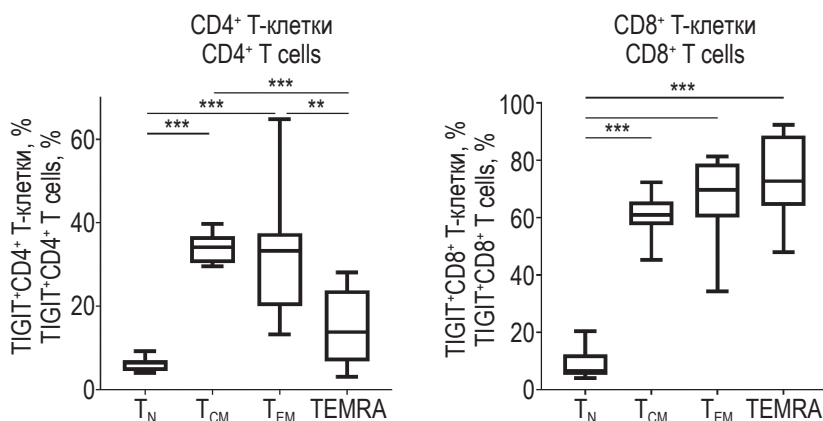


Рисунок 2. Особенности экспрессии ингибиторного рецептора TIGIT в популяциях CD4⁺ и CD8⁺Т-лимфоцитов относительно здоровых доноров

Примечание. Представлены медианы (горизонтальные линии внутри прямоугольников), интерквартильные размахи (прямоугольники) и 10-90%-ные перцентили (вертикальные отрезки); ** – p < 0,01; *** – p < 0,001 (U-критерий Манна-Уитни).

Figure 2. The expression of the inhibitory receptor TIGIT in CD4⁺ and CD8⁺T lymphocyte populations from healthy donors

Note. The medians are represented by horizontal lines inside the rectangles, the interquartile ranges by the rectangles, and the 10-90% percentiles by vertical lines; ** , p < 0.01; *** , p < 0.001 (Mann–Whitney U test).

клеток, вероятно, обуславливает необходимость строгого контроля со стороны ингибиторных рецепторов. В популяции CD4⁺Т-лимфоцитов здоровых субъектов содержание терминально-дифференцированных клеток, согласно полученным нами данным, низкое и в среднем составляет 1%. При этом о функциях терминально-дифференцированных CD4⁺Т-клеток известно немного. К настоящему моменту известно, что часть терминально-дифференцированных

CD4⁺Т-лимфоцитов, выделяемая по экспрессии GPR56, продуцирует цитотоксические молекулы и IFN γ [13]. Однако вклад этой субпопуляции в реализацию иммунного ответа до конца не определен.

Закключение

Таким образом, экспрессия ингибиторных рецепторов PD-1 и TIGIT на Т-клетках здоровых людей во многом определяется стадией их

дифференцировки и принадлежностью к CD4⁺ или CD8⁺T-лимфоцитам. Можно выделить две основные закономерности. Во-первых, наивные T-клетки в среднем экспрессируют супрессорные молекулы значительно слабее, чем более зрелые субпопуляции. Во-вторых, для CD8⁺T-лимфоцитов характерен уникальный профиль экспрессии ингибиторного рецептора TIGIT. По-видимому, экспрессия этой молекулы на CD8⁺T-

клетках памяти не является признаком сниженной функциональности, но отражает высокую степень зрелости цитотоксических лимфоцитов. Полученные сведения расширяют представление о роли ингибиторных рецепторов в регуляции функций T-клеток и подчеркивают необходимость пересмотра подходов к интерпретации данных об экспрессии супрессорных молекул в контексте функционального истощения.

Список литературы / References

1. Blazkova J., Huiting E.D., Boddapati A.K., Shi V., Whitehead E.J., Justement J.S., Correlation between TIGIT expression on CD8⁺ T cells and higher cytotoxic capacity. *J. Infect. Dis.*, 2021, Vol. 224, no. 9, pp. 1599-1604.
2. Callender L.A., Carroll E.C., Bober E.A., Akbar A.N., Solito E., Henson S.M. Mitochondrial mass governs the extent of human T cell senescence. *Aging Cell*, 2020, Vol. 19, no. 2, e13067. doi: 10.1111/accel.13067.
3. Ge Z., Peppelenbosch M.P., Sprengers D., Kwekkeboom J. TIGIT, the next step towards successful combination immune checkpoint therapy in cancer. *Front. Immunol.*, 2021, Vol. 12, 699895. doi: 0.3389/fimmu.2021.699895
4. Jia B., Zhao C., Rakszawski K.L., Claxton D.F., Ehmann W.C., Rybka W.B., Mineishi S., Wang M., Shike H., Bayerl M.G., Sivik J.M., Schell T.D., Drabick J.J., Hohel R.J., Zheng H. Eomes⁺T-betlow CD8⁺ T cells are functionally impaired and are associated with poor clinical outcome in patients with acute myeloid leukemia. *Cancer Res.*, 2019, Vol. 79, no. 7, pp. 1635-1645.
5. Jubel J.M., Barbati Z.R., Burger C., Wirtz D.C., Schildberg F.A. The Role of PD-1 in acute and chronic infection. *Front. Immunol.*, 2020, Vol. 11, 487. doi: 10.3389/fimmu.2020.00487.
6. Knox J.J., Cosma G.L., Betts M.R., McLane L.M. Characterization of T-bet and eomes in peripheral human immune cells. *Front. Immunol.*, 2014, Vol. 5, 217. doi: 10.3389/fimmu.2014.00217.
7. Koch S., Larbi A., Derhovanessian E., Ozcelik D., Naumova E., Pawelec G. Multiparameter flow cytometric analysis of CD4 and CD8 T cell subsets in young and old people. *Immun. Ageing*, 2008, Vol. 5, 6. doi: 10.1186/1742-4933-5-6.
8. Lanzavecchia A., Sallusto F. Dynamics of T lymphocyte responses: intermediates, effectors, and memory cells. *Science*, 2000, Vol. 290, no. 5489, pp. 92-97.
9. Li G., Yang Q., Zhu Y., Wang H.R., Chen X., Zhang X., T-Bet and eomes regulate the balance between the effector/central memory T cells versus memory stem like T cells. *PLoS One*, 2013, Vol. 8, no. 6, e67401. doi: 10.1371/journal.pone.0067401.
10. Long E.O. Regulation of immune responses through inhibitory receptors. *Annu. Rev. Immunol.*, 1999, Vol. 17, pp. 875-904.
11. Odorizzi P.M., Wherry E.J. Inhibitory receptors on lymphocytes: insights from infections. *J. Immunol.*, 2012, Vol. 188, no. 7, pp. 2957-2965.
12. Rumpret M., Drylewicz J., Ackermans L.J.E., Borghans J.A.M., Medzhitov R., Meyaard L. Functional categories of immune inhibitory receptors. *Nat. Rev. Immunol.*, 2020, Vol. 20, no. 12, pp. 771-780.
13. Tian Y., Babor M., Lane J., Schulten V., Patil V.S., Seumois G., Unique phenotypes and clonal expansions of human CD4 effector memory T cells re-expressing CD45RA. *Nat. Commun.*, 2017, Vol. 8, no. 1, 1473. doi: 10.1038/s41467-017-01728-5.
14. Wherry E.J., Kurachi M. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion. *Nat. Rev. Immunol.*, 2015, Vol. 15, no. 8, pp. 486-499.
15. Zhao J., Li L., Yin H., Feng X., Lu Q. TIGIT: An emerging immune checkpoint target for immunotherapy in autoimmune disease and cancer. *Int. Immunopharmacol.*, 2023, Vol. 120, 110358. doi: 10.1016/j.intimp.2023.110358.

Авторы:

Власова В.В. — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Пермь, Россия

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

Authors:

Vlasova V.V., Junior Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

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

Поступила 22.03.2024

Отправлена на доработку 06.04.2024

Принята к печати 17.04.2024

Received 22.03.2024

Revision received 06.04.2024

Accepted 17.04.2024

ИССЛЕДОВАНИЕ ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ЖИТЕЛЕЙ АБХАЗИИ РАЗНЫХ ВОЗРАСТОВ

Трапш Х.З., Матуа А.З., Амаба С.Т., Горухчиева Ф.А., Смыр С.Д.,
Конджария И.Г., Миквабия З.Я.

ГНУ «Институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии», г. Сухум, Абхазия

Резюме. Из обследованных коренных жителей Абхазии разных возрастов было отобрано 103 наиболее здоровых пациента, разделенных по классификации ВОЗ на четыре возрастные группы: группа 1 – молодого возраста (18-44 лет, n = 37), группа 2 – среднего возраста (45-59 лет, n = 13), группа 3 – пожилого (60-74 года, n = 27) и группа 4 – старческого возраста (75-89 лет, n = 26). Для оценки статуса здоровья обследуемых, параллельно с клиническим осмотром, проводили ряд лабораторных исследований: гематологических, гемостазиологических, биохимических, определяли концентрацию про и противовоспалительных цитокинов, при необходимости применяли инструментальную диагностику. Обследование проводилось после информированного добровольного согласия пациентов. Практически ко всем пациентам старческого, а иногда и пожилого возраста, осуществили выезд на дом. Критериями исключения из исследования были значимые отклонения от нормы исследованных лабораторных показателей крови, обострения хронических заболеваний и наличие острых инфекционных заболеваний на момент обследования. Фагоцитарную активность нейтрофильных гранулоцитов (НГ) определяли методом проточной цитометрии с использованием цитометра EPICS XL (Beckman Coulter, США) с применением набора FagoFlowEx® Kit (Чехия) предназначенного для оценки поглотительной (процента активно фагоцитирующих НГ – %ФАН) и переваривающей (индекс стимуляции НГ – ИС) способности НГ после стимуляции E. coli в образцах гепаринизированной цельной крови. При сравнении лейкоцитов не было выявлено статистически значимых, между сравниваемыми четырьмя возрастными группами: молодого, среднего, пожилого и старческого возраста, различий (p = 0,795). Абсолютное содержание НГ в периферической крови обследуемых групп значимо не отличалось, при этом процентное отношение имело достоверную разницу между группами пожилого и старческого возраста (p = 0,019). При оценке поглотительной способности, определения %ФАН в

Адрес для переписки:

Матуа Алиса Зауровна
ГНУ «Институт экспериментальной патологии
и терапии Академии наук Абхазии»
384900, Республика Абхазия,
г. Сухум, гора Трапеция, а/я 66.
Тел.: 8 (940) 995-77-13.
E-mail: azmatua76@mail.ru

Address for correspondence:

Alisa Z. Matua
Institute of Experimental Pathology and Therapy,
Academy of Sciences of Abkhazia
PO Box 66
Mount Trapezium, Sukhum
384900 Republic of Abkhazia
Phone: +7 (940) 995-77-13.
E-mail: azmatua76@mail.ru

Образец цитирования:

Х.З. Трапш, А.З. Матуа, С.Т. Амаба, Ф.А. Горухчиева,
С.Д. Смыр, И.Г. Конджария, З.Я. Миквабия
«Исследование фагоцитарной активности
нейтрофильных гранулоцитов периферической крови
у жителей Абхазии разных возрастов» // Российский
иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 559-566.
doi: 10.46235/1028-7221-16840-SOT

© Трапш Х.З. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

Kh.Z. Trapsh, A.Z. Matua, S.T. Amaba, F.A. Gorukhchieva,
S.D. Smyr, I.G. Kondzhariya, Z.Ya. Mikvabiya “Study
of the phagocytic activity of neutrophilic granulocytes in
the peripheral blood of residents of Abkhazia of different ages”,
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskiy
Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 559-566.
doi: 10.46235/1028-7221-16840-SOT

© Trapsh Kh.Z. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16840-SOT

зависимости от возраста, были установлены статистически значимые различия между группами молодого и старческого возраста ($p = 0,038$). При сравнении кислородзависимой переваривающей активности НГ, индекса стимуляции (ИС), в зависимости от возраста, были установлены статистически значимые различия также между группами молодого и старческого возраста ($p = 0,014$). Достоверных отличий между другими возрастными группами не было выявлено ни по %ФАН, ни по ИС. Таким образом, среди обследуемых возрастных групп нами было выявлено статистически значимое ослабление как поглотительной, так и кислородзависимой переваривающей фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов в старческой группе, которая оказалась наиболее уязвимой по исследованным показателям.

Ключевые слова: нейтрофильные гранулоциты, фагоцитоз, микробицидность, иммуностарение, проточная цитометрия, возрастная динамика, жители Абхазии

STUDY OF THE PHAGOCYTTIC ACTIVITY OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES IN THE PERIPHERAL BLOOD OF RESIDENTS OF ABKHAZIA OF DIFFERENT AGES

Trapsh Kh.Z., Matua A.Z., Amaba S.T., Gorukhchieva F.A., Smyr S.D., Kondzhariya I.G., Mikvabiya Z.Ya.

Institute of Experimental Pathology and Therapy, Academy of Sciences of Abkhazia, Sukhum, Abkhazia

Abstract. As a result of examinations of the indigenous population of different ages in Abkhazia, 103 of the healthiest patients were selected, divided according to WHO classifications into four age groups: group 1 – young age (18-44 years, $n = 37$), group 2 – middle age (45-59 years, $n = 13$), group 3 – elderly (60-74 years old, $n = 27$) and group 4 – senile (75-89 years old, $n = 26$). To assess the health status of those observed, along with the clinical examination, a number of laboratory tests were carried out: hematological, hemostasiological, biochemical, the concentration of pro- and anti-inflammatory cytokines were determined; instrumental diagnostics were used, when needed. The examination was carried out after the informed voluntary consent of the patients. Almost to all senile and sometimes elderly patients were paid home visits. The criteria for exclusion from the study were significant deviations from the norm in the studied laboratory blood parameters, exacerbations of chronic diseases and the presence of acute infectious diseases at the time of the examination. The phagocytic activity of neutrophil granulocytes (NG) was determined by flow cytometry using an EPICS XL cytometer (Beckman Coulter, USA) using the FagoFlowEx® Kit (Czech Republic) designed to assess absorption (percentage of actively phagocytic NG) and digestion (NG stimulation index) NG abilities after stimulation with *E. coli* in heparinized whole blood samples. When comparing leukocytes, no statistically significant differences were revealed between the four age groups compared: young, middle, elderly, and senile ($p = 0.795$). The absolute content of NG in the peripheral blood of the examined groups did not differ significantly, while the percentage ratio had a significant difference between the elderly and senile groups ($p = 0.019$). When assessing the absorptive capacity and determining the percentage of FAN depending on age, statistically significant differences were established between the young and senile age groups ($p = 0.038$). When comparing the oxygen-dependent digestive activity of NG, the stimulation index, depending on age, statistically significant differences were also established between the young and old age groups ($p = 0.014$). No significant differences between other age groups were found in terms of % FAN or IS. Thus, among the age groups examined, we identified a statistically significant weakening of both the absorption and oxygen-dependent digestive phagocytic activity of neutrophil granulocytes in the senile group, which turned out to be the most vulnerable according to the studied indicators.

Keywords: neutrophil granulocytes, phagocytosis, microbicide, immunoaging, flow cytometry, age dynamics, residents of Abkhazia

Введение

Иммунная система имеет своеобразную возрастную динамику. Существуют обширные исследования последствий старения для адаптивного иммунитета, но влияние старения на факторы врожденного иммунитета остаются изученными в меньшей степени. Нейтрофильные гранулоциты (НГ) как крупнейшая популяция лейкоцитов в крови создают не только первую линию защиты от патогенных микроорганизмов, что давно было известно, но, по данным современных фундаментальных исследований, являются ключевыми эффекторными и регуляторными клетками как врожденного, так и адаптивного иммунитета, и играют решающую роль в иммунопатогенезе широкого спектра заболеваний. НГ обладают мощным рецепторным репертуаром, обеспечивающим связь между собой и клетками иммунной системы, а также связь с клетками эндотелия, эпителия и других тканей. Отсутствие адекватного реагирования, гиперактивация или блокада функций НГ приводит к развитию вялотекущих инфекционно-воспалительных заболеваний, не отвечающих на традиционную терапию, аутоиммунных и хронических заболеваний иммунозависимых процессов. Исследования invitro показывают, что функции НГ, такие как фагоцитоз, продукция активных форм кислорода (АФК), внутриклеточное уничтожение, образование нейтрофильных внеклеточных ловушек (NET) и хемотаксис, изменяются у возрастных людей, тогда как количество циркулирующих нейтрофилов не изменяется по сравнению с молодыми людьми. Однако данные различных исследований относительно функций НГ по-прежнему противоречивы, во многом из-за применения различных лабораторных методов и неоднородной когорты обследуемых пациентов [1, 2, 3, 4, 10, 11, 13]

Разработан широкий набор тестов для оценки иммунологических показателей человека [6]. Мощные потенциальные возможности проточной цитометрии привели к разработке способов регистрации функционального состояния различных клеток, оценке процессов их активации и изучению механизмов формирования дефектов их функционирования. Наиболее часто используемые приложения метода проточной цитометрии для данного рода исследований основаны на измерении различных функциональных характеристик клеток, к которым относятся фагоцитарная и бактерицидная активности нейтрофилов [7].

Целью явилось сравнительно-возрастное исследование фагоцитарной активности НГ пери-

ферической крови у жителей Абхазии методом проточной цитометрии.

Задачи исследования:

1. Отбор среди обследуемых наиболее здоровых и распределение по возрастным группам.
2. Проведение межгруппового сравнительного анализа полученных данных.

Материалы и методы

В рамках научно-исследовательской работы ГНУ «ИЭПиТ АНА» по обследованию коренных жителей Абхазии разных возрастов, проведенной при поддержке Академии наук Абхазии и Министерства здравоохранения Республики Абхазия, среди обследованных было отобрано 103 наиболее здоровых пациента, разделенных по классификации ВОЗ на четыре возрастные группы: группа 1 – молодого возраста (18–44 лет, n = 37), группа 2 – среднего возраста (45–59 лет, n = 13), группа 3 – пожилого (60–74 года, n = 27) и группа 4 – старческого возраста (75–89 лет, n = 26).

Для оценки статуса здоровья обследуемых, параллельно с клиническим осмотром, проводили гематологические, гемостазиологические, биохимические исследования, определяли концентрацию про- и противовоспалительных цитокинов, при необходимости применяли инструментальную диагностику. Обследование проводилось после информированного добровольного согласия пациентов. Взятие биологического материала осуществляли вакуумными системами утром строго натощак. Практически ко всем пациентам старческого, а иногда и пожилого возраста, исследовательская группа ИЭПиТ АНА выезжала на дом. Критериями исключения из исследования были значимые отклонения от нормы исследованных лабораторных показателей крови, обострения хронических заболеваний и наличие острых инфекционных заболеваний на момент обследования.

Фагоцитарную активность нейтрофильных гранулоцитов определяли методом проточной цитометрии с использованием цитометра EPICSXL (Beckman Coulter, США) с применением набора FagoFlowEx® Kit (Чехия), предназначенного для оценки поглотительной (процента активно фагоцитирующих НГ – %ФАН) и переваривающей (индекс стимуляции НГ – ИС) способности НГ после стимуляции *E. coli* в образцах гепаринизированной цельной крови. После поглощения бактерии в фагоците активируется NADPH оксидаза, которая опосредует продукцию активных форм кислорода (респираторный взрыв). Продукты кислорода внутри фагоцита

окисляют дигидрорадамин 123 (DHR123) и превращают его в флуоресцентный родамин 123, который детектируется на проточном цитофлуориметре. В качестве положительного контроля используется образец стимулированный ФМА (форбол-12-миристан-13-ацетат), который инициирует кислородный взрыв без адгезии и поглощения патогена. Исследуется только гепаринизированная кровь. Флуоресценция родамина 123, возникающая при окислении DHR123, детектируется на канале для FITC. Родамин 123 быстро эвакуируется из гранулоцитов, поэтому необходимо анализировать образцы как можно скорее (в течение 1 часа после лизиса).

Анализ данных

При гейтировании количество событий должно быть в пределах 5000–10 000. Анализируются образцы на графике SSC против FSC. Гранулоциты, поглотившие бактерии, изменяют свое положение на графике SSC против FSC. В связи с этим рекомендуется корректировать положение гейта. Затем анализируются все события из региона гранулоцитов на гистограмме по интенсивности флуоресценции на канале FL1. Устанавливаются соответствующие регионы для вычисления процентного соотношения позитивных и негативных событий и средней интенсивности флуоресценции (СИФ). События с яркой флуоресценцией родамина 123 будут соответствовать активированным гранулоцитам.

Интерпретация результатов

Отношение СИФ активированных гранулоцитов стимулированных образцов и отрицательных контролей, так называемый индекс стимуляции ИС, используют для сравнения продукции активных форм кислорода в разных образцах крови. В целом, по показателю %ФАН определяется процент активно фагоцитирующих НГ, а по ИС — переваривающая кислородзависимая активность НГ.

Статистический анализ проводился с использованием программы StatTechv. 4.1.4 (разработчик — ООО «Статтех», Россия). Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD), границ 95% доверительного интервала (95% ДИ). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$). Сравнение трех и более групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, выполнялось с помощью однофакторного дисперсионного

анализа, апостериорные сравнения проводились с помощью критерия Тьюки (при условии равенства дисперсий). Сравнение трех и более групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью критерия Краскела–Уоллиса, апостериорные сравнения — с помощью критерия Данна с поправкой Холма. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При сравнении лейкоцитов не было выявлено статистически значимых между сравниваемыми четырьмя возрастными группами: молодого, среднего, пожилого и старческого возраста различий ($p = 0,795$). Для оценки функциональной активности НГ была исследована их поглотительная и переваривающая активность. В таблице 1 представлены показатели, характеризующие поглотительную (%ФАН) и переваривающую кислородзависимую активность (ИС) нейтрофильных гранулоцитов.

Абсолютное содержание НГ в периферической крови обследуемых групп значимо не отличалось (95% ДИ был в пределах 3,05–4,27), при этом процентное отношение НГ (табл. 1) имело достоверную разницу между группами пожилого и старческого возраста ($p = 0,019$). При оценке %ФАН в зависимости от возраста (рис. 1) были установлены статистически значимые различия между группами молодого и старческого возраста ($p = 0,038$).

Исходя из полученных данных (табл. 1, рис. 2) при сравнении ИС в зависимости от возраста, были установлены статистически значимые различия также между группами молодого и старческого возраста ($p = 0,014$). Достоверных отличий между другими возрастными группами не было выявлено ни по %ФАН, ни по ИС. Таким образом, среди обследуемых возрастных групп нами было выявлено статистически значимое ослабление как поглотительной так и переваривающей фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов в старческой группе.

Известно, что иммунный ответ меняется с возрастом. Наиболее уязвимой возрастной группой в ряде исследований определены люди старческого возраста, которые демонстрируют предрасположенность к воспалениям и инфекциям в сочетании с увеличением заболеваемости и смертности, чаще чем у более молодых людей [10, 11, 13]. Полученные авторами данные с применением метода проточной цитометрии свидетельствуют о том, что повышение внутриклеточной концен-

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ ПОГЛОТИТЕЛЬНОЙ И КИСЛОРОДЗАВИСИМОЙ ПЕРЕВАРИВАЮЩЕЙ ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ НГ У ЖИТЕЛЕЙ АБХАЗИИ РАЗНЫХ ВОЗРАСТОВ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. INDICATORS OF ABSORPTION AND OXYGEN-DEPENDENT DIGESTIVE PHAGOCYTTIC ACTIVITY OF NG IN RESIDENT OF ABKHAZIA OF DIFFERENT AGES Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели Indicators	Группа 1 (18-44 года) Group 1 (18-44 years old) n = 37	Группа 2 (45-59 лет) Group 2 (45-59 years old) n = 13	Группа 3 (60-74 года) Group 3 (60-74 years old) n = 26	Группа 4 (75-89 лет) Group 4 (75-89 years old) n = 27	p
Нейтрофильные гранулоциты (НГ), % Neutrophil granulocytes (NG), %	61 54-65	63 57-65	63 60,5-67,0	56,5 52-63	p ₃₋₄ = 0,013
Процент активно фагоцитирующих НГ (%ФАН) Percentage of actively phagocytic NG	85 80-91	80 75-88	84 72,5-88,5	79 72-83	p ₁₋₄ = 0,030
Индекс стимуляции НГ (ИС) NG Stimulation Index (IS)	44 41-46	43 38-45	42 37-45	40 37,25-41,75	p ₁₋₄ = 0,009

Примечание. Группа 1 – молодой возраст; группа 2 – средний возраст; группа 3 – пожилой возраст; группа 4 – старческий возраст.

Note. Group 1, young age; group 2, middle age; group 3, elderly; group 4, old age.

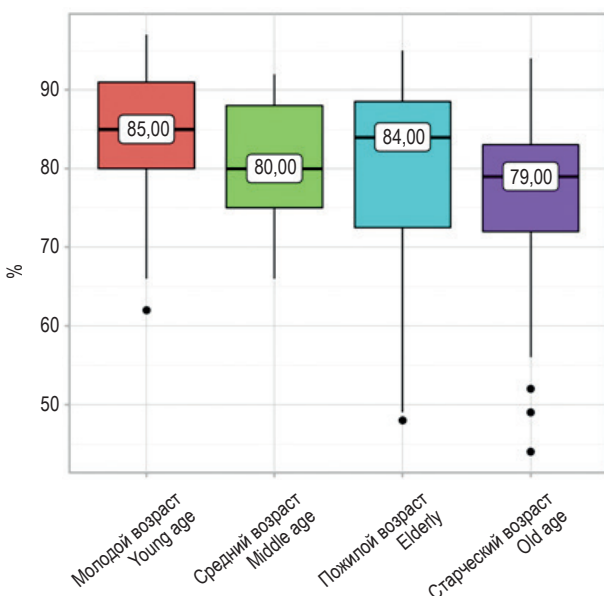


Рисунок 1. Возрастная динамика процента активно фагоцитирующих НГ (%ФАН)

Figure 1. Age dynamics of percentage of actively phagocytic NG

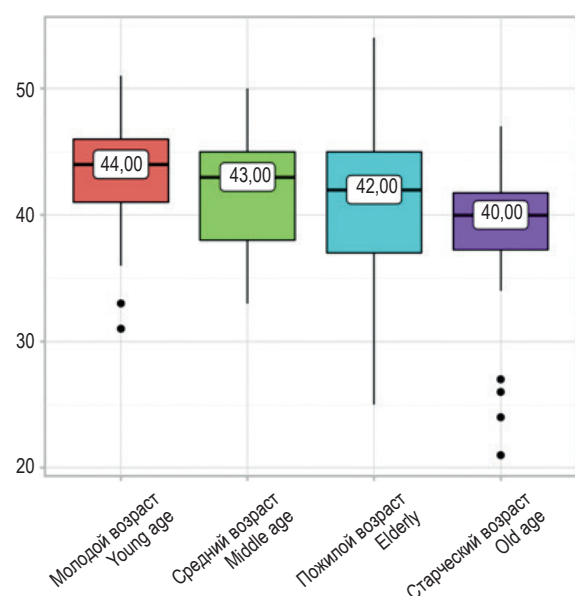


Рисунок 2. Возрастная динамика индекса стимуляции (ИС) НГ

Figure 2. Age dynamics of NG Stimulation Index (IS)

трации кальция в покоящихся нейтрофилах и/или снижение поглощения гексозы приводит к снижению фагоцитарной способности и снижению бактерицидной активности нейтрофилов у людей старческого возраста, как и в нашем исследовании [12]. Существует консенсус относительно неизменного количества нейтрофилов в кровообращении с возрастом. Кроме этого, данные об изменениях тканевой инфильтрации, фагоцитоза и взрывной способности нейтрофилов у пожилых доноров противоречивы. Возрастное снижение активности нейтрофилов и, как следствие, повышение восприимчивости к инфекциям у пожилых доноров было выявлено в более ранней работе [8]. При сравнении фагоцитарной активности пациентов пожилого и старческого возраста Севера, было обнаружено возрастное снижение не только удельного веса активно фагоцитирующих гранулоцитов крови, но и уровня компенсаторного повышения интенсивности фагоцитоза этими клетками [5]. При сравнении функциональной активности НГ у пациентов молодого, среднего и возраста долгожителей функции нейтрофилов в группе среднего возраста были хуже, чем у молодых людей и долгожителей (меньший хемотаксис, фагоцитоз и более высокие уровни адгезии и супероксид-аниона). Функ-

ции нейтрофилов долгожителей были ближе к таковым у молодых людей. Возрастные различия в функциях нейтрофилов были принципиально схожими у мужчин и женщин, за исключением внутриклеточных уровней супероксид-анионов, которые были ниже у женщин, чем у мужчин. При нормальном старении общий уровень глутатиона снижается, но у долгожителей в этом исследовании уровни были аналогичны таковым у молодых людей. Долгожители показали самую высокую активность каталазы из трех групп [9]. В нашей еще не завершенной работе с группой долгожителей также предварительно получены лучшие показатели у геронтов по сравнению с группой старческого возраста. Сохранение функций и антиоксидантных систем нейтрофилов долгожителей по всей видимости играет одну из ключевых ролей в их долголетию.

Заключение

Прогрессирующее ухудшение работы факторов иммунной системы неизбежно сопровождает старение, фагоцитарная активность НГ и погложительная и переваривающая, по данным ряда авторов и полученными нами, снижается максимально именно в старческом возрасте.

Список литературы / References

1. Воробьева Н.В. Нейтрофилы – атипичные антигенпрезентирующие клетки // Вестник Московского университета Серия 16. Биология, 2013. Т. 78, № 3. С. 55-63. [Vorobeva N.V. Neutrophils are atypical antigen-presenting cells. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16. Biologiya = Bulletin of Moscow University. Series 16. Biology, 2013, Vol. 78, no. 3, pp. 55-63.* (In Russ.)]
2. Долгушин И.И., Мезенцев Е.А., Савочкина А.Ю., Кузнецова Е.К. Нейтрофил как «многофункциональное устройство» иммунной системы // Инфекция и иммунитет, 2019. Т. 9, № 1. С. 9-38. [Dolgushin I.I., Mezentseva E.A., Savochkina A.Yu., Kuznetsova E.K. Neutrophil as a multifunctional relay in immune system. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity, 2019, Vol. 9, no. 1, pp. 9-38.* (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2019-1-9-38.
3. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Евглевский А.А. Нейтрофильные гранулоциты: новый взгляд на «старых игроков» на иммунологическом поле // Иммунология, 2015. Т. 36, № 4. С. 257-265. [Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Chudilova G.F., Lomtadidze L.V., Kovaleva C.V., Evglevsky A.A. Neutrophilic granulocytes: a new look at “old players” on the immunological field. *Immunologiya = Immunologiya, 2015, Vol. 36, no. 4, pp. 257-265.* (In Russ.)]
4. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Евглевский А.А., Нгуен Т.З.Л. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. часть 2 // Инфекция и иммунитет, 2018. Т. 8, №1. С. 17-18. [Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Chudilova G.F., Lomtadidze L.V., Kovaleva C.V., Evglevsky A.A., Nguyen T.D.L. The new look at neutrophilic granulocytes: rethinking old dogmas. Part 2. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity, 2018, Vol. 8, no. 1, pp. 17-18.* (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2018-1-7-18.
5. Сергеева Е.В., Леванюк А.И. Иммунологическая реактивность людей пожилого и старческого возраста на Севере // Экология человека, 2017. № 1. С. 34-40. [Sergeeva E., Levanuk A. Immunological responsiveness of the aged in the North. *Ekologiya cheloveka = Human Ecology, 2017, no. 1, pp. 34-40.* (In Russ.)]
6. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Оценка иммунного статуса человека в норме и при патологии // Иммунология, 2011. № 4. С. 4-6. [Khaitov R.M., Pinegin B.V. Assessment of human immune effects in health and disease. *Immunologiya = Immunologiya, 2011, no. 4, pp. 4-6.* (In Russ.)]

7. Хайдуков С.В., Зурочка А.В. Возможности проточной цитофлюориметрии в диагностике инфекционных заболеваний // Инфекция и иммунитет, 2011. Т. 1, № 3. С. 221-230. [Khaidukov S. V., Zurochka A.V. Opportunities of the flow cytometry in diagnostics of infectious diseases. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2011, Vol. 1, no. 3, pp. 221-230. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2011-3-221-230
8. Antonaci S., Jirillo E., Ventura M.T., Garofalo A.R., Bonomo L. Non-specific immunity in aging: deficiency of monocyte and polymorphonuclear cell-mediated functions. *Mech. Ageing Dev.*, 1984, Vol. 24, no. 3, pp. 367-375.
9. Ionso-Fernández P., Puerto M., Maté I., Ribera J.M., de la Fuente M. Neutrophils of centenarians show function levels similar to those of young adults. *J. Am. Geriatr. Soc.*, 2008, Vol. 56, no. 12, pp. 2244-2251.
10. Uciechowski P., Rink L. Neutrophil, basophil, and eosinophil granulocyte functions in the elderly. In: Fulop T., Franceschi C., Hirokawa K., Pawelec G. (eds), *Handbook of Immunosenescence*, Springer, Cham, 2019, pp. 863-889.
11. Uciechowski P., Rink L. Neutrophil, basophil, and eosinophil granulocyte functions in the elderly. *J. Immunol. Aging*, 2013, pp. 47-63.
12. Wenisch Ch., Patruta S., Daxböck F., Krause R., Hörl W., Effect of age on human neutrophil function. *J. Leukocyte Biol.*, 2000, Vol. 67, no. 1, pp. 40-45.
13. Wessels I., Jansen J., Rink L., Uciechowski P. Immunosenescence of polymorphonuclear neutrophils. *Sci. World J.*, 2010, Vol. 10, pp. 145-160.

Авторы:

Трапи Х.З. — младший научный сотрудник лаборатории иммунологии и вирусологии ГНУ «Институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии», г. Сухум, Абхазия

Матуа А.З. — к.б.н., доцент, заместитель директора по научной работе, зав. лабораторией иммунологии и вирусологии ГНУ «Институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии», г. Сухум, Абхазия

Authors:

Trapsh Kh.Z., Junior Research Associate, Laboratory of Immunology and Virology, Institute of Experimental Pathology and Therapy, Academy of Sciences of Abkhazia, Sukhum, Abkhazia

Matua A.Z., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Deputy Director for Scientific Work, Head, Laboratory of Immunology and Virology, Institute of Experimental Pathology and Therapy, Academy of Sciences of Abkhazia, Sukhum, Abkhazia

Амаба С.Т. — младший научный сотрудник лаборатории иммунологии и вирусологии ГНУ «Институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии», г. Сухум, Абхазия

Горухчиева Ф.А. — младший научный сотрудник лаборатории иммунологии и вирусологии ГНУ «Институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии», г. Сухум, Абхазия

Смыр С.Д. — младший научный сотрудник лаборатории иммунологии и вирусологии ГНУ «Институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии», г. Сухум, Абхазия

Конджария И.Г. — к.б.н., доцент, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии и вирусологии ГНУ «Институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии», г. Сухум, Абхазия

Миквабия З.Я. — д.м.н., профессор, академик Академии наук Абхазии, директор ГНУ «Институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии», г. Сухум, Абхазия

Amaba S.T., Junior Research Associate, Laboratory of Immunology and Virology, Institute of Experimental Pathology and Therapy, Academy of Sciences of Abkhazia, Sukhum, Abkhazia

Gorukhchieva F.A., Junior Research Associate, Laboratory of Immunology and Virology, Institute of Experimental Pathology and Therapy, Academy of Sciences of Abkhazia, Sukhum, Abkhazia

Smyr S.D., Junior Research Associate, Laboratory of Immunology and Virology, Institute of Experimental Pathology and Therapy, Academy of Sciences of Abkhazia, Sukhum, Abkhazia

Kondzhariya I.G., PhD (Biology), Associate Professor, Senior Research Associate, Laboratory of Immunology and Virology, Institute of Experimental Pathology and Therapy, Academy of Sciences of Abkhazia, Sukhum, Abkhazia

Mikvabiya Z.Ya., PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Academy of Sciences of Abkhazia, Director, Institute of Experimental Pathology and Therapy, Academy of Sciences of Abkhazia, Sukhum, Abkhazia

Поступила 01.04.2024

Отправлена на доработку 03.04.2024

Принята к печати 12.04.2024

Received 01.04.2024

Revision received 03.04.2024

Accepted 12.04.2024

КЛИНИЧЕСКИЕ И ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПЕРВИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТОВ В РЕСПУБЛИКЕ КАРАКАЛПАКСТАН

Каландарова А.Н.¹, Жиёмуратова Г.К.¹, Исмаилова А.А.²,
Маткаримова А.А.³

¹ Нукусский филиал института иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан,
г. Нукус, Республика Узбекистан

² Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент,
Республика Узбекистан

³ Многопрофильный детский центр Республики Каракалпакстан, г. Нукус, Республика Узбекистан

Резюме. Изучение распространенности ПИД является важным аспектом эпидемиологических исследований, поскольку оно позволяет оценить частоту возникновения этих заболеваний на различных территориях. Распределение ПИД может различаться в зависимости от этнической принадлежности и географического положения. Информация о распространенности ПИД на региональном, национальном и международном уровнях позволяет более точно определить масштаб проблемы и разработать эффективные стратегии профилактики и лечения.

Изучение эпидемиологической и клинической картины врожденных иммунных нарушений (ПИД) в Республике Каракалпакстан имеет большое значение для понимания распространенности, возрастной и гендерной структуры, а также спектра нозологических форм этих редких заболеваний.

Целью настоящего исследования явилось изучение эпидемиологических и клинических особенностей врожденных иммунных нарушений первичных иммунодефицитов в Республике Каракалпакстан. Материалом исследования служили данные о больных, находящихся на стационарном лечении в многопрофильной детской больнице РК, и состоящие на диспансерном учете у аллерголога-иммунолога в консультативной поликлинике при районных медицинских центрах РК.

Задержка постановки диагноза с момента клинической манифестации ПИД составила в регионе в среднем 2,7 лет. Было установлено, что количество случаев летального исхода составило 2,8%. Скрининговые тесты верификации ПИД на этапе диагностического поиска включали клинический и биохимический анализы крови, определение сывороточных иммуноглобулинов. На момент выставления диагноза у больных обнаруживалось выраженное снижение уровней иммуноглобулинов IgG и IgA.

Адрес для переписки:

Жиёмуратова Гулпаршын Кошкинбаевна
Нукусский филиал института иммунологии и геномики
человека Академии наук Республики Узбекистан
100060, Республика Узбекистан, Ташкент,
ул. Я. Гулямова, 74.
Тел.: +99 (861) 229-45-47, +99 (891) 301-72-44.
E-mail: gulparshin_76@mail.ru

Address for correspondence:

Gulparshin K. Jiemuratova
Nukus Branch of the Institute of Immunology and Human
Genomics of the Academy of Sciences of the Republic
of Uzbekistan
74 Ya. Gulyamov St
Tashkent
100060 Republic of Uzbekistan
Phone: +99 (861) 229-45-47, +99 (891) 301-72-44.
E-mail: gulparshin_76@mail.ru

Образец цитирования:

А.Н. Каландарова, Г.К. Жиёмуратова, А.А. Исмаилова,
А.А. Маткаримова «Клинические и эпидемиологические
аспекты первичных иммунодефицитов в Республике
Каракалпакстан» // Российский иммунологический
журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 567-572.
doi: 10.46235/1028-7221-16883-CAE

© Каландарова А.Н. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.N. Kalandarova, G.K. Zhiemuratova, A.A. Ismailova,
A.A. Matkarimova "Clinical and epidemiological
aspects of primary immunodeficiencies in the Republic
of Karakalpakstan", Russian Journal of Immunology/
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3,
pp. 567-572.
doi: 10.46235/1028-7221-16883-CAE

© Kalandarova A.N. et al., 2024

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16883-CAE

Помимо нарушения в гуморальном звене адаптивного иммунитета у детей с данным заболеванием выявлялось уменьшение абсолютного числа Т-лимфоцитов.

Полученные данные из исследования указывают на недостаточную диагностику первичных иммунодефицитов в РК, что может послужить основой для разработки образовательных программ, способствующих повышению осведомленности о первичных иммунодефицитах. Дальнейшие исследования и систематизация информации о пациентах с первичными иммунодефицитами необходимы для разработки региональных программ по внедрению скрининговой диагностики.

Ключевые слова: первичные иммунодефициты, дети, распространенность, эпидемиологическая характеристика, иммунологические показатели, регион Приаралья

CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL ASPECTS OF PRIMARY IMMUNODEFICIENCIES IN THE REPUBLIC OF KARAKALPAKSTAN

Kalandarova A.N.^a, Zhiemuratova G.K.^a, Ismailova A.A.^b,
Matkarimova A.A.^c.

^a Nukus Branch of the Institute of Immunology and Human Genomics of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Nukus, Republic of Uzbekistan

^b Institute of Immunology and Human Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

^c Multidisciplinary Pediatric Center, Republic of Karakalpakstan, Nukus, Republic of Uzbekistan

Abstract. Studying the prevalence of primary immunodeficiency disorders (PID) is an important aspect of epidemiological research, as it allows for assessing the frequency of these diseases occurring in different regions. The distribution of PID may vary depending on ethnic background and geographical location. Information on the prevalence of PID at regional, national, and international levels enables a more accurate determination of the scale of the problem and the development of effective prevention and treatment strategies. Studying the epidemiological and clinical profile of congenital immune disorders (PID) in the Republic of Karakalpakstan is crucial for understanding the prevalence, age and gender structure, as well as the spectrum of nosological forms of these rare diseases. The aim of this study was to investigate the epidemiological and clinical characteristics of congenital immune disorders, primary immunodeficiencies in the Republic of Karakalpakstan. The study material consisted of data on patients receiving inpatient treatment at a multidisciplinary children's hospital in the Republic of Karakalpakstan and those under the care of an allergist-immunologist in the outpatient clinic at district medical centers in the Republic of Karakalpakstan. The average delay in diagnosis from the onset of clinical manifestation of PID in the region was 2.7 years. It was found that the mortality rate was 2.8%. Screening tests for verifying PID in the diagnostic search stage included clinical and biochemical blood analyses, and determination of serum immunoglobulins. At the time of diagnosis, patients exhibited a significant decrease in IgG and IgA immunoglobulin levels. In addition to the disorder in the humoral branch of adaptive immunity, children with this disease showed a decrease in the absolute number of T lymphocytes. The data obtained from the study indicate insufficient diagnosis of primary immunodeficiencies in the Republic of Karakalpakstan, which may serve as a basis for the development of educational programs aimed at increasing awareness of primary immunodeficiencies. Further research and systematization of information on patients with primary immunodeficiencies are necessary for the development of regional programs for the implementation of screening diagnostics.

Keywords: primary immunodeficiencies, children, prevalence, epidemiological characteristics, immunological indicators, Aral Sea region

Введение

Распространенность первичных иммунодефицитов (ПИД) представляет собой один из важнейших эпидемиологических показателей, поскольку он позволяет прогнозировать частоту их возникновения и разрабатывать оптимальную стратегию общественного здравоохранения для лечения и профилактики на региональном, национальном и международном уровнях [7, 9].

На основе данных из различных регистров на разных континентах можно предположить, что распространенность первичных иммунодефицитов (ПИД) колеблется от 1,5 до 18,8 случаев на 100 000 человек. Этот диапазон в значительной степени зависит от уровня развития медицины и социально-экономических возможностей каждого государства. Учитывая этнические и географические особенности, следует отметить, что частота и структура ПИД могут значительно различаться. Поэтому региональные эпидемиологические данные представляют большой интерес [4, 8].

Изучение зарубежной и отечественной литературы, посвященной проблеме экологической обстановки в Приаралье, включая Республику Каракалпакстан, подтверждает наличие чрезвычайно неблагоприятных эколого-гигиенических условий, вызванных долгосрочным воздействием комплекса природных и антропогенных факторов. Эти факторы негативно воздействуют на все элементы окружающей среды и здоровье жителей данного региона [1, 2].

Данное исследование является первой работой, посвященной изучению эпидемиологии ПИД в Республике Каракалпакстан (РК). Проблема задержки в выявлении и лечении ПИД остается актуальной не только для развивающихся, но и для развитых стран по всему миру.

Цель исследования – изучение эпидемиологических и клинических особенностей врожденных иммунных нарушений первичных иммунодефицитов в Республике Каракалпакстан.

Материалы и методы

Исследование выполнено с применением клинических, инструментальных, биохимических, иммуноферментных и статистических методов. Объект исследования: пациенты с врожденными иммунными нарушениями, находящиеся на стационарном лечении в многопрофильной детской больнице РК, и состоящие на диспансерном учете у аллерголога-иммунолога в консультативной

поликлинике при районных медицинских центрах РК.

Материал исследования

Исследование проводилось на базе Нукусского филиала Института иммунологии и геномики человека АН РУз в рамках темы НИР «Изучение распространенности врожденных нарушений иммунитета в Республике Узбекистан: наиболее распространенные варианты, характеристика клинических и иммунологических случаев».

На первом этапе исследования была проведена эпидемиологическая оценка первичных иммунодефицитов среди детей, проживающих в РК. Сбор информации на территории РК осуществлялся среди детей, у которых был поставлен диагноз ПИД, включая формы, не подтвержденные генетически на момент регистрации пациента. Регистрация пациентов с врожденными нарушениями иммунитета проводилась на базе Нукусского филиала Института иммунологии и геномики человека АН РУз.

Скрининговые тесты для подтверждения ПИД на этапе диагностики включали клинические и биохимические анализы крови, а также определение сывороточных иммуноглобулинов. Для создания регистра использовались выписки из медицинских историй пациентов многопрофильной детской больницы РК, а также данные из карт диспансерного наблюдения и медицинских карточек детей. Проводилось исследование полового состава пациентов, возраста появления первых признаков заболевания, а также времени, затраченного на установление диагноза.

Время задержки в установлении диагноза определяли как интервал между датой проявления заболевания и датой подтверждения диагноза. Анализируя медицинскую документацию и результаты диспансерного наблюдения, учитывали наличие инфекционных осложнений и сопутствующих заболеваний у пациентов, а также объем применяемой терапии.

Определение сывороточных IgA, IgG, IgM, определение концентрации цитокинов: IL-10, IL-6 проводились методом ИФА. Использованы реактивы ООО «Цитокин» Санкт-Петербургского Научно-исследовательского института особо чистых биопрепаратов.

Статистическая обработка полученных результатов проведена на персональном компьютере IBM – АТ с помощью программы Excel пакета MS Office и программы STATISTICA 6 и при помощи программы R и Statgraphics Plus 5.0. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Данные показывают, что в группе пациентов с первичными иммунодефицитами РК выявлено более 10 различных форм заболеваний. Впервые определено, что среднее время до установления диагноза ПИД у пациентов составляет 2,7 лет. Также впервые изучен характер сопутствующей патологии у пациентов, где преобладают инфекции (73,9%). Признаки нарушения иммунной системы выявлены у 24,1% пациентов, рецидивирующие «холодные» отеки — у 6%, а онкологические заболевания — у 2,5%.

Впервые была проведена оценка объема терапии, направленной на восстановление иммунитета, заместительной и профилактической антимикробной терапии у пациентов, зарегистрированных в РК. Было установлено, что количество случаев летального исхода составило 2,8%. Изучение эпидемиологической ситуации по врожденным нарушениям иммунитета является важным для понимания распространенности этих редких заболеваний в РК, их возрастных и гендерных особенностей, структуры заболеваний, связанных с первичными иммунодефицитами, а также для возможности молекулярно-генетического подтверждения диагноза.

На долю детей первого года жизни приходится 7 (8,75%) детей, от года до 5 лет — 71 (88,7%), от 5 до 10 лет — 3 (3,7%). Количество семей, в которых наблюдается более одного пациента с ПИД, составило 2 случая. Близкородственный брак (мать и отец — двоюродные сестра и брат) удалось уточнить в двух случаях. Повторные респираторно-вирусные инфекции отмечались у 39,8% детей, преобладали у пациентов с селективным дефицитом IgA. Наиболее частыми из неспецифических клинических синдромов были гепатоспленомегалия (26,5%) и неуточненная лихорадка (15,2%), которая наблюдалась практически у всех больных с аутовоспалительными заболеваниями и ПИД с иммунной дисрегуляцией до установления диагноза. Эндокринопатии отмечены в 7,7% случаев. Неинфекционные дерматиты развивались у 22 (27,5%) детей. Цитопении были одними из самых частых проявлений и регистрировались у 21 (26,2%) ребенка. Железодефицитные анемии верифицированы у 87,3% детей. Непрерывная профилактическая противомикробная терапия проводится у 15,7% пациентов.

Концентрация иммуноглобулина IgM в крови детей оказалась значительно повышенной ($p < 0,01$). Наблюдаемое нами явление повышенного синтеза IgM у пациентов с первичным иммунодефицитом может свидетельствовать о

нарушении регуляторной функции Т-хелперов. Проведенное иммунологическое исследование показало, что у большинства детей с первичным иммунодефицитом нарушения в Т-клеточном иммунном ответе проявляются снижением способности активации Т-лимфоцитов при их нормальном уровне.

По меньшей мере, у 48,5% больных наблюдается активация иммунного ответа со стороны В-клеток, что приводит к увеличению количества В-лимфоцитов, выражающих HLA-DR⁺, сывороточных иммуноглобулинов типа А и М. Также были изучены уровни противовоспалительных цитокинов (IL-10) в крови. Уровень IL-10 повышен по сравнению с данными контрольной группы.

Изменение уровней IL-6 и IL-10 свидетельствует о недостаточной активности клеточного звена, нарушении функционального профиля фагоцитов и неэффективной работе гуморального компонента иммунной системы у больных с ПИД, что в свою очередь может инициировать дальнейшее прогрессирование заболевания.

Таким образом, главной проблемой ПИД является недостаточная диагностика, что приводит к неправильному и запоздалому лечению. Симптомы ПИД обычно неспецифичны: на первый план выходят признаки обычных инфекций дыхательной системы, органов слуха и горла, кожи и других, отличительной чертой которых является тяжелое течение и недостаточный ответ на стандартные методы лечения [6, 10].

Иногда в дебюте заболевания главенствующую роль могут играть симптомы, связанные с желудочно-кишечным трактом, а также аутоиммунные проявления и злокачественные опухоли, которые часто сопровождают ПИД. Учитывая вышеперечисленное, становится ясно, что пациенты с подобными симптомами могут обратиться за помощью к медикам любой специализации, поэтому знание об этом заболевании необходимо всем специалистам.

Заключение

Полученные в исследовании данные свидетельствуют о гиподиагностике первичных ИДС в РК и существенной отсрочке в постановке диагноза, достигающей 2,7 года, что является теоретической базой для создания образовательных программ, способствующих формированию настороженности в отношении первичных иммунодефицитов с целью их ранней диагностики и маршрутизации пациентов в отделения иммунологического профиля. Представленные в работе данные свидетельствуют о недостаточном объеме

заместительной терапии внутривенными иммуноглобулинами у пациентов и могут использоваться для планирования лечебных мероприятий в отношении этой категории больных. Раннее выявление первичных иммунодефицитов с помощью современных скрининговых методов, их регистрация, идентификация нозологических форм, знание эпидемиологических особенностей в регионе представляются чрезвычайно актуальными для своевременной терапии и улучшения качества жизни этих больных. Терапия врож-

денных иммунных нарушений требует от практикующего врача глубоких знаний, а от государственной системы здравоохранения — больших материальных затрат. Дальнейшие исследования и систематизация данных о пациентах с первичными иммунодефицитами являются необходимыми для формирования региональных программ по внедрению скрининговой диагностики этих тяжелых заболеваний и их ранней терапии с целью увеличения выживаемости и улучшения качества жизни этих больных.

Список литературы / References

1. Атаханова Д.О., Мадреймов А.М. Модель санитарно-эпидемиологического и экологического мониторинга в Республике Каракалпакстан. Методические рекомендации. Нукус, 2017. 10 с. [Atakhanova D.O., Madreyimov A.M. Model of sanitary-epidemiological and environmental monitoring in the Republic of Karakalpakstan. Methodical Recommendations]. Nukus, 2017. 10 p
2. Газалиева М.А., Ахметова Н.Ш., Жумабекова Б.К., Казимирова О.В., Абдикаликова Д.Р., Абдил А., Ташенов М. Состояние иммунологического здоровья населения экологически неблагоприятных регионов Казахстана // Научное обозрение, медицинские науки, 2016. № 5. С. 32-39. [Gazaliyeva M.A., Akhmetova N.Sh., Zhumabekova B.K., Kazimirova O.V., Abdikalikova D.R., Abdil A., Tashenov M. Status of population health ecologically disadvantaged regions of Kazakhstan. *Nauchnoe obozrenie, meditsinskie nauki = Journal of Medical Sciences*, 2016, no. 5, pp. 32-39. (In Russ.)]
3. Кондратенко И.В., Болгов А.А. Первичные иммунодефициты. М.: МЕДПРАКТИКА-М, 2005. 232 с. [Kondratenko, I.V., Bolgov, A.A. Primary Immunodeficiencies]. Moscow: MEDPRAKTIKA-M, 2005. 232 p.
4. Мухина А.А., Кузьменко Н.Б., Родина Ю.А., Кондратенко И.В., Бологов А.А. Характеристика пациентов с первичными иммунодефицитными состояниями в Российской Федерации: от рождения до старости. // Педиатрия им. Г.Н. Сперанского, 2019. Т. 98, № 3. С. 24-31. [Mukhina A.A., Kuzmenko N.B., Rodina Yu.A., Kondratenko I.V., Bologov A.A. Characteristics of patients with primary immunodeficiency states in the Russian Federation: from birth to old age. *Pediatriya im. G.N. Speranskogo = Pediatrics n. a. G.N. Speransky*, 2019, Vol. 98, no. 3, pp. 24-31. (In Russ.)]
5. Сизякина Л.П., Андреева И.И. Создание регистра пациентов как эффективный инструмент диагностики первичных иммунодефицитов // Педиатрическая фармакология, 2013. Т. 10, № 5. С. 94-96. [Sizyakina, L.P., Andreeva, I.I. Creation of Patient Registry as an Effective Tool for Diagnosing Primary Immunodeficiencies. *Pediatricheskaya farmakologiya = Pediatric Pharmacology*, 2013, Vol. 10, no. 5, pp. 94-96. (In Russ.)]
6. 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 debut of primary immunodeficiencies in adults. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2014, Vol. 16, no. 4, pp. 367-374. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2014-4-367-374.
7. Хайтов Р.М., Пинегин Б.В., Ярилин А.А. Руководство по клинической иммунологии. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2009. 350 с. [Khaitov R.M., Pinegin B.V., Yarilin A.A. Handbook of Clinical Immunology. Moscow: GEOTAR-Media, 2009. 350 p.
8. Conley M.E., Notarangelo L.D., Etzioni A. Diagnostic criteria for primary immunodeficiencies. Representing PAGID (Pan-American Group for Immunodeficiency) and ESID (European Society for Immunodeficiencies). *Clin. Immunol.*, 1999, Vol. 93, no. 3, pp. 190-197.

9. Kindle G., Gathmann B., Grimbacher B. The use of databases in primary immunodeficiencies. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*, 2014, Vol. 14, pp. 501-508.
10. Seidel M.G., Kindle G., Gathmann B., Quinti I., Buckland M., van Montfrans J., Scheible R., Rusch S., Gasteiger L.M., Grimbacher B., Mahlaoui N., Ehl S.; ESID Registry Working Party and collaborators. The European Society for Immunodeficiencies (ESID) registry working definitions for the clinical diagnosis of inborn errors of immunity. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.*, 2019, Vol. 7, no. 6, pp. 1763-1770.

Авторы:

Каландарова А.Н. — д.м.н., заведующая лабораторией, Нукусский филиал института иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Нукус, Республика Узбекистан

Жиемуратова Г.К. — к.м.н., старший научный сотрудник, Нукусский филиал института иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Нукус, Республика Узбекистан

Исмаилова А.А. — д.м.н., профессор заведующая лабораторией фундаментальной иммунологии, Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

Маткаримова А.А. — к.м.н., доцент, главный врач, Многопрофильный детский центр Республики Каракалпакстан, г. Нукус, Республика Узбекистан

Authors:

Kalandarova A.N., PhD, MD, Head of the Laboratory, Nukus Branch of the Institute of Immunology and Human Genomics of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Nukus, Republic of Uzbekistan

Jiemuratova G.K., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Nukus Branch of the Institute of Immunology and Human Genomics of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Nukus, Republic of Uzbekistan

Ismailova A.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Fundamental Immunology, Institute of Immunology and Human Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

Matkarimova A.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Chief Physician, Multidisciplinary Pediatric Center, Republic of Karakalpakstan, Nukus, Republic of Uzbekistan

Поступила 02.04.2024

Отправлена на доработку 05.04.2024

Принята к печати 15.04.2024

Received 02.04.2024

Revision received 05.04.2024

Accepted 15.04.2024

ИММУННЫЙ СТАТУС СТУДЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ФИЗИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

Зайцева И.П.¹, Зайцев О.Н.², Романов В.А.³, Семечкин Н.В.³

¹ ФГБОУ ВО «Ярославский государственный университет имени П.Г. Демидова», г. Ярославль, Россия

² ФГБОУ ВО «Ярославский государственный технологический университет», г. Ярославль, Россия

³ ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ярославль, Россия

Резюме. Характер изменений иммунной системы при выполнении физической работы является сложным процессом, вовлекающим множество различных механизмов. Исследования в этом направлении представляют актуальную проблему. Цель исследования – изучение показателей клеточного и гуморального иммунитета у студентов с различными уровнями физической активности. Обследовано 77 студентов мужского пола, составивших 3 группы: 1) с низким уровнем физической активности (n = 32) – студенты, не привлеченные к спортивной деятельности на постоянной основе; 2) студенты со средним уровнем физической активности (n = 22) – самбисты-новички без спортивных разрядов; 3) студенты с высоким уровнем физической активности (n = 23) – самбисты высокой квалификации – перворазрядники, кандидаты в мастера и мастера спорта. У студентов всех групп исследовали количественное содержание в крови различных фенотипов лимфоцитов методом проточной цитометрии; уровни сывороточных иммуноглобулинов методом лазерной нефелометрии; фагоцитарные показатели традиционными методами; кислородзависимый метаболизм нейтрофилов методом хемилюминесценции. У студентов с высоким уровнем физической активности было достоверно увеличено содержание в крови Т- и В-лимфоцитов по сравнению с аналогичными показателями группы с низким уровнем физической активности и группы студентов, не занимающихся спортом. Концентрация иммуноглобулина класса G в сыворотке крови студентов с высоким уровнем физической активности достоверно превышала соответствующие значения у студентов со средним уровнем и студентов, не занимающихся спортом. Наибольшая концентрация иммуноглобулина класса M отмечалась у студентов с высоким уровнем физической активности. Фагоцитарная активность и фагоцитарное число у лиц с высоким уровнем физической активности нейтрофилов достоверно превышали таковые у студентов со средним и низкими уровнями физической активности. Показатели спонтанной и индуцированной хемилюминесценции в группах с высоким и средним уровнями физической активности были достоверно выше, чем у студентов с низким уровнем. Выполненные исследования свидетельствуют о положительном влиянии регулярных тренировочных физических нагрузок на факторы гуморального и клеточного звеньев иммунитета у студентов в условиях действия образовательной среды высшего учебного заведения.

Ключевые слова: иммунный статус, гуморальный и клеточный иммунитет, студенты, физическая активность

Адрес для переписки:

Зайцева Ирина Петровна
ФГБОУ ВО «Ярославский государственный
университет имени П.Г. Демидова»
150000, Россия, г. Ярославль, ул. Советская, 14.
Тел.: 8 (4852) 79-77-02, 30-32-10, 8 (902) 331-85-55.
E-mail: irischa-zip@yandex.ru

Address for correspondence:

Irina P. Zaitseva
P. Demidov Yaroslavl State University
14 Sovetskaya St
Yaroslavl
150000 Russian Federation
Phones: +7 (4852) 79-77-02, 30-32-10, +7 (902) 331-85-55.
E-mail: irischa-zip@yandex.ru

Образец цитирования:

И.П. Зайцева, О.Н. Зайцев, В.А. Романов,
Н.В. Семечкин «Иммунный статус студентов
с различным уровнем физической активности»
// Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27,
№ 3. С. 573-578.
doi: 10.46235/1028-7221-16910-ISO

doi: 10.46235/1028-7221-16910-ISO

© Зайцева И.П. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

I.P. Zaitseva, O.N. Zaitsev, V.A. Romanov, N.V. Semechkin
“Immune status of students with different levels of physical
activity”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 573-578.
doi: 10.46235/1028-7221-16910-ISO

© Zaitseva I.P. et al., 2024

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16910-ISO

IMMUNE STATUS OF STUDENTS WITH DIFFERENT LEVELS OF PHYSICAL ACTIVITY

Zaitseva I.P.^a, Zaitsev O.N.^b, Romanov V.A.^c, Semechkin N.V.^c

^a P. Demidov Yaroslavl State University, Yaroslavl, Russian Federation

^b Yaroslavl State Technological University, Yaroslavl, Russian Federation

^c Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation

Abstract. The nature of changes in the immune system during physical work is a complex process involving many different mechanisms. Research in this direction is an urgent problem. The purpose of the research was to study the indicators of cellular and humoral immunity in students with different levels of physical activity. A total of 77 male students were examined, consisting of 3 groups: 1) with a low level of physical activity (n = 32) – students who were not involved in sports activities on a regular basis; 2) students with an average level of physical activity (n = 22) – beginner sambo wrestlers without sports categories; and 3) students with a high level of physical activity (n = 23) – highly qualified sambo wrestlers – first-class athletes, candidates for masters and masters of sports. In students of all groups, the quantitative content of various phenotypes of lymphocytes in the blood was studied by flow cytometry; serum immunoglobulin levels by laser nephelometry; phagocytic parameters by traditional methods; and oxygen-dependent metabolism of neutrophils by chemiluminescence. In students with a high level of physical activity, the content of T and B lymphocytes in the blood was significantly increased compared to similar indicators of the group with a low level of physical activity and the group of students who did not participate in sports. The concentration of class G immunoglobulin in the blood serum of students with a high level of physical activity significantly exceeded the corresponding values in students with an average level and students not engaged in sports. The highest concentration of class M immunoglobulin was observed in students with high levels of physical activity. Phagocytic activity and phagocytic count in individuals with high levels of physical activity and neutrophils were significantly higher than those of students with medium and low levels of physical activity. The rates of spontaneous and induced chemiluminescence in the groups with high and medium levels of physical activity were significantly higher than in students with low levels. The studies carried out indicate the positive effect of regular training physical activity on the factors of humoral and cellular links of immunity in students in the conditions of the educational environment of a higher educational institution.

Keywords: immune status, humoral and cellular immunity, students, physical activity

Введение

Характер изменений иммунной системы при выполнении физической работы является сложным процессом, вовлекающим множество различных механизмов [1, 3, 12].

Существующие данные указывают на комплексные изменения функционирования иммунной системы при большой физической нагрузке. С учетом значимости анксиогенного стресса в процессе обучения в вузе и его вклада в стимуляцию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и, соответственно, реализацию функций иммунокомпетентных клеток, приобретает особый интерес изучение сочетанного действия таких факторов, как образовательная среда и большая физическая нагрузка на показатели иммунной системы. Любые нарушения иммунологической реактивности при некорректно спланированном тренировочном процессе в условиях обучения в вузе могут приводить не только к повышению восприимчивости к инфекционным

заболеваниям, но и к стресс-индуцированной патологии неинфекционного генеза, снижая продуктивность как умственной, так и физической работы.

Цель исследования – изучение показателей клеточного и гуморального иммунитета у студентов с различными уровнями физической активности.

Материалы и методы

Было обследовано 77 студентов мужского пола, составивших 3 группы: 1) с низким уровнем физической активности (НУФА, n = 32) – студенты, не привлеченные к спортивной деятельности на постоянной основе; 2) студенты со средним уровнем ФА (СУФА, n = 22) – самбисты-новички без спортивных разрядов; 3) студенты с высоким уровнем ФА (ВУФА, n = 23, самбисты высокой квалификации – перворазрядники, кандидаты в мастера и мастера спорта). Работа прошла этическую экспертизу (протокол исследования № 1 от

20 февраля 2018 г. одобрен Локальным этическим комитетом).

У студентов всех групп исследовали количественное содержание в крови различных фенотипов лимфоцитов (CD3⁺ общие Т-лимфоциты; CD4⁺ – Т-хелперы; CD8⁺ – Т-цитотоксические клетки/супрессоры; CD19⁺ – В-лимфоциты, подсчет иммунорегуляторного индекса (ИРИ – CD4⁺/CD8⁺) методом проточной цитометрии на цитофлюомере Cytomics FC-500 (Beckman Coulter, США) согласно рекомендациям фирмы-производителя; уровни сывороточных иммуноглобулинов (IgG, IgM, IgA) методом лазерной нефелометрии на автоматическом нефелометре BNProSpec (Siemens, Германия); фагоцитарные показатели традиционными методами (фагоцитарная активность – % фагоцитировавших клеток; фагоцитарное число – среднее количество *S. aureus*, фагоцитированных одной клеткой); кислородзависимый метаболизм нейтрофилов методом спонтанной и индуцированной хемилюминесценции (сХЛ, иХЛ) с подсчетом коэффициента активации нейтрофилов (КАН – иХЛ/сХЛ), отражающего резервные функции нейтрофила [2].

Результаты и обсуждение

Результаты исследований влияния различных уровней физической активности на фенотип циркулирующих в крови лимфоцитов представлен в таблице 1.

Установлено, что у студентов в группе высокой спортивной квалификации с высоким уровнем

физической активности было достоверно увеличено содержание в крови Т- и В-лимфоцитов по сравнению с аналогичными показателями группы с низким уровнем физической активности студентов, не занимающихся спортом. Количество Т-хелперов (CD4) и Т-цитотоксических клеток/супрессоров (CD8) в обследуемых группах достоверно не отличалось. В то же время имело место некоторое увеличение этих субпопуляций Т-лимфоцитов в циркулирующей периферической крови с достоверным возрастанием ИРИ по мере повышения уровня физической активности, свидетельствуя об увеличении функционального резерва нейтрофилов.

Более выраженные изменения под влиянием физической активности в условиях действия различных уровней физической активности были выявлены при исследовании уровня сывороточных иммуноглобулинов (табл. 2).

Так, концентрация иммуноглобулина класса G в сыворотке крови студентов с высоким уровнем физической активности достоверно превышала соответствующие значения у студентов со средним уровнем и студентов, не занимающихся спортом, с низким уровнем физической активности. Наибольшая концентрация иммуноглобулина класса M отмечалась у студентов с высоким уровнем физической активности в группе высокой спортивной квалификации. Достоверных отличий в уровне иммуноглобулина класса A среди студентов с высоким, средним и низким уровнями физической активности не было выявлено.

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ ОСНОВНЫХ ФЕНОТИПОВ ЛИМФОЦИТОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У СТУДЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ФИЗИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

TABLE 1. CONTENT OF THE MAIN LYMPHOCYTE PHENOTYPES IN PERIPHERAL BLOOD IN STUDENTS WITH DIFFERENT LEVELS OF PHYSICAL ACTIVITY

Кластер дифференцировки лимфоцитов Lymphocyte differentiation cluster CD	Уровень физической активности Physical activity level			KWp
	1. Высокий 1. High (n = 23)	2. Средний 2. Average (n = 22)	3. Низкий 3. Low (n = 32)	
	Количество лимфоцитов Lymphocyte count M±SD %%			
CD3 ⁺	70,0±4,7	68,0±3,0	65,0±3,0 ¹	0,001
CD4 ⁺	42,0±3,3	40,0±3,0	39,0±4,0	0,054
CD8 ⁺	32,0±3,7	33,0±4,0	33,0±4,0	0,297
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,32±3,50	1,22±3,50	1,19 ¹	0,05
CD19 ⁺	19,0±2,9	18,0±3,0	16,0±2,0 ¹	0,002

Примечание. ¹ – достоверность отличий от показателей группы 1 (p < 0,05); n – количество студентов в группе.

Note. ¹, the significance of differences from the indicators of the group 1 (p < 0.05); n, the number of students in the class.

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ СТУДЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ФИЗИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ (M±m)

TABLE 2. IMMUNOGLOBULIN CONTENT IN THE BLOOD SERUM OF STUDENTS WITH DIFFERENT LEVELS OF PHYSICAL ACTIVITY (M±m)

Классы Ig Ig classes	Уровень физической активности Physical activity level		
	1. Высокий 1. High (n = 23)	2. Средний 2. Average (n = 22)	3. Низкий 3. Low (n = 32)
	Содержание иммуноглобулинов, г/л Immunoglobulin content, g/L		
IgG, г/л IgG, g/L	16,18±2,80	12,05±1,80 ¹	10,30±1,19 ¹
IgM, г/л IgM, g/L	1,53±0,16	1,510±0,180	1,31±0,17 ^{1,2}
IgA, г/л IgA, g/L	2,80±0,25	2,62±0,35	2,50±0,32

Примечание. ¹ – достоверность отличий от показателей группы 1 (p < 0,05); ² – достоверность отличий от показателей группы 1, 2 (p < 0,05); n – количество студентов в группе.

Note. ¹, reliability of differences from the indicators of group 1 (p < 0.05); ², reliability of differences from the indicators of group 1, 2 (p < 0.05); n, the number of students in the class.

ТАБЛИЦА 3. ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ФАГОЦИТАРНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА У СТУДЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ФИЗИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

TABLE 3. INDICATORS OF FUNCTIONAL ACTIVITY OF THE PHAGOCYtic LINK OF IMMUNITY IN STUDENTS WITH DIFFERENT LEVELS OF PHYSICAL ACTIVITY

Показатель Indicator	Уровень физической активности Physical activity level			KWp
	1. Высокий 1. High (n = 23)	2. Средний 2. Average (n = 22)	3. Низкий 3. Low (n = 32)	
	Фагоцитарные показатели Phagocytic parameters			
Фагоцитарная активность, % Phagocytic activity, %	67,00±1,52	63,00±1,82 ¹	58,00±2,07 ^{1,2}	< 0,001
Фагоцитарное число Phagocyte number	8,00±0,48	7,00±0,38 ¹	4,30±0,42 ^{1,2}	< 0,001
сХл, 10 ⁴ имп/мин sHI, 10 ⁴ imp/min	2,11±0,70	1,09±0,12 ¹	0,83±0,16 ¹	< 0,001
иХл, 10 ⁴ имп/мин iHI, 10 ⁴ imp/min	4,30±1,26	2,80±0,86 ¹	2,00±0,19 ¹	< 0,001
Коэффициент активации нейтрофилов Neutrophil activation rate	2,04±0,66	2,57±0,50 ¹	2,41±0,17	

Примечание. ¹ – достоверность отличий от показателей группы 1 (p < 0,05); ² – достоверность отличий от показателей группы 2 (p < 0,05); сХл – спонтанная хемилюминесценция; иХл – индуцированная хемилюминесценция; n – количество студентов в группе.

Note. ¹, reliability of differences from the indicators of group 1 (p < 0.05); ² – reliability of differences from the indicators of group 2 (p < 0.05); sHI, spontaneous chemiluminescence; iHI, induced chemiluminescence; n, the number of students in the group.

Наиболее выраженные изменения под влиянием регулярной тренировочной физической нагрузки наблюдались в функциональной характеристике фагоцитарного звена иммунитета (табл. 3). В частности, фагоцитарная активность нейтрофилов спортсменов высоких спортивных разрядов достоверно превышала таковую у студентов со средним и низкими уровнями физической активности. Фагоцитарное число у лиц с высоким уровнем физической активности также превышало соответствующие значения студентов-спортсменов со средним уровнем и студентов с низким уровнем физической активности.

Интенсивность спонтанной и индуцированной хемилюминесценции также характеризовалась достоверной зависимостью от уровня физической нагрузки. В частности, интенсивность спонтанной хемилюминесценции в группе с высоким уровнем физической активности была достоверно выше таковой у студентов со средним уровнем. Даже средний уровень физической активности сопровождался достоверным повышением интенсивности спонтанной хемилюминесценции от уровня студентов группы с низким уровнем ФА.

Сходные данные были получены при постановке теста индуцированной ХЛ; ее интенсивность в группе с высокой физической активностью характеризовалась достоверным превышением над таковой групп со средней и низкой уровнями. Эти данные свидетельствовали о повышении степени функционального резерва нейтрофила под влиянием регулярных тренировочных физических нагрузок в условиях действия образовательной среды.

Заключение

Полученные данные о достоверном увеличении числа Т- и В-лимфоцитов у студентов с высокой физической активностью в сравнении с данными студентов с низкой физической активностью и отсутствие существенных изменений по другим фенотипам частично согласуются с результатами исследования фенотипа лимфоцитов в периферической крови спортсменов в течение 19 месяцев, продемонстрировавшие отсутствие достоверных отклонений; даже избыточная физическая нагрузка не влияла на показатели фенотипа лимфоцитов [5].

Было также показано, что обычный тренировочный процесс у спортсменов высокой квалификации не приводит к статистически значимым изменениям общего количества популяций и субпопуляций лимфоцитов. В то же время обследование мужчин после различной физической нагрузки выявило выраженное снижение количества Т-лимфоцитов и Т-хелперов у мужчин с низким уровнем тренированности; напротив, у

тренированных мужчин количество этих клеток было повышено; достоверного изменения количества Т-цитотоксических клеток не было найдено [9]. Констатировано достоверное влияние анксиогенного стресса на уровень Т-хелперов и соотношение Т-хелперы/Т-супрессоры у спортсменов с высоким уровнем тревожности; при сравнении влияния интенсивной физической нагрузки и анксиогенного стресса на спортсменов различной спортивной квалификации автором было установлено, что физическая нагрузка, в отличие от анксиогенного стресса, не сопровождалась выраженными изменениями фенотипа лимфоцитов [8].

Выявленное повышение уровня иммуноглобулинов в сыворотке крови лиц с повышенной физической активностью демонстрирует активацию гуморального звена иммунитета несмотря на отсутствие достоверных различий в количестве В-лимфоцитов. В то же время значительная часть исследований, посвященная изучению данного вопроса, свидетельствует о формировании скрытого иммунодефицита на фоне снижения гуморальных факторов иммунитета, что в итоге приводит к снижению резистентности спортсменов к инфекционным заболеваниям [6, 11].

Наряду с активацией гуморального иммунитета была отмечена стимуляция функциональной активности клеточного звена иммунитета у лиц с более высоким уровнем тренированности, что согласуется с работами, свидетельствующими о повышении фагоцитарной активности нейтрофилов и продукции ими супероксид-анион радикала в ответ на физическую нагрузку у бегунов на длинные дистанции и триатлонистов по сравнению с контрольной группой добровольцев [7]. Более того, показатели функциональной активности нейтрофилов предлагают использовать в качестве критерия эффективности адаптации как к физической нагрузке, так и к сезонным факторам среды [3].

Наблюдаемое увеличение интенсивности спонтанной и особенно индуцированной хемилюминесценции свидетельствует об активации лейкоцитов и, в частности, интенсивности «кислородного взрыва», характеризующегося активацией прооксидантных систем. Так, ранее проведенные исследования показали, что, по данным литературы, физическая тренировка стимулирует экспрессию НАДФН-оксидазы нейтрофилов [10].

В целом наблюдаемые изменения и данные литературы свидетельствуют о том, что интенсивная физическая нагрузка сопровождается некоторыми отклонениями в иммунной системе, тогда как регулярная умеренная нагрузка ее стимулирует [13].

Список литературы / References

1. Болотов А.А., Сашенков С.Л., Тишевская Н.В. Модельные характеристики спортсменов с учетом их специализации по показателям периферического отдела эритрона и иммунного статуса организма // Современные проблемы науки и образования, 2014. № 2. С. 373. [Bolotov A.A., Sashenkov S.L., Tishevskaya N.V. Model characteristics of athletes taking into account their specialization according to the indicators of the peripheral department of the erythron and the immune status of the organism. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*, 2014, no. 2, p. 373. (In Russ.)]
2. Земсков В.М., Барсуков А.А., Безносенко С.А. Изучение функционального состояния фагоцитов человека (кислородзависимый метаболизм и подвижность клеток). Экологическая иммунология. М.: ВНИРО. 1995. С. 218. [Zemskov V.M., Barsukov A.A., Beznosenko S.A. Study of the functional state of human phagocytes (oxygen-dependent metabolism and cell motility). *Environmental Immunology*. Moscow: VNIRO, 1995. p. 218.]
3. Колупаев В.А., Колупаева И.Л. Состояние фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови у спортсменов как критерий адаптации организма к физическим нагрузкам и сезонным условиям среды // Теория и практика физической культуры, 2015. № 5. С. 42-44. [Kolupaev V.A., Kolupaeva I.L. The state of phagocytic activity of neutrophils of peripheral blood in athletes as a criterion for adapting the organism to physical loads and seasonal conditions of the environment. *Teoriya i praktika fizicheskoy kultury = Theory and Practice of Physical Culture*, 2015, no. 5, pp. 42-44. (In Russ.)]
4. Сашенков С.Л., Пылаева И.Л., Колупаев В.А., Долгушин И.И. Влияние окружающей среды на клеточный и гуморальный иммунитет у спортсменов // Гигиена и санитария, 2012. № 3. С. 42-44. [Sashenkov S.L., Pylaeva I.L., Kolupaev V.A., Dolgushin I.I. Influence of the environment on cellular and humoral immunity in athletes. *Gigiena i sanitariya = Hygiene and Sanitation*, 2012, no. 3, pp. 42-44. (In Russ.)]
5. Gabriel H.H., Urhausen A., Valet G., Heidelbach U., Kindermann W. Overtraining and immune system: a prospective longitudinal study in endurance athletes. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 1998, Vol. 30, no. 7, pp. 1151-1155.
6. Gleeson M., Pyne D.B. Respiratory inflammation and infections in high performance athletes. *Immunol. Cell Biol.*, 2015, Vol. 94, no 2, pp. 124-131.
7. Hack V., Strobel G., Weiss M., Weicker H. PMN cell counts and phagocytic activity of highly trained athletes depend on training period. *J. Appl. Physiol.*, 1994, Vol. 77 no 4, pp. 1731-1735.
8. Hong S., Farag N.H., Nelesen R.A., Ziegler M.G., Mills P.J. Effects of regular exercise on lymphocyte subsets and CD62L after psychological vs. physical stress. *J. Psychosom. Res.*, 2004, Vol. 56, no 3, pp. 363-370.
9. Kendall A., Hoffman-Goetz L., Houston M., MacNeil B.Y. Exercise and blood lymphocyte subset responses: intensity, duration, and subject fitness effects. *J. Appl. Physiol.* 1985, Vol. 69 no 1, pp. 251-260.
10. Levada-Pires A.C., Lambertucci R.H., Mohamad M., Hirabara S.M., Curi R., Pithon-Curi T.C. Exercise training raises expression of the cytosolic components of NADPH oxidase in rat neutrophils. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 2007, Vol. 100, no. 2, 153. doi: 10.1007/s00421-007-0414-y.
11. MacKinnon L.T. Overtraining effects on immunity and performance in athletes. *Immunol. Cell Biol.*, 2000, Vol. 78, no. 5, pp. 502-509.
12. Pendergast D.R., Leddy J.J., Venkatraman J.T. A perspective on fat intake in athletes. *J. Am. Coll. Nutr.*, 2000, Vol. 19, no. 3, pp. 345-350.
13. Simpson R.J., Kunz H., Agha N., Graff R. Exercise and the regulation of immune functions. In *Progress in molecular biology and translational science*. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.*, 2015, Vol. 135, pp. 355-380.

Авторы:

Зайцева И.П. — д.б.н., профессор кафедры физического воспитания и спорта ФГБОУ ВО «Ярославский государственный университет имени П.Г. Демидова», г. Ярославль, Россия

Зайцев О.Н. — к.б.н., доцент кафедры физического воспитания ФГБОУ ВО «Ярославский государственный технологический университет», г. Ярославль, Россия

Романов В.А. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой микробиологии с вирусологией и иммунологией ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ярославль, Россия

Семечкин Н.В. — к.м.н., старший преподаватель кафедры микробиологии с вирусологией и иммунологией ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ярославль, Россия

Authors:

Zaitseva I.P., PhD, MD (Biology), Professor, Department of Physical Education and Sports, P. Demidov Yaroslavl State University, Yaroslavl, Russian Federation

Zaitsev O.N., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Physical Education, Yaroslavl State Technological University, Yaroslavl, Russian Federation

Romanov V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Microbiology with Virology and Immunology, Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation

Semetchkin N.V., PhD (Medicine), Senior Lecturer, Department of Microbiology with Virology and Immunology, Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation

Поступила 03.04.2024

Отправлена на доработку 06.04.2024

Принята к печати 18.04.2024

Received 03.04.2024

Revision received 06.04.2024

Accepted 18.04.2024

ДИНАМИКА ИММУНОГРАММЫ ОБУЧАЮЩИХСЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ ДОЗИРОВАННОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

Колупаев В.А.¹, Зурочка В.А.^{2,3}, Сашенков С.Л.¹, Котова Н.В.¹

¹ ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

² ФБУН «Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций “Виром”» Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, Россия

³ ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Анализ динамики состояния лейкоцитов крови при мышечной деятельности является актуальным в связи с развитием методов дифференциации и оценки состояния этих клеток. Цель исследования – изучение динамики показателей фагоцитарной и НСТ-активности нейтрофилов, а также содержания CD-лимфоцитов периферической крови у обучающихся при передвижении на тредмиле. У студентов основной медицинской группы 18-20 лет, занимающихся легкой атлетикой (3 юноши и 4 девушки), осуществляли забор крови из локтевой вены до начала двигательной деятельности, после 15-минутного бега в разминочном темпе, а также после 15-минутного бега средней интенсивности. Средний уровень физической работоспособности обследованных по величине PWC170 составил $16,25 \pm 2,21$ кгм/мин/кг. Изучение фагоцитарной и НСТ-активности нейтрофилов и содержания CD-лимфоцитов в крови осуществляли методом иммунофенотипирования с применением проточной цитометрии. Выявлено, что у девушек в покое относительное содержание лимфоцитов и НК-клеток было значительно ниже, а уровень индуцированной НСТ-активности Нф и относительного содержания CD4-CD8⁻ и CD4⁺CD8⁺ лимфоцитов существенно выше, чем у юношей. При этом динамика показателей лейкограммы обследованных в процессе физической нагрузки полностью соответствовала развитию лимфоцитарной фазы миогенного лейкоцитоза. После выполнения 1-й физической нагрузки при отсутствии значимых изменений показателей фагоцитарной и НСТ-активности Нф у испытуемых отмечалось достоверное снижение относительного содержания CD4-CD8⁺ и увеличение количества CD4-CD8⁻ клеток. При этом у девушек прирост содержания НСТ-позитивных Нф в индуцированном тесте был значимо выше, чем у юношей. С увеличением мощности повторной физической нагрузки на фоне общего повышения количества фагоцитирующих Нф существенно

Адрес для переписки:

Колупаев Виталий Анатольевич
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
454092, Россия, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.
Тел.: 8 (351) 261-25-96, 8 (906) 860-23-85.
E-mail: vitalico@mail.ru

Address for correspondence:

Vitaly A. Kolupaev
South Ural State Medical University
64 Vorovsky St
Chelyabinsk
454092 Russian Federation
Phone: +7 (351) 261-25-96, +7 (906) 860-23-85.
E-mail: vitalico@mail.ru

Образец цитирования:

В.А. Колупаев, В.А. Зурочка, С.Л. Сашенков,
Н.В. Котова «Динамика иммунограммы обучающихся
под влиянием дозированной физической нагрузки»
// Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27,
№ 3. С. 579-586.
doi: 10.46235/1028-7221-16908-IDO

© Колупаев В.А. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

V.A. Kolupaev, V.A. Zurochka, S.L. Sashenkov, N.V. Kotova
“Immunogram dynamics of students under the influence
of dosed physical activity”, Russian Journal of Immunology/
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3,
pp. 579-586.
doi: 10.46235/1028-7221-16908-IDO

© Kolupaev V.A. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16908-IDO

увеличивался баланс спонтанных НСТ-позитивных и резервных потенциально активных Нф относительно содержания НСТ-негативных клеток в индуцированном тесте. При этом уровень нейтрофила у девушек был значимо выше, обуславливая более высокий уровень количества фагоцитов и абсолютного содержания НСТ-позитивных Нф в спонтанном и индуцированном тесте. Помимо того, в лимфоцитарную фазу миогенного лейкоцитоза количество $CD3^+CD19^-$ после 2-й нагрузки значимо повышалось на фоне существенного снижения их относительного содержания, тогда как количество $CD3^+CD19^+$ и $CD3^+CD4^+CD8^-CD45^+$ не изменялось, несмотря на достоверное снижение их относительного содержания. При этом наряду с повышением абсолютного содержания $CD4^-CD8^-$ и ТНК-лимфоцитов отмечалось значимое повышение относительного и абсолютного содержания НК-клеток. В отличие от девушек у юношей после 2-й физической нагрузки относительное и абсолютное содержание НК-клеток, а также прирост процентного содержания НСТ-позитивных клеток в индуцированном тесте были существенно выше, несмотря на значимо более низкое количество Нф в крови.

Ключевые слова: иммунограмма, миогенный лейкоцитоз, спортсмены, фагоцитоз нейтрофилов, НСТ-активность нейтрофилов, физическая нагрузка, CD-лимфоциты

IMMUNOGRAM DYNAMICS OF STUDENTS UNDER THE INFLUENCE OF DOSED PHYSICAL ACTIVITY

Kolupaev V.A.^a, Zurochka V.A.^{b,c}, Sashenkov S.L.^a, Kotova N.V.^a

^a South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

^b Federal Research Institute of Viral Infections "Virom" of Rospotrebnadzor, Ekaterinburg, Russian Federation

^c Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation

Abstract. Analysis of the dynamics of the state of blood leukocytes in muscular activity is relevant due to the development of methods of differentiation and assessment of the state of these cells. The purpose of the study is to study the dynamics of the phagocytic and NBT activity of neutrophils, as well as the content of CD lymphocytes of peripheral blood in students when moving on a treadmill. For students 18-20 years old involved in athletics (3 boys and 4 girls), blood was taken from the ulnar vein before and after a 15-minute jog, as well as after a 15-minute run of moderate intensity. The average level of physical performance of the examined PWC_{170} was 16.25 ± 2.21 kGm/min/kg. Assessment of phagocytosis and NBT activity of neutrophils and determination of blood CD lymphocytes by immunophenotyping were performed using flow cytometry. It was found that in girls at rest, the relative content of lymphocytes and NK cells was significantly lower, and the level of induced NBT activity of neutrophils and the relative content of $CD4^-CD8^-$ and $CD4^+CD8^+$ lymphocytes was significantly higher than in boys. At the same time, the dynamics of the leukogram parameters examined during the dosed physical activity fully corresponded to the development of the lymphocytic phase of myogenic leukocytosis. With an increase in the power of repeated exercise against the background of a general increase in the number of phagocytic neutrophils, the balance of spontaneous NBT-positive and reserve potentially active neutrophils significantly increased relative to the content of NBT-negative cells in the induced test. At the same time, the level of neutrocytes in girls was significantly higher, causing a higher level of phagocyte count and absolute content of NBT-positive neutrophils in a spontaneous and induced test. At the same time, against the background of an increase in the absolute content of $CD4^-CD8^-$ and ТНК lymphocytes, a statistically significant increase in the relative and absolute content of NK cells was observed. In contrast to the boys after the 2nd physical exercise, the relative and absolute content of NK cells, as well as the increase in the percentage of НСТ-positive cells in the induced test, were significantly higher.

Keywords: immunogram, myogenic leukocytosis, athletes, neutrophil phagocytic, neutrophil NBT-activity, physical loads, CD lymphocytes

Работа выполнена по теме гос. заданий ИИФ УрО РАН «Иммунофизиологические и патофизиологические механизмы регуляции и коррекции функций организма» № гос. регистрации 122020900136-4; ФБУН ФНИИВИ «Виром» Роспотребнадзора «Изучение механизмов формирования хронической вирусной инфекции у пациентов с постковидным синдромом и нарушением функций иммунной системы. Разработка патогенетических подходов к эффективной профилактике и иммунокоррекции выявленных нарушений у пациентов с «постковидным синдромом» № гос. регистрации 124031500020-4.

Введение

Изучение и оценка динамики показателей состояния отдельных популяций лейкоцитов крови под влиянием мышечной деятельности разной мощности и длительности продолжает оставаться актуальной задачей [2] в связи с дальнейшим развитием методов дифференциации функциональных возможностей и состояния этих клеток [3]. Целью настоящего исследования являлось изучение динамики показателей состояния фагоцитарной и НСТ-активности нейтрофилов, а также содержания отдельных субпопуляций CD-лимфоцитов периферической крови у обучающихся спортсменов под влиянием физической нагрузки при передвижении с заданной скоростью на тредмиле.

Материалы и методы

Проведено изучение динамики показателей иммунограммы на дозированную физическую нагрузку у студентов основной медицинской группы в возрасте 18-20 лет, занимающихся легкой атлетикой в количестве 7 человек (3 юноши и 4 девушки), как перенесшие COVID-19 с подтверждением на основе данных ПЦР анализа ($n = 3$), так и условно не болевшие и не имевшие положительных ПЦР-тестов на COVID-19 ($n = 4$). Индекс массы тела обследуемых варьировал в диапазоне от 20,13 до 22,16 в группе юношей и от 17,17 до 20,95 в группе девушек.

Интенсивность мышечной работы определяли по величине скорости бега на беговой дорожке, а дозирование интенсивности физической нагрузки осуществлялось по величине частоты сердечных сокращений (ЧСС) во время мышечной работы. Для определения уровня физической работоспособности обучающихся нами был использован адаптированный вариант теста PWC_{170} с использованием бега с заданной скоростью по беговой дорожке в качестве входного воздей-

ствия с последующим перерасчетом в сопоставимые единицы для велоэргометрического теста для мужчин и женщин по формуле В.Л. Карпмана и соавт. (1987). Расчетная мощность физической работы при первой нагрузке варьировала от 1,06 до 1,76 Вт/кг. Относительная величина мощности работы при повторной нагрузке у юношей варьировала от 2,99 до 4,02 Вт/кг, а у девушек – от 3,02 до 3,16 Вт/кг.

Определение частоты сердечных сокращений (ЧСС) в покое, во время и после дозированной нагрузки осуществляли посредством датчика сердечного ритма Polar H10 Heart Rate Sensor (Малайзия) с расчетом величины систолического объема крови в состоянии оперативного покоя по формуле Старра, а измерение артериального давления по стандартной методике автоматическим тонометром OMRON M2 Classic (HEM-7117-RU, Япония-Нидерланды-Китай). В состоянии оперативного покоя уровень сердечного индекса обследованных в среднем составлял $3,56 \pm 0,21$ л/мин/м² при ЧСС $69,86 \pm 3,79$ и величине систолического индекса $51,01 \pm 1,00$ мл/м². Уровень физической работоспособности обследованных по величине относительного показателя теста PWC_{170} составил $16,25 \pm 2,21$ кГм/мин/кг. Уровень вегетативного индекса Кердо в состоянии покоя у 4 обследуемых отражал текущий нормотонический тип регуляции, у одного из обследуемых – некоторое преобладание симпатической регуляции и у 2 обследованных – выраженное преобладание парасимпатической регуляции.

Забор крови из локтевой вены осуществляли в состоянии оперативного покоя до начала двигательной деятельности, на первой-второй минуте после завершения 15-минутного бега в разминочном темпе, а также на первой-второй минуте после окончания 15-минутного бега средней интенсивности. Определение доступных показателей системы крови и иммунограммы проводили на базе клинико-диагностической лаборатории ООО «ДокторЛаб» (лицензия на осуществление медицинской деятельности № Л041-01024-74/00316445 от 27.09.2017). Оценку фагоцитоза и НСТ-активности нейтрофилов (Нф) и определение содержания CD-лимфоцитов в периферической крови методом иммунофенотипирования осуществляли с применением проточной цитометрии.

Статистическую обработку результатов осуществляли с применением параметрических и непараметрических методов для связанных (критерий Вилкоксона) и несвязанных (U-критерий

Манна—Уитни) выборочных с применением пакета прикладных программ Excel и Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

Результаты динамики показателей лейкограммы обследованных спортсменов при мышечной деятельности представлены в таблице 1.

Как видно из представленных данных, в состоянии оперативного покоя показатели лейкограммы испытуемых не выходили за пределы диапазона нормальных значений. При этом неуклонное повышение содержания лейкоцитов в процессе мышечной деятельности отражает развитие миогенного лейкоцитоза. Если динамика показателей лейкограммы после первой нагрузки отражает изменение баланса содержания пула циркулирующих и пристеночных популяций Нф, то после второй нагрузки имеет место развитие лимфоцитарной фазы миогенного лейкоцитоза с выходом в циркуляцию депонированных лимфоцитов.

Результаты динамики показателей иммунограммы у обследованных спортсменов при мышечной деятельности представлены в таблице 2.

Показатели фагоцитарной активности Нф повышались под влиянием выполнения 2-й нагрузки за счет увеличения содержания циркулирующих клеток. При этом относительное и абсолютное содержание НСТ-позитивных Нф в

индуцированном тесте после 2-й нагрузки значительно повышалось, а процентное содержание НСТ-негативных клеток существенно снижалось по сравнению с состоянием после 1-й нагрузки. В итоге после 2-й нагрузки в сравнении с состоянием после 1-й нагрузки значительно повышалась разница как между спонтанным уровнем содержания НСТ-позитивных и НСТ-негативных Нф, так и разница между резервным уровнем НСТ-позитивных клеток в индуцированном тесте и содержанием НСТ-негативных Нф.

Динамика содержания Т-лимфоцитов во время лимфоцитарной фазы миогенного лейкоцитоза после 2-й нагрузки отличалась противоположно направленными тенденциями в сравнении с состоянием покоя и после 1-й нагрузки: повышением количества CD3⁺ клеток в периферической крови на фоне снижения их процентного содержания. Увеличение содержания лимфоцитов в крови во время лимфоцитарной фазы миогенного лейкоцитоза обеспечивало сохранение уровня абсолютного содержания CD3-CD19⁺ лимфоцитов после 2-й нагрузки, несмотря на снижение их процентного содержания. Кроме того, во время лимфоцитарной фазы отмечалось достоверное снижение иммунорегуляторного индекса за счет уменьшения относительного содержания CD3⁺CD4⁺CD8-CD45⁺ клеток, тогда как процентное содержание CD3⁺CD4-CD8⁺CD45⁺

ТАБЛИЦА 1. ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ЛЕЙКОЦИТОВ У СПОРТСМЕНОВ (n = 7) ПРИ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. DYNAMICS OF WHITE BLOOD CELL CONTENT IN ATHLETES (n = 7) UNDER PHYSICAL ACTIVITY, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели Indicators	В покое At rest	Нагрузка 1 1 st load	Нагрузка 2 2 nd load
Лейкоциты, × 10 ⁹ /л Leukocytes, × 10 ⁹ /L	6,30 (4,80-7,70)	6,60 (5,80-8,30)*	8,30 (7,9-10,5)* +
Эозинофилы, × 10 ⁹ /л Eosinophils, × 10 ⁹ /L	0,23 (0,14-0,31)	0,20 (0,12-0,30)	0,26 (0,21-0,39)* +
Палочкоядерные, × 10 ⁹ /л Rod-nucleated neutrophils, × 10 ⁹ /L	0,06 (0,00-0,14)	0,11 (0,00-0,17)*	0,08 (0,07-0,21)
Нейтрофилы, × 10 ⁹ /л Neutrophils, × 10 ⁹ /L	3,13 (2,49-4,00)	3,63 (3,13-4,56)	4,39 (3,71-5,25)* +
Моноциты, × 10 ⁹ /л Monocytes, × 10 ⁹ /L	0,47 (0,29-0,92)	0,53 (0,40-0,79)	0,65 (0,50-0,73)
Лимфоциты, × 10 ⁶ /л Lymphocytes, × 10 ⁶ /L	2,15 (1,55-2,46)	2,42 (1,97-2,56)	3,35 (2,70-3,99)* +

Примечание. Условные обозначения: * – уровень значимости различий $p < 0,05$ в сравнении с покоем; + – уровень значимости различий $p < 0,05$ в сравнении с нагрузкой. 1.

Note. Legend: *, level of significance of $p < 0.05$ differences versus rest; +, level of significance of $p < 0.05$ differences versus load 1.

ТАБЛИЦА 2. ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУНОГРАММЫ У СПОРТСМЕНОВ (n = 7) ПРИ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 2. DYNAMICS OF IMMUNOGRAM PARAMETERS IN ATHLETES (n = 7) UNDER PHYSICAL ACTIVITY, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели Indicators	В покое At rest	Нагрузка 1 1 st load	Нагрузка 2 2 nd load
Активность фагоцитоза, % × 10 ⁹ /л Phagocytic neutrophils, % × 10 ⁹ /L	63 (57-71) 1,78 (1,52-2,80)	56 (50-61) 1,88 (1,26-2,92)	57 (46-60) 2,31 (1,71-3,31)*
Спонтанный НСТ-тест, % × 10 ⁹ /л Spontaneous NBT-test, % × 10 ⁹ /L	10 (7-29) 0,36 (0,25-1,02)	16 (9-21) 0,44 (0,41-0,69)	15 (11-32) 0,67 (0,52-1,40)
Индукцированный НСТ-тест, % × 10 ⁹ /л Induced NBT-test, % × 10 ⁹ /L	69 (68-74) 2,28 (1,84-2,40)	62 (56-70) 2,51 (1,34-3,19)	74 (68-81)* 3,60 (2,82-3,83)* +
CD3 ⁺ CD19 ⁻ CD45 ⁺ , % × 10 ⁹ /л CD3 ⁺ CD19 ⁻ CD45 ⁺ , % × 10 ⁹ /L	73,9 (70,2-76,1) 1,64 (1,22-1,82)	71,0 (68,8-76,1) 1,71 (1,40-1,76)	66,4 (63,0-69,2)* + 2,08 (1,81-2,62)* +
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁻ CD45 ⁺ , % × 10 ⁹ /л CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁻ CD45 ⁺ , % × 10 ⁹ /L	38,0 (35,0-43,2) 847 (618-935)	34,9 (34,0-44,5) 842 (711-928)	28,8 (28,0-33,0)* + 1096 (673-1150)
CD3 ⁺ CD4 ⁻ CD8 ⁺ CD45 ⁺ , % × 10 ⁹ /л CD3 ⁺ CD4 ⁻ CD8 ⁺ CD45 ⁺ , % × 10 ⁹ /L	25,2 (23,3-27,6) 561 (359-668)	23,0 (21,5-25,5)* 585 (402-643)	24,9 (21,5-27,1) 750 (590-910)* +
Иммунорегуляторный индекс, усл. ед. Immunoregulatory index, cond. units	1,60 (1,30-1,70)	1,60 (1,30-2,10)	1,20 (1,10-1,50)* +
CD3 ⁺ CD4 ⁻ CD8 ⁻ CD45 ⁺ × 10 ⁹ /л CD3 ⁺ CD4 ⁻ CD8 ⁻ CD45 ⁺ , % × 10 ⁹ /L	9,5 (6,7-11,6) 183 (142-235)	10,1 (8,7-12,6) 228 (184-313)*	11,6 (9,3-14,4) 446 (220-573)*
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ CD45 ⁺ , % × 10 ⁹ /л CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ CD45 ⁺ , % × 10 ⁹ /L	0,7 (0,3-1,4) 17,0 (5,0-25,0)	0,4 (0,3-1,5) 9,0 (8,0-36,0)	0,4 (0,1-1,1) 10,0 (4,0-36,9)
CD3 ⁻ CD19 ⁺ CD45 ⁺ , % × 10 ⁹ /л CD3 ⁻ CD19 ⁺ CD45 ⁺ , % × 10 ⁹ /L	11,8 (10,0-15,3) 254 (203-289)	11,4 (10,6-13,4) 264 (237-356)	9,5 (7,8-11,9)* + 311 (227-399)
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ , % × 10 ⁹ /л CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ , % × 10 ⁹ /L	9,8 (6,7-12,6) 195 (165-239)	12,6 (11,3-16,2) 319 (267-335)	21,1 (15,7-25,4)* + 626 (597-860)* +
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ , % × 10 ⁹ /л CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ , % × 10 ⁹ /L	3,1 (2,0-3,4) 60,0 (48,0-77,0)	3,9 (0,6-4,2) 63,0 (15,0-105,0)	3,9 (2,9-5,3) 136,0 (78,0-192,0)*

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

лимфоцитов значимо было ниже после 1-й нагрузки в сравнении с состоянием покоя. Динамика содержания дубль позитивных CD4⁺CD8⁺ лимфоцитов не проявляла значимых тенденций, тогда как количество дубль негативных CD4⁻CD8⁻ клеток после 1-й и 2-й физической нагрузки было существенно больше, чем в состоянии покоя.

Во время лимфоцитарной фазы, развивавшейся у испытуемых после повторной физической нагрузки, отмечалось статистически значимое увеличение относительного и абсолютного содержания CD3⁺CD16⁺CD56⁺ клеток, что согласуется с имеющимися литературными данными [1, 3]. Вместе с тем отмечавшееся у об-

следуемых спортсменов увеличение количества CD3⁺CD16⁺CD56⁺ лимфоцитов в этот период было связано с повышением общего содержания лимфоцитов в периферической крови.

В состоянии покоя показатели лейкограммы обследованных юношей и девушек не имели значимых различий, за исключением более низкого (p < 0,05) в группе девушек относительного содержания лимфоцитов (29,50±3,00% и 37,33±4,51%). Показатели иммунограммы у девушек в состоянии покоя характеризовались более высокими значениями количества позитивных Нф в индуцированном НСТ-тесте (2,89±0,87 × 10⁹/л) и более низким относительном содержании НК-клеток (7,77±2,33%), чем

у юношей ($1,83 \pm 0,33\%$ и $14,60 \pm 4,82\%$). При этом уровень содержания дубль негативных $CD4^-CD8^-$ ($11,30 \pm 2,27\%$) и дубль позитивных $CD4^+CD8^+$ лимфоцитов ($1,13 \pm 0,51\%$) у них достоверно ($p < 0,05$) превышал таковой у юношей ($7,20 \pm 0,95\%$ и $0,27 \pm 0,06\%$).

После выполнения повторной физической нагрузки количество Нф в крови у девушек ($5,07 \pm 0,79 \times 10^9/\text{л}$) было существенно выше, чем у юношей ($3,72 \pm 0,10 \times 10^9/\text{л}$), что обусловило более высокое количество фагоцитов в циркуляции ($2,92 \pm 0,60 \times 10^9/\text{л}$ и $1,66 \pm 0,53 \times 10^9/\text{л}$) и уровня спонтанных ($1,13 \pm 0,44 \times 10^9/\text{л}$ и $0,38 \pm 0,30 \times 10^9/\text{л}$) и индуцированных НСТ-позитивных Нф ($3,85 \pm 0,25 \times 10^9/\text{л}$ и $2,69 \pm 0,26 \times 10^9/\text{л}$). Следует отметить, что если после 1-й физической нагрузки у девушек прирост содержания НСТ-позитивных Нф в индуцированном тесте относительно спонтанного уровня был существенно больше ($55,50 \pm 5,45\%$), чем у юношей ($33,77 \pm 15,04\%$), то после второй физической нагрузки прирост НСТ-позитивных Нф в индуцированном тесте у юношей был значительно выше ($62,33 \pm 3,06\%$), чем у девушек ($52,50 \pm 5,45\%$). Кроме того, после повторной физической нагрузки у девушек отмечалось достоверно более низкое относительное и абсолютное содержание НК-клеток ($16,10 \pm 4,53\%$ и $0,62 \pm 0,25 \times 10^9/\text{л}$) и более высокое количество $CD3^-CD19^+$ клеток, ($0,41 \pm 0,09 \times 10^9/\text{л}$) по сравнению с группой юношей ($24,40 \pm 2,00\%$, $0,70 \pm 0,16 \times 10^9/\text{л}$ и $0,23 \pm 0,01 \times 10^9/\text{л}$ соответственно).

Таким образом, под влиянием дозированной мышечной деятельности динамика лейкограммы у обучающихся спортсменов сопровождалась неуклонным повышением содержания лейкоцитов в крови за счет значимого увеличения количества лимфоцитов на фоне тенденции повышения их относительного содержания после 2-й нагрузки. Подобная динамика показателей лейкограммы, очевидно, в полной мере соответствует развитию лимфоцитарной фазы миогенного лейкоцитоза. При этом у девушек в состоянии покоя относительное содержание лимфоцитов и НК-клеток было значимо ниже, а уровень количества НСТ-позитивных Нф в индуцированном тесте и относительного содержания дубль негативных $CD4^-CD8^-$ и дубль позитивных $CD4^+CD8^+$ лимфоцитов существенно выше, чем у юношей.

После выполнения 1-й физической нагрузки у испытуемых на фоне отсутствия статистически значимых изменений фагоцитарной и НСТ-активности Нф наблюдалось достоверное снижение относительного содержания $CD4^-CD8^+$ лимфоцитов и увеличение количества дубль негативных $CD4^-CD8^-$ клеток. При этом у девушек

прирост содержания НСТ-позитивных Нф в индуцированном тесте был значимо выше, чем у юношей.

Под влиянием увеличения мощности выполняемой повторной физической нагрузки на фоне общего увеличения количества фагоцитирующих Нф существенно увеличивался баланс спонтанных НСТ-позитивных и резервных потенциально активных Нф относительно содержания НСТ-негативных клеток в индуцированном тесте. При этом уровень нейтрофилаза у девушек был значительно выше, обуславливая более высокий уровень количества фагоцитов и абсолютного содержания НСТ-позитивных Нф в спонтанном и индуцированном тесте. Помимо того, во время лимфоцитарной фазы миогенного лейкоцитоза количество $CD3^+CD19^-$ лимфоцитов после 2-й нагрузки значимо повышалось на фоне существенного снижения их относительного содержания, тогда как количество $CD3^-CD19^+$ и $CD3^+CD4^+CD8^-CD45^+$ лимфоцитов в крови не изменялось, несмотря на достоверное снижение их относительного содержания. Очевидно, что отмеченные количественные изменения субпопуляций лимфоцитов не в полной мере способны компенсировать значимое угнетение функциональной активности этих клеток под влиянием интенсивных физических нагрузок, сопровождающихся глубокими нарушениями механизмов иммунного ответа [2, 3]. Кроме того, во время лимфоцитарной фазы у испытуемых на фоне повышения абсолютного содержания дубль негативных $CD4^-CD8^-$ и ТНК-лимфоцитов отмечалось статистически значимое повышение относительного и абсолютного содержания НК-клеток. У юношей после 2-й физической нагрузки относительное и абсолютное содержание НК-клеток, а также прирост процентного содержания НСТ-позитивных клеток в индуцированном тесте были существенно выше, чем у девушек, несмотря на значимо более низкое количество Нф в периферической крови.

Заключение

Таким образом, после выполнения легкой 15-ти минутной двигательной активности при отсутствии значимых изменений показателей фагоцитарной и НСТ-активности Нф у испытуемых отмечалось достоверное снижение относительного содержания $CD4^-CD8^+$ и увеличение количества $CD4^-CD8^-$ -клеток. При повторной 15-ти минутной физической нагрузке умеренной мощности на фоне развития лимфоцитарной фазы миогенного лейкоцитоза отмечалось существенное снижение доли неактивных Нф в

индуцированном НСТ-тесте и увеличение уровня общей поглотительной способности этих клеток за счет повышения их количества. При этом значительно повышалось количество CD3⁺CD19⁻ на фоне существенного снижения их относительного содержания. Количество CD3⁺CD19⁺ и CD3⁺CD4⁺CD8⁻CD45⁺ не существенно изменялось, несмотря на достоверное снижение их содержания. Абсолютное содержание CD4⁺

CD8⁺, CD3⁺CD16⁺CD56⁺ и CD3⁺CD16⁺CD56⁺-лимфоцитов повышалось после повторной 15-ти минутной физической нагрузки. В отличие от девушек у юношей после 2-й физической нагрузки относительное и абсолютное содержание НК-клеток, а также прирост процентного содержания НСТ-позитивных клеток в индуцированном тесте были существенно выше, несмотря на более низкое количество Нф в крови.

Список литературы / References

1. Афанасьева И.А. Показатели неспецифической защиты у спортсменов при интенсивных физических нагрузках // Ученые записки университета им. П.Ф. Лесгафта, 2006. № 22. С. 11-15. [Afanasyeva I.A. Indicators of nonspecific protection in athletes under intense physical activity. *Uchenyye zapiski universiteta im. P.F. Lesgafta = Scientific Notes of P. Lesgaft University*, 2006, no. 22. pp. 11-15. (In Russ.)]
2. Долгушин И.И., Колесников О.Л., Селянина Г.А., Мезенцева Е.А. Влияние физической нагрузки на иммунный ответ // Медицинская иммунология, 1999. № 3-4. С. 12. [Dolgushin I.I., Kolesnikov O.L., Selyanina G.A., Mezentseva E.A. Effect of physical activity on the immune response. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 1999, no. 3-4. p. 12. (In Russ.)]
3. Калинин С.А., Шульгина С.М., Антропова Е.Н., Рыкова М.П., Садова А.А., Кутько О.В., Орлова К.Д., Яздовский В.В., Кофиади И.А. Состояние системы иммунитета человека и животных при физических нагрузках различного генеза // Иммунология, 2019. № 40 (3). С. 72-82. [Kalinin S.A., Shulgina S.M., Antropova E.N., Rykova M.P., Sadova A.A., Kutko O.V., Orlova K.D., Yazdovsky V.V., Kofiadi I.A. State of the human and animal immunity system under physical exertion of various genesis. *Immunologiya = Immunologiya*, 2019, no. 40 (3). pp. 72-82. (In Russ.)]

Авторы:

Колупаев В.А. — д.б.н., доцент, заведующий кафедрой физической культуры ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Зурочка В.А. — д.м.н., старший научный сотрудник лаборатории трансмиссивных вирусных инфекций и клещевого энцефалита ФБУН «Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций “Вирум”» Роспотребнадзора; старший научный сотрудник лаборатории иммунопатофизиологии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Authors:

Kolupaev V.A., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Head, Department of Physical Culture, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Zurochka V.A., PhD, MD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Vector-borne Viral Infections and Tick-borne Encephalitis, Federal Research Institute of Viral Infections “Virom” of Rospotrebnadzor; Senior Research Associate, Laboratory of Immunopathophysiology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation

Сашенков С.Л. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Sashenkov S.L., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Normal Physiology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Котова Н.В. — старший преподаватель кафедры физической культуры ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Kotova N.V., Senior Lecturer, Department of Physical Culture, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Поступила 03.04.2024
Отправлена на доработку 04.04.2024
Принята к печати 11.04.2024

Received 03.04.2024
Revision received 04.04.2024
Accepted 11.04.2024

ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ПОПУЛЯЦИИ В-ЛИМФОЦИТОВ НА ФОНЕ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО СТРЕССОВОГО РАССТРОЙСТВА У ВЕТЕРАНОВ СОВРЕМЕННЫХ ВОЙН

Пашнин С.Л.¹, Давыдова Е.В.^{1, 2}

¹ ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», г. Челябинск, Россия

² ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Российская Федерация

Резюме. Посттравматическое стрессовое расстройство у ветеранов боевых действий имеет определенные особенности, характерные для комбатантов. В-лимфоциты могут усугублять нейрокогнитивные нарушения, демонстрируя значительную тенденцию к провоспалению за счет выработки иммуноглобулинов и ряда провоспалительных факторов. Цель: изучение фенотипической гетерогенности В-субпопуляций лимфоцитов у ветеранов с посттравматическим стрессовым расстройством.

Исследования проводились в когорте ветеранов специальной военной операции на Украине (УСВО), среди которых 26 комбатантов с клинически верифицированным ПТСР (МКБ-10: F43.1 ПТСР; МКБ-11: 6B40 ПТСР; DSM-IV (рубрика «Тревожные расстройства» (300.xx)) составили основную (1) группу, 30 ветеранов вошли в состав группы сравнения (2). Группу референсных значений (3) составили 20 здоровых военнослужащих, не принимавших участия в боевых действиях (средний возраст 47,7±4,6 года). Диагноз верифицирован на основании нейропсихологического и патопсихологического обследования. Определение уровня IL-10 (пг/мл) при помощи мультиплексного анализа на иммуноанализаторе Luminex Magpix 100 (США) с использованием тест-системы мультиплексного анализа Bio-Plex (MERZ, Германия). Гейтирование популяции В-лимфоцитов проводили на проточном цитофлуориметре Navios (Beckman Coulter, США) по стандартизированной технологии оценки лимфоцитарного звена иммунитета. Для выделения пула В-лимфоцитов использованы комбинации маркеров: CD45⁺, CD46⁺, CD3⁻, CD19⁺, CD5⁺, CD27⁺, CD127⁺. Сравнение данных проводили с помощью программы Statistica for Windows vers. 10.0.

В группе ветеранов УСВО с ПТСР нами показан рост в крови клеток с фенотипом CD45⁺CD3⁻CD19⁺CD5⁺ в сравнении с показателями 2-й и 3-й группы. В-лимфоциты, экспрессирующие CD5⁺ маркер обнаружены в различных тканях человека и могут продуцировать в том числе аутоантитела. Анализ субпопуляций В-лимфоцитов с маркерами клеток памяти, показал значимое снижение

Адрес для переписки:

Давыдова Евгения Валерьевна
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный
медицинский университет», зав. отделением ранней
медицинской реабилитации ГБУЗ Челябинская
областная клиническая больница
454048, Россия, г. Челябинск,
ул. Воровского, 70 (Медгородок).
Тел.: 8 (351) 749-37-75.
E-mail: davidova-ev.med@yandex.ru

Address for correspondence:

Evgeniya V. Davydova
South Ural State Medical University
70 Vorovsky St (Medgorodok)
Chelyabinsk
454048 Russian Federation
Phone: +7 (351) 749-37-75.
E-mail: davidova-ev.med@yandex.ru

Образец цитирования:

С.Л. Пашнин, Е.В. Давыдова «Фенотипическая гетерогенность популяции В-лимфоцитов на фоне посттравматического стрессового расстройства у ветеранов современных войн» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 587-594. doi: 10.46235/1028-7221-16822-PHO

© Пашнин С.Л., Давыдова Е.В., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

S.L. Pashnin, E.V. Davydova "Phenotypic heterogeneity of the B lymphocyte population in the context of post-traumatic stress disorder in veterans of modern wars", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 587-594. doi: 10.46235/1028-7221-16822-PHO

© Pashnin S.L., Davydova E.V., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16822-PHO

в крови ветеранов УСВО общего количества В-лимфоцитов памяти ($CD45^+CD3^-CD19^+CD27^+$), на фоне повышения концентрации клеток позитивных по CD5 и CD27 с фенотипом $CD45^+CD3^-CD19^+CD5^+CD27^+$. Известно, что $CD27^+$ В-лимфоциты экспрессируют высокие уровни адгезивных структур LFA-1 (CD11a), ICAM-1 (CD54), LFA-3 (CD58) и CD44, что в целом свидетельствует о том, что $CD27^+$ В-клетки играют важнейшую роль в механизмах межклеточного взаимодействия.

Установленное нами фенотипическое разнообразие субпопуляций В-лимфоцитов у ветеранов с наличием посттравматического стрессового расстройства характеризуется повышением в циркуляции В-лимфоцитов с молекулами CD5 и CD27, на фоне общего снижения В-клеток памяти, что свидетельствует о возможной аутоиммунной направленности нейровоспалительных процессов на территории головного мозга, связанных как со стресс-индуцируемым повышением проницаемости гемато-энцефалического барьера, так и с необходимостью контроля за избыточной активацией иммунокомпетентных клеток.

Ключевые слова: боевой стресс, посттравматическое стрессовое расстройство, фенотипическое разнообразие В-лимфоцитов, В-клетки памяти, IL-10, нейровоспаление

PHENOTYPIC HETEROGENEITY OF THE B LYMPHOCYTE POPULATION IN THE CONTEXT OF POST-TRAUMATIC STRESS DISORDER IN VETERANS OF MODERN WARS

Pashnin S.L.^a, Davydova E.V.^{a, b}

^a Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russian Federation

^b South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. Post-traumatic stress disorder in combat veterans has certain characteristics common to combatants. B lymphocytes may aggravate neurocognitive impairment by demonstrating a significant proinflammatory tendency through the production of immunoglobulins and a number of proinflammatory factors. Objective: to study the phenotypic heterogeneity of B lymphocyte subpopulations in veterans with post-traumatic stress disorder.

Studies were conducted in a cohort of veterans of the special military operation in Ukraine (SVO), including 26 combatants with clinically verified PTSD who made up the main (1) group, and 30 veterans were included in the comparison group (2). The diagnosis was verified on the basis of neuropsychological and pathopsychological examination. Determination of IL-10 levels (pg/mL) using a multiplex analysis on a Luminex Magpix 100 immunoanalyzer (USA) using the Bio-Plex multiplex analysis test system (MERZ, Germany) was performed. Gating of the B lymphocyte population was performed on a Navios flow cytofluorimeter (Beckman Coulter, USA) using a standardized technology for assessing the lymphocyte component of immunity.

In the group of SVO veterans with PTSD, we showed an increase in blood cells with the $CD45^+CD3^-CD19^+CD5^+$ phenotype in comparison with the indicators of groups 2 and 3. B lymphocytes expressing the $CD5^+$ marker are found in various human tissues and can also produce autoantibodies. Analysis of subpopulations of B lymphocytes with markers of memory cells showed a significant decrease in the blood of SVO veterans in the total number of memory B lymphocytes ($CD45^+CD3^-CD19^+CD27^+$), against the background of an increase in the concentration of cells positive for CD5 and CD27 with the phenotype $CD45^+CD3^-CD19^+CD5^+CD27^+CD27^+$. B cells play a critical role in the mechanisms of intercellular interaction.

The phenotypic diversity of B lymphocyte subpopulations that we have established in veterans with post-traumatic stress disorder is characterized by an increase in the circulation of B lymphocytes with CD5 and CD27 molecules, against the background of a general decrease in memory B cells. This indicates a possible autoimmune orientation of neuroinflammatory processes in the brain, associated both with a stress-induced increase in the permeability of the blood-brain barrier, and with the need to control excessive activation of immunocompetent cells.

Keywords: combat stress, post-traumatic stress disorder, phenotypic diversity of B lymphocytes, memory B cells, IL-10, neuroinflammation

Введение

Посттравматическое стрессовое расстройство у ветеранов боевых действий имеет определенные особенности, характерные для комбатантов [3, 4]. В структуре симптоматики преобладают симптомы патологической гипервозбудимости, интрузий, чувство вины, избегания, аффекты гнева, различные варианты инсомнических и когнитивных нарушений, деструктивные и дефицитарные эпизоды агрессивности [3].

Феноменология разнообразия проявлений ПТСР предполагает наличие двусторонней связи периферических регуляторных систем с центральными нейрофизиологическими механизмами и обусловлена индукцией нейровоспаления циркулирующими иммунными клетками и провоспалительными медиаторами, мигрирующими через поврежденный гематоэнцефалический барьер. Активация провоспалительными медиаторами астроцитов и микроглиальных клеток способствует развитию синаптической дисфункции, потере нейронов и нарушению связности функциональных сетей в областях мозга, отвечающих за эмоциональное обеспечение стресса [8]. Известно, что у пациентов со стресс-индуцированными нейрокогнитивными нарушениями количество и интенсивность активации мононуклеарных клеток периферической крови изменяется в зависимости от стадии или тяжести стресса [7]. Продемонстрировано, что В-лимфоциты могут усугублять нейрокогнитивные нарушения, демонстрируя значительную тенденцию к провоспалению за счет выработки иммуноглобулинов и ряда провоспалительных факторов. Истощение или инактивация В-клеток в головном мозге увеличивает уровень TGF- β микроглии и снижает экспрессию регуляторных молекул TREM2, CLEC7A и ITGAX в гиппокампе, что значительно ослабляет стресс-индуцированное нейровоспаление. В-лимфоциты представляют собой весьма гетерогенную клеточную популяцию, функционирование подмножеств которой регулируется воспалительной средой. Так, экспериментально показано, что активация В-лимфоцитов варьирует от стимулирования превращения переходных клеток В-1а в патогенные В-клетки с высоким содержанием CD137⁺TNF α ⁺МНС-I типа, которые затем индуцируют активацию цитолитических CD8⁺T-клеток, которые могут способствовать прогрессированию нейрокогнитивных нарушений. В то же время в эксперименте показано, что выведение В-клеток значительно ускоряет и усугубляет когнитивный дефицит [14].

Популяция регуляторных В-клеток (Vreg) в настоящее время широко признана важным модулирующим компонентом иммунной системы, который подавляет, в том числе, нейровоспаление и участвует в прогрессировании когнитивных нарушений. Недавние исследования показали, что популяции Vreg в физиологических условиях крайне малы, но существенно увеличиваются как у людей, так и на мышинных моделях хронических воспалительных заболеваний при стресс-индуцированных состояниях, аутоиммунных заболеваниях, инфекциях [15]. Показано, что практически все известные на сегодняшний день субпопуляции В-клеток могут быть индуцированы с образованием Vreg-клеток. Кроме того, существуют уникальные субпопуляции Vreg-клеток, такие как B10 и Tim-1⁺V-клетки, иммунорегуляторная функция которых опосредована продукцией цитокинов, таких как IL-10 и TGF- β и последующим подавлением Т-клеток, прямыми межклеточными взаимодействиями или изменением иммунного микроокружения. Фенотипическое и функциональное многообразие В-субпопуляций, участие в процессах нейроиммуномодуляции в условиях формирования стресс-индуцированных расстройств адаптации явилось предпосылками для настоящего исследования.

Цель — изучение фенотипической гетерогенности В-субпопуляций лимфоцитов у ветеранов с посттравматическим стрессовым расстройством.

Материалы и методы

Исследования проводились на клинической базе ГБУЗ «Челябинский областной клинический терапевтический госпиталь для ветеранов войн» в когорте ветеранов специальной военной операции на Украине (УСВО) средний возраст 46,7 \pm 3,2 года, в количестве 56 человек, среди которых 26 комбатантов с клинически верифицированным ПТСР (МКБ-10: F43.1 ПТСР; МКБ-11: 6B40 ПТСР; DSM-IV (рубрика «Тревожные расстройства» (300.xx)) составили основную (1) группу, 30 ветеранов вошли в состав группы сравнения (2). Длительность пребывания в зоне проведения боевых действий в среднем составила 9,6 \pm 2,2 мес. Группу референсных значений (3) составили 20 здоровых военнослужащих, не принимавших участия в боевых действиях (средний возраст 47,7 \pm 4,6 года). Обследование ветеранов УСВО проводилось согласно рекомендациями ФГБУ «НМИЦ психиатрии и неврологии имени В.М. Бехтерева» МЗ РФ (Санкт-Петербург) [5]. Критериями исключения являлись психооргани-

ческая патология, ЧМТ в анамнезе, наличие любых заболеваний в стадии декомпенсации.

Проводимые исследования одобрены на заседании этического комитета ООО «ДокторЛаб» (протокол № 3 от 17.10.2020 г.).

Венозную кровь для исследования собирали в утренние часы, натощак. Определение уровня IL-10 (пг/мл) при помощи мультиплексного анализа на иммуноанализаторе Luminex Magpix 100 (США) с использованием тест-системы мультиплексного анализа Bio-Plex (MERZ, Германия).

Гейтирование популяции В-лимфоцитов проводили на проточном цитофлюориметре Navios (Beckman Coulter, США) по стандартизованной технологии оценки лимфоцитарного звена иммунитета [2]. Для выделения пула В-лимфоцитов использованы комбинации маркеров: CD45⁺, CD46⁺, CD3⁻, CD19⁺, CD5⁺, CD27⁺, CD127⁺.

Статистическую обработку материала проводили с применением пакета прикладных программ Statistica for Windows vers. 10.0. (StatSoft Inc. (США)) с представлением данных в виде медианы и квартильного размаха – Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}). Для сравнения данных применяли критерий Манна-Уитни для независимых выборок, при достижении уровня значимости (p) не более 0,05.

Результаты и обсуждение

Исходя из возможности комбинирования маркеров В-лимфоцитов, нами выделены следующие фенотипы подмножеств В-лимфоцитов в крови ветеранов УСВО с клиническими проявлениями ПТСР (табл. 1).

Относительно общей популяции В-лимфоцитов среди изучаемых групп значимых различий не зафиксировано. Однако известна взаимосвязь лимфопенических реакций с высоким уровнем стресс-медиаторов и стероидных гормонов в крови [1].

В группе ветеранов УСВО с ПТСР нами показан рост в крови клеток с фенотипом CD45⁺CD3⁻CD19⁺CD5⁺ в сравнении с показателями 2-й и 3-й группы. В-лимфоциты, экспрессирующие CD5⁺ маркер, обнаружены в различных тканях человека и могут продуцировать в том числе аутоантитела, например против двуцепочечной ДНК, однако роль о функциональных возможностях данных клеток в развитии постстрессовых расстройствах недостаточно изучена [13]. Имеются экспериментальные данные о том, что CD5⁺-экспрессирующие В-клетки относятся к субпопуляции В-1а переходных В-лимфоцитов, расположенных в тканях, выстилающих серозные полости. В человеческой популяции моле-

кула CD5 может быть обнаружена на клеточной мембране переходных CD24⁺⁺⁺CD38⁺⁺В-клеток типа 1. Переходные В-клетки человека включают не только В-клетки переходных типов 1 и 2, но и отдельные анергические В-клетки 3-го типа, а также CD27⁺ В-клетки, продуцирующие IL-10. Переходные В-клетки дифференцированно регулируют пролиферацию CD4⁺Т-лимфоцитов и поляризацию в сторону Th1-эффекторных клеток [6]. Анализ субпопуляций В-лимфоцитов с маркерами клеток памяти показал значимое снижение в крови ветеранов УСВО общего количества В-лимфоцитов памяти (CD45⁺CD3⁻CD19⁺CD27⁺), на фоне повышения концентрации клеток позитивных по CD5 и CD27 с фенотипом CD45⁺CD3⁻CD19⁺CD5⁺CD27⁺. Относительно других представленных субпопуляций значимых различий не зафиксировано.

Во время созревания и развития клеток незрелые В-клетки из костного мозга попадают в систему кровообращения, а затем мигрируют в селезенку для завершения переходной дифференцировки В-клеток и, в конечном итоге, становятся наивными В-клетками. В-клетки на разных стадиях дифференцировки экспрессируют различные поверхностные маркеры, такие как В-клетки памяти, характеризующиеся экспрессией CD27 и В-клетки плазмы, экспрессирующие CD38 [15]. Небольшой процент наивных В-клеток может дифференцироваться в В-клетки памяти после активации антигеном [10]. IgD и IgM обычно совместно экспрессируются на поверхности наивных В-клеток на ранней стадии дифференцировки в В-клетки памяти и носят название В-клеток памяти без переключения [16]. Когда IgD и IgM на поверхности В-клеток с непереключаемой памятью трансформируются в IgG, IgA или IgE, они называются В-клетками с переключаемой памятью [10] и способны быстро распознавать и инициировать иммунный ответ при стимуляции сходными антигенами, а также реактивироваться для генерации короткоживущих плазматических бластов, которые в дальнейшем могут созревать в плазматические В-клетки [10]. Показано, что улучшение когнитивных функций у пациентов со стресс-индуцированными расстройствами и нейродегенеративными заболеваниями может быть связано с повышением уровня периферических наивных В-клеток и снижением уровня В-клеток памяти [10].

Отдельного внимания заслуживает маркер CD27, присутствующий как на поверхности основной популяции Т-лимфоцитов периферической крови, так и в различных субпопуляциях

ТАБЛИЦА 1. ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ ПОПУЛЯЦИОННОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ В-ЛИМФОЦИТОВ У ВЕТЕРАНОВ УСВО, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. PHENOTYPIC VARIANTS OF POPULATION HETEROGENEITY OF B LYMPHOCYTES IN USVO VETERANS, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Параметры Options	Группа 1 Вeterаны УСВО с ПТСР Group 1 USVO veterans with PTSD n = 38	Группа 2 Вeterаны УСВО без ПТСР Group 2 USVO veterans without PTSD n = 30	Группа 3 Контрольная Group 3 Control n = 20
Общее количество В-лимфоцитов (CD45⁺CD3⁺CD19⁺), 10⁶ кл/л Total number of B lymphocytes (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁺), 10 ⁶ cells/L	281,5 (187,1-324,2)	350,2 (299,3-343,2)	316,5 (279,2-318,2)
В-лимфоциты с фенотипом (CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD5⁺), 10⁶ кл/л B lymphocytes with phenotype (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD5 ⁺), 10 ⁶ cells/L	35,4 (28,9-44,7)	22,6 (18,3-26,3)*	20,1 (18,2-23,5)*
В-лимфоциты с фенотипом (CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD5⁻), 10⁶ кл/л B lymphocytes with phenotype (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD5 ⁻), 10 ⁶ cells/L	118,2 (112,3-123,6)	285,3 (245,6-321,4)*	278,6 (269,4-310,4)*
Общее количество В-лимфоцитов, позитивное по CD27 (клетки памяти) (CD 45⁺CD3⁺CD19⁺CD27⁺), 10⁶ кл/л Total B cells positive for CD27 (memory cells) (CD 45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD27 ⁺), 10 ⁶ cells/L	116,3 (112,3-123,5)	269,3 (244,6-330,5)*	272,6 (242,3-312,4)*
Общее количество В-лимфоцитов, негативное по CD27 (не клетки памяти) (CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD27⁻), 10⁶ кл/л Total B cell count, negative for CD27 (not memory cells) (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD27 ⁻), 10 ⁶ cells/L	69,2 (58,3-75,2)	94,5 (71,7-110,2)	85,6 (68,9-108,4)
В-лимфоциты с фенотипом (CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD5⁺CD27⁺), позитивные по CD27 (10⁶ кл/л) B-lymphocytes with a phenotype (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD5 ⁺ CD27 ⁺), positive for CD27 (10 ⁶ cells/L)	115,2 (112,5-126,8)	80,1 (64,2-98,3)*	89,5 (78,6-105,3)*
В-лимфоциты с фенотипом (CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD5⁺CD27⁺), позитивные по CD27, 10⁶ кл/л B-lymphocytes with phenotype (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD5 ⁺ CD27 ⁺), positive for CD27, 10 ⁶ cells/L	15,4 (11,2-18,6)	20,1 (17,8-24,1)	19,5 (17,6-22,5)
В-лимфоциты с фенотипом (CD 45⁺CD3⁺CD19⁺CD5⁺CD27⁻), негативные по CD27, 10⁶ кл/л B lymphocytes with phenotype (CD 45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD5 ⁺ CD27 ⁻), negative for CD27, 10 ⁶ cells/L	36,5 (34,5-42,6)	45,6 (38,4-52,3)	39,4 (35,4-42,9)
В-лимфоциты с фенотипом (CD45⁺CD3⁺CD19⁺CD5⁻CD27⁻), негативные по CD27, 10⁶ кл/л B-lymphocytes with phenotype (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD5 ⁻ CD27 ⁻), negative for CD27, 10 ⁶ cells/L	74,6 (65,3-84,2)	68,3 (57,6-82,1)	77,4 (68,4-91,4)
IL-10 (пг/мл) IL-10 (pg/mL)	28,4 (23,6-34,2)	17,5 (15,4-22,4)*	15,2 (12,0-16,3)*

Примечание. Достоверность различий (p) – критерий Манна–Уитни; * – значимые различия с группой 1.

Note. Significance of differences (p), Mann–Whitney test; *, significant differences with group 1.

нормальной линии В-клеток человека. CD27-позитивные В-лимфоциты характеризуются следующими критериями: с точки зрения физических свойств CD27⁺В-клетки образуют популяцию с увеличенным размером клеток в сочетании со сниженной плотностью клеток; экспрессия CD27 тонзиллярными В-лимфоцитами положительно коррелирует с mIgA; маркер CD27 на В-клетках может быть избирательно индуцирован комбинацией золотистого стафилококка и IL-2; CD27⁺ В-лимфоциты экспрессируют высокие уровни адгезивных структур LFA-1 (CD11a), ICAM-1 (CD54), LFA-3 (CD58) и CD44, что в целом свидетельствует о том, что CD27⁺В-клетки играют важнейшую роль в механизмах межклеточного взаимодействия.

Наличие фенотипического разнообразия В-лимфоцитов вносит значимый вклад в структуру сложных регуляторных взаимоотношений между В-клетками и Tregs. С одной стороны, Tregs подавляют гуморальный иммунитет путем ингибирования В-клеток, с другой стороны, В-клетки могут регулировать пролиферацию наивных CD4⁺T-клеток путем презентации антигена и ко-стимулирующих молекул, а также пролиферацию и функцию Tregs [14].

Показано, что недавно идентифицированное подмножество Tregs без экспрессии FoxP3, но также обладающих регуляторными свойствами, индуцируется наивными В-клетками и носит название Treg-of-В-клетки. Treg-of-В-клетки выполняют свои функции в основном, посредством межклеточного контакта и обладают протекторными свойствами в отношении аутоагрессии [6].

IL-10, повышенный уровень которого мы зафиксировали в группе ветеранов УСВО, является определяющим функциональным признаком Bregs, но не является адекватным маркером для идентификации данных клеток. Фактически, Bregs мыши и человека не имеют надежных поверхностных маркеров или биомаркеров с ограниченным происхождением, сопоставимых с

FoxP3 в Tregs, таким образом, иммунная регуляция Bregs остается неясной. В настоящее время, репортерные мыши eGFP, которые экспрессируют eGFP под контролем промотора IL-10, используются для идентификации Breg, продуцирующих IL-10 [11].

Ряд исследователей полагает, что Bregs могут находиться в реактивном состоянии и все В-клетки обладают потенциалом продуцировать IL-10 в определенных условиях [17]. Роль Bregs в аутоиммунитете не имеет ничего общего с выработкой аутоантител, но тесно связана с секрецией цитокинов, таких как IL-35, IL-10 и TGF-β. Экспрессия факторов транскрипции, таких как Blimp-1 и факторов, индуцируемых гипоксией (HIFs), повышена в Bregs. Blimp-1 подавляет экспрессию IL-10, в то время как Blimp-1 с активированным STAT3 усиливает IL-10 [18]. Кроме того, HIF, как критические факторы транскрипции, опосредующие метаболизм и функции иммунных клеток, контролируют экспрессию IL-10 в Breg [9]. Также известно, что Treg-of-В-клетки могут продуцировать высокие уровни IL-10, который важен для подавления эффекторных Т-клеток [12].

Заключение

Таким образом, установленное нами фенотипическое разнообразие субпопуляций В-лимфоцитов у ветеранов с наличием посттравматического стрессового расстройства характеризуется повышением в циркуляции В-лимфоцитов с молекулами CD5 и CD27, на фоне общего снижения В-клеток памяти, что свидетельствует о возможной аутоиммунной направленности нейровоспалительных процессов на территории головного мозга, связанных как со стресс-индуцируемым повышением проницаемости гемато-энцефалического барьера, так и с необходимостью контроля за избыточной активацией иммунокомпетентных клеток.

Список литературы / References

1. Верзакова Ю.А., Гиршфельд В.А. Изменение иммунного статуса в условиях стресса // Международный студенческий научный вестник, 2019. № 3. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://eduherald.ru/ru/article/view?id=19623>. [Verzakova Yu.A., Girshfeld V.A. Changes in immune status under stress. *Mezhdunarodnyy studencheskiy nauchnyy vestnik = International Student Scientific Bulletin*, 2019, no. 3. [Electronic resource]. Access mode: <https://eduherald.ru/ru/article/view?id=19623>. (In Russ.)]
2. Зурочка А.В., Хайдуков С.В., Кудрявцев И.В., Черешнев В.А. Проточная цитометрия в биомедицинских исследованиях. Екатеринбург: РИО УрО РАН, 2018. 720 с. [Zurochka A.V., Khaidukov S.V., Kudryavtsev I.V.,

Chereshnev V.A. Flow cytometry in biomedical research]. Ekaterinburg: RIO, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 2018. 720 p.

3. Колов С.А. Особенности посттравматического стрессового расстройства у комбатантов // Тюменский медицинский журнал, 2011. № 1. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-posttravmaticheskogo-stressovogo-rasstroystva-u-kombatantov>. [Kolov S.A. Features of post-traumatic stress disorder in combatants. *Tyumenskiy meditsinskiy zhurnal = Tyumen Medical Journal*, 2011, no. 1. [Electronic resource]. Access mode: <https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-posttravmaticheskogo-stressovogo-rasstroystva-u-kombatantov>. (In Russ.)]

4. Крюков Е.В., Шамрей В.К. Военная психиатрия в XXI веке: современные проблемы и перспективы развития. СПб.: СпецЛит, 2022. 367 с. [Kryukov E.V., Shamrey V.K. Military psychiatry in the 21st century: modern problems and development prospects]. St. Petersburg: SpetsLit, 2022. 367 p.

5. Посттравматическое стрессовое расстройство в парадигме доказательной медицины: патогенез, клиника, диагностика и терапия: методические рекомендации / авторы-сост.: А.В. Васильева, Т.А. Караваяева, Н.Г. Незнанов, К.А. Идрисов, Д.В. Ковлен, Н.Г. Пономаренко, Д.С. Радионов, Д.А. Старунская, Ю.С. Шойгу. СПб.: НМИЦ ПН им. В.М. Бехтерева, 2022. 33 с. [Post-traumatic stress disorder in the paradigm of evidence-based medicine: pathogenesis, clinical picture, diagnosis and therapy: guidelines / authors: A.V. Vasilyeva, T.A. Karavaeva, N.G. Neznanov, K.A. Idrisov, D.V. Kovlen, N.G. Ponomarenko, D.S. Radionov, D.A. Starunskaya, Yu.S. Shoigu]. St. Petersburg: V. Bekhterev National Medical Research Center for PN, 2022. 33 p.

6. Hasan M.M., Thompson-Snipes L., Klintmalm G., Demetris A.J., O'Leary J., Oh S., Joo H. CD24^{hi}CD38^{hi} and CD24^{hi}CD27⁺ Human Regulatory B Cells Display Common and Distinct Functional Characteristics. *J. Immunol.*, 2019, Vol. 203, no. 8, pp. 2110-2120.

7. Kim J., Yoon S., Lee S., Hong H., Ha E., Joo Y., Lee E.H., Lyoo I.K. A double-hit of stress and low-grade inflammation on functional brain network mediates posttraumatic stress symptoms. *Nat. Commun.*, 2020, no. 11, 1898. doi: 10.1038/s41467-020-15655-5.

8. Li Z., Zhu Y., Kang Y., Qin S., Chai J. Neuroinflammation as the underlying mechanism of postoperative cognitive dysfunction and therapeutic strategies. *Front. Cell. Neurosci.*, 2022, no. 16, 843069. doi: 10.3389/fncel.2022.843069.

9. Meng X., Grötsch B., Luo Y., Knaup K.X., Wiesener M.S., Chen X.X. Hypoxia-inducible factor-1 α is a critical transcription factor for IL-10-producing B cells in autoimmune disease. *Nat. Commun.*, 2018, no. 9 (1), 251. doi: 10.1038/s41467-017-02683-x.

10. Neu S.D., Dittel B.N. Characterization of definitive regulatory B cell subsets by cell surface phenotype, Function and Context. *Front. Immunol.*, 2021, no.12, 787464. doi: 10.3389/fimmu.2021.787464.

11. Piper C.J.M., Rosser E.C., Oleinika K., Nistala K., Krausgruber T., Rendeiro A.F. Aryl hydrocarbon receptor contributes to the transcriptional Program of IL-10-producing regulatory B cells. *Cell Rep.*, 2019, no. 29 (7), pp. 18781878-18781892.

12. Shao T., Hsu L., Chien C., Chiang B. Novel Foxp3(-) IL-10(-) regulatory T-cells induced by B-cells alleviate intestinal inflammation in vivo. *Sci. Rep.*, 2016, no. 6, 32415. doi:10.1038/srep32415.

13. Simon Q., Pers J.O., Cornec D., Le Pottier L., Mageed R.A., Hillion S. In-depth characterization of CD24(high)CD38(high) transitional human B cells reveals different regulatory profiles. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2016, no. 137 (5), pp. 1577-1584.e10.

14. Tan D., Yin W., Guan F., Zeng W., Lee P., Candotti F., James L.K., Saraiva Camara N.O., Haeryfar S.M.M., Chen Y., Benlagha K., Shi L.Z., Lei J., Gong Q., Liu Z., Liu C.B cell-T cell interplay in immune regulation: A focus on follicular regulatory T and regulatory B cell functions. *Front. Cell. Dev. Biol.*, 2022, no. 10, 991840. doi: 10.3389/fcell.2022.991840.

15. Tan S., Pan S., Wei L., Chen W., Pan B., Kong G., Chen J., Xie Y. Association of peripheral B cells and delirium: combined single-cell sequencing and Mendelian randomization analysis. *Front. Neurol.*, 2024, no. 15, 1343726. doi: 10.3389/fneur.2024.1343726.

16. Tsai D.Y., Hung K.H., Chang C.W., Lin K.I. Regulatory mechanisms of B cell responses and the implication in B cell-related diseases. *J. Biomed. Sci.*, 2019, no. 26, 64. doi: 10.1186/s12929-019-0558-1.

17. Wang Y., Zhang W., Lim S.M., Xu L., Jin, J.O. Interleukin-10-Producing B cells help suppress ovariectomy-mediated osteoporosis. *Immune Netw.*, 2020, no. 20 (6), e50. doi:10.4110/in.2020.20.e50.
18. Wang Y.H., Tsai D.Y., Ko Y.A., Yang T.T., Lin I.Y., Hung K. H. Blimp-1 contributes to the development and function of regulatory B cells. *Front. Immunol.*, 2019, no. 10, 1909. doi:10.3389/fimmu.2019.01909.

Авторы:

Пашнин С.Л. — врач-нейрохирург, заслуженный врач РФ, заведующий отделением нейрохирургии ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», г. Челябинск, Россия

Давыдова Е.В. — д.м.н., доцент, профессор кафедры медицинской реабилитации и спортивной медицины ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; заведующая отделением ранней медицинской реабилитации ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», г. Челябинск, Россия

Authors:

Pashnin S.L., Neurosurgeon, Honored Physician of the Russian Federation, Head, Department of Neurosurgery, Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russian Federation

Davydova E.V., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Professor, Department of Medical Rehabilitation and Sports Medicine, South Ural State Medical University; Head, Department of Early Medical Rehabilitation, Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russian Federation

Поступила 31.03.2024

Отправлена на доработку 01.04.2024

Принята к печати 11.04.2024

Received 31.03.2024

Revision received 01.04.2024

Accepted 11.04.2024

ИММУННЫЕ ФАКТОРЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ВЫРАЖЕННОЙ НЕГАТИВНОЙ СИМПТОМАТИКОЙ И ТЯЖЕСТЬЮ ШИЗОФРЕНИИ

Малашенкова И.К.^{1,2,3}, Крынский С.А.^{1,3}, Огурцов Д.П.^{1,2},
Хайлов Н.А.¹, Ратушный А.Ю.⁴, Филиппова Е.А.¹,
Мельникова В.Д.^{1,5}, Кайдан М.А.³, Костюк Г.П.³, Дидковский Н.А.²

¹ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

² ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины» Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

³ ГБУЗ города Москвы «Психиатрическая клиническая больница № 1 имени Н.А. Алексеева» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

⁴ ФГБУН «Государственный научный центр Российской Федерации «Институт медико-биологических проблем Российской академии наук», Москва, Россия

⁵ ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

Резюме. Шизофрения – тяжелое инвалидизирующее и клинически гетерогенное заболевание, которое проявляется нарушениями мышления, мотивационной и эмоциональной сферы. Негативные симптомы шизофрении проявляются в снижении выраженности эмоций, бедности речи, уходе от социальных контактов, ангедонии. Они плохо поддаются терапии, и их тяжесть оказывает наиболее существенное влияние на функционирование и качество жизни больных. Изменения системного иммунитета при шизофрении с выраженными негативными симптомами малоизучены. Ранее мы показали взаимосвязь повышенного сывороточного уровня противовоспалительного цитокина интерлейкина-10 (IL-10) с тяжестью негативных симптомов по данным шкалы NSA-4 и с морфометрическими изменениями головного мозга при шизофрении. Целью данной работы было исследование связи ряда параметров системного иммунитета (регуляторных и провоспалительных цитокинов и показателей клеточного иммунитета) с выраженностью негативных симптомов и тяжестью шизофрении. В исследование вошли 94 больных с шизофренией, проходивших лечение в ГБУЗ «Психиатрическая клиническая больница № 1 им. Н.А. Алексеева» ДЗМ, 66 из которых имели выраженные негативные симптомы. Контрольную группу составили 24 здоровых добровольца. Для определения цитокинов

Адрес для переписки:

Малашенкова Ирина Константиновна
Национальный исследовательский центр
«Курчатовский институт»
123182, Россия, Москва, пл. академика Курчатова, 1.
Тел.: 8 (916) 935-73-09.
E-mail: malashenkova.irina@bk.ru

Address for correspondence:

Irina K. Malashenkova
National Research Center “Kurchatov Institute”
1 Acad. Kurchatov Sq
Moscow
123182 Russian Federation
Phone: +7 (916) 935-73-09.
E-mail: malashenkova.irina@bk.ru

Образец цитирования:

И.К. Малашенкова, С.А. Крынский, Д.П. Огурцов,
Н.А. Хайлов, А.Ю. Ратушный, Е.А. Филиппова,
В.Д. Мельникова, М.А. Кайдан, Г.П. Костюк,
Н.А. Дидковский «Иммунные факторы,
ассоциированные с выраженной негативной
симптоматикой и тяжестью шизофрении»
// Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27,
№ 3. С. 595-604.
doi: 10.46235/1028-7221-16931-IFA

© Малашенкова И.К. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

I.K. Malashenkova, S.A. Krynskiy, D.P. Ogurtsov,
N.A. Khailov, A.Yu. Ratushnyy, E.A. Filippova,
V.D. Melnikova, M.A. Kaydan, G.P. Kostyuk, N.A. Didkovsky
“Immune factors associated with prominent negative symptoms
and disease severity in schizophrenia”, Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024,
Vol. 27, no. 3, pp. 595-604.
doi: 10.46235/1028-7221-16931-IFA

© Malashenkova I.K. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16931-IFA

использовали ИФА и мультиплексный анализ, для определения параметров клеточного иммунитета — многоцветную проточную цитофлуориметрию. Уровень циркулирующих иммунных комплексов определяли методом иммунного турбодиметрического анализа. Для оценки нормальности распределения использовался тест Шапиро—Уилка. Результаты по иммунологическим параметрам и клиническим показателям представлены в виде средних с 95%-ным доверительным интервалом; значимость различий оценивалась с помощью критерия Стьюдента. Для выявления различий по частоте признаков применялся точный критерий Фишера. Различия между показателями считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Результаты исследования показали, что у большинства больных шизофренией независимо от выраженности негативной симптоматики отмечалось повышение содержания цитокина IL-8. Показано, что выраженность негативной симптоматики ассоциировалась с повышением уровней цитокинов IL-10, IL-12p40, IL-17E/IL-25 и IL-34. При оценке показателей клеточного иммунитета выявлено, что у больных с выраженной негативной симптоматикой имел место более высокий уровень CD3⁺CD19⁺В-клеток по сравнению с контрольной группой и другие изменения, которые с учетом особенностей цитокинового профиля указывают на возможную активацию у них В-клеточного звена гуморального иммунитета. Полученные в данной работе данные свидетельствуют, что у больных шизофренией с выраженной негативной симптоматикой и тяжелым течением имеет место активация иммунорегуляторных и Th2-механизмов. Результаты способствуют пониманию роли нарушений иммунитета в патогенезе различных клинических форм шизофрении.

Ключевые слова: иммунорегуляция, IL-10, клеточный иммунитет, негативные симптомы, цитокины, шизофрения

IMMUNE FACTORS ASSOCIATED WITH PROMINENT NEGATIVE SYMPTOMS AND DISEASE SEVERITY IN SCHIZOPHRENIA

Malashenkova I.K.^{a, b, c}, Krynskiy S.A.^{a, c}, Ogurtsov D.P.^{a, b}, Khailov N.A.^a, Ratushnyy A.Yu.^d, Filippova E.A.^a, Melnikova V.D.^{a, e}, Kaydan M.A.^c, Kostyuk G.P.^c, Didkovsky N.A.^b

^a National Research Center “Kurchatov Institute”, Moscow, Russian Federation

^b Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine, Federal Medical and Biological Agency, Moscow, Russian Federation

^c N. Alekseev Psychiatric Clinical Hospital No. 1, Moscow, Russian Federation

^d Russian State Research Center “Institute of Biomedical Problems”, Moscow, Russian Federation

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

Abstract. Schizophrenia is a severely disabling and clinically heterogeneous disease that manifests with disorders of thinking, motivation and emotions. Negative symptoms of schizophrenia include decreased expression of emotions, poverty of speech, withdrawal from social contacts, anhedonia. They poorly respond to therapy, and their severity has the most significant impact on the functioning and quality of life of patients. Changes in systemic immunity in schizophrenia with pronounced negative symptoms are poorly studied. We have previously shown the relationship of elevated levels of interleukin-10 (IL-10) with the severity of negative symptoms and with morphometric changes in the brain in schizophrenia. The aim of this study was to investigate the relationship of a number of systemic immunity parameters (regulatory and proinflammatory cytokines and indicators of cell immunity) with the severity of negative symptoms and the disease severity in schizophrenia. The study included 94 patients treated in the Psychiatric Clinical Hospital No. 1 named after N.A. Alekseev, 66 of whom had pronounced negative symptoms. The control group consisted of 24 healthy volunteers. ELISA and multiplex analysis were used to determine cytokine levels, and multicolour flow cytometry was used to determine the parameters of cellular immunity. The level of circulating immune complexes was determined by immune turbidimetric analysis. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$. The results of the study showed that the majority of schizophrenia patients, regardless of the severity of negative symptoms, had an increase in the levels of cytokine IL-8. It was shown that the

severity of negative symptoms was associated with increased levels of cytokines IL-10, IL-12p40, IL-17E/IL-25 and IL-34. It was also revealed that patients with pronounced negative symptoms had a higher level of CD3⁺CD19⁺B cells compared to the control group, which, taking into account the changes of the cytokine profile, indicate possible activation of the B cell link of humoral immunity. The data obtained in this work indicate that in schizophrenia with pronounced negative symptoms and severe course of the disease, there is activation of immunoregulatory and Th2-mechanisms. The results contribute to the understanding of the role of immunity disorders in the pathogenesis of various clinical forms of schizophrenia.

Keywords: cell immunity, cytokines, immune regulation, IL-10, negative symptoms, schizophrenia

Данная работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт» и частично – при поддержке Российского научного фонда (проект № 20-15-00299).

Введение

Шизофрения – тяжелое инвалидирующее и клинически гетерогенное заболевание, которое проявляется нарушениями мышления, мотивационной и эмоциональной сферы. Клиника шизофрении включает в себя несколько основных синдромов: позитивный (бред, галлюцинации), когнитивный (дефицит памяти и исполнительных функций), негативный и другие. Негативные симптомы уже давно признаны основным признаком шизофрении, они проявляются в снижении выраженности эмоций, набора слов, бедности речи и спонтанности, в уходе от социальных контактов, ангедонии (снижение или невозможность испытывать удовольствие или предвкушать его), а также в избегании деятельности из-за снижения мотивации. Тяжесть негативных симптомов оказывает наиболее существенное влияние на реальное функционирование и качество жизни и мешает пациенту поддерживать социальную активность, личные отношения, работать, учиться и даже жить независимо [8, 12]. Надо подчеркнуть, что негативные симптомы плохо контролируются современными медикаментами, в мире ведутся активные поиски препаратов, влияющих на различные нейротрансмиттеры и их рецепторы и имеющих потенциальные возможности уменьшить тяжесть негативных симптомов [4].

Патогенез шизофрении сложный и многофакторный, включает в себя генетическую предрасположенность, пренатальную иммунную активацию и преморбидное воспаление, в том числе ассоциированное с инфекциями, а также влияние повреждающих факторов внешней среды. Показано, что нейровоспаление, системное воспаление и активация иммунной системы играют важную роль в развитии шизофрении [2, 9]. Генетические и приобретенные особенности им-

мунитета могут по-разному сочетаться у больных шизофренией, создавая различные иммунные паттерны, которые, по-видимому, могут вносить свой вклад в клиническую картину болезни и морфологические изменения мозга. Изменения системного иммунитета при шизофрении с выраженными негативными симптомами малоизучены. Ранее мы показали взаимосвязь повышенного сывороточного уровня противовоспалительного цитокина интерлейкина-10 (IL-10) с тяжестью негативных симптомов по данным шкалы NSA-4 и с выраженностью морфометрических изменений головного мозга у больных шизофренией [6]. IL-10 необходим для нормальной регуляции иммунного ответа и воспаления, является важным противовоспалительным модулятором глиальной активации, предотвращающим опосредованную воспалением гибель нейронов [10].

Целью данной работы было исследование связи уровня ряда параметров системного иммунитета (регуляторных и провоспалительных цитокинов и показателей клеточного иммунитета) с выраженностью негативных симптомов и тяжестью шизофрении.

В исследование вошли 94 больных с шизофренией, проходивших лечение в ГБУЗ «Психиатрическая клиническая больница № 1 им. Н.А. Алексеева» ДЗМ (52 мужчины, 42 женщины, средний возраст $28,4 \pm 1,3$ года). Контрольную группу составили 24 здоровых добровольца (9 мужчин, 15 женщин, средний возраст – $26,6 \pm 1,8$ года). Диагноз «шизофрения» устанавливался в соответствии с диагностическими критериями заболевания (F20) Международной классификации болезней десятого пересмотра (МКБ-10). В качестве критериев исключения выступали: обострение соматических заболеваний на момент обследования, признаки злоупотребления алкоголем и/или другими психоактивными веществами, наличие других психических заболеваний, обострение инфекционных, воспалительных и аутоиммунных заболеваний в течение 2 месяцев до обследования, беременность. Взятие крови у пациентов проводилось в первые дни госпитали-

зации после редукции позитивной симптоматики под влиянием терапии антипсихотическими препаратами. Добровольцы контрольной группы не имели признаков психических расстройств и родственников с шизофренией или другими психическими заболеваниями.

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (протокол № 5 от 05.04.2017). Все участники были ознакомлены с деталями исследования и подписали добровольное информированное согласие, а также согласие на обработку персональных данных.

Для определения концентрации цитокинов IL-1, IL-8, интерферона- γ (IFN γ), IL-10 в сыворотке крови использовали иммуноферментный анализ (реактивы производства АО «Вектор-Бест», Россия). Для определения концентрации цитокинов IL-4, IL-5, IL-13, IL-15, IL-22, IL-12p40, IL-17E/IL-25, IL-34 в сыворотке крови использовали мультиплексный анализ (Merck Millipore, Германия). Исследования выполнялись согласно методическим рекомендациям производителей наборов реагентов.

Для определения показателей клеточного иммунитета использовали метод многоцветной проточной цитофлуориметрии. Применяли моноклональные антитела производства Becton Dickinson, США к кластерам дифференцировки (CD): CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD45, CD56, HLA-DR (Becton Dickinson, США). Анализ окрашенных клеток проводился на проточном цитофлуориметре FACS CantoII (Becton Dickinson, США).

Уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови определяли методом иммунного турбодиметрического анализа с использованием коммерческих наборов «ЦИК-ХЕМА» (ООО «Хема», Россия).

Для статистической обработки использовалось программное обеспечение Excel (Microsoft, США) и Statistica (StatSoft Inc., США). Для оценки нормальности распределения использовался тест Шапиро–Уилка. Результаты по иммунологическим параметрам и клиническим показателям представлены в виде средних с 95%-ным доверительным интервалом; значимость различий оценивалась с помощью критерия Стьюдента. Для выявления различий по частоте признаков применялся точный критерий Фишера. Различия между показателями считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Клиническая оценка показала, что в 66 случаях имело место тяжелое течение заболевания, характеризовавшееся преобладанием в клинической картине негативной симптоматики. У 28

больных отмечалось более легкое течение с преобладанием в клинической картине позитивной симптоматики. В таблице 1 представлены клинические показатели больных с шизофренией в зависимости от характера течения заболевания.

Согласно данным клинического обследования (см. табл. 1), у больных шизофренией с выраженной негативной симптоматикой отмечался достоверно более ранний возраст манифестного приступа, выявлялись более высокие баллы по шкале PANSS, используемой для оценки общей тяжести симптомов при шизофрении, по подшкале «Негативные симптомы» шкалы PANSS, и по шкале NSA-4, измеряющей тяжесть негативных симптомов при шизофрении. Обследование в динамике показало, что как в начале лечения, так и в конце стационарного этапа лечения у больных шизофренией с выраженной негативной симптоматикой отмечалась более высокая тяжесть позитивных, негативных и когнитивных симптомов, при этом негативные и когнитивные симптомы имели стойкий характер несмотря на лечение. Таким образом, у них отмечалось более тяжелое течение заболевания, а также была тенденция к его большей продолжительности.

В таблице 2 представлены статистически достоверные изменения содержания основных цитокинов врожденного и адаптивного иммунитета в сыворотке крови пациентов с выраженной негативной симптоматикой, отсутствием выраженной негативной симптоматики и добровольцев контрольной группы. Сывороточный уровень других исследованных цитокинов, включая Th2-цитокины IL-4 и IL-13, достоверно не отличался между группами.

Результаты, представленные в таблице 2, указывают, что у больных шизофренией независимо от выраженности негативной симптоматики отмечалось повышение содержания цитокина IL-8, что указывает на активацию системного воспалительного ответа и подтверждает ранее полученные нами данные (Malashenkova и соавт., 2021). При этом у больных шизофренией с выраженной негативной симптоматикой наблюдалось повышение по сравнению с другими больными и с контрольной группой уровня иммунорегуляторного цитокина IL-10, а также ряда других цитокинов, характеризующих активацию Th2- и иммунорегуляторных механизмов, включая цитокины IL-12p40 и IL-17E/IL-25.

IL-25, также известный как IL-17E, представляет собой цитокин, принадлежащий к семейству IL-17. IL-25 обильно экспрессируется Th2-лимфоцитами и эпителиальными клетками. IL-25 представляет собой сигнал тревоги, генерируемый при повреждении клеток или тканей для активации иммунных клеток посредством взаи-

модействия с рецепторами IL-17RA и IL-17RB. Связывание IL-25 с комплексом IL-17RA/IL-17RB не только инициирует и поддерживает иммунитет 2-го типа, но также оказывает иммунорегуляторное действие на другие иммунные клетки (например, макрофаги и тучные клетки) посредством различных сигнальных путей [13]. В то же время в зависимости от микроокружения IL-25 может активировать ряд провоспалительных сигнальных путей, включая пути NF- κ B, MAPK и JAK. IL-25, секретируемый некоторыми типами клеток (например, Th2 лимфоциты и различные эпителиальные клетки) способен индуцировать иммунными клетками высвобождение провоспалительных цитокинов, что в дальней-

шем способствует развитию различных воспалительных заболеваний [13].

Отметим, что связь повышенного уровня IL-10 и IL-12p40 с выраженностью негативной симптоматики выявлялась нами ранее на меньшем числе больных [7].

Кроме того, у больных с выраженной негативной симптоматикой обнаруживалось повышение по сравнению с контрольной группой содержания цитокина IFN γ – важного медиатора воспаления и противовирусного иммунного ответа. Отметим, что ранее нами была показана сильная положительная корреляция уровня IFN γ с выраженностью негативной симптоматики у больных

ТАБЛИЦА 1. КЛИНИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ С ВЫРАЖЕННОЙ НЕГАТИВНОЙ СИМПТОМАТИКОЙ (n = 66) И ОТСУТСТВИЕМ ВЫРАЖЕННОЙ НЕГАТИВНОЙ СИМПТОМАТИКИ (n = 28)

TABLE 1. CLINICAL PARAMETERS OF SCHIZOPHRENIA PATIENTS WITH PROMINENT NEGATIVE SYMPTOMS (n = 66) AND WITH NO PROMINENT NEGATIVE SYMPTOMS (n = 28)

Показатель Parameter	Выраженные негативные симптомы Prominent negative symptoms (n = 66)	Слабо выраженные негативные симптомы No prominent negative symptoms (n = 28)
PANSS (негативные симптомы), баллы PANSS (negative symptoms), score	27,77±1,51 p = 1,55 × 10 ⁻⁶	18,94±1,67
NSA-4, баллы NSA-4, score	22,69±0,95 p = 1,50 × 10 ⁻¹³	12,25±1,01
PANSS, баллы PANSS, score	93,61±5,29 p = 2,96 × 10 ⁻⁸	65,19±3,39
Продолжительность болезни, лет Duration of disease, years	6,62±1,34	5,33±1,81
Оценка тяжести до лечения (позитивные симптомы) Positive symptoms severity (before treatment)	5,73±0,46 p = 5,01 × 10 ⁻⁴	3,89±0,65
Оценка тяжести до лечения (негативные симптомы) Negative symptoms severity (before treatment)	4,85±0,45 p = 1,32 × 10 ⁻⁶	1,95±0,67
Оценка тяжести до лечения (когнитивные симптомы) Cognitive symptoms severity (before treatment)	3,56±0,42 p = 4,13 × 10 ⁻⁹	1,76±0,24
Оценка тяжести в конце стационарного этапа (позитивные симптомы) Positive symptoms severity (after treatment)	2,46±0,36 p = 8,36 × 10 ⁻⁴	1,00±0,32
Оценка тяжести в конце стационарного этапа (негативные симптомы) Negative symptoms severity (after treatment)	4,69±0,42 p = 5,85 × 10 ⁻¹²	1,67±0,19
Оценка тяжести в конце стационарного этапа (когнитивные симптомы) Cognitive symptoms severity (after treatment)	2,77±0,31 p = 2,66 × 10 ⁻⁵	1,44±0,19

шизофренией, имеющих 15 баллов и более по шкале NSA-4 [7].

У больных шизофренией с выраженной негативной симптоматикой по сравнению с другими больными отмечался более высокий уровень цитокина IL-22 (цитокина семейства IL-10,

играющего важную роль в механизмах иммунной защиты эпителиальных тканей), что может свидетельствовать о возможных латентных инфекциях слизистых в данной группе. По сравнению как с другими больными, так и с контрольной группой у них чаще отмечалось в сыворотке пре-

ТАБЛИЦА 2. УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ И ПАРАМЕТРЫ КЛЕТЧНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ С ВЫРАЖЕННОЙ НЕГАТИВНОЙ СИМПТОМАТИКОЙ (n = 66) И ОТСУТСТВИЕМ ВЫРАЖЕННОЙ НЕГАТИВНОЙ СИМПТОМАТИКИ (n = 28), А ТАКЖЕ У ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВ (n = 24)

TABLE 2. LEVELS OF CYTOKINES, CIRCULATING IMMUNE COMPLEXES AND PARAMETERS OF CELL IMMUNITY IN SCHIZOPHRENIA PATIENTS WITH PROMINENT NEGATIVE SYMPTOMS (n = 66) AND WITH NO PROMINENT NEGATIVE SYMPTOMS (n = 28), AND IN HEALTHY VOLUNTEERS (n = 24)

Показатель Parameter	Выраженные негативные симптомы Prominent negative symptoms (n = 66)	Слабо выраженные негативные симптомы No prominent negative symptoms (n = 28)	Здоровые добровольцы Healthy volunteers (n = 24)
IL-8, пг/мл IL-8, pg/mL	63,21±17,19 pк = 2,8 × 10 ⁻⁵	120,43±47,30 pк = 4,9×10 ⁻²	11,65±3,56
IL-10, пг/мл IL-10, pg/mL	7,910±2,041 p = 9,5 × 10 ⁻³ pк = 1,8 × 10 ⁻²	3,88±0,67	4,08±1,53
IL-12 (p40), пг/мл IL-12 (p40), pg/mL	34,21±7,16 p = 1,1 × 10 ⁻² pк = 1,4 × 10 ⁻²	19,39±5,35	21,85±3,14
IL-22, пг/мл IL-22, pg/mL	14,43±2,11 p = 2,4 × 10 ⁻²	10,60±1,35	19,06±8,30
IL-17E/IL-25, пг/мл IL-17E/IL-25, pg/mL	207,59±32,17 p = 1,0 × 10 ⁻³ pк = 9,7 × 10 ⁻³	122,00±19,61	147,29±17,59
IL-34, пг/мл IL-34, pg/mL	Детектируемый уровень у 24 из 66 Detectable level for 24 out of 66 p = 1,1 × 10 ⁻² pк = 3,9 × 10 ⁻²	Детектируемый уровень у 2 из 28 Detectable level for 2 out of 28	Детектируемый уровень у 2 из 24 Detectable level for 2 out of 24
IFN γ , пг/мл IFN γ , pg/mL	97,61±31,89 pк = 4,3 × 10 ⁻²	74,41±36,71	48,06±31,56
Циркулирующие иммунные комплексы, у. е. Circulating immune complexes, units	135,53±18,82 p = 4,9 × 10 ⁻⁴ pк = 2,4 × 10 ⁻⁷	90,39±15,30	73,73±12,43
CD3 ⁺ T-лимфоциты, % CD3 ⁺ T cells, %	73,35±1,56 p = 4,5 × 10 ⁻²	76,56±2,33	74,68±2,28
CD3 ⁺ CD4 ⁻ CD8 ⁻ двойные негативные T-клетки, % CD3 ⁺ CD4 ⁻ CD8 ⁻ double negative T cells, %	4,28±0,51 p = 3,3 × 10 ⁻²	3,31±0,39	3,60±0,56
TCR $\gamma\delta$ (T-клеточный рецептор $\gamma\delta$), % $\gamma\delta$ T cells, %	5,08±0,66 p = 3,2 × 10 ⁻³	3,35±0,57	5,03±1,41
CD3 ⁺ CD19 ⁺ B-клетки, % CD3 ⁺ CD19 ⁺ B cells, %	12,32±1,02 pк = 3,4 × 10 ⁻²	10,75±1,36	10,44±1,15
HLA-DR ⁺ активированные лимфоциты, % HLA-DR ⁺ activated lymphocytes, %	17,10±1,18 p = 2,2 × 10 ⁻²	14,57±1,52	16,78±2,11

вышающее минимально детектируемый уровень (> 248 пг/мл) содержание IL-34.

Интерлейкин-34 (IL-34) – недавно идентифицированный интерлейкин, который функционально подобен колониестимулирующему фактору макрофагов (M-CSF), стимулирует и поддерживает выживание, дифференцировку, миграцию и функцию различных миелоидных мононуклеарных клеток и макрофагов. Эти клетки экспрессируют рецептор IL-34 – рецептор колониестимулирующего фактора-1 (CSF1R, CD115). IL-34 связывается с CSF1R, а затем привлекает макрофаги и моноциты, которые секретируют TNF и IL-6, чтобы инициировать врожденный или адаптивный иммунный ответ. Высокий уровень IL-34 в сыворотке крови наблюдался при многих воспалительных и аутоиммунных заболеваниях, что связано с уникальной провоспалительной ролью IL-34 в иммунных реакциях. Кроме того, IL-34 считается провоспалительным цитокином при антивирусной инфекции. Тем не менее IL-34 также оказывает иммуносупрессивное действие, стимулируя функции Treg, которые выполняют иммунорегуляторную роль [5]. Он участвует в поддержании и дифференцировке гематopoэтических клеток, обладает провоспалительными свойствами, способствуя нейрогенезу и поддерживая выживание клеток микроглии. Роль IL-34 в патогенезе шизофрении не изучена, по-видимому, этот цитокин может играть двоякую роль: в зависимости от микроокружения, он может способствовать нейровоспалению или индуцировать противовоспалительный фенотип микроглии, а также оказывать нейропротективное действие [1]. Отметим, что у больных шизофренией с выраженными негативными симптомами нами было выявлено более высокое содержание моноцитов, чем при отсутствии выраженной негативной симптоматики ($8,22 \pm 0,46\%$; $7,1 \pm 0,77\%$; $p = 0,022$). С учетом полученных данных можно предполагать, что ряд изменений цитокинового профиля у данных больных, включая повышение уровня IL-10 и IL-34, могут быть связаны с хронической активацией моноцитов и увеличением числа IL-10-продуцирующих моноцитов, что может быть связано с хроническими инфекциями и требует подтверждения в дальнейших исследованиях.

Оценка показателей клеточного иммунитета показала, что у больных с выраженной негативной симптоматикой имел место более высокий уровень CD3⁺CD19⁺В-клеток по сравнению с контрольной группой и более низкий уровень CD3⁺Т-клеток по сравнению с другими больными (табл. 2). Также у них отмечалось более высокое содержание $\gamma\delta$ Т-клеток и двойных негативных Т-клеток (CD3⁺CD4⁺CD8⁻) по сравнению с

другими больными. Циркулирующие в крови $\gamma\delta$ Т-клетки по своим функциям примыкают к клеткам системы антигеннезависимой цитотоксичности, важны для иммунной защиты слизистых, участвуя в противоинфекционном иммунитете, а также могут выполнять иммунорегуляторные функции. У больных с выраженной негативной симптоматикой по сравнению с другими больными также было более высоким содержание HLA-DR⁺ экспрессирующих лимфоцитов, что может указывать на более выраженную активацию лимфоцитов или быть связано с более высоким содержанием В-клеток. Другие изученные показатели клеточного иммунитета у больных шизофренией не отличались от значений контрольной группы. Выявленные изменения с учетом особенностей цитокинового профиля указывают на возможную активацию у больных с выраженной негативной симптоматикой В-клеточного звена гуморального иммунитета. Это подтверждается более высоким содержанием у данных больных циркулирующих иммунных комплексов.

Ранее нами было установлено, что иммунологический профиль, характеризуемый повышением содержания IL-10 и IL-12p40 при умеренных признаках системного воспаления, ассоциирован у больных шизофренией с наличием выраженных негативных симптомов согласно шкале NSA-4 [7]. По данным других авторов, активация иммунорегуляторных механизмов и Th2-звена иммунитета имеет место при различных клинических формах шизофрении и имеет ассоциации с формированием личностного дефекта, нарушений семантической и эпизодической памяти [11]. При этом результаты фундаментальных исследований указывают на роль дисбаланса иммунного ответа в ЦНС с преобладанием продукции Th2-цитокинов в патогенезе нарушений обмена нейромедиаторов при шизофрении, связанных с патогенезом негативной симптоматики у больных [3]. Полученные в данной работе данные указывают, что у больных шизофренией с выраженной негативной симптоматикой и тяжелым течением имеет место активация иммунорегуляторных и Th2-механизмов, включая повышение уровня цитокинов IL-10, IL-22, IL-17E/IL-25, IL-34, IL-12p40, увеличение содержания CD3⁺CD19⁺В-клеток и циркулирующих иммунных комплексов.

В частности, обращал на себя внимание более высокий уровень цитокина IL-12 p40 у больных с выраженной негативной симптоматикой. Мономер IL-12p40 проявляет антагонистическое действие по отношению к димерному цитокину IL-12p40p70. Цитокин IL-12 продуцируется макрофагами, запускает синтез IFN γ и играет важную роль в активации обеспечивающих

противовирусный иммунитет Th1 Т-хелперов и провоспалительных Th17 Т-хелперов. Мономер IL-12p40, противодействуя активности димерного IL-12, способствует активации Th2-звена иммунитета и иммунорегуляторных механизмов, угнетая Th1 и Th17 звенья адаптивного иммунного ответа.

Отметим, что ранее нами были выявлены ассоциации между уровнем цитокина IL-10, носительством аллели А по SNP IL10 G-1082A и нейродегенеративными изменениями лобной коры мозга при шизофрении [6], а также связь между морфометрическими изменениями лобной коры и выраженностью негативной симптоматики при шизофрении [7].

Таким образом, в результате данной работы установлен комплекс показателей иммунитета

(сывороточный уровень иммунорегуляторных цитокинов IL-10, IL-12p40, IL-17E/IL-25, IL-22, повышение содержания CD3⁺CD19⁺В-клеток и циркулирующих иммунных комплексов), ассоциированных с высокой выраженностью негативной симптоматики в клинической картине шизофрении. Полученные новые данные способствуют пониманию роли нарушений иммунорегуляторного и Th2-звена иммунитета в патогенезе различных клинических форм шизофрении. Необходимо подтверждение полученных результатов в более крупных исследованиях и последующее изучение возможности их трансляции в клиническую практику, включая прогнозирование характера течения заболевания и поиск новых мишеней терапии.

Список литературы / References

1. Baghdadi M., Umeyama Y., Hama N., Kobayashi T., Han N., Wada H., Seino K.I. Interleukin-34, a comprehensive review. *J. Leukoc. Biol.*, 2018, Vol. 104, no. 5, pp. 931-951.
2. Goldsmith D.R., Rapaport M.H., Miller B.J. A meta-analysis of blood cytokine network alterations in psychiatric patients: comparisons between schizophrenia, bipolar disorder and depression. *Mol. Psychiatry*, 2016, Vol. 21, no. 12, pp. 1696-1709.
3. Flis M., Szymona K., Moryłowska-Topolska J., Urbańska A., Krukow P., Kandefier-Szerszeń M., Zdzisińska B., Urbańska E.M., Karakuła-Juchnowicz H. Koncepcja kynureninowa – nowe spojrzenie na etiopatogenezę i leczenie schizofrenii. *Pol. Merkur. Lekarski (Polish)*, 2016, Vol. 41, no. 243, pp. 160-164.
4. Herrera-Imbroda J., Flores-López M., Ruiz-Sastre P., Gómez-Sánchez-Lafuente C., Bordallo-Aragón A., Rodríguez de Fonseca F., Mayoral-Cleries F. The inflammatory signals associated with psychosis: impact of comorbid drug abuse. *Biomedicines*, 2023, Vol. 11, no.2, 454. doi: 10.3390/biomedicines11020454.
5. Hu X., Huang F., Deng Y., Wang J., Wang J. The multifactorial roles of IL-34 in immune responses. *Ann. Blood*, 2020, Vol. 5, no. 4. doi: 10.21037/aob.2019.12.05.
6. Malashenkova I.K., Ushakov V.L., Krynskiy S.A., Ogurtsov D.P., Chekulaeva E.I., Filippova E.A., Orlov V.A., Zakharova N.V., Andreyuk D.S., Trushchelev S.A., Kostyuk G.P., Didkovsky N.A. Polymorphisms of IL10 immunoregulatory gene impact the morphometric changes of the brain in schizophrenia. *Studies in Computational Intelligence*, 2024, Vol. 1130, pp. 577-587.
7. Malashenkova I.K., Ushakov V.L., Zakharova N.V., Krynskiy S.A., Ogurtsov D.P., Hailov N.A., Chekulaeva E.I., Ratushnyy A.Y., Kartashov S.I., Kostyuk G.P., Didkovsky N.A. Neuro-immune aspects of schizophrenia with severe negative symptoms: new diagnostic markers of disease phenotype. *Sovrem. Tehnologii Med.*, 2021, Vol. 13, no. 6, pp. 24-33.
8. Marder S.R., Umbricht D. Negative symptoms in schizophrenia: Newly emerging measurements, pathways, and treatments. *Schizophr. Res.*, 2023, Vol. 258, pp. 71-77.
9. Müller N. Inflammation in schizophrenia: pathogenetic aspects and therapeutic considerations. *Schizophr. Bull.*, 2018, Vol. 44, no. 5, pp. 973-982.
10. Porro C., Cianciulli A., Panaro M.A. The regulatory role of IL-10 in neurodegenerative diseases. *Biomolecules*, 2020, Vol. 10, no 7, 1017. doi: 10.3390/biom10071017.
11. Roomruangwong C., Noto C., Kanchanatawan B., Anderson G., Kubera M., Carvalho A.F., Maes M. The role of aberrations in the Immune-Inflammatory Response System (IRS) and the Compensatory Immune-Regulatory Reflex System (CIRS) in different phenotypes of schizophrenia: the IRS-CIRS theory of schizophrenia. *Mol. Neurobiol.*, 2020, Vol. 57, no. 2, pp. 778-797.

12. Stanculete M.F., Capatina O. The many faces of negative symptoms in schizophrenia. Psychosis – phenomenology, psychopathology and pathophysiology. *Intech Open*, 2022. doi: 10.5772/intechopen.98412.
13. Yuan Q., Peng N., Xiao F., Shi X., Zhu B., Rui K., Tian J., Lu L. New insights into the function of Interleukin-25 in disease pathogenesis. *Biomark Res.*, 2023, Vol. 11, no. 1, 36. doi: 10.1186/s40364-023-00474-9.

Авторы:

Малашенкова И.К. — к.м.н., начальник лаборатории молекулярной иммунологии и вирусологии, Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»; старший научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины» Федерального медико-биологического агентства; старший научный сотрудник отдела эпидемиологии и профилактики психических расстройств НКИЦ нейропсихиатрии ГБУЗ города Москвы «Психиатрическая клиническая больница № 1 имени Н.А. Алексеева» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

Крынский С.А. — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии и вирусологии, Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»; младший научный сотрудник отдела психических расстройств при нейродегенеративных заболеваниях головного мозга НКИЦ нейропсихиатрии ГБУЗ города Москвы «Психиатрическая клиническая больница № 1 имени Н.А. Алексеева» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

Огурцов Д.П. — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии и вирусологии, Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»; научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины» Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

Хайлов Н.А. — к.м.н., старший научный сотрудник ресурсного центра молекулярной и клеточной биологии, Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

Authors:

Malashenkova I.K., PhD (Medicine), Head, Laboratory of Molecular Immunology and Virology, National Research Center “Kurchatov Institute”; Senior Research Associate, Laboratory of Clinical Immunology, Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine, Federal Medical and Biological Agency; Senior Research Associate, Department of Epidemiology and Prophylaxis of Mental Disorders, N. Alekseev Psychiatric Clinical Hospital No. 1, Moscow, Russian Federation

Krynskiy S.A., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology and Virology, National Research Center “Kurchatov Institute”; Junior Research Associate, Department of Mental Disorders in Neurodegenerative Diseases of the Brain, N. Alekseev Psychiatric Clinical Hospital No. 1, Moscow, Russian Federation

Ogurtsov D.P., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology and Virology, National Research Center “Kurchatov Institute”; Research Associate, Laboratory of Clinical Immunology, Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine, Federal Medical and Biological Agency, Moscow, Russian Federation

Khailov N.A., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology and Virology, National Research Center “Kurchatov Institute”, Moscow, Russian Federation

Ратушный А.Ю. — к.б.н., научный сотрудник ФГБУН «Государственный научный центр Российской Федерации «Институт медико-биологических проблем Российской академии наук», Москва, Россия

Филиппова Е.А. — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии и вирусологии, Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

Мельникова В.Д. — лаборант-исследователь лаборатории молекулярной иммунологии и вирусологии, Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»; студент ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

Кайдан М.А. — младший научный сотрудник лаборатории фундаментальных методов исследования ГБУЗ города Москвы «Психиатрическая клиническая больница № 1 имени Н.А. Алексеева» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

Костюк Г.П. — д.м.н., профессор, главный врач ГБУЗ города Москвы «Психиатрическая клиническая больница № 1 имени Н.А. Алексеева» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

Дидковский Н.А. — д.м.н., профессор, заведующий лабораторией клинической иммунологии ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины» Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

Ratushnyy A. Yu., PhD (Biology), Research Associate, Russian State Research Center “Institute of Biomedical Problems”, Moscow, Russian Federation

Filippova E.A., Junior Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology and Virology, National Research Center “Kurchatov Institute”, Moscow, Russian Federation

Melnikova V.D., Research Technician, Laboratory of Molecular Immunology and Virology, National Research Center “Kurchatov Institute”; Student, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Kaydan M.A., Junior Research Associate, Laboratory of Fundamental Research Methods, N. Alekseev Psychiatric Clinical Hospital No. 1, Moscow, Russian Federation

Kostyuk G.P., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Physician, N. Alekseev Psychiatric Clinical Hospital No. 1, Moscow, Russian Federation

Didkovsky N.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Clinical Immunology, Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine, Federal Medical and Biological Agency, Moscow, Russian Federation

Поступила 03.04.2024

Отправлена на доработку 04.04.2024

Принята к печати 10.04.2024

Received 03.04.2024

Revision received 04.04.2024

Accepted 10.04.2024

УЧАСТИЕ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ АУДИОГЕННОЙ ЭПИЛЕПСИИ

Сурина Н.М., Федотова И.Б., Полетаева И.И.

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

Резюме. Эпилепсия является гетерогенным заболеванием, что определяет актуальность исследования механизмов патогенеза различных ее типов, в том числе рефлекторной эпилепсии. Известно, что в основе лечения больных эпилепсией лежит фармакотерапия, однако, несмотря на значительные достижения последних лет и введение в клиническую практику ряда новых противоэпилептических препаратов, 20-30% больных остаются резистентными к используемой терапии. Актуальность создания новых противоэпилептических средств, в частности иммунных, и изучение профиля их действия обусловлено не только значимой долей случаев эпилепсии человека, не поддающихся терапии, но также и борьбой за качество жизни пациентов. Проводился анализ системы нейровоспаления у животных с разным генетически детерминированным уровнем предрасположенности к аудиогенной эпилепсии – крыс линии Крушинского–Молодкиной (тонические судороги максимальной интенсивности в ответ на действие звука) и контрольной линии «0» (несудорожный фенотип). Методом мультиплексного иммунофлуоресцентного анализа измеряли содержание провоспалительных цитокинов в дорсальном стриатуме и стволе мозга у крыс этих генетических групп. Фоновые уровни IL-1 β , IL-6 и TNF α в дорсальном стриатуме крыс КМ были достоверно ниже, чем у крыс контрольной линии «0», тогда как в стволе мозга в «фоне» уровни данных метаболитов не различались. Через 4 ч после звуковой экспозиции уровень TNF α в дорсальном стриатуме крыс КМ был достоверно ниже, чем у крыс «0». У крыс КМ после действия звука и последовавших за этим тонических судорог уровень IL-1 β и IL-6 в дорсальном стриатуме был достоверно выше фонового уровня. Содержание IL-2 у крыс линии КМ в фоне не детектировалось, тогда как после аудиогенных судорог его уровень составил 14,01 пг/мл. В стволе мозга крыс КМ уровни IL-1 β и TNF α после аудиогенных судорог были достоверно ниже, чем в фоне. У крыс линии «0» уровни цитокинов в дорсальном стриатуме после действия звука (не вызывающего у крыс данной группы аудиогенных судорог), не отличались от таковых в фоне, в то время как показатели уровня IL-1 β в стволе мозга у них были достоверно ниже фонового уровня. Предполагается модулирующая роль исследуемых цитокинов в патогенезе аудиогенной эпилепсии и возможность применения противовоспалительных и иммунных препаратов для противосудорожной и антиэпилептической терапии.

Ключевые слова: аудиогенная эпилепсия, крысы линии Крушинского–Молодкиной, крысы линии «0», судороги, цитокины, воспаление, IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF α , мультиплексный анализ

Адрес для переписки:

Сурина Наталья Михайловна
ФГБОУ ВО «Московский государственный
университет имени М.В. Ломоносова»
119234, Россия, Москва, Воробьевы горы, 1/12.
Тел.: 8 (916) 674-45-86.
E-mail: Opera_ghost@inbox.ru

Address for correspondence:

Natalia M. Surina
Lomonosov Moscow State University
1/12 Vorobyovy Gory
Moscow
119234 Russian Federation
Phone: +7 (916) 674-45-86.
E-mail: Opera_ghost@inbox.ru

Образец цитирования:

Н.М. Сурина, И.Б. Федотова, И.И. Полетаева
«Участие провоспалительных цитокинов
в патогенезе аудиогенной эпилепсии» // Российский
иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 605-612.
doi: 10.46235/1028-7221-16891-TIO

© Сурина Н.М. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

N.M. Surina, I.B. Fedotova, I.I. Poletaeva “The involvement
of proinflammatory cytokines in the pathogenesis of audiogenic
epilepsy”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 605-612.
doi: 10.46235/1028-7221-16891-TIO

© Surina N.M. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16891-TIO

THE INVOLVEMENT OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN THE PATHOGENESIS OF AUDIOGENIC EPILEPSY

Surina N.M., Fedotova I.B., Poletaeva I.I.

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Abstract. Epilepsy is a heterogeneous disease, which determines the relevance of investigating the mechanisms of pathogenesis of its various types, including reflex epilepsy. Pharmacotherapy is common for the treatment of patients with epilepsy, however, despite the significant recent achievements, 20–30% of patients remain resistant to the ongoing treatment. The urgency of creating new antiepileptic drugs, in particular, immune ones is due not only to a significant proportion of pharmacoresistant cases, but also to the struggle for the quality of life of patients. The neuroinflammation system in animals with different genetically determined audiogenic epilepsy proneness was investigated. These genetic groups were Krushinsky–Molodkina rats (tonic seizures of maximum intensity in response to the action of sound) and “0” strain (control group, non-convulsive phenotype). The main proinflammatory cytokines levels in the dorsal striatum and brain stem in rats of these genetic groups were measured by multiplex immunofluorescence assay. Background levels of IL-1 β , IL-6 and TNF α in the dorsal striatum of KM rats were significantly lower than in the control “0” strain rats, whereas in the brain stem in the “background” levels of these metabolites did not differ. Four hours after the sound exposure, the TNF α level in the dorsal striatum of KM rats was significantly lower than in “0” rats. In KM rats, after the sound exposure and subsequent tonic seizures, the levels of IL-1 β and IL-6 in the dorsal striatum were significantly higher than in the background. The IL-2 content was not detected in the background in KM rats, whereas after audiogenic seizures its level was 14.01 pg/ml. In the brain stem of KM rats, the levels of IL-1 β and TNF α after audiogenic seizures were significantly lower than in the background. In rats of the “0” strain, cytokine levels in the dorsal striatum after the sound exposure did not differ from those in the background, while IL-1 levels in their brain stem were significantly lower than the background state. Particular modulating role of the studied proinflammatory cytokines in the pathogenesis of audiogenic epilepsy is assumed, as well as certain possibility of anti-inflammatory and immune drugs application in anticonvulsant and antiepileptic therapy.

Keywords: audiogenic epilepsy, Krushinsky–Molodkina strain, “0” strain rats, seizures, cytokines, inflammation, IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF α , multiplex assay

Исследование выполнено в рамках научного проекта государственного задания МГУ № 121032500080-8.

Введение

Эпилепсия, по данным ВОЗ, затрагивает 0,8% населения Земли. Известно, что в основе лечения больных эпилепсией лежит фармакотерапия, однако 20–30% случаев этого заболевания относятся к фармакорезистентным. Моделирование судорожных состояний на животных перспективно для изучения особенностей формирования повышенной судорожной готовности мозга, которая имеет полигенную природу. К набору генетических элементов, у которых изменяется экспрессия при развитии судорог, в том числе и у животных с повышенной к ним предрасположенностью, относятся многие гены синтеза основных нейромедиаторов (в частности, ГАМК и глутамата), а также целый ряд генов, связанных с функцией ионных каналов мембраны нейрона. Существующие инвазивные методы индукции судорожных состояний (электросудорожные,

травматические и химические воздействия), несмотря на их относительную простоту, не дают характеристики особенностей ЦНС в целом. Они регистрируют только судорожные феномены *per se*. Преимуществами неинвазивных, генетических моделей эпилепсии являются, в частности, стабильность проявления «судорожного фенотипа» и возможность неоднократной индукции судорог. Формирование генерализованных эпилептиформных припадков активно анализируется на линиях грызунов с аудиогенной эпилепсией, АЭ (крысы, мыши, хомяки), судорожные припадки которых стабильны по характеру и охарактеризованы по многим особенностям метаболизма мозга. Их использование дает возможность анализа состояния мозга этих животных не только как результат экспрессии судорог (как в инвазивных моделях), но также и в «фоне», т. е. без развития припадков. Одной из таких информативных моделей является линия крыс Крушинского–Молодкиной (КМ) с высокой генетически детерминированной предрасположенностью к АЭ. С 1947 года линия поддерживается на Биологи-

ческом факультете МГУ имени Ломоносова (кафедра высшей нервной деятельности, лаборатории физиологии и генетики поведения) в режиме строгого инбридинга (более чем 40 поколений селекции) [11].

У больных эпилепсией, а также в экспериментах с индукцией судорог у животных (т. е. на лабораторных моделях) отмечен ряд аномалий иммунных клеток и экспрессии цитокинов [15]. Это означает, что иммунным процессам и ассоциированным с ними воспалительным реакциям принадлежит определенная роль в эпилептогенезе. В активации иммунной системы и в развитии воспалительных реакций важная роль принадлежит цитокинам – гетерогенной группе полипептидных соединений, влияющих также на периферическую и центральную нервную систему. Считается, что изменения продукции цитокинов TNF, IL-1 и IL-6, а также других метаболитов связаны с вызванными судорогами гибелью клеток [15]. Во время эпилептогенеза происходят изменения в экспрессии и ряде других воспалительных и нейротрофических факторов. Во многих исследованиях показано, что в цереброспинальной жидкости при эпилепсии повышены уровни некоторых интерлейкинов. В частности, цитокины рассматривают как «вещества-медиаторы» спонтанных судорог у мышей [1]. В исследованиях эпилепсии наиболее часто анализируют содержание и экспрессию IL-1, IL-6 и TNF α . Уровни этих цитокинов изменяются при эпилепсии наиболее сильно, причем это показано для различных форм этого заболевания. Семейство интерлейкина-1 включает в себя 3 лиганда – IL-1 α , IL-1 β и IL-1 γ . В ЦНС человека в отсутствие судорог цитокины IL-1 обнаруживают низкий уровень. Концентрация IL-1 β понижена в плазме больных эпилепсией, и после судорог мало отличается от контроля [10].

Развитие судорог в экспериментах сопровождается быстрым нарастанием экспрессии мРНК IL-1 β и белка IL-1 β в коре, гипоталамусе и гипофизе. При моделировании хронической эпилепсии, когда судороги индуцированы каиновой кислотой, экспрессия IL-1 β в коре и гиппокампе повышена. В ряде работ на моделях эпилепсии у грызунов описан проконвульсивный эффект IL-1 β (например, при введении каиновой кислоты). У мышей-нокаутов по IL-1 α , IL-1 β или по IL-1 γ заметных физиологических отклонений и нарушений развития не обнаруживается. В то же время введение IL-1 β в гиппокамп усиливает и пролонгирует поведенческие и ЭЭГ-показатели судорог. Показано проэпилептическое действие высоких доз IL-1 β , тогда как его низкие дозы обладают антиэпилептическим действием [13]. У крыс линии GAERS (модель височно-лобной

эпилепсии) IL-1 β участвует в развитии «лимбических» судорог. У крыс этой линии проявление ЭЭГ комплексов «пик-волна» связывают с продукцией IL-1 β реактивными астроцитами в соматосенсорной коре [9].

IL-2 является одним из важнейших цитокинов, обеспечивающих иммунорегуляцию, обеспечивая активацию Т-лимфоцитов при запуске иммунного ответа. Известно, что прямое внутрижелудочковое введение IL-2 мышам линии DBA/2 приводило к аудиогенным и хемоиндуцированным судорогам. Однако у больных эпилепсией уровни IL-2 в плазме и церебро-спинальной жидкости во время острой стадии болезни изменены не были [7].

Показано также, что процессы генерации судорог связаны с экспрессией TNF α . Его содержание в разных отделах переднего мозга увеличивается после «киндинга» (процесса провокации миоклонических судорог), вызванного электрической стимуляцией миндалина, а также при развитии status epilepticus. Введение в мозг TNF α ослабляло судороги у мышей, а выключение его рецепторов – усиливало [1]. «Двойственная» природа действия этого фактора в эпилептогенезе требует дальнейшего более подробного анализа.

Нейровоспаление довольно редко изучалось на экспериментальных моделях эпилепсии. В частности, показано, что у мышей-нокаутов по гену интерлейкина-6 (IL-6 $^{-/-}$) порог генерации судорог при максимальном электрошоке не отличается от мышей «дикого» типа, но при этом у нокаутов обнаруживаются аудиогенные судороги [3]. Более подробный анализ влияния этого фактора проводился *in vitro*, и было показано, что IL-6 может в значительной степени нивелировать эксайтотоксичность, опосредованную глутамат – и NMDA-рецепторами. У мышей IL-6 $^{-/-}$ были достоверно повышены уровни аспартата в стволе и гиппокампе и понижены – в промежуточном мозге. Уровни глутамата были достоверно снижены, а уровни ГАМК снижены в мозжечке, промежуточном мозге и гиппокампе. Предполагается, что множественные различия в уровне нейроактивных аминокислот у мышей с этим КО могут быть причиной развития предрасположенности к АЭ. У предрасположенных к АЭ крыс линии WAR (выведенной, как и линия KM из аутбредной линии Wistar, см. Garcia-Cairasco [5] в гиппокампе, нижнем двухолмии, стриатуме и коре уровни всех цитокинов (IL-1 β , IL-6, TNF α) и BDNF в коре были повышены через 4 часа после звуковой стимуляции, в стриатуме при этом были повышены уровни IL-6 и TNF α , а уровень TNF α был повышен и в нижнем двухолмии [4].

Одновременно со свидетельствами участия системы нейровоспаления в эпилептогенезе появляются данные о влиянии дексаметазона (синтетический глюкокортикостероид) на генерацию судорог. Дексаметазон обладает противовоспалительным и иммуносупрессивным действием, в частности снижает активацию Т-хелперов и подавляет выработку провоспалительных цитокинов, в частности TNF, IL-1, IL-2 и других. Есть данные о терапевтическом эффекте дексаметазона в отношении больных рефрактерной формой эпилепсии. Так, введение дексаметазона вместе со стандартными противосудорожными препаратами приводило к прекращению судорог [12]. У крыс линии КМ длительное применение дексаметазона приводило к снижению интенсивности судорожных эпилептиформных припадков в ответ на звук. Однако необходимо отметить, что противосудорожный эффект хронического введения дексаметазона сопровождался гибелью части крыс КМ опытной группы, в то время как у крыс линии «0» гибели не зарегистрировано [14]. Эти и вышеприведенные данные свидетельствуют о перспективности анализа системы нейровоспаления у животных с разным уровнем предрасположенности к АЭ.

Материалы и методы

1. Экспериментальные животные

Животные содержались в стандартных условиях по 6 крыс в каждой пластиковой клетке (46 × 30 × 16 см) со свободным доступом к корму и воде, а также естественным режимом «день-ночь». В качестве модели эпилепсии использовались крысы линии КМ (n = 20, самцы, возраст 4 мес.), контрольной группой – крысы линии «0» аналогичного возраста (n = 18). Крысы линии КМ характеризуются максимальной интенсивностью аудиогенных судорог (тонические судороги, балл «4»). Крысы линии «0» характеризуются отсутствием аудиогенных судорог в ответ на звуковые раздражители. Крысы опытной и контрольной группы были разделены на две подгруппы. В подгруппе 1 забор биоматериала для исследования проводился без звукового воздействия. В подгруппе 2 забор биоматериала осуществлялся через 4 часа после звукового воздействия.

Эксперименты проводились в соответствии с биоэтическими нормами, (закключение Комиссии по биоэтике МГУ имени М.В. Ломоносова от 12.03.2014).

2. Процедура тестирования АЭ

Тестирование животных проводится в частично звукоизолированной пластиковой камере, в которую подается звуковой сигнал интенсивностью 120 дБ, при этом вручную фиксируется латентный период начала припадков, его интен-

сивность, время наступления различных стадий и время «выхода из припадков». Для количественной оценки интенсивности припадков АЭ в лаборатории используется следующая пятибалльная шкала: «0» – отсутствие реакции в течение 90 действия звука; «1» – двигательное возбуждение, характеризующееся беспорядочным бегом и высокими прыжками; «2» – падение на брюшко и клонические судороги, «3» – падение на бок с резко выраженными клоническими судорогами конечностей, «4» – тонические судороги всей мускулатуры (полная «4») или только передних конечностей (4-) с дальнейшей экстензией конечностей и приостановкой дыхания.

3. Мультиплексный анализ

В качестве исследуемого биологического материала использовались ткани структур головного мозга, получаемые после эвтаназии животных. Из головного мозга животных выделяли дорсальный стриатум и ствол мозга (образцы хранились при температуре -80 °С). Гомогенизация проводилась в стеклянных гомогенизаторах, экстракционный раствор содержал 0,01 М фосфатно-солевого буфера, коктейль ингибиторов протеаз (Roche Diagnostics GmbH, Германия), 0,05% Tween 20. Экстракционный раствор добавляли к тканям из расчета 500 мкл на 100 мг ткани. Гомогенат тканей центрифугировали (3000 г, 10 мин, 4 °С) и собирали супернатанты. Концентрацию цитокинов определяли с помощью мультиплексного иммунофлуоресцентного анализа согласно протоколу производителя (MILLIPLEX map Kit, Millipore Corporation, США). Результаты анализа оценивались на мультиплексном анализаторе Bio-Rad MAGPIX (Bio-Rad, США).

Статистический анализ

Использовалось программное обеспечение GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, США). Сравнение показателей проводилось с использованием критерия Краскела–Уоллиса с апостериорным критерием Данна.

Результаты и обсуждение

В нашем исследовании мы оценивали концентрации провоспалительных цитокинов IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-6 и TNF α в стволе мозга и стриатуме животных исследуемых групп. Концентрация IL-1 α не была обнаружена в исследуемых образцах, вероятно, его концентрация была ниже уровня детекции используемого набора.

Межлинейные различия продукции цитокинов у крыс линий КМ и «0» в условиях «фона»

На первом этапе работы была проведена оценка уровней исследуемых цитокинов у экспериментальных животных без звукового воздействия. В дорсальном стриатуме содержание цитокинов IL-1 β , IL-6 и TNF α было достовер-

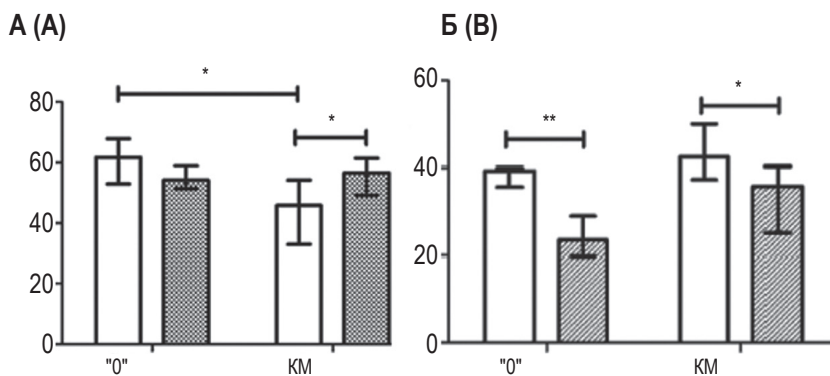


Рисунок 1. Концентрации IL-1β в тканях головного мозга крыс линий KM и «0»: А – дорсальный стриатум, Б – ствол мозга

Примечание. Концентрации цитокинов в пг/мл представлены в виде Me ($Q_{0.25}$ - $Q_{0.75}$). Фоновое состояние (белые столбцы) и через 4 ч после звукового воздействия (серые столбцы), различия статистически достоверны * – $p < 0,05$ и ** – $p < 0,01$.

Figure 1. IL-1β concentrations in the brain tissues of the KM and "0" strain rats: A, dorsal striatum; B, brain stem

Note. Cytokine concentrations in pg/ml are presented as Me ($Q_{0.25}$ - $Q_{0.75}$). Background state (white columns) and 4 hours after sound exposure (gray columns). *, **, significant difference, $p < 0.05$ and 0.01 , respectively.

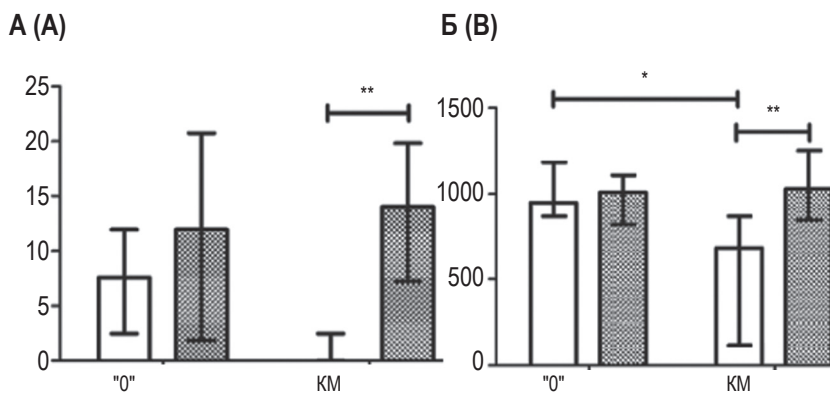


Рисунок 2. Концентрации цитокинов в дорсальном стриатуме крыс линий KM и «0»: А – IL-2 и Б – IL-6

Примечание. См. примечание к рисунку 1.

Figure 2. Dorsal striatum IL-2 (A) and IL-6 (B) concentrations in rats of KM and "0" strain

Note. As for Figure 1.

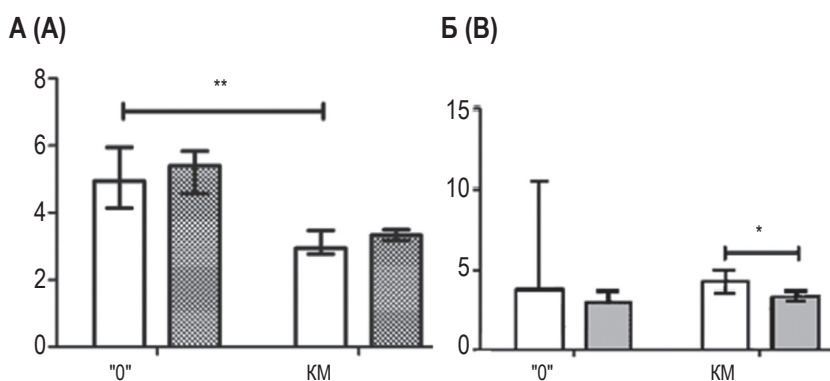


Рисунок 3. Концентрации TNFα в тканях головного мозга крыс линий KM и «0»: А – дорсальный стриатум, Б – ствол мозга

Примечание. См. примечание к рисунку 1.

Figure 3. Dorsal striatum (A) and brain stem (B) TNFα concentrations in rats of KM and "0" strain

Note. As for Figure 1.

но ниже у крыс линии КМ по сравнению с линией «0» (рис. 1А, рис. 2Б и рис. 3А). Высокая вариабельность показателей концентрации IL-2, как для состояния мозга до, так и после звуковой экспозиции в тканях дорсального стриатума крыс линии «0» может быть причиной отсутствия детекции достоверных различий между исследуемыми генетическими группами. Более высокая концентрация IL-6 и TNF α в стриатуме у крыс линии «0» характерна для фонового состояния животных. В тканях ствола мозга мы не обнаружили различий в уровне содержания исследуемых цитокинов между животными разных линий. Данные по концентрации IL-2 и IL-6 в стволе мозга не представлены (концентрации были ниже порога детекции).

Изменения содержания цитокинов в структурах мозга крыс КМ и «0» после аудиогенной экспозиции

После действия звука (вызвавшего аудиогенные судороги) у крыс линии КМ концентрации IL-1 β и IL-6 в дорсальном стриатуме были выше, чем до звукового воздействия (рис. 1А, Б). При этом в стволе мозга происходило снижение уровня IL-1 β после судорог АЭ как у крыс КМ, так и у крыс линии «0» (рис. 1Б).

Уровень IL-2 у крыс КМ до аудиогенного воздействия был ниже порога детекции, в то время как после судорог значительно повышался — вплоть до 14,01 пг/мл. В ткани стриатума уровень IL-2 крыс линии «0» имел тенденцию к повышению ($p < 0,1$) после аудиогенного воздействия (рис. 2А). Также у крыс линии «0» после действия звука детектируется понижение уровня IL-1 β в стволе мозга (рис. 1Б), что аналогично показателю у КМ. У крыс линии КМ в стволе мозга после аудиогенных судорог регистрировался пониженный (на 23,44%) уровень TNF α (рис. 3Б).

Полученные в нашем исследовании данные сходны с существующими научными данными. Так, в спинномозговой жидкости больных эпилепсией, а также в ткани мозга у больных разными формами эпилепсии присутствует изменение цитокинового профиля, в частности отклонение IL-1 β и его растворимого рецептора IL-1RI. Кроме того известно, что тонико-клонические судороги у человека сопровождаются увеличением продукции NGF, IL-1 β и TNF α [10]. Далее, на мышинной модели спонтанных судорог цитокины рассматриваются как возможные медиаторы при развитии припадков. Наиболее часто рассматриваемыми цитокинами при эпилепсии являются IL-1, IL-6 и TNF α . Показано, что уровни этих цитокинов меняются в зависимости от типа судорог, индуцируемых у лабораторных животных [2]. IL-2 также рассматривается как возможный индуктор судорожной активности. Так, ведение IL-2 в мозговые желудочки мышам DBA/2 инду-

цировало аудиогенные и фармакологически вызванные судороги.

IL-6 является одним из ключевых провоспалительных цитокинов и обладает множественными эффектами, он вовлечен и в воспалительные реакции в центральной нервной системе. В литературе показано непосредственное участие IL-6 в процессе возникновения судорог.

С одной стороны, воспалительный процесс может запускать судорожную активность, например, при лихорадке, также и судороги сами по себе могут вызвать в головном мозге воспалительный процесс. Известный иммуносупрессор синтетический глюкокортикоид дексаметазон дает положительный терапевтический эффект у больных с рефлекторной формой эпилепсии. Показано, что его добавление к стандартной противосудорожной терапии способствует прекращению судорог. В экспериментах на крысах КМ хроническое введение дексаметазона вдвое снижало интенсивность аудиогенной эпилепсии, увеличивало латентный период судорог и переводило большую часть реакций в двухволновые. Появление тормозной «паузы» чаще всего указывает на снижение интенсивности судорог [14].

Детектируемые уровни IL-1 β , IL-6 и TNF α могут обнаруживаться и в норме тканях мозга, при этом они влияют на развитие судорог при эпилепсии. Настоящая работа показывает, что у крыс линии КМ в дорсальном стриатуме уровень IL-1 β , IL-6 и TNF α был ниже, чем у крыс линии «0». Можно предположить, что эти цитокины модулируют проявление судорог, но не вызывают судороги сами по себе. Учитывая, что генетический фон крыс линии «0» частично сходен с таковым в линии КМ, сниженные уровни провоспалительных цитокинов у крыс КМ в сравнении с не предрасположенными к судорогам крысами, следует исследовать более подробно.

Определяемые уровни IL-1 β , IL-6 и TNF α присутствуют в тканях головного мозга в норме, и они определенно влияют на эпилептогенез. Значимые отличия уровней IL-1 β , IL-6 и TNF α в дорсальном стриатуме крыс линии КМ (пониженные в сравнении с линией контроля «0») могут свидетельствовать о том, что эти цитокины модулируют проявление судорог, не вызывая их непосредственно.

Уровни исследуемых цитокинов в дорсальном стриатуме, согласно нашим данным, аналогичны таковым в стволе мозга, однако, участие структур дорсального стриатума в АЭ недостаточно изучено. Изменение профиля цитокинов в стриатуме может свидетельствовать о возможной регуляторной роли этой структуры в реализации припадков рефлекторной эпилепсии. Таким образом, наша работа дает определенное подтверждение

вовлеченности структур дорсального стриатума в патогенез аудиогенных судорог. Полученные данные показывают, что развитие припадка АЭ у крыс линии КМ сопровождалось гиперпродукцией IL-1 β и IL-6 в данной структуре мозга. Уровни IL-6 и IL-1 β в стриатуме у крыс линии «0» (после действия звука в отсутствие АЭ) не отличались от значений у животных этой линии до припадка. Можно предположить, что развитие аудиогенного припадка может вовлекать клетки глии, часть из которых может рассматриваться как клетки врожденного иммунитета и активные продуценты провоспалительных цитокинов, в том числе исследуемых в настоящей работе. Нервно-глиальные взаимодействия в настоящее время изучены недостаточно, однако существуют данные, позволяющие говорить о возможности активации клеток глии за счет передачи нервного импульса. Интересным для нас также является, то, что уровень IL-1 β в стволе мозга у крыс линии «0» после звукового воздействия был ниже, чем до воздействия, как и у крыс линии КМ, это может говорить о латентном воздействии звука на уровни провоспалительных цитокинов в тканях мозга. Также это может выявлять скрытую предрасположенность к АЭ, которая действительно существует, так как известно, что введение низких дозы коразола позволяют индуцировать АЭ даже таких животных [6]. Еще одним важным результатом нашей работы можно считать выявление участия TNF α в развитии судорог АЭ, поскольку вовлеченность данного провоспалительного цитокина не описана ранее и впервые выявлена в данной работе.

Заключение

Роль нейровоспаления в развитии судорожных состояний хотя и неоспорима, однако механизмы, лежащие в основе взаимодействия между нервной системой и клетками глии, обладающими иммунными функциями, требуют дальнейшего изучения. Полученные в данной работе данные позволяют дополнить информацию о существующих лабораторных моделях эпилепсии, а также их особенностях на биохимическом уровне. Большинство современных противоэпилептических и противосудорожных препаратов имеют мишенью разные звенья нейротрансмиттерных систем мозга (ГАМК-, глутаматергические, моноаминергические и др.). В то же время существуют множественные клинические и экспериментальные свидетельства участия в развитии судорог разного генеза про- и противовоспалительных систем мозга, однако эти данные мало используются в нейрофармакологии. Линия КМ является известной моделью с высокой предрасположенностью к АЭ, а животные линии «0», по сути, являются контрольной группой к ним, т. е. генетически близкими животными без предрасположенности к эпилепсии, таким образом, можно использовать эти линии в качестве экспериментальной модели для изучения нейровоспаления. Полученные данные расширят представления о возможности применения противовоспалительных и иммунных препаратов для противосудорожной терапии и позволят оценить возможные побочные эффекты их возможного применения при терапии судорог.

Список литературы / References

1. Balosso S., Ravizza T., Perego C., Peschon J., Campbell I.L., de Simoni M.G., Vezzani A. Tumor necrosis factor-alpha inhibits seizures in mice via p75 receptors. *Ann. Neurol.*, 2005, Vol. 57, pp. 804-812.
2. Benczik, M., Gaffen, S.L. The interleukin IL-2 family cytokines: survival and proliferation signaling pathways in T lymphocytes. *Immunol. Invest.*, 2004, Vol. 33, pp. 109-142.
3. de Luca G., di Giorgio R.M., Macaione S., Calpona P.R., Costantino S., di Paola E.D., de Sarro A., Ciliberto G., de Sarro G. Susceptibility to audiogenic seizure and neurotransmitter amino acid levels in different brain areas of IL-6-deficient mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2004, Vol. 78, pp. 75-81.
4. de Souza Bernardino T.C., Teixeira A.L., Miranda A.S., Guidine P.M., Rezende G., Doretto M.C., Castro G.P., Drummond L., Dutra Moraes M.F., Lopes Tito P.A., Pinheiro de Oliveira A.C., Reis H.J. Wistar Audiogenic Rats (WAR) exhibit altered levels of cytokines and brain derived neurotrophic factor following audiogenic seizures. *Neurosci. Lett.*, 2015, Vol. 597, pp. 154-158.
5. Garcia-Cairasco N., Umeoka E.H.L., Cortes de Oliveira J.A. The Wistar Audiogenic Rat (WAR) strain and its contributions to epileptology and related comorbidities: History and perspectives. *Epilepsy Behav.*, 2017, Vol. 71, pp. 250-273.
6. Fedotova I.B., Surina N.M., Nikolaev G.M., Poletaeva I.I. Subthreshold corazol doses induced generalized seizures in audiogenic seizure-prone rats. *Intern. J. Neurol. Brain Disord.*, 2016, Vol. 3, pp. 1-6.
7. Ichiyama T., Suenaga N., Kajimoto M., Tohyama J., Isumi H., Kubota M., Mori M., Furukawa S. Serum and CSF levels of cytokines in acute encephalopathy following prolonged febrile seizures. *Brain. Dev.*, 2008, Vol. 30, no. 1, pp. 47-52.

8. Lehtimäki K.A., Keränen T., Palmio J., Mäkinen R., Hurme M., Honkaniemi J., Peltola J. Increased plasma levels of cytokines after seizures in localization-related epilepsy. *Acta Neurol. Scand.*, 2007, Vol. 116, no. 4, pp. 226-230.
9. Onat F. Astrocytes and absence epilepsy. *Br. J. Pharmacol.*, 2013, Vol. 168, no. 5, pp. 1086-1087.
10. Peltola J., Palmio J., Korhonen L., Suhonen J., Miettinen A., Hurme M., Lindholm D., Keranen T. Interleukin-6 and Interleukin-1 receptor antagonist in cerebrospinal fluid from patients with recent tonic-clonic seizures. *Epilepsy Res.*, 2000, Vol. 41, pp. 205-211.
11. Poletaeva I.I., Surina N.M., Kostina Z.A., Perepelkina O.V., Fedotova I.B. The Krushinsky-Molodkina rat strain: The study of audiogenic epilepsy for 65 years. Review Article *Epilepsy Behav.*, 2017, Vol. 71, Pt B, pp. 130-141.
12. Ramos A.B., Cruz R.A., Villemarette-Pittman N.R., Olejniczak P.W., Mader J.E.C (2019) Dexamethasone as Abortive Treatment for Refractory Seizures or Status Epilepticus in the Inpatient Setting. *J. Investig. Med. High Impact Case Rep.*, 2019, Vol. 7, 2324709619848816. doi: 10.1177/2324709619848816.
13. Sayyah M., Beheshti S., Shokrgozar M.A., Eslami-far A., Deljoo Z., Khabiri A.R., Rohani A.H. Antiepileptogenic and anticonvulsant activity of interleukin-1 beta in amygdala-kindled rats. *Exp. Neurol.*, 2005, Vol. 191, no. 1, pp. 145-153.
14. Surina N.M., Fedotova I.B., Poletaeva I.I. The Effects of acute and chronic infusions of dexamethasone on audiogenic seizures and catalepsy in rats of krushinsky-molodkina and "0" strains. *J. Evol. Biochem. Physiol.*, 2022, Vol. 58, pp. 1110-1118.
15. Vezzani A., Balosso S., Aronica E., Ravizza T. Basic mechanisms of status epilepticus due to infection and inflammation. *Epilepsia*, 2009, Vol. 50, Suppl. 12, pp. 56-57.

Авторы:

Сурина Н.М. — к.б.н., старший научный сотрудник, биологический факультет, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Федотова И.Б. — к.б.н., ведущий научный сотрудник, биологический факультет, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Поletaева И.И. — д.б.н., ведущий научный сотрудник, биологический факультет, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Authors:

Surina N.M., PhD (Biology), Senior Research Associate, Biology Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Fedotova I.B., PhD (Biology), Senior Research Associate, Biology Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Poletaeva I.I., PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Biology Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Поступила 02.04.2024

Отправлена на доработку 04.04.2024

Принята к печати 22.04.2024

Received 02.04.2024

Revision received 04.04.2024

Accepted 22.04.2024

ИЗМЕНЕНИЯ СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА Т-ХЕЛПЕРОВ 17-ГО ТИПА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

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

¹ ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

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

⁵ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

⁶ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Р.Р. Вредена» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. При черепно-мозговой травме (ЧМТ) происходит гиперактивация клеток иммунной системы, что играет важную роль в развитии нейровоспаления. При этом клеточно-опосредованные реакции являются ключевыми в иммунопатогенезе ЧМТ. В их развитии участвуют субпопуляции Т-хелперов (Th), в том числе субпопуляции Th17-типа. Были исследованы образцы периферической крови больных, перенесших черепно-мозговую травму различной степени тяжести (n = 110): 1-я группа – больные с сотрясением головного мозга (СТГ); 2-я группа – ушиб головного мозга легкой (УЛС), 3-я группа – ушиб средней степени тяжести (УСС) и 4-я группа – ушиб тяжелой степени тяжести (УТС). Контрольная группа – образцы, полученные от практически здоровых лиц (n = 48). Определялось содержание субпопуляций лимфоцитов методом проточной цитофлуориметрии. В рамках общего пула Th центральной памяти выявлен повышенный уровень DN Th17 у пациентов во 2-й (УЛС) (p = 0,014) и 3-й группах (УСС) (p = 0,003); уровень «классических» Th17 (p = 0,010) был достоверно повышен только в 4-й группе (УТС), а в популяции «не классических» Th17 выявлены обратные изменения в виде их пониженного уровня (p = 0,008); содержание DP Th17 был достоверно

Адрес для переписки:

Норка Анна Олеговна
ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14.
Тел.: 8 (911) 218-85-00.
E-mail: norka-anna@mail.ru

Address for correspondence:

Anna O. Norka.
Saint Petersburg Pasteur Institute
14 Mira St
St. Petersburg
197101 Russian Federation
Phone: +7 (911) 218-85-00.
E-mail: norka-anna@mail.ru

Образец цитирования:

А.О. Норка, С.В. Воробьев, Р.Н. Кузнецова, М.К. Серебрякова, И.В. Кудрявцев, С.Н. Коваленко, Д.Н. Монашенко «Изменения субпопуляционного состава Т-хелперов 17-го типа в зависимости от степени тяжести черепно-мозговой травмы» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 613-620.
doi: 10.46235/1028-7221-16629-SOT

© Норка А.О. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.O. Norka, S.V. Vorobyev, R.N. Kuznetsova, M.K. Serebriakova, I.V. Kudryavtsev, S.N. Kovalenko, D.N. Monashenko "Severity of traumatic brain injury governs alterations in type 17 T helper cell subset composition", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 613-620.
doi: 10.46235/1028-7221-16629-SOT

© Norka A.O. et al., 2024

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16629-SOT

повышено во 2-й (УЛС) ($p = 0,006$) и в 3-й группах (УСС) ($p = 0,012$). В рамках общего пула CD45RA-негативных клеток Th эффекторной памяти установлен повышенный уровень DN Th17 во всех группах ($p < 0,05$) и «классических» Th17 у пациентов во 2-й группе (УЛС) и 3-й группе (УТС) ($p < 0,05$); уровень «неклассических» Th17 (Th17.1) было достоверно снижено в 4-й группе (УТС) ($p = 0,015$). Полученные результаты указывают на активное формирование пула клеток Th17 как центральной (Th CM), так и эффекторной памяти (ThEM), что свидетельствует о направленной миграции клеток в ответ на ЧМТ. Это происходит, вероятно, за счет высокой пластичности Th17 (изменения фенотипа) и функциональных свойств, меняющихся в зависимости от микроокружения, в которое попадает та или иная клетка, что обуславливает возникновение реципрокных изменений как закономерного процесса в ответ на повреждение нервной ткани различной степени тяжести.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, T-хелперы, дифференцировка T-хелперов, T-хелперы 17-го типа, проточная цитометрия

SEVERITY OF TRAUMATIC BRAIN INJURY GOVERNS ALTERATIONS IN TYPE 17 T HELPER CELL SUBSET COMPOSITION

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

^a Saint Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

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

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

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

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

^f Russian Research Institute of Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Immune cell hyperactivation along with cytokines they overproduce plays an important role in traumatic brain injury (TBI). A central place in the immunopathogenesis of TBI is held by diverse cell-mediated reactions governed by T helper (Th) cell populations including Th17 subset. We studied peripheral blood plasma samples of the patients with sarcoidosis ($n = 123$): group 1 – patients with concussion; group 2 – mild TBI; group 3 – moderate TBI; and group 4 – severe TBI. The control group was samples from healthy volunteers ($n = 48$). T cell subset composition was assessed by flow cytometry. Within Th central memory cells (Th CM): the level of “double-negative” Th17 (DN Th17) was significantly increased in patients with mild TBI ($p = 0.014$) and moderate TBI ($p = 0.003$); the level of “classical” Th17 ($p = 0.010$) also was significantly increased, but only with severe TBI; the level of “non-classical” Th 17 (Th17.1) were shown to have significantly reduced level only patients with severe TBI ($p = 0.008$); the level of “double-positive” Th17 (DP Th17) was significantly increased in patients with mild TBI ($p = 0.006$) and moderate TBI ($p = 0.012$). Within Th effector memory cells, an increased level of DN Th17 turned out to be significantly increased in all groups ($p < 0.05$) and “classical” Th17 in patients with mild TBI and moderate TBI ($p < 0,05$); the level of Th17.1 was significantly reduced in patients with severe TBI ($p = 0.015$). The results indicate the active generation of a subpopulation of Th17 cells of both central (Th CM) and effector memory (ThEM), which indicates directed migration of cells in response to TBI. This probably occurs due to the high plasticity of Th17 (changes in phenotype) and functional properties that change depending on the microenvironment into which a particular cell finds itself, which causes the occurrence of reciprocal changes as a response to damage in nervous tissue of different severity.

Keywords: traumatic brain injury, CD4⁺ T cells, Th cell differentiation, Th17 cell subsets, flow cytometry

Введение

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) является актуальной проблемой современного здравоохранения, представляя собой многофакторное заболевание, которое характеризуется развитием хронической неврологической патологии [14]. Нейровоспаление, в развитии которого принимают участие клетки иммунной системы, рассматривается как ключевой фактор в патогенезе повреждения нервной ткани при травме головного мозга [5, 8, 11]. Так, особое внимание в последние годы уделяется роли субпопуляций Т-хелперов (Th), в том числе Т-хелперов 17-го типа (Th17-типа) и регулирующих их цитокинов, которые являются ключевым звеном нейровоспалительного процесса в ответ на травматическое и другое повреждение головного мозга [2, 7, 11].

Гиперактивация иммунных клеток наряду с цитокинами и хемокинами, которые они продуцируют, играет важную роль в развитии нейровоспаления [1, 8, 13]. Согласно современным представлениям, центральное место в иммунопатогенезе ЧМТ занимают разнообразные клеточно-опосредованные реакции, включая субпопуляции Th-клеток (в особенности Th1 и Th17), а также сравнительно недавно описанные «неклассические» или «пластические» популяции клеток – Th1/Th17 или Th17.1, которые обладают характеристиками Th1 и Th17 и рассматриваются в качестве «патогенной» популяции за счет продукции CCL2, CCL4, CCL5, IL-22, тем самым способствуя поддержанию нейровоспаления [6, 7]. Также описана субпопуляция дважды-негативных Т-хелперов 17-го типа (DN Th17), которые обладают повышенной экспрессией TNF α , IFN γ , IL-17A, IL17F, MIP-3 α /CCL20, и дважды-позитивных Т-хелперов 17-го типа (DP Th17) [4]. Эти субпопуляции различаются по спектру экспрессируемых рецепторов и продукции цитокинов, поэтому требуется детальное изучение их вклада в развитие и поддержание нейровоспаления после ЧМТ. Поэтому **целью исследования** было оценить субпопуляционный состав Т-хелперов 17-го типа в соответствии со степенью ЧМТ

Материалы и методы

В исследование были включены 110 больных (51 мужчина и 59 женщин) с диагнозом «черепно-мозговая травма», поступивших по экстренным показаниям в нейрохирургическое отделение № 1 Санкт-Петербургского государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская больница № 26». В контрольную группу вошли 48 практически здоровых лиц (26 женщин, 22 мужчины), которые были донорами

отделения переливания крови Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени акад. И.П. Павлова. Согласно международной классификации, все пациенты были разделены на 4 группы [10]: 1-я группа – больные с сотрясением головного мозга (СТГ); 2-я группа – с ушибом головного мозга легкой степени тяжести (УЛС); 3-я группа – с ушибом головного мозга средней степени тяжести (УСС); 4-я группа – с ушибом тяжелой степени тяжести (УТС). Всем пациентам в 1-е сутки от момента поступления проводился неврологический осмотр по стандартной методике с последующей оценкой степени поражения функциональных систем: зрительной, пирамидной, мозжечковой, чувствительной, функций тазовых органов, ствола мозга. В контрольную группу вошли 48 практически здоровых лиц (женщины – 26 человек, мужчины – 22 человека) в возрасте от 18 до 55 лет (средний возраст $42,3 \pm 11,3$ лет).

Объектом исследования служила венозная кровь больных ЧМТ различной степени тяжести и условно здоровых доноров, полученная путем пункции периферической вены и собранная в вакуумные пробирки с содержанием КЗЭДТА. Подготовку образцов периферической крови и настройку проточного цитофлуориметра проводили в соответствии с рекомендациями, изложенными Хайдуковым С.В. и соавт. [1]. Для выявления основных популяций Т-хелперов периферической крови с фенотипом применялся набор моноклональных антител производства Beckman Coulter и был детально описан ранее [1, 3].

После разрушения эритроцитов образцы однократно отмывали избытком физиологического раствора при 330 g в течение 7 минут, после чего надосадок удаляли, а клеточный осадок ресуспендировали в физиологическом растворе с рН 7,2-7,4, содержащем 2%-ного параформальдегида (Sigma-Aldrich, США). Анализ образцов проводили на проточном цитофлуориметре Navios™ (Beckman Coulter, США), оснащенном тремя диодными лазерами 405, 488 и 638 нм. Обработку цитофлуориметрических данных проводили при помощи программ Navios Software v. 1.2 и Kaluza™ v. 1.5a (Beckman Coulter, США). Анализ коэкспрессии хемокиновых рецепторов CCR4, CCR6, CXCR3 и CXCR5 проводили с применением тактики «гейтирования», основанной на иерархических дендрограммах для общего пула CD45RA-негативных Th памяти, а также CM и EM Th, описанной ранее [2, 6]. Статистическую обработку проводили при помощи программного обеспечения Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США) и GraphPad Prism 4.00 for Windows (GraphPad Prism Software Inc., США). Результаты выражали в виде % позитивных клеток от искомой популяции и

приводили в виде медианы и интерквартильного размаха ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$). Сравнение уровней основных субпопуляций Th у больных, перенесших ЧМТ, и группы контроля проводили при помощи U-критерия Манна–Уитни.

Результаты и обсуждение

Анализ CCR6-экспрессирующих Th17 в образцах периферической крови среди Т-хелперов центральной (СМ) и эффекторной памяти (ЕМ) показал достоверно повышенный уровень относительных и абсолютных значений у всех больных с ЧМТ в сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$). Результаты представлены в таблице 1.

В рамках общего пула CCR6⁺ Th СМ и ЕМ были выделены четыре основные субпопуляции Th17, которые различались как по паттернам экспрессии хемокиновых рецепторов CXCR3 и CCR4, так и по спектру функциональных активностей. В настоящее время выделяют «клас-

сические» Th17 с фенотипом CCR4⁺CXCR3⁻, CCR4⁺CXCR3⁺Th17, обозначаемые как «дважды-позитивные» или DP Th17, «не классические» CCR4⁻CXCR3⁺ или Th17.1 и «дважды-негативные» CCR4⁻CXCR3⁻ или DN Th17 лимфоциты. Нами был проведен детальный анализ циркулирующих Th17 в рамках Т-хелперов центральной и эффекторной памяти и отдельных субпопуляций, циркулирующих Th17, различающихся по уровню экспрессии CCR4 и CXCR3 в зависимости от степени тяжести

Проведенный анализ позволил установить динамические изменения в субпопуляции Th17, среди всех CCR6⁺Th СМ и ЕМ у пациентов с ЧМТ различной степени тяжести.

В рамках пула CCR6⁺Th СМ был выявлен повышенный уровень относительного содержания DN Th17 у пациентов во 2-й (УЛС) ($p = 0,014$) и 3-й группах (УСС) ($p = 0,003$). Достоверно повышенное содержание «классических» Th17 ($p =$

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ АБСОЛЮТНОГО И ОТНОСИТЕЛЬНОГО СОДЕРЖАНИЯ ТН17-ТИПА В РАМКАХ ОБЩЕГО ПУЛА Т-ХЕЛПЕРОВ ЦЕНТРАЛЬНОЙ (СМ) И ЭФФЕКТОРНОЙ ПАМЯТИ (ЕМ) У ПАЦИЕНТОВ С ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

TABLE 1. PERCENTAGE AND ABSOLUTE NUMBER OF PERIPHERAL BLOOD CENTRAL MEMORY (CM) AND EFFECTOR MEMORY (EM) TH17 CELL SUBSET LEVEL IN ACUTE AND CHRONIC SARCOIDOSIS COMPARED TO CONTROL SUBJECTS, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Популяция Т-хелперов Population T-helpers	Фенотип Phenotype	Группа 1 (СТГ) Group 1 concussion;	Группа 2 (УЛС) Group 2 mild TBI	Группа 3 (УСС) Group 3 moderate TBI	Группа 4 (УТС) Group 4 severe bruise	Группа 5 (КГ) Group 5 control group	Значимые различия Significant differences (p)	
Th17 СМ*	CXCR5 ⁻ CCR6 ⁺	%	45,0 (34,8-48,4)	47,0 (39,3-52,7)	43,1 (35,3-51,1)	43,3 (39,5-50,5)	34,3 (31,1-42,3)	$p_{1-5} = 0,001$ $p_{2-5} < 0,001$ $p_{3-5} = 0,004$ $p_{4-5} < 0,001$
		кп/мкп kl/mkl	169,4 (125,1-289,0)	149,0 (90,3-218,0)	138,0 (60,0-270,6)	123,4 (94,2-198,0)	113,3 (74,3-143,5)	$p_{1-5} = 0,003$ $p_{2-5} = 0,052$ $p_{3-5} = 0,043$ $p_{4-5} = 0,050$
Th17 ЕМ**	CXCR5 ⁻ CCR6 ⁺	%	61,5 (54,2-68,0)	65,4 (53,9-73,0)	59,6 (47,3-66,7)	60,3 (46,0-62,71)	34,3 (31,1-42,3)	$p_{1-5} < 0,001$ $p_{2-5} < 0,001$ $p_{3-5} = 0,013$ $p_{4-5} = 0,021$
		кп/мкп kl/mkl	97,4 (59,8-156,2)	91,3 (56,7-120,2)	84,5 (51,8-127,3)	88,2 (54,3-126,6)	77,8 (56,6-112,3)	$p_{1-5} = 0,050$ $p_{3-4} = 0,002$ $p_{3-5} < 0,001$ $p_{4-5} = 0,031$

Примечание. % – процент содержания от общего пула Т-хелперов центральной (СМ)* и эффекторной памяти (ЕМ)**; СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести; КГ – контрольная группа; p_{1-2} , p_{1-3} , p_{1-4} , p_{1-5} , p_{2-3} , p_{2-4} , p_{2-5} , p_{3-4} , p_{3-5} , p_{4-5} – различия между соответствующими группами.

Note. Significant differences according to the Mann–Whitney U test. *, level within total CM Th cell population. **, level within total EM Th cell population. Group 1, concussion; Group 2, mild TBI; Group 3, moderate TBI; Group 4, severe bruise; Group 5, control group.

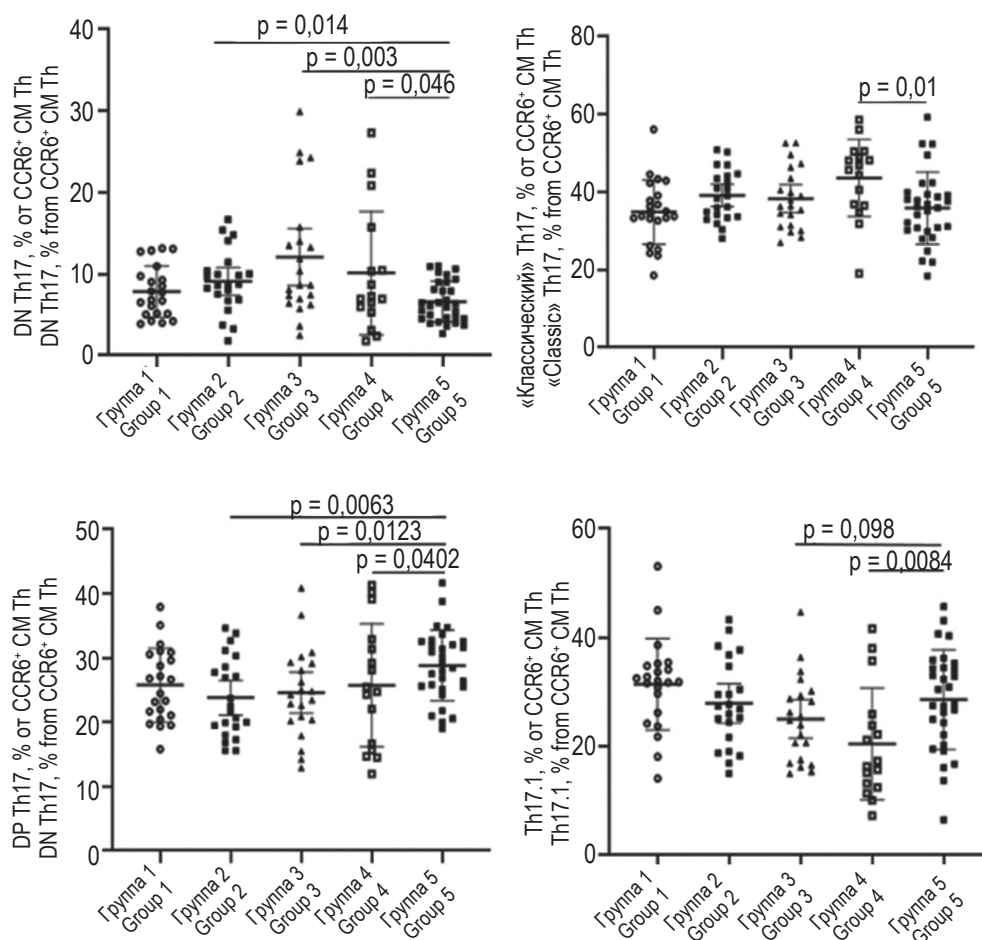


Рисунок 1. Распределение Th17 по субпопуляциям клеток в пределах общего пула CCR6⁺Th центральной памяти (Th CM) с фенотипом CD45RA⁺CD62L⁺ у пациентов с ЧМТ различной степени тяжести

Примечание. Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона (Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})); группа 1 – сотрясение головного мозга; группа 2 – ушиб легкой степени тяжести; группа 3 – ушиб средней степени тяжести; группа 4 – ушиб тяжелой степени тяжести; группа 5 – контрольная группа.

Figure 1. Distribution of Th17 across cell subpopulations within the total pool of CCR6⁺Th central memory (Th CM) with phenotype CD45RA⁺CD62L⁺ patients with TBI of varying severity

Note. Results are presented as median and interquartile range (Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})); Group 1, concussion; Group 2, mild TBI; Group 3, moderate TBI; Group 4, severe bruise; Group 5, control group.

0,010) было выявлено только в группе, имеющей обширные повреждения (УТС), а в популяции «не классических» Th17 (популяции клеток, ответственных за продукцию интерферона гамма (IFN γ) и интерлейкина-17A (IL-17A)) выявлены обратные изменения в виде их пониженного уровня ($p = 0,008$). Содержание DP Th17 (популяция клеток, обладающая высокой миграционной способностью в периферические ткани и органы, обусловленной высокой экспрессией хемокиновых рецепторов и адгезионных молекул) установлен достоверно повышенный их уровень у пациентов во 2-й (УЛС) ($p = 0,006$) и в 3-й группах (УСС) ($p = 0,012$).

При оценке изменений в субпопуляциях Th17 в рамках CCR6⁺Th EM выявлено повышенное количество DN Th17 у пациентов всех групп ($p < 0,05$). Установлено значимое повышение количества «классических» Th17 у пациентов во 2-й группе (УЛС) и 3-й группе (УТС) в сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$). Содержание «неклассических» Th17 (Th17.1) было достоверно снижено только у пациентов в 4-й группе (УТС) ($p = 0,015$). Анализ DP Th17 не выявил достоверно значимых изменений.

Результаты сравнения содержания указанных популяций в рамках пулов CCR6⁺CM и EM представлены на рисунках 1 и 2.

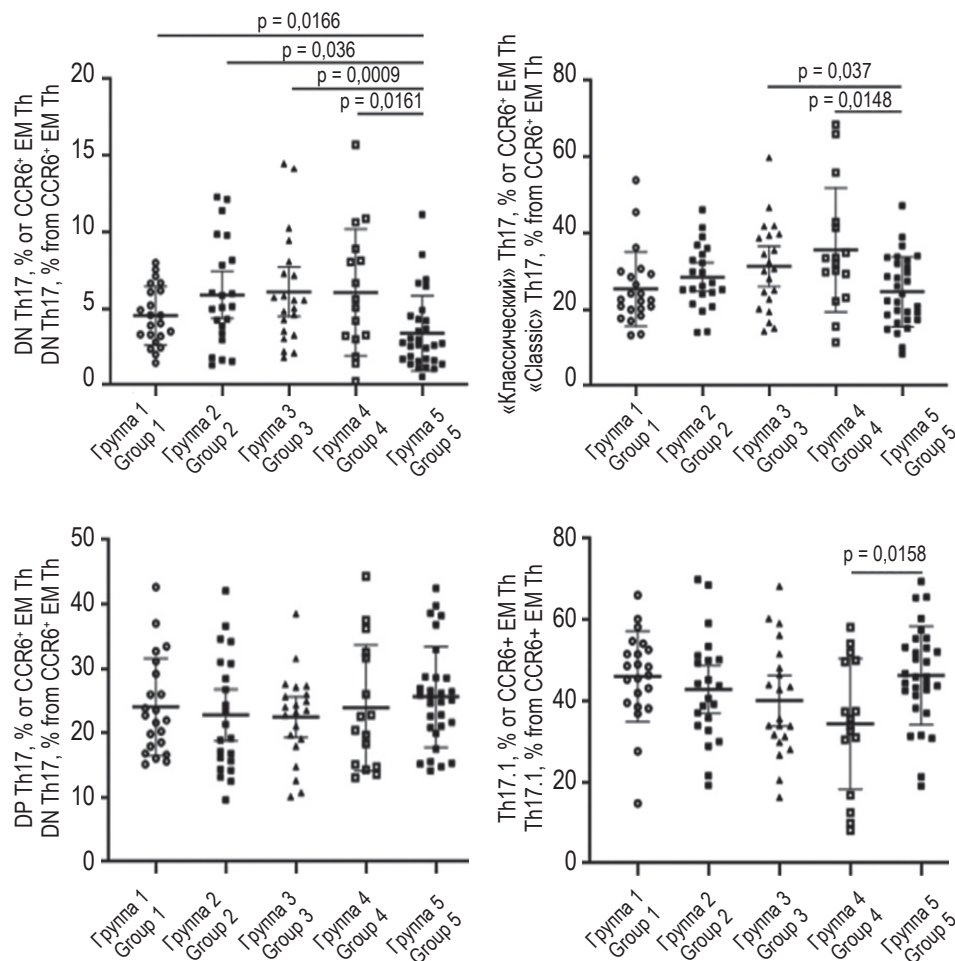


Рисунок 2. Распределение Th17 по основным субпопуляциям клеток в пределах общего пула CCR6⁺Th эффекторной памяти (Th EM) с фенотипом CD45RA⁺CD62L⁺ у пациентов с ЧМТ различной степени тяжести
Примечание. См. примечание к рисунку 1.

Figure 2. Distribution of Th17 by main subpopulations of cells within the general pool of CCR6⁺ Th effector memory (Th EM) with the CD45RA⁺CD62L⁺ phenotype in patients with TBI of varying severity

Note. As for Figure 1.

Заключение

Результаты нашей работы указывают, что при ЧМТ различной степени тяжести происходило активное формирование пула «пластичных» Th17, как в рамках центральной, так и эффекторной памяти. Среди всех субпопуляций Th17 было выявлено понижение DP Th17 и «неклассических» Th17 у всех пациентов с ушибом головного мозга, однако по мере увеличения степени тяжести (4-я группа (УТС)) наблюдались изменения в виде повышения DN Th17 и «классических» Th17. Выявленные изменения свидетельствуют о том, что степень тяжести обуславливает формирование пула «пластичных» Th17, обладающих повышенной способностью к миграции во вторичные лимфоидные ткани и нервной ткани и синтезом IFN γ , IL-12, IL-1, IL-6, IL-23 как за-

кономерного процесса в ответ на повреждение нервной ткани.

Полученные результаты указывают на активное формирование пула клеток Th17 как центральной (Th CM), так и эффекторной памяти (Th EM), что свидетельствует о направленной миграции клеток в ответ на ЧМТ. Это происходит, вероятно, за счет высокой пластичности Th17 (изменения фенотипа) и функциональных свойств, меняющихся в зависимости от микроокружения, в которое попадает та или иная клетка, что обуславливает возникновение реципрокных изменений как закономерного процесса в ответ на повреждение нервной ткани различной степени тяжести. Выявленные в исследовании закономерности согласуются с результатами ряда других имеющихся работ о роли Th17 в патогенезе заболевания головного мозга [7, 12, 13]. Воз-

возможные механизмы действия Th17 обусловлены продукцией IL-17, усиливающей миграцию нейтрофилов в очаг повреждения, прямым цитотоксическим действием по отношению к нейронам, а также участием в нарушениях ГЭБ путем изменения экспрессии молекул клеточной адгезии на эндотелиальных клетках, усилением продукции матриксных металлопротеиназ, а также за счет блокировки выработки эндотелиального NO, приводящей к развитию эндотелиальной дис-

функции и последующего снижения мозгового кровотока [2, 6, 12]. Результаты исследования демонстрируют роль изменения «поляризации» Th, обусловленной активацией M1/M2 клеток микроглии и дальнейшей активацией пролиферации «наивных» Т-клеток в Th1/Th2/Th17 типа в зависимости от степени тяжести, что определяет направленность ответа со стороны Т-хелперов, играющих решающую роль в развитии посттравматической нейродегенерации.

Список литературы / References

1. Байдун Л.А., Зурочка А.В., Хайдуков С.В., Тотолян Арег А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» (проект) // Медицинская иммунология, 2012. Т. 14, № 3. С. 255-268. [Baydun L.A., Zurochka A.V., Khaydukov S.V., Totolian Areg A., Standardized technology «Peripheral blood Lymphocyte subpopulations by using of flow cytometry-analyzers» (project). *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012., Vol. 14, no. 3, pp. 255-268. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2012-3-255-268.
2. Колударова Е.М., Тучик Е.С., Жежель И.А. Особенности нейровоспалительной реакции в остром посттравматическом периоде диффузной черепно-мозговой травмы // Вестник судебной медицины, 2021. Т. 10, № 1. С. 18-21. [Koludarova E.M., Tuchik E.S., Zhezhe I.A. Features of the neuroinflammatory reaction in the acute post-traumatic period of diffuse traumatic brain injury. *Vestnik sudebnoy meditsiny = Bulletin of Forensic Medicine*, 2021, Vol. 10, no. 1, pp. 18-21. (In Russ.)]
3. Кудрявцев И.В., Субботовская А.И. Опыт измерения параметров иммунного статуса с использованием шестичетного цитофлуориметрического анализа // Медицинская иммунология, 2015. Т. 17, № 1. С. 19-26. [Kudryavtsev I.V., Subbotovskaya A.I. Application of six-color flow cytometric analysis for immune profile monitoring. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2015, Vol. 17, no. 1, pp. 19-26. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2015-1-19-26.
4. Кудрявцев И.В., Борисов А.Г., Кробинец И.И., Савченко А.А., Серебрякова М.К., Тотолян Арег А. Хемокиновые рецепторы на Т-хелперах различного уровня дифференцировки: основные субпопуляции // Медицинская иммунология, 2016. Т. 18, № 3. С. 239-250. [Kudryavtsev I.V., Borisov A.G., Krobinec I.I., Savchenko A.A., Serebriakova M.K., Totolian A.A. Chemokine receptors at distinct differentiation stages of T-helpers from peripheral blood. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2016, Vol. 18, no. 3, pp. 239-250. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2016-3-239-250.
5. Лихтерман Л.В. Черепно-мозговая травма. Диагностика и лечение. Москва: ГЭОТАР-Медиа. 2014. 488 с. [Likhterman L.V. Traumatic brain injury. Diagnosis and treatment]. Moscow. GEOTAR-Media. 2014. 488 p.
6. Норка А.О., Воробьев С.В., Кудрявцев И.В., Кузнецова Р.Н., Серебрякова М.К., Монашенко Д.Н., Шубина К.М., Тотолян А.А. Сотрясение и ушиб головного мозга легкой степени тяжести: нейропсихологические и иммунопатогенетические аспекты // Российский нейрохирургический журнал им. профессора А.Л. Поленова, 2023. Т. XV, № 1. С. 37-44. [Norka A.O., Vorobyov S.V., Kudryavtsev I.V., Kuznetsova R.N., Serebryakova M.K., Monashenko D.N., Shubina K.M., Totolyan A.A. Concussion and contusion of the brain of mild severity: neuropsychological and immunopathogenetic aspects. *Rossiyskiy neyrokhirurgicheskiy zhurnal im. professora A.L. Polenova = Russian Neurosurgical Journal named after Professor Polenov*, 2023, Vol. XV, no. 1, pp. 37-44. (In Russ.)]
7. Поповская Е.В., Филиппова О.Е., Шашкова Е.Ю., Щеголева Л.С. Клеточные иммунные реакции при черепно-мозговой травме // Экология человека, 2020. № 11. С. 32-37. [Popovskaya E.V., Filippova O.E., Shashkova E.Yu., Shchegoleva L.S. Cellular immune reactions in traumatic brain injury. *Ekologiya cheloveka = Human Ecology*, 2020, no. 11, pp. 32-37. (In Russ.)]
8. Сабиров Д.М., Росстальная А.Л., Махмудов М.А. Эпидемиологические особенности черепно-мозгового травматизма // Вестник экстренной медицины, 2019. № 2. С. 61-65. [Sabirov D.M., Rosstalnaya A.L., Makhmudov M.A. Epidemiological features of craniocerebral traumatism. *Vestnik ekstreynoy meditsiny = Bulletin of Emergency Medicine*, 2019, no. 2, pp. 61-65. (In Russ.)]
9. Dantzer R., O'Connor J.C., Freund G.G., Johnson R.W., Kelley K.W. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat. Rev. Neurosci*, 2008, Vol. 9, no. 1, pp. 46-56.
10. Erickson M.A., Wilson M.L. In vitro modeling of blood-brain barrier and interface functions in neuroimmune communication. *Fluids Barriers CNS*, 2020, Vol. 1, no. 17, 26. doi: 10.1186/s12987-020-00187-3.
11. Ladak A.A., Enam S.A., Ibrahim M.T. A review of the molecular mechanisms of traumatic brain injury. *World Neurosurg.*, 2019, Vol. 131, pp. 126-132.

12. Lassarén P, Lindblad C., Frostell A. Systemic inflammation alters the neuroinflammatory response: a prospective clinical trial in traumatic brain injury. *J. Neuroinflamm.*, 2021., Vol. 18, no. 1, 221. doi: 10.1186/s12974-021-02264-2.

13. Nizamutdinov D., Shapiro L. A. Overview of traumatic brain injury: an immunological context overview of traumatic brain injury: an immunological context. *Brain Sci.*, 2017, Vol. 7, 11. doi: 10.3390/brainsci7010011.

14. Peeters W.R., van den Brande R., Polinder S. Epidemiology of traumatic brain injury in Europe. *Acta Neurochir*, 2015, Vol. 10, no. 157, pp. 1683-1696.

Авторы:

Норка А.О. — к.м.н., старший лаборант кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ; врач-невролог медицинского центра ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

Воробьев С.В. — д.м.н., главный научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории неврологии и нейрореабилитации ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Кузнецова Р.Н. — к.м.н., доцент кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ; врач — аллерголог-иммунолог Медицинского центра ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

Серебрякова М.К. — аспирант, научный сотрудник отдела иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

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

Коваленко С.Н. — преподаватель кафедры нейрохирургии ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова», Санкт-Петербург, Россия

Монашенко Д.Н. — к.м.н., врач-нейрохирург, заведующий 1 НХО, СПб ГБУЗ «Городская больница № 26», Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Norka A.O., PhD (Medicine), Senior Laboratory Assistant, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University; Neurologist, Medical Centre, Saint Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

Vorobyev S.V., PhD, MD (Medicine), Chief Research Associate, Research Laboratory of Neurology and Neurorehabilitation, Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russian Federation

Kuznetsova R.N., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University; Allergist-Immunologist, Medical Centre, Saint Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

Serebriakova M.K., Postgraduate Student, Research Associate, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

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

Kovalenko S.N., Lecturer, Department of Neurosurgery, S. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation

Monashenko D.N., PhD (Medicine), Neurosurgeon, St. Petersburg City Hospital No., 26, St. Petersburg, Russian Federation

Поступила 31.03.2024
Отправлена на доработку 06.04.2024
Принята к печати 17.04.2024

Received 31.03.2024
Revision received 06.04.2024
Accepted 17.04.2024

МАРКЕРЫ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ГЕМОМРАГИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ С ЭФФЕКТИВНЫМ И НЕЭФФЕКТИВНЫМ МОЗГОВЫМ КРОВОТОКОМ

Бочкарев П.Ю.¹, Береснева Н.С.¹, Зудова А.И.², Соломатина Л.В.²,
Гусев Е.Ю.²

¹ ГАУЗ Свердловской области «Свердловская областная клиническая больница № 1», г. Екатеринбург, Россия
² ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук,
г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Нейровоспаление при внутримозговом кровоизлиянии инициируется продуктами распада крови в субарахноидальном пространстве и/или паренхиме головного мозга. При этом нейровоспаление может являться причиной развития системного воспаления. В ряде случаев внутримозговое кровоизлияние сопровождается появлением феномена неэффективного мозгового кровотока и клинических проявлений смерти мозга. Цель исследования — выявить маркеры системного воспаления при тяжелом геморрагическом инсульте с наличием или отсутствием эффективного мозгового кровотока. В исследование для определения маркеров системного воспаления были включены пациенты с внутримозговым кровоизлиянием и наличием синдрома полиорганной недостаточности, а также комы в первые сутки манифестации. Всего было проанализировано 3 группы: пациенты с неэффективным мозговым кровотоком (группа 2), с эффективным мозговым кровотоком (группа 3); и контрольная группа (группа 1) — здоровые доноры крови. Критерии невключения в исследование: наличие у пациентов с геморрагическим инсультом септических осложнений в период госпитализации и острых инфекционных заболеваний при манифестации внутримозгового кровоизлияния. В замороженных образцах плазмы крови (антикоагулянт — цитрат) определяли уровни IL-6, IL-8, IL-10, TNF α , прокальцитонина, нейронспецифической энолазы, кортизола, миоглобина, тропонина I и D-димеров. Иммуноферментный анализ проводился на автоматическом анализаторе Dynex Lazurite (Dynex Technologies, США). Критерий Колмогорова–Смирнова использовался для подтверждения нормальности распределения данных. Дальше сравнение количественных данных проводилось с использованием непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Все результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$. У пациентов с эффективным и неэффективным мозговым кровотоком статистически значимые различия отмечались практически по всем исследуемым маркерам систем-

Адрес для переписки:

Соломатина Лилия Владимировна
ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии»
Уральского отделения Российской академии наук
620078, Россия, г. Екатеринбург,
ул. Первомайская, 106.
Тел./факс: 8 (343) 374-00-70.
E-mail: slv10@list.ru

Address for correspondence:

Liliya V. Solomatina
Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch,
Russian Academy of Sciences
106 Pervomayskaya St
Yekaterinburg
620078 Russian Federation
Phone: +7 (343) 374-00-70.
E-mail: slv10@list.ru

Образец цитирования:

П.Ю. Бочкарев, Н.С. Береснева, А.И. Зудова,
Л.В. Соломатина, Е.Ю. Гусев «Маркеры системного
воспаления при геморрагическом инсульте
с эффективным и неэффективным мозговым
кровоотокм» // Российский иммунологический журнал,
2024. Т. 27, № 3. С. 621–626.
doi: 10.46235/1028-7221-16659-MOS

© Бочкарев П.Ю. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

P. Yu. Bochkarev, N. S. Beresneva, A. I. Zudova,
L. V. Solomatina, E. Yu. Gusev “Markers of systemic
inflammation in hemorrhagic stroke with effective
and ineffective cerebral blood flow”, Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024,
Vol. 27, no. 3, pp. 621–626.
doi: 10.46235/1028-7221-16659-MOS

© Bochkarev P. Yu. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16659-MOS

ного воспаления, кроме тропонина I. Однако при наличии эффективного мозгового кровотока отмечались существенно более высокие значения ряда показателей, что может говорить о более стремительно протекающем остром системном воспалительном ответе. При этом 28-суточная летальность и балл по шкале SOFA в группе с наличием эффективного кровотока при этом были ниже, чем в группе с неэффективным кровотоком. Такое несоответствие может указывать на больший вклад в 28-суточную летальность и тяжесть состояния пациента непосредственное выпадение функций мозга, чем вклад системного воспаления у пациентов с неэффективным кровотоком. С другой стороны, не выраженность системного воспаления у этой категории пациентов скорее всего связана с нарушением оттока крови из поврежденного мозга и поступлением в системный кровоток продуктов тканевого распада и других провоспалительных факторов. То есть внутримозговое кровоизлияние сопровождается развитием нейровоспаления, которое может являться важной составляющей системного воспаления. Однако нарушение притока и оттока крови в основных магистральных сосудах мозга снижает вероятность и выраженность развития системного воспаления.

Ключевые слова: системное воспаление, геморрагический инсульт, эффективный мозговой кровоток, неэффективный мозговой кровоток, гематоэнцефалический барьер, нейровоспаление, полиорганная недостаточность, цитокины

MARKERS OF SYSTEMIC INFLAMMATION IN HEMORRHAGIC STROKE WITH EFFECTIVE AND INEFFECTIVE CEREBRAL BLOOD FLOW

Bochkarev P.Yu.^a, Beresneva N.S.^a, Zudova A.I.^b, Solomatina L.V.^b, Gusev E.Yu.^b

^a Regional Clinical Hospital No. 1, Yekaterinburg, Russian Federation

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

Abstract. Neuroinflammation during intracerebral hemorrhage is initiated by blood breakdown products in the subarachnoid space and/or brain parenchyma. In this case, neuroinflammation can cause the development of systemic inflammation. In some cases, intracerebral hemorrhage is accompanied by the appearance of the phenomenon of ineffective cerebral blood flow and clinical manifestations of brain death. The purpose of the study is to identify markers of systemic inflammation in severe hemorrhagic stroke with or without effective cerebral blood flow. The study included patients with intracerebral hemorrhage and the presence of multiple organ failure syndrome, as well as coma on the first day of manifestation, to determine markers of systemic inflammation. A total of 3 groups were analyzed: patients with ineffective cerebral blood flow (Group 2); with effective cerebral blood flow (Group 3); and control group (Group 1) – healthy blood donors. Criteria for non-inclusion in the study: the presence in patients with hemorrhagic stroke of septic complications during hospitalization and acute infectious diseases during the manifestation of intracerebral hemorrhage. In frozen blood plasma samples (anticoagulant – citrate), the levels of IL-6, IL-8, IL-10, TNF α , procalcitonin, neuron-specific enolase, cortisol, myoglobin, troponin I and D-dimers were determined. Enzyme immunoassay was carried out on an automatic analyzer “Dynex Lazurite” (Dynex Technologies, VA, USA). The Kolmogorov–Smirnov test was used to confirm the normality of data distribution. Further comparison of quantitative data was carried out using the nonparametric Mann–Whitney U test. All results were considered statistically significant at $p < 0.05$. In patients with effective and ineffective cerebral blood flow, statistically significant differences were observed in almost all studied markers of systemic inflammation, except for troponin I. However, in the presence of effective cerebral blood flow, significantly higher values of a number of indicators were noted, which may indicate a more rapidly occurring acute systemic inflammatory response in case of effective cerebral blood flow. At the same time, 28 day mortality and SOFA scores in the group with effective blood flow were lower than in the group with ineffective blood flow. This discrepancy may indicate a greater contribution to 28 day mortality and patient severity from direct loss of brain function than from systemic inflammation in patients with ineffective blood flow. On the other hand, the lack of severity of systemic inflammation in this category of patients is most likely due to impaired blood outflow from the damaged brain and the entry of tissue breakdown

products and other pro-inflammatory factors into the systemic circulation. That is, intracerebral hemorrhage is accompanied by the development of neuroinflammation, which may be an important component of systemic inflammation. However, disruption of the inflow and outflow of blood in the main great vessels of the brain reduces the likelihood and severity of the development of systemic inflammation.

Keywords: systemic inflammation; hemorrhagic stroke, effective cerebral blood flow, ineffective cerebral blood flow, blood-brain barrier, neuroinflammation, multiple organ failure, cytokines

Работа выполнена в рамках госзадания ИИФ УрО РАН (№ гос. регистрации 122020900136-4).

Введение

Инсульты делят на две большие категории: ишемический инсульт (~80%) и геморрагический инсульт (~20%). Причиной нетравматического внутримозгового кровоизлияния (ВМК) наиболее часто является гипертоническая микроангиопатия, церебральная амилоидная ангиопатия, а также сосудистая мальформация, опухоль, тромбоз венозного синуса или другие, более редкие вторичные патологии. Нейровоспаление при внутримозговом кровоизлиянии инициируется продуктами распада крови в субарахноидальном пространстве и/или паренхиме головного мозга. Оно характеризуется активацией микроглии и астроцитов и инфильтрацией периферических иммунных клеток, что приводит к высвобождению провоспалительных цитокинов, хемокинов и активных форм кислорода. Медиаторы воспаления способствуют повреждению гематоэнцефалического барьера, нейронов и развитию отека головного мозга, что в конечном итоге усугубляет неврологический дефицит у пациентов [1, 3]. С другой стороны, нейровоспаление также может иметь благотворные последствия, очищая клеточный «мусор» и способствуя восстановлению тканей [5]. Нейровоспаление также может являться составляющей системного воспаления – типового общепатологического процесса, лежащего в основе патофизиологических изменений при развитии полиорганной недостаточности и шокогенных состояний [2, 4, 6]. В ряде случаев внутримозговое кровоизлияние сопровождается резким повышением внутримозгового давления, сдавлением и прекращением кровотока в магистральных сосудах мозга и появлением феномена неэффективного мозгового кровотока и клинических проявлений смерти мозга.

Цель исследования – выявить маркеры системного воспаления при тяжелом геморрагическом инсульте с наличием или отсутствием эффективного мозгового кровотока.

Материалы и методы

Пациенты

В исследование для определения маркеров системного воспаления включены пациенты с

ВМК, госпитализированные в РАО Государственного автономного учреждения здравоохранения Свердловской области «Свердловская областная клиническая больница № 1» (ГАУЗ СО «СОКБ № 1»), Екатеринбург, и получавшие интенсивную терапию, включающую ИВЛ. Критериями включения пациентов в исследование стали: наличие синдрома полиорганной недостаточности и комы в первые сутки манифестации внутримозгового кровоизлияния. Внутримозговое кровоизлияние (с наличием/отсутствием внутрижелудочкового кровоизлияния) подтверждено данными КТ и/или МРТ головного мозга. Наличие ПОН устанавливалось на основании нарушения функции двух и более систем органов.

Всего было проанализировано 3 группы:

1. Пациенты с неэффективным мозговым кровотоком (на основании результатов транскраниальной доплерографии (группа 2);
2. Пациенты с эффективным мозговым кровотоком (группа 3);
3. Контрольная группа (группа 1) – здоровые доноры крови.

Забор крови производился на 1-3-и сутки от начала клинических проявлений ВМК.

Критерии невключения: наличие у пациентов с геморрагическим инсультом септических осложнений в период госпитализации и острых инфекционных заболеваний при манифестации ВМК. Исследование проводилось в соответствии с правилами Хельсинкской декларации 1975 года (пересмотр 2013 г.). Получено одобрение этических комитетов ФГБУН ИИФ УрО РАН и ГАУЗ СО СОКБ №1 г. Екатеринбурга. Информированное добровольное согласие пациентов оформлено в соответствии с Федеральным законом от 21.11.2011 № 323-ФЗ (ред. от 28.12.2022) «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» (с изм. и доп., вступ. в силу с 11.01.2023).

Определение биомаркеров

Исследовали стабилизированную цитратом плазму крови, предварительно замороженную при минус 20 °С. Уровни маркеров системного воспаления: IL-6, IL-8, IL-10, TNF α , прокальцитонина (PCT), кортизола, АКТИГ, миоглобина, тропонина I и D-димеров, а также маркера проницаемости гематоэнцефалического барье-

ра – нейронспецифической энолазы (NSE), в образцах плазмы крови анализировали с помощью иммуноферментного анализа на автоматическом анализаторе Dynex Lazurite (Dynex Technologies, США).

Статистический анализ

Описательная статистика представлена в следующем виде: переменные с распределением отличным от нормального, были выражены как медиана (межквартильный размах) ($Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$), категориальные переменные были выражены в виде чисел (в процентах) ($n (\%)$).

Критерий Колмогорова–Смирнова использовался для подтверждения нормальности распределения данных. Далее сравнение количественных данных проводилось с использованием непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Все результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Описательная статистика исследуемых групп пациентов с эффективным и неэффективным мозговым кровотоком представлена в таблице 1.

По данным таблицы 2, у пациентов с эффективным и неэффективным мозговым кровотоком статистически значимые различия ($p < 0,05$) отмечались практически по всем исследуемым маркерам системного воспаления.

Однако при наличии эффективного мозгового кровотока отмечались существенно более высокие значения миоглобина, D-димеров, кортизола, прокальцитонина, IL-6, IL-8, IL-10 по сравнению с группой с неэффективным мозговым кровотоком (табл. 2).

Такое различие может говорить о более стремительно протекающем остром системном воспалительном ответе в случае эффективного мозгового кровотока. Однако при этом 28-суточная

ТАБЛИЦА 1. ОПИСАТЕЛЬНАЯ СТАТИСТИКА В ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУППАХ ПАЦИЕНТОВ, $Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$, $n (\%)$

TABLE 1. DESCRIPTIVE STATISTICS OF PATIENTS IN THE STUDIED GROUPS, $Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$, $n (\%)$

Показатели Parameters	Группы (№) Groups (No.)	Доноры (№ 1) Donors (No. 1)	С неэффективным кровоотоком (№ 2) With ineffective blood flow (No. 2)	С эффективным кровоотоком (№ 3) With efficient blood flow (No. 3)
Количество пациентов, n Number of patients, n		89	25	52
Возраст, лет Age, years		32 (26-43)	52 (39-56)	54 (41,5-60,5)
Пол: Gender:				
Мужской, n Male, n		49 (55%)	16 (64%)	26 (50%)
Женский, n Female, n		40 (45%)	9 (36%)	26 (50%)
28-суточная летальность, n 28 day mortality, n		0 (0%)	24 (96%)	44 (85%)
SOFA, балл SOFA, point		0 (0-0)	10 (9-11)	6 (5-7)
Полиорганная недостаточность, n Multiple organ failure, n		0 (0%)	25 (100%)	52 (100%)
Внутрижелудочковое кровоизлияние, n Intraventricular hemorrhage, n		0 (0%)	11 (44%)	11 (21%)
Искусственная вентиляция легких, n Artificial ventilation, n		0 (0%)	25 (100%)	52 (100%)
Терапия вазопрессорами, n Vasopressor therapy, n		0 (0%)	20 (80%)	12 (23%)
Наличие комы, n Presence of coma, n		0 (0%)	25 (100%)	52 (100%)

ТАБЛИЦА 2. ОПИСАТЕЛЬНАЯ СТАТИСТИКА ИССЛЕДУЕМЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ГРУППАХ ПАЦИЕНТОВ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 2. DESCRIPTIVE STATISTICS OF THE INDICATORS STUDIED IN THE GROUPS OF PATIENTS, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели Parameters	Группы (№) Groups (No.)	Доноры (№ 1) Donors (No. 1) n = 89	С неэффективным кровотоком (№ 2) With ineffective blood flow (No. 2) n = 25	С эффективным кровотоком (№ 3) With efficient blood flow (No. 3) n = 52
Кортизол, нмоль/л Cortisol, nmol/L		358,33 (278,21-450,10) ^{2,3}	567,00 (543,00-576,00) ¹	898,54 (467,00-1387,00) ¹
Тропонин I, нг/мл Troponin I, ng/mL		0,00 (0,00-0,00) ³	0,00 (0,00-0,00) ³	0,05 (0,020-0,349) ^{1,2}
Миоглобин, нг/мл Myoglobin, ng/mL		7,74 (5,61-13,32) ^{2,3}	16,40 (13,80-19,40) ^{1,3}	79,40 (45,69-173,61) ^{1,2}
D-димеры, нг/мл D-dimers, ng/mL		11,54 (4,94-30,28) ^{2,3}	76,00 (41,00-92,00) ^{1,3}	1228,37 (654,00-3654,00) ^{1,2}
Прокальцитонин, нг/мл Procalcitonin, ng/mL		0,03 (0,02-0,03) ^{2,3}	0,10 (0,10-0,10) ^{1,3}	0,89 (0,40-2,96) ^{1,2}
IL-6, пг/мл IL-6, pg/mL		0,80 (0,45-1,37) ^{2,3}	1,40 (1,20-1,50) ^{1,3}	78,35 (42,80-223,08) ^{1,2}
IL-8, пг/мл IL-8, pg/mL		1,73 (1,35-2,49) ^{2,3}	3,00 (2,90-3,10) ^{1,3}	16,40 (5,50-48,45) ^{1,2}
IL-10, пг/мл IL-10, pg/mL		0,57 (0,00-1,95) ^{2,3}	1,40 (0,60-4,40) ^{1,3}	10,90 (5,37-18,02) ^{1,2}
TNFα, пг/мл TNFα, pg/mL		0,00 (0,00-0,36) ^{2,3}	1,31 (0,88-1,55) ¹	1,36 (0,20-4,00) ¹
АКТГ, пг/мл ACTH, pg/mL		2,40 (1,36-3,64) ^{2,3}	6,30 (5,82-6,55) ¹	4,00 (2,70-9,20) ¹
NSE, нг/мл NSE, ng/mL		0,99 (0,71-3,83) ^{2,3}	0,60 (0,60-0,70) ^{1,3}	4,71 (2,85-8,79) ^{1,2}

Примечание. ¹ – статистически значимые отличия (U-критерий Манна–Уитни, p < 0,05) от группы № 1; ² – статистически значимые отличия (U-критерий Манна–Уитни, p < 0,05) от группы № 2; ³ – статистически значимые отличия (U-критерий Манна–Уитни, p < 0,05) от группы № 3.

Note. ¹, statistically significant differences (Mann–Whitney (U) test, p < 0.05) with group No. 1; ², statistically significant differences (Mann–Whitney (U) test, p < 0.05) with group No. 2; ³, statistically significant differences (Mann–Whitney (U) test, p < 0.05) with group No. 3.

летальность в группе с наличием эффективного кровотока при этом была ниже (85%, n = 44), чем в группе с неэффективным кровотоком (96%, n = 24). Кроме того, балл по шкале SOFA также был ниже в данной группе (см. табл. 1).

Такое несоответствие может указывать на больший вклад в 28-суточную летальность и тяжесть состояния пациента непосредственное выпадение функций мозга, чем вклад системного воспаления у пациентов с неэффективным кровотоком. С другой стороны, невыраженность системного воспаления у этой категории пациентов, по-видимому, связана с нарушением оттока крови из повреждённого мозга и поступлением в системный кровоток продуктов тканевого распа-

да и других провоспалительных факторов, о чем свидетельствуют низкие значения NSE в этой группе пациентов.

Выводы

Внутричерепное кровоизлияние сопровождается развитием нейровоспаления, которое, в свою очередь, может являться важной составляющей системного воспаления. Однако нарушение притока и оттока крови в основных магистральных сосудах мозга существенно снижает вероятность и выраженность развития системного воспаления, несмотря на наличие крайне критического состояния этих пациентов.

Список литературы / References

1. Alsbrook D.L., Di Napoli M., Bhatia K., Biller J., Andalib S., Hinduja A., Rodrigues R., Rodriguez M., Sabbagh S.Y., Selim M., Farahabadi M.H., Jafarli A., Divani A.A. Neuroinflammation in acute ischemic and hemorrhagic stroke. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.*, 2023, Vol. 23, no. 8, pp. 407-431.
2. Brazhnikov A., Zotova N., Solomatina L., Sarapultsev A., Spirin A., Gusev E. Shock-associated systemic inflammation in amniotic fluid embolism, complicated by clinical death. *Pathophysiology*, 2023, Vol. 30, no. 1, pp. 48-62.
3. Lochhead J.J., Yang J., Ronaldson P.T., Davis T.P. Structure, function, and regulation of the blood-brain barrier tight junction in central nervous system disorders. *Front. Physiol.*, 2020, no. 11, 914. doi: 10.3389/fphys.2020.00914.
4. Simats A., Liesz A. Systemic inflammation after stroke: implications for post-stroke comorbidities. *EMBO Mol. Med.*, 2022, Vol. 14, no. 9, e16269. doi: 10.15252/emmm.202216269.
5. Tschoe C., Bushnell C.D., Duncan P.W., Alexander-Miller M.A., Wolfe S.Q. Neuroinflammation after intracerebral hemorrhage and potential therapeutic targets. *J. Stroke*, 2020, Vol. 22, no. 1, pp. 29-46.
6. Zotova N., Zhuravleva Y., Chereshev V., Gusev E. Acute and chronic systemic inflammation: features and differences in the pathogenesis, and integral criteria for verification and differentiation. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, Vol. 24, no. 2, 1144. doi: 10.3390/ijms24021144.

Авторы:

Бочкарев П.Ю. — заведующий отделением лабораторной диагностики ГАУЗ Свердловской области «Свердловская областная клиническая больница № 1», г. Екатеринбург, Россия

Береснева Н.С. — врач отделения лабораторной диагностики ГАУЗ Свердловской области «Свердловская областная клиническая больница № 1», г. Екатеринбург, Россия

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

Соломатина Л.В. — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Гусев Е.Ю. — д.м.н., профессор, заведующий лабораторией иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Authors:

Bochkarev P.Yu., Head, Laboratory Diagnostics Department, Regional Clinical Hospital No. 1, Yekaterinburg, Russian Federation

Beresneva N.S., Doctor of Laboratory Diagnostics Department, Regional Clinical Hospital No. 1, Yekaterinburg, Russian Federation

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

Solomatina L.V., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Inflammation Immunology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Gusev E.Yu., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Inflammation Immunology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Поступила 31.03.2024

Отправлена на доработку 06.04.2024

Принята к печати 18.04.2024

Received 31.03.2024

Revision received 06.04.2024

Accepted 18.04.2024

ПРОТЕКТИВНАЯ РОЛЬ ГИПОКСИЕЙ ИНДУЦИРУЕМОГО ФАКТОРА-1 α И ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА HIF-1A В РАЗВИТИИ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА

Пивоварова Л.П., Арискина О.Б., Осипова И.В., Демко А.Е.,
Рысева А.А., Малькова В.М.

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

Резюме. Острый панкреатит (ОП) — острое хирургическое заболевание брюшной полости, приобретающее тяжелое течение у 20-30% больных с летальностью, достигающей 25%. Гипоксия, возникающая при ОП, может быть связана с активацией регуляторного белка — гипоксией индуцируемого фактора-1 α (HIF-1 α), который играет важную роль в ответе организма на гипоксию. Транскрипционный фактор HIF-1 индуцирует экспрессию генов, участвующих в клеточной пролиферации, ангиогенезе, нейрогенезе, эритропоэзе и клеточном метаболизме, поддержании внутриклеточного pH. Цель работы — изучить связь содержания HIF-1 α в крови и полиморфизма гена HIF-1A с критериями гипоксии, тканевого повреждения и тяжести ОП. Обследовано 93 пациента с ОП различной тяжести в 1-е и 3-и сутки заболевания, возраст 48 (39-67) лет. Выделили 3 группы пациентов: с легкой степенью ОП — 32 человека, средней — 26 человек, тяжелой — 35 человек. Группа сравнения — 25 здоровых волонтеров, средний возраст 47 (39-56) лет. Оценивали содержание в крови HIF-1 α , наличие полиморфизма гена HIF-1A, интерлейкина-6, С-реактивного белка, прокальцитонина, ферритина, D-димера, белка S100, клинический анализ крови, газовый состав крови. У пациентов с ОП наблюдали клинические и лабораторные признаки острого воспаления, нарушения микроциркуляции, гипоксии и органной дисфункции. При легкой степени тяжести ОП в 1-3-и сутки наблюдения уровень HIF-1 α в крови превышал содержание в группе сравнения; при среднетяжелом и тяжелом ОП уровень HIF-1 α как фактора адаптации к гипоксии — снижался. Выявлена связь содержания HIF-1 α с тяжестью ОП. У этих же пациентов исследовали полиморфизм гена HIF-1A (1772C>T, rs11549465) для выявления носительства генотипов C/C, C/T и T/T. Определили, что среди больных преобладали пациенты с C/C, у которых концентрация HIF-1 α была ниже, чем в группе с C/T. Летальность среди больных с генотипом C/C и тяжелым ОП составила 47%. В группе с генотипом C/T все больные были выписаны, в том числе с тяжелым ОП. Выявлена связь уровня HIF-1 α в крови с маркерами тканевого

Адрес для переписки:

Осипова Ирина Викторовна
ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский
институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе»,
Санкт-Петербург, Россия
192242, Россия, Санкт-Петербург,
ул. Будапештская, 3.
Тел.: 8 (812) 384-46-68, 8 (921) 963-79-48.
E-mail: ivosipova@yandex.ru

Address for correspondence:

Irina V. Osipova
St. Petersburg I. Dzhanelidze Research Institute
of Emergency Medicine
3 Budapeshtskaya St
St. Petersburg
192242 Russian Federation
Phone: +7 (812) 384-46-68, +7 (921) 963-79-48.
E-mail: ivosipova@yandex.ru

Образец цитирования:

Л.П. Пивоварова, О.Б. Арискина, И.В. Осипова,
А.Е. Демко, А.А. Рысева, В.М. Малькова
«Протективная роль гипоксией индуцируемого
фактора-1 α и полиморфизма гена HIF-1A
в развитии острого панкреатита» // Российский
иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 627-634.
doi: 10.46235/1028-7221-16702-PRO

© Пивоварова Л.П. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

L.P. Pivovarova, O.B. Ariskina, I.V. Osipova, A.E. Demko,
A.A. Ryseva, V.M. Malkova "Protective role of hypoxia-
induced factor-1 α and HIF-1A gene polymorphism in
the development of acute pancreatitis", Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024,
Vol. 27, no. 3, pp. 627-634.
doi: 10.46235/1028-7221-16702-PRO

© Pivovarova L.P. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16702-PRO

повреждения S100, смешанной гипоксии – лактата, кислотного-основного состояния – pHt. Результаты позволяют рассматривать генотипы HIF-1A в качестве потенциальных предикторов тяжести течения ОП.

Ключевые слова: острый панкреатит, HIF-1 α , полиморфизм гена, HIF-1A, гипоксия, воспаление, тканевая деструкция

PROTECTIVE ROLE OF HYPOXIA-INDUCED FACTOR-1 α AND HIF-1A GENE POLYMORPHISM IN THE DEVELOPMENT OF ACUTE PANCREATITIS

Pivovarova L.P., Ariskina O.B., Osipova I.V., Demko A.E., Ryseva A.A., Malkova V.M.

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

Abstract. Acute pancreatitis (AP) is an acute surgical disease of the abdominal cavity that becomes severe in 20-30% of patients and has a mortality rate reaching 25%. Hypoxia that occurs during AP may be associated with the activation of a regulatory protein, hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α), which plays an important role in the body's response to hypoxia. The HIF-1 transcription factor induces the expression of genes involved in cell proliferation, angiogenesis, neurogenesis, erythropoiesis and cellular metabolism, and maintenance of intracellular pH. The purpose of the work is to study the relationship between HIF-1 α blood levels and polymorphism of the HIF-1A gene with the criteria of hypoxia, tissue damage and severity of AP. We examined 93 patients with AP of varying severity on days 1 and 3 of the disease, age 48 (39-67) years. We identified 3 groups of patients: with mild AP – 32 people, moderate – 26 people, or severe – 35 people. The comparison group consisted of 25 healthy volunteers, average age 47 (39-56) years. The HIF-1 α levels, the presence of HIF-1A gene polymorphism, interleukin-6, C-reactive protein, procalcitonin, ferritin, D-dimer, S100 protein, clinical blood test, and blood gas composition were assessed. In patients with AP, clinical and laboratory signs of acute inflammation, microcirculation disorders, hypoxia and organ dysfunction were observed. With mild severity of AP on days 1-3 of observation, the HIF-1 α level exceeded its content in the comparison group. With moderate and severe AP, the production of HIF-1 α as a factor of adaptation to hypoxia decreased. A relationship was found between the HIF-1 α level and the severity of AP. In the same patients, the HIF-1A gene polymorphism (1772C>T, rs11549465) was studied to identify carriage of the C/C, C/T and T/T genotypes. It was determined that among the patients, patients with C/C predominated, in whom the concentration of HIF-1 α was lower than in the group with C/T. Mortality among patients with the C/C genotype and severe AP was 47%. In the group with the C/T genotype, all patients were discharged, including those with severe AP. A relationship was found between HIF-1 α blood levels and the marker of tissue damage S100, mixed hypoxia – lactate, and acid-base state – pHt. The results allow us to consider HIF-1A genotypes as potential predictors of the severity of AP.

Keywords: acute pancreatitis, HIF-1 α , HIF-1A gene polymorphism, hypoxia, inflammation, tissue destruction

Введение

Острый панкреатит (ОП) – часто встречающееся острое хирургическое заболевание, которое составляет 28-45% от всех острых заболеваний брюшной полости [1]. У большинства пациентов ОП протекает в легкой форме, однако у 20-30% развивается тяжелая форма с летальностью, достигающей 25%. Неутешительные результаты лечения заставляют исследователей не прекращать научный поиск, искать новые, более информативные методы диагностики ОП, эффективные методы лечения этого заболевания [1]. В патогенезе ОП ключевая роль принадлежит гиперактивации ферментов поджелудочной железы (ПЖ), нарушению микроциркуляции в приле-

гающих тканях. Это приводит к гипоксемии и ацидозу, а прогрессирование воспалительного процесса способствует активации свертывающей системы крови и тромбозу мелких сосудов с развитием острой ишемии ПЖ. Воздействие медиаторов воспаления на эндотелий микроциркуляторного русла также способствует пропотеванию плазмы через сосудистую стенку и плазмопотере, развитию эндотоксикоза и органной недостаточности [2]. Гипоксия, возникающая при ОП, в том числе связана с активацией специфического регуляторного белка – транскрипционного фактора или гипоксией индуцируемого фактора-1 α (от англ. hypoxia-induced factor, HIF-1 α). HIF-1 α играет главную роль в системном ответе орга-

низма на гипоксию, отвечает за формирование краткосрочной и долговременной адаптации к гипоксии [5, 9]. Активность продукции HIF-1 α увеличивается при снижении напряжения кислорода в крови. Несмотря на актуальность проблемы острого панкреатита в urgentной хирургии и большое количество публикаций, посвященных патогенезу заболевания, сведения о роли HIF-1 α в развитии ОП весьма ограничены [7, 10, 12].

HIF-1 α входит в группу транскрипционных факторов HIF-s, имеющих 3 субъединицы, каждая из которых кодируется соответствующим геном. HIF-1 – это гетеродимер, содержащий две белковые субъединицы: HIF-1 α (73-120 kDa) – зависит от кислорода и HIF-1 β (91-94kDa) – не зависит от кислорода и экспрессируется постоянно [8]. HIF-1 α кодируется одноименным геном HIF-1A, локализованным на длинном плече (q-плече) 14-й хромосомы. При нормальной концентрации кислорода (при нормоксии) в большинстве клеток ген HIF-1A конститутивно экспрессируется на низких уровнях. HIF-1 α в присутствии кислорода подвергается гидроксилированию, связывается с консервативным белком убиквитином, который участвует в регуляции процессов внутриклеточной протеасомной деградации других белков [15]. В условиях гипоксии в клетке гидроксилирование не происходит, HIF-1 α стабилизируется и димеризуется со второй кислород-нечувствительной субъединицей HIF-1 β , которая также называется ядерным трансклокатором АН-рецептора (ARNT) (сокр. от англ. Arylhydrocarbon receptor nuclear translocator). Получившийся комплекс транслицируется в ядро, где связывается с гипоксия-зависимыми элементами (hypoxia response elements, HREs) и запускает генетическую программу выживания клетки в условиях дефицита кислорода, регулируя экспрессию более чем ста генов [6]. Гены, экспрессия которых регулируется транскрипционным фактором HIF-1, участвуют в клеточной пролиферации, ангиогенезе, нейрогенезе, эритропоэзе и клеточном метаболизме (анаэробный гликолиз – лактатдегидрогеназа, пируваткиназа), поддержании внутриклеточного рН, повышая адаптацию ткани к ишемии [13]. Генетические исследования в данной когорте пациентов потенциально могли бы выявить возможные генетические предикторы развития тяжелого ОП на самых ранних стадиях.

Цель – изучить связь содержания HIF-1 α в крови и полиморфизма гена HIF-1A с критериями гипоксии, тканевого повреждения и тяжести острого панкреатита.

Материалы и методы

Обследовано 93 пациента с ОП различной степени тяжести в 1-е и 3-и сутки заболевания в возрасте 48 (39-67) лет. Критерии включения:

пациенты с острым панкреатитом различной степени тяжести, возраст от 20 до 80 лет. Критерии исключения: наличие хронических гепатитов В и С, ВИЧ, наркозависимости, онкологических и аутоиммунных заболеваний. Степень тяжести ОП определяли по шкале критериев первичной экспресс оценки тяжести острого панкреатита СПб НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе (шкала НИИСП) и по шкале классификации острого панкреатита Российского Общества Хирургов [4]. Пациенты были распределены на 3 группы в зависимости от тяжести заболевания: легкая степень – 32 человек (35%), средняя степень – 26 человек (28%), тяжелая степень – 35 человек (37%). Группа сравнения – 25 здоровых волонтеров, средний возраст – 47 (39-56) лет. Оценивали содержание в крови гипоксией индуцируемого фактора HIF-1 α (ИФА, Ray Bio, США), наличие полиморфизма гена HIF-1A (Rt-PCR, CFX-96 (Bio-Rad, США) с использованием специфичных праймеров и зондов к гену HIF-1A НПФ «Литех», Россия), интерлейкина-6 (IL-6), (ИФА, АО «Вектор-Бест», Россия), СРБ (Cobas c601, Roche Diagnostics, Швейцария), прокальцитонина, ферритина (Architect i2000, Abbot, США), белка S100 (ИФА-ХЕМА, Россия), D-димера (ИФА, АО «Вектор-Бест», Россия), клинический анализ крови (Sysmex XN1000), газовый состав крови (Cobas b221, Roche Diagnostics, Швейцария).

Статистическая обработка результатов проведена с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0; определяли медиану (Me) и перцентили ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$), коэффициент корреляции Спирмена, отношение шансов (ОШ). При корреляционном анализе показателей с исходом заболевания выписанным пациентам присваивали 1 балл, умершим – 0 баллов. Статистическая значимость принималась при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Острая фаза панкреатита у всех больных характеризовалась типичной для данного заболевания клинической картиной, ферментемией и данными инструментальной диагностики. Больные поступали с интенсивным болевым синдромом в брюшной полости, диспептическими проявлениями, слабостью и тахикардией. При поступлении в стационар у больных наблюдали усиление секреции амилазы, наиболее выраженное при легкой степени тяжести – 948 (418-1836) ед/л, которая снижалась к 3-м суткам у больных всех групп в 5,8-6,3 раза, но не достигала уровня нормальных значений (51 (43-55) ед/л). Аналогичная картина наблюдалась при определении активности липазы: максимальный уровень липазы также был у пациентов с ОП легкой степени – 1225 (256-1463) ед/л, снижался к 3-м суткам во всех

группах в 5,3-6,3 раза, не достигая референсных значений (34,7 (30,7-47,6) ед/л).

Одновременно наблюдались метаболические изменения, проявившиеся в развитии гипергликемии, гипопроотеинемии, гипоальбуминемии, повышении уровня лактатдегидрогеназы и в снижении содержания холестерина в крови. У больных с тяжелым ОП сохранялась умеренная гипергликемия (7,0 (5,81-10,0)), в то время как у пациентов с легкой и средней тяжестью уровень глюкозы к 3-м суткам нормализовался. Гипоальбуминемия наблюдалась в 1-е и 3-и сутки у всех больных с ОП и была наиболее выражена и прогрессировала (до 18,6 (14,8-21,0) г/л) у пациентов с ОП тяжелой степени и летальным исходом.

Развитие воспаления было ассоциировано с увеличением концентрации в крови острофазовых медиаторов: значительно возрастал уровень IL-6, который сохранялся и в 3-и сутки наблюдения (табл. 1); усиливалась продукция С-реактивного белка, наиболее выраженная у пациентов со средним (197 (78-283) г/л) и тяжелым (157 (48-371) г/л) ОП; повышалось содержание фибриногена (до 7,2 (6,0-9,0) г/л) и D-димера у пациентов с тяжелым ОП (табл. 2).

Также наблюдали значительный рост содержания ферритина как неспецифического фактора воспаления, наиболее выраженный у пациентов с ОП средней и тяжелой степени (табл. 3).

При поступлении у пациентов с тяжелым ОП наблюдали эритроцитоз $-4,9 (4,6-5,4) \times 10^{12}/л$ и гипергемоглобинемию $-159 (141-175) г/л$, достигающие у умерших больных с фульминантным течением ОП наиболее высоких значений: $5,2 (4,7-5,5) \times 10^{12}/л$ и $161 (137-176) г/л$ соответ-

ственно. Но уже на 2-3-и сутки заболевания у больных этой категории развивалась нормохромная нормоцитарная анемия: эритроциты $3,6 (2,8-3,7) \times 10^{12}/л$, гемоглобин $109 (87-123) г/л$. В основе развития острой анемии при тяжелом ОП могут быть анорексия, высокая концентрация IL-6, гипопроотеинемия, системное воспаление, функциональная недостаточность печени и слизистой оболочки кишок и цитолиз [2].

В 1-е сутки острого панкреатита выявлена корреляционная зависимость уровня гемоглобина, лактата и числа тромбоцитов с исходом заболевания ($r = -0,358, p < 0,01$; $r = -0,811, p < 0,001$ и $r = 0,273, p < 0,05$ соответственно), а его тяжесть в большей степени была ассоциирована с концентрацией лактатдегидрогеназы ($r = 0,423, p < 0,05$).

Таким образом, у пациентов с ОП различной степени тяжести наблюдали лабораторные признаки острого воспаления, нарушения микроциркуляции, гипоксии и органной дисфункции. Картину гипоксии и тканевого повреждения у таких больных дополнили сведения, полученные при исследовании содержания в сыворотке крови белка HIF-1 α и полиморфизма гена HIF-1A.

У пациентов с ОП легкой степени тяжести в 1-е и 3-и сутки наблюдения высокий уровень содержания HIF-1 α в крови значительно превышал содержание этого показателя в группе сравнения (в 8 раз и в 20 раз соответственно). При этом у больных со среднетяжелым и тяжелым ОП способность к выработке HIF-1 α как фактора адаптации к гипоксии снижалась (табл. 4). Таким образом выявлена связь содержания HIF-1 α в крови с тяжестью течения ОП по шкале НИИСП

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ IL-6 (нг/мл) В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ОП РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

TABLE 1. BLOOD LEVELS OF IL-6 (ng/mL) IN PATIENTS WITH AP OF VARYING SEVERITY

Группы по тяжести течения ОП Groups by severity of AP	1-е сутки 1 st day	3-и сутки 3 rd day
Группа сравнения Comparison group n = 25	0,81 (0,15-2,06)	0,81 (0,15-2,06)
Легкая степень Mild degree n = 32	41,9 (14,9-76,1) * p = 0,001 ** p = 0,000 *** p = 0,011	23,8 (11,6-29,4) * p = 0,000 ** p = 0,000 *** p = 0,027
Средняя степень Moderate degree n = 26	140 (45-241) * p = 0,006 **** p = 0,000	81 (28-195) * p = 0,000 **** p = 0,044
Тяжелая степень Severe degree n = 35	256 (119-491) * p = 0,045	163 (99-388) * p = 0,000

Примечание. p – различия между группами. * – ОП легкой, средней и тяжелой степени и группой сравнения. ** – легкой степени и средней степени. *** – легкой степени и тяжелой степени. **** – средней степени и тяжелой степени (выжившие).

Note. p, differences between groups. *, mild, moderate and severe AP and comparison group. **, mild and moderate. ***, mild and severe. ****, moderate and severe (survivors).

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ D-ДИМЕРА (нг/мл) В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ОП РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

TABLE 2. BLOOD LEVELS OF D-DIMER (ng/mL) IN PATIENTS WITH AP OF VARYING SEVERITY

Группы по тяжести течения ОП Groups by severity of AP	1-е сутки 1 st day	3-и сутки 3 rd day
Группа сравнения Comparison group n = 25	199 (167-227)	199 (167-227)
Легкая степень Mild degree n = 32	2070 (906-2835) * p = 0,001 *** p = 0,040	1174 (913-1776) * p = 0,001 ** p = 0,016 *** p = 0,000
Средняя степень Moderate degree n = 26	2704 (1308-5825) * p = 0,003	2285 (1074-5064) * p = 0,002
Тяжелая степень Severe degree n = 35	2719 (1759-5687) * p = 0,003	5205 (2462-7158) * p = 0,000

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

ТАБЛИЦА 3. СОДЕРЖАНИЕ ФЕРРИТИНА (нг/мл) В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ОП РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

TABLE 3. BLOOD LEVELS OF FERRITIN (ng/mL) IN PATIENTS WITH AP OF VARYING SEVERITY

Группы по тяжести течения ОП Groups by severity of AP	1-е сутки 1 st day	3-и сутки 3 rd day
Группа сравнения Comparison group n = 25	42,8 (30,7-105)	42,8 (30,7-105)
Легкая степень Mild degree n = 32	211 (120-373) * p = 0,02 ** p = 0,015 *** p = 0,004	33 5 (179-393) * p = 0,00 ** p = 0,002 *** p = 0,001
Средняя степень Moderate degree n = 26	406 (156-714) * p = 0,008 **** p = 0,031	443 (329-866) * p = 0,001
Тяжелая степень Severe degree n = 35	548 (295-1319) * p = 0,012	831 (596-1615) * p = 0,009

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

на 1-е и 3-и сутки заболевания, ($r = -0,244$, $p < 0,05$ и $r = -0,345$, $p < 0,01$ соответственно).

Кроме этого, у этих пациентов были выполнены исследования полиморфизма гена HIF-1A (1772C>T, rs11549465) в Rt-PCR для выявления носительства генотипов C/C, C/T и T/T. Известно, что степень экспрессии гена HIF-1A, кодирующего продукцию белка HIF-1 α , в значительной степени определяется его генетическим полиморфизмом: миссенс-полиморфизм (точечная мутация), или замена, цитозина (C) на тимин (T) в положении 1772 в гене HIF-1A приводит к изменению аминокислотной последовательности в белке HIF-1 α с пролина на серин. Эта замена повышает стабильность белка HIF-1 α и

его транскрипционную активность [14]. В популяции встречается 3 варианта носительства генотипа HIF-1A: C/C – наиболее часто встречаемый мажорный тип, C/T – гетерозиготный генотип встречается реже, T/T – наиболее редко встречаемый минорный генотип.

Результаты нашего исследования показали, что среди обследованных больных ОП преобладали пациенты с носительством генотипа C/C, у которых концентрация HIF-1 α в крови была ниже, чем в группе с C/T, т. е. они обладали меньшей устойчивостью к гипоксии (табл. 5).

Различия в экспрессии транскрипционного фактора HIF-1 α вероятно объясняется аллельным полиморфизмом, который определяет резизи-

ТАБЛИЦА 4. СОДЕРЖАНИЕ HIF-1 α (пг/мл) В КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ОП РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

TABLE 4. BLOOD LEVELS OF HIF-1 α (pg/mL) IN PATIENTS WITH AP OF VARYING SEVERITY

Группы по тяжести течения ОП Groups by severity of AP	Тяжесть ОП по шкале НИИСП, баллы AP severity according to the DRIEM scale, points	1 сутки 1 day	3 сутки 3 day
Группа сравнения Comparison group n = 25	–	40 (16,5-56,5)	40 (16,5-56,5)
Легкая степень Mild degree n = 32	1 (1-2) ** p = 0,000 *** p = 0,000	331 (98-19077) * p = 0,03	824 (95-20729) * p = 0,02
Средняя степень Moderate degree n = 26	3 (3-3) **** p = 0,000	94 (56-478)	150 (61-295)
Тяжелая степень Severe degree n = 35	7 (6-9)	67 (45-292)	62 (36-156)

Примечание. * – различия между группами с ОП легкой степени и группой сравнения; ** – различия между группами легкой степени и средней степени; *** – различия между группами легкой степени и тяжелой степени; **** – различия между группами средней степени и тяжелой степени. Тяжесть ОП по шкале НИИСП, баллы – шкала критериев первичной экспресс оценки тяжести острого панкреатита СПб НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе.

Note. p, differences between groups; *, mild AP and comparison group; **, mild and moderate; ***, mild and severe; ****, moderate and severe. DRIEM scale – scale of criteria for primary express assessment of the severity of acute pancreatitis St. Petersburg I. Dzhanelidze Research Institute of Emergency Medicine.

стентность к гипоксии. Известно, что носители гетерозиготы C/T, для которых характерна замена пролина на серин (Pro582Ser; C1772T), обладают повышенной продукцией белка HIF-1 α [3, 11], следовательно, повышенной устойчивостью к гипоксии и имеют шанс на более легкое течение заболевания.

Летальность среди обследованных больных из группы с генотипом C/C и с тяжелым течением ОП составила 47%. В группе с генотипом C/T – все больные были выписаны, в том числе с тяжелым острым панкреатитом.

В группе с носительством генотипа C/T гена HIF-1A преобладали больные с легким течением

ТАБЛИЦА 5. СОДЕРЖАНИЕ HIF-1 α В КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ОП РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПА ГЕНА HIF-1A

TABLE 5. BLOOD LEVELS OF HIF-1 α IN PATIENTS WITH AP OF VARYING SEVERITY DEPENDING ON THE GENOTYPE OF THE HIF-1A GENE

Генотипы HIF-1A Genotypes HIF-1A	HIF-1 α , пг/мл HIF-1 α , pg/mL	Степени тяжести ОП AP severity	%	HIF-1 α пг/мл HIF-1 α , pg/mL
C/C, 88%	142 (53-626)	легкая mild	23	816 (93-17736)
		средняя moderate	28	69 (46-185)
		тяжелая severe	49	156 (48-338)
C/T, 12%	12135 (961-22247) p = 0,032	легкая mild	67	23085 (21923-24247)
		средняя moderate	22	11092 (7300-14883)
		тяжелая severe	11	10 (10-10)

Примечание. p – достоверность между группами.

Note. p, differences between groups.

ТАБЛИЦА 6. СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКА S100 В КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ОП РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ В 1-Е СУТКИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПА HIF-1A

TABLE 6. BLOOD LEVELS OF S100 PROTEIN IN PATIENTS WITH AP OF VARYING SEVERITY ON DAY 1 DEPENDING ON THE HIF-1A GENOTYPE

Генотипы HIF-1A HIF-1A genotypes	Концентрация S100 пг/мл (норма 31,9 (13,2-55,8)) Concentration S100 pg/mL (norm 31.9 (13.2-55.8))	Достоверность различий между группами Significance of differences between groups
генотип C/C genotype C/C	120 (82,1-132,5)	p = 0,026
генотип C/T genotype C/T	2,3 (2,65-47,80)	

Примечание. p – достоверность между группами.

Note. p, differences between groups.

ОП (в 2,9 раза по сравнению с генотипом C/C) (табл. 5).

При расчете отношения шансов для оценки вероятности различной степени тяжести ОП выявили, что шанс на легкое течение ОП у носителей генотипа C/T в 7,69 раза выше ($p < 0,05$), чем у носителей генотипа C/C.

Таким образом, в группе пациентов с гетерозиготным генотипом преобладали больные с более легким течением ОП. Пациенты с генотипом T/T в нашем исследовании не были идентифицированы.

Кальций-связывающий белок S100, представляющий собой молекулярный паттерн (DAMP – от англ. damage associated molecular pattern), поступает в кровь в результате повреждения клеток и тканей и вызывает активацию асептического воспаления. Концентрация белка S100 оказалась значительно выше у больных с генотипом C/C (табл. 6). У пациентов с полиморфизмом C/T содержание S100 имело обратную зависимость от концентрации HIF-1 α ($r = -0,411$, $p < 0,01$).

Результаты исследования показали, что в 1-е сутки наблюдения у пациентов с ОП уровень HIF-1 α ассоциирован с уровнем pHt крови – pH

скорректированный по температуре пациента, ($r = -0,391$, $p < 0,01$) и содержанием белка S100 ($r = -0,311$, $p < 0,05$), отражающими метаболические изменения в тканях и степень тканевого повреждения.

Выводы

Выявлена связь уровня HIF-1 α в крови с маркерами тканевого повреждения, смешанной гипоксии и кислотного-основного состояния.

Среди больных с острым панкреатитом преобладали пациенты с генотипом C/C (88%). Больные с генотипом C/T не превысили 12% от обследованных, а генотип T/T выявлен не был.

Для больных с носительством генотипа C/T (C1772T) HIF-1A характерно легкое течение заболевания и более высокое содержание HIF-1 α , но более низкое – белка S100, что может свидетельствовать о протективной роли транскрипционного фактора.

Полученные результаты позволяют рассматривать генотипы HIF-1A (1772C>T, rs11549465) в качестве потенциальных генетических предикторов тяжести течения ОП.

Список литературы / References

1. Багненко С.Ф., Гольцов В.Р., Савелло В.Е., Вашетко Р.В. Классификация острого панкреатита: современное состояние проблемы // Вестник хирургии, 2015. Т. 174, № 5. С. 86-92. [Bagnenko S.F., Goltsov V.R., Savello V.E., Vashetko R.V. Classification of acute pancreatitis: current state of the problem. *Vestnik khirurgii = Bulletin of Surgery*, 2015, Vol. 174, no. 5, pp. 86-92. (In Russ.)]
2. Багненко С.Ф., Курьгин А.А., Синенченко Г.И. Хирургическая панкреатология. СПб.: Речь, 2009. 608 с. [Bagnenko S.F., Kurygin A.A., Sinenchenko G.I. *Surgical pancreatology*. St. Petersburg: Rech, 2009. 608 p.]
3. Жукова А.Г., Казицкая А.С., Сазонтова Т.Г., Михайлова Н.Н. Гипоксией индуцируемый фактор (HIF-): структура, функции и генетический полиморфизм // Гигиена и санитария, 2019. Т. 98, № 7. С.723-728. [Zhukova A.G., Kazitskaya A.S., Sazontova T.G., Mikhailova N.N. Hypoxia inducible factor (HIF-): structure, functions and genetic polymorphism. *Gigiyena i sanitariya = Hygiene and Sanitation*, 2019. Vol. 98, no. 7, pp. 723-728. (In Russ.)]
4. Клинические рекомендации. Острый панкреатит – 2020 (20.04.2021) – Утверждены Минздравом РФ. 38 с. [Clinical recommendations. Acute pancreatitis – 2020 (04/20/2021) – Approved by the Ministry of Health of the Russian Federation. 38 p.]
5. Новиков В.Е., Левченкова О.С. Гипоксией индуцированный фактор (HIF-1 α) как мишень фармакологического воздействия // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии, 2013. Т. 11, № 2. С. 8-16. [Novikov V.E., Levchenkova O.S. Hypoxia-induced factor (HIF-1 α) as a target for pharmacological

action. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii = Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*, 2013, Vol. 11, no. 2, pp. 8-16. (In Russ.)]

6. Хушпульян Д.М., Никулин С., Христинченко А.Ю., Полозников А., Газарян И.Г., Чубар Т. Гены «быстро» ответа при действии ингибиторов HIF-пролилгидроксилазы // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия, 2021. Т. 62, № 3. С. 213-222. [Khushpulyan D.M., Nikulin S., Khristichenko A.Yu., Poloznikov A., Ghazaryan I.G., Chubar T. Genes of “fast” response to the action of HIF-prolyl hydroxylase inhibitors. *Vestnik Moskovskogo universiteta = Bulletin of Moscow University. Series 2: Chemistry*, 2021. Vol. 62, no. 3, pp. 213-222. (In Russ.)]

7. Bai X.W., Sun B., Wang F., Pan S.H., Xue D.B., Zhu H., Jiang H.C. The effect of hyperbaric oxygen on acute pancreatitis through downregulating hypoxia-inducible factor. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*, 2009, Vol. 47, no. 19, pp. 1459-1463.

8. Ivan M., Kaelin W.G. Jr. The EGLN-HIF-O₂-Sensing system: multiple inputs and feedbacks. *Mol. Cell*, 2017, Vol. 15, no. 66 (6), pp. 772-779.

9. Lv Y., Jing G., Zhu G., Luo H., Li B., Xie Y., Li C., Wang X. Effects and mechanism of the etanercept on pancreatic encephalopathy. *Mol. Med. Rep.*, 2020, Vol. 21, no. 6, pp. 2615-2623.

10. Ma Y., Li X., Liu Z., Xue X., Wang Y., Ma Y. HIF-1 α -PPAR γ -mTORC1 signaling pathway-mediated autophagy induces inflammatory response in pancreatic cells in rats with hyperlipidemic acute pancreatitis. *Mol. Biol. Rep.*, 2023, Vol. 50, no.10, pp. 8497-8507.

11. McPhee J.S., Perez-Schindler J., Degens H., Tomlinson D., Hennis P., Baar K., Williams A.G. HIF-1A P582S gene association with endurance training responses in young women. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 2011, Vol. 111, no. 9, pp. 2339-2347.

12. Qi B., Chen H.L., Shang D., Dong Y., Zhang G.X., Yu L. Effects of hypoxia-inducible factor-1 α and matrix metalloproteinase-9 on alveolar-capillary barrier disruption and lung edema in rat models of severe acute pancreatitis-associated lung injury. *Exp. Ther. Med.*, 2014, Vol. 8, no. 3, pp. 899-906.

13. Schofield C.J., Ratcliffe P.J. Oxygen sensing by HIF-hydroxylases. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2004. Vol. 5, no. 5, pp. 343-354.

14. Tanimoto K., Yoshiga K., Eguchi H., Kaneyasu M., Ukon K., Kumazaki T., Oue N., Yasui W., Imai K., Nakachi K., Poellinger L., Nishiyama M. Hypoxia-inducible factor-1 α polymorphisms associated with enhanced transactivation capacity, implying clinical significance. *Carcinogenesis*, 2003, Vol. 24, no. 11, pp. 1779-1783.

15. Weidemann A., Johnson R.S. Biology of HIF-1 α . *Cell Death Differ.*, 2008, Vol. 15, no. 4, pp. 621-627.

Авторы:

Пивоварова Л.П. — д.м.н., руководитель отдела лабораторной диагностики ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, Россия

Арискина О.Б. — к.б.н., научный сотрудник отдела лабораторной диагностики ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, Россия

Осипова И.В. — к.м.н., старший научный сотрудник отдела лабораторной диагностики ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, Россия

Демко А.Е. — д.м.н., профессор, заместитель директора по научной работе, руководитель отдела гепатохирургии ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, Россия

Рысева А.А. — врач клинической лабораторной диагностики лаборатории иммунологии ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, Россия

Малькова В.М. — врач-хирург, младший научный сотрудник отдела гепатохирургии ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Pivovarova L.P., PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory Diagnostics Department, St. Petersburg I. Dzhanelidze Research Institute of Emergency Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Ariskina O.B., PhD (Biology), Research Associate, Laboratory Diagnostics Department, St. Petersburg I. Dzhanelidze Research Institute of Emergency Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Osipova I.V., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory Diagnostics Department, St. Petersburg I. Dzhanelidze Research Institute of Emergency Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Demko A.E., PhD, MD (Medicine), Professor, Deputy Director for Research, Head, Hepatosurgery Department, St. Petersburg I. Dzhanelidze Research Institute of Emergency Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Ryseva A.A., Clinical Laboratory Diagnostics Doctor, Immunology Laboratory, St. Petersburg I. Dzhanelidze Research Institute of Emergency Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Malkova V.M., Surgeon, Junior Research Associate, Hepatosurgery Department, St. Petersburg I. Dzhanelidze Research Institute of Emergency Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Поступила 29.03.2024

Отправлена на доработку 06.04.2024

Принята к печати 18.04.2024

Received 29.03.2024

Revision received 06.04.2024

Accepted 18.04.2024

ИММУНИТЕТ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ РИНОСИНУСИТЕ И КОМОРБИДНЫХ СОСТОЯНИЯХ

Смирнова О.В., Синяков А.А.

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

Резюме. Хронический риносинусит – заболевание, обусловленное воспалением придаточных пазух носа и ее слизистой оболочки с длительностью симптомов заболевания более 4 недель непрерывно. Целью нашего исследования явилось изучение клеточного и гуморального звеньев иммунитета при ХРС и коморбидных состояний. Настоящее исследование было проведено в Научно-исследовательском институте медицинских проблем Севера – обособленном подразделении ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр “Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук”». Всего был отобран 91 пациент с хроническим риносинуситом, из них пациенты с изолированным хроническим риносинуситом составили 30 человек, с хроническим риносинуситом и искривлением носовой перегородки – 25 человек, с хроническим риносинуситом и хроническим ринитом составили 19 человек, с хроническим риносинуситом и бронхиальной астмой составило 17 человек. Контрольную группу составили 35 практически здоровых доноров крови, сопоставимых по полу и возрасту с исследуемыми группами, проходивших плановое обследование в клинике института. Для изучения системного клеточного иммунитета в венозной крови применялся метод проточной цитометрии на проточном цитофлуориметре Cytomics FC500 (Beckman Coulter, США). Для окрашивания лимфоцитов использовались моноклональные антитела (МАТ): CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD19⁺, фирмы Beckman Coulter (США). Были выявлены изменения в клеточном и гуморальном звеньях иммунитета при ХРС и его коморбидных состояниях: при ХРС и искривлении носовой перегородки – 4; при ХРС и хронического ринита – 5; при ХРС – 6; при ХРС и бронхиальной астмой – 9. При ХРС и искривлении носовой перегородки выявлялись изменения в виде увеличения абсолютного содержания В-лимфоцитов и снижения 3 индексов относительного синтеза. При ХРС и хронического ринита обнаружено увеличение абсолютного содержания В-лимфоцитов и снижения относительного количества Т-хелперов и 3 индексов относительного синтеза. При ХРС выявлялось увеличение содержания В-лимфоцитов и IgE (но значение было ниже 100 МЕ/мл), снижение относительного количества Т-хелперов и 3 индексов относительного синтеза. При ХРС и бронхиальной астмой имелось увеличение абсолютного содержания Т-хелперов, В-лимфоцитов, гипергаммаглобулинемия по классам А и Е (более 100 МЕ/мл) и снижение относительного количества Т-хелперов,

Адрес для переписки:

Смирнова Ольга Валентиновна
Научно-исследовательский институт медицинских
проблем Севера
660062, Россия, г. Красноярск,
ул. Партизана Железняка, 3г.
Тел.: 8 (913) 567-97-19.
E-mail: ovsmirnova71@mail.ru

Address for correspondence:

Olga V. Smirnova
Research Institute of Medical Problems of the North
3g Partizan Zeleznyak St
Krasnoyarsk
660062 Russian Federation
Phone: +7 (913) 567-97-19.
E-mail: ovsmirnova71@mail.ru

Образец цитирования:

О.В. Смирнова, А.А. Синяков «Иммунитет при хроническом риносинусите и коморбидных состояниях» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 635-642.
doi: 10.46235/1028-7221-16682-ИИ

© Смирнова О.В., Синяков А.А., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

O.V. Smirnova, A.A. Sinyakov “Immunity in chronic rhinosinusitis and comorbid conditions”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 635-642.
doi: 10.46235/1028-7221-16682-ИИ

© Smirnova O.V., Sinyakov A.A., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16682-ИИ

абсолютного числа цитотоксических Т-лимфоцитов и 3 индексов относительного синтеза. Не было выявлено зависимости ХРС и его коморбидных состояний от количества нарушений клеточного и гуморального звеньев иммунитета.

Ключевые слова: оториноларингология, клеточный иммунитет, проточная цитометрия, гуморальное звено иммунитета, хронический риносинусит, коморбидные состояния, слизистая оболочка носа

IMMUNITY IN CHRONIC RHINOSINUSITIS AND COMORBID CONDITIONS

Smirnova O.V., Sinyakov A.A.

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

Abstract. Chronic rhinosinusitis is a disease caused by inflammation of the paranasal sinuses and its mucous membrane with a duration of symptoms of the disease of more than 4 weeks continuously. The purpose of our study was to study the cellular and humoral components of immunity in CRS and comorbid conditions. This study was conducted at the Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation. A total of 91 patients with chronic rhinosinusitis were selected, of which 30 people were patients with isolated chronic rhinosinusitis, 25 people were with chronic rhinosinusitis and deviated nasal septum, 19 people were with chronic rhinosinusitis and chronic rhinitis, and 17 people were with chronic rhinosinusitis and bronchial asthma. The control group consisted of 35 practically healthy blood donors comparable in gender and age to the study groups, who underwent a routine examination at the institute's clinics. To study systemic cellular immunity in venous blood, flow cytometry was used on a Cytomics FC500 flow cytometer (Beckman Coulter, USA). To stain lymphocytes, monoclonal antibodies (MAbs) were used: CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, and CD19⁺, from Beckman Coulter (USA). With CRS and deviated nasal septum, changes were detected in the form of an increase in the absolute content of B lymphocytes and a decrease in 3 relative synthesis indices. In CRS and chronic rhinitis, an increase in the absolute content of B lymphocytes and a decrease in the relative number of T helper cells and 3 relative synthesis indices were found. In CRS, an increase in the content of B lymphocytes and IgE was detected (but the value was below 100 IU/mL), and a decrease in the relative number of T helper cells and 3 relative synthesis indices. In CRS and bronchial asthma, there was an increase in the absolute content of T helpers, B lymphocytes, hypergammaglobulinemia in classes A and E (more than 100 IU/mL) and a decrease in the relative number of T helper cells, the absolute number of cytotoxic T lymphocytes and 3 relative synthesis indices.

Keywords: otorhinolaryngology, cellular immunity, flow cytometry, humoral immunity, chronic rhinosinusitis, comorbid conditions, nasal mucosa

Введение

Хронический риносинусит (ХРС) является самой распространенной болезнью в оториноларингологии. Симптомы заболевания выявляются у 15,5% и более пациентов, обратившихся за медицинской помощью [2]. Ежегодно количество больных с ХРС увеличивается. Кроме того, тенденция последних нескольких лет показывает рост заболеваемости синуситами, а количество госпитализированных из-за патологии околоно-

совых пазух составляет примерно 2/3 от общего числа пациентов специализированных стационаров [3, 4]. Патологические изменения в слизистой оболочке полости носа дополняются изменениями пазух, что совокупно ответственно за появление ХРС [5, 6, 9]. Согласно современным классификациям, выделяют хронический полипозный риносинусит и риносинусит без полипов, к которым относятся гиперпластический, вазомоторный, инфекционный, атрофический и инфекционный риносинусит.

Хронический риносинусит считается многофакторным заболеванием, так как имеется более десятка этиологических факторов в возникновении данного заболевания. В основе патогенеза ХРС лежит инфицирование слизистой оболочки полости носа и пазух инфекционными агентами с развитием воспаления и локальной и системной активацией клеток иммунной системы [10]. Существует точка зрения, что хронизация воспалительной реакции при ХРС зависит не только от специфического влияния бактерий и респираторных вирусов, но и от индивидуальных различий ответа макроорганизма на агенты.

Неправильное функционирование системы врожденного иммунитета слизистой оболочки носа и околоносовых пазух, нарушение мукоцилиарного клиренса приводит к тому, что не осуществляется иммунная элиминация инфекционных агентов, формируется повышенная восприимчивость к вирусным и бактериальным инфекциям верхних дыхательных путей, что ответственно за персистенцию воспалительного процесса [1]. Одними из важнейших компонентов иммунного ответа являются мультифункциональные лимфоциты – натуральные киллеры (NK). При их активации посредством экзоцитоза цитотоксических гранул осуществляется лизис пораженных клеток. Одновременно они синтезируют провоспалительные цитокины: интерферон- γ (IFN γ) и фактор некроза опухоли. В исследовании, проведенном в Южной Корее, у больных с хроническим риносинуситом выявлены дефекты функционирования NK с сильными обратными корреляциями между эозинофилией периферической крови и дисфункцией NK при нарушении экзоцитоза гранул и экспрессии IFN γ [8]. Кроме того, при хроническом риносинусите нарушен NK-индуцируемый апоптоз эозинофилов, что увеличивает продолжительность их жизни и способствует персистенции эозинофильного воспаления слизистой оболочки околоносовых пазух [7].

ХРС может быть изолированным заболеванием или частью коморбидного состояния. Искривление носовой перегородки способствует развитию заболевания, из-за анатомического дефекта нарушается мукоцилиарный клиренс, развивается задержка слизи с патогенными микроорганизмами, которые вызывают воспаление слизистой оболочки. Одним из коморбидных состояний является сочетание хронического ринита и хронического риносинусита, когда одновременно выявляются клинические симптомы поражения

носовой полости и околоносовых пазух. Кроме того, ХРС может быть частью аспириновой триады, где непереносимость НПВС сочетается с ХРС и бронхиальной астмой. При всех коморбидных состояниях ХРС важна роль клеточного и гуморального иммунитета в клиническом течении и прогрессировании.

В связи с этим **целью нашего исследования** явилось изучение клеточного и гуморального звеньев иммунитета при ХРС и коморбидных состояний.

Материалы и методы

Исследование проведено в Научно-исследовательском институте медицинских проблем Севера – обособленном подразделении ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук». Объектом исследования являлись больные с хроническими риносинуситами, госпитализированные в ЛОР-отделение клиники института и отобранные методом сплошной выборки.

Основными критериями включения пациентов в исследование было наличие жалоб на частые в течение года, длительные выделения из полости носа, сопровождающиеся болями, дискомфортом, чувством давления или распирания в области околоносовых пазух, диагноз верифицировался согласно клиническим рекомендациям МЗ (2022). Из исследования были исключены пациенты, имеющие инфекционные и острые заболевания других органов и систем, обострение и декомпенсацию хронических сопутствующих соматических заболеваний и отказавшиеся принять участие в изучении.

Комплекс клинических методов исследования включал сбор жалоб, анамнеза, данных объективного осмотра ЛОР-органов, результатов рентгенологического исследования и компьютерной томографии околоносовых пазух. При оториноларингологическом исследовании учитывались все имеющиеся на момент осмотра у обследованных лиц острые и хронические заболевания уха, горла и носа. Шифровка диагнозов осуществлялась по статистической классификации болезней, травм и причин смерти (МКБ-10).

Всего был отобран 91 пациент с хроническим риносинуситом ($48,7 \pm 3,9$ года), из них пациенты с изолированным хроническим риносинуситом (ХРС) составили 30 человек ($43,7 \pm 3,3$ года), с хроническим риносинуситом и искривлением носовой перегородки (ХРС и ИНП) – 25 человек

(45,7±4,3 года), с хроническим риносинуситом и хроническим ринитом (ХРС и ХР) составили 19 человек (44,7±3,3 года), с хроническим риносинуситом и бронхиальной астмой (ХРС и БА) составили 17 человек (47,7±4,2 года). Контрольную группу составили 35 практически здоровых донора крови (46,7±3,5 года) сопоставимых по полу и возрасту с исследуемыми группами, проходивших плановое обследование в клиники института.

Для изучения системного клеточного иммунитета в венозной крови применялся метод проточной цитометрии на проточном цитофлуориметре Cytomics FC500 (Beckman Coulter, США). Для окрашивания лимфоцитов использовались моноклональные антитела (МАТ): CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD19⁺, фирмы Beckman Coulter (США).

По результатам исследования на персональном компьютере в пакете электронных таблиц MS Excel 2010 была сформирована база данных. Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакетов прикладных программ Statistica for Windows 8.0 (StatSoft Inc., США, 2008) и Microsoft Excel, 2007 (Microsoft, США). Обработка полученных данных включала подсчет непараметрических данных: медиану (Me) и персентиля ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$). Статистическую значимость различий определяли с использованием рангового критерия Манна–Уитни. Критический уровень значимости при проверки статистических гипотез принимался равным $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Клеточное звено иммунитета является одним из важнейших компонентов защиты организма. Нами было получено снижение относительного количества CD4⁺ клеток в группах пациентов с ХРС, хроническим риносинуситом и хроническим ринитом, хроническим риносинуситом и бронхиальной астмой ($p_{1-2} = 0,04$, $p_{1-4} = 0,043$, $p_{1-5} = 0,04$) (табл. 1). Абсолютное количество CD4⁺ клеток повышалось относительно всех исследуемых групп у пациентов с хроническим риносинуситом и бронхиальной астмой ($p_{1-5} = 0,034$; $p_{2-5} = 0,04$; $p_{3-5} = 0,045$; $p_{4-5} = 0,02$). При исследовании CD8⁺ клеток было обнаружено снижение данных клеток у пациентов с хроническим риносинуситом и бронхиальной астмой по сравнению с группой больных хроническим риносинуситом и контрольной группой ($p_{1-5} = 0,04$; $p_{2-5} = 0,04$). Абсолютное содержание CD19⁺ клеток было по-

вышено во всех исследуемых группах относительно контрольной группы ($p_{1-2} = 0,03$, $p_{1-2} = 0,03$, $p_{1-4} = 0,03$, $p_{1-2} = 0,03$).

Для характеристики гуморального звена иммунитета в исследуемых группах нами была произведена оценка следующих параметров: IgA, IgM, IgG, IgE. У пациентов с хроническим риносинуситом и бронхиальной астмой происходило повышение концентрации IgA по сравнению с контрольной группой ($p_{1-5} = 0,03$) (табл. 2). При исследовании концентрации IgE было обнаружено повышение данного иммуноглобулина у пациентов, страдающих хроническим риносинуситом и хроническим риносинуситом и бронхиальной астмой по сравнению с контрольной группой ($p_{1-2} < 0,001$, $p_{1-5} < 0,001$). Дополнительно, всем лицам, входившим в исследование, производили оценку относительного синтеза IgA (IgA/CD19⁺), IgM (Ig M/CD19⁺) и IgG (IgG/CD19⁺). Во всех группах пациентов отмечалось снижение относительного синтеза IgA по сравнению с контрольной группой ($p_{1-2} < 0,001$, $p_{1-3} < 0,001$, $p_{1-4} < 0,001$, $p_{1-5} < 0,001$). При исследовании относительного синтеза IgM было выявлено снижение данного показателя у пациентов с хроническим риносинуситом относительно всех исследуемых и контрольной групп ($p_{1-2} < 0,001$, $p_{2-3} < 0,001$, $p_{2-4} < 0,001$, $p_{2-5} < 0,001$). Во всех группах пациентов происходило снижение относительного синтеза IgG относительно контрольной группы ($p_{1-2} < 0,001$, $p_{1-3} < 0,001$, $p_{1-4} = 0,03$, $p_{1-5} = 0,03$).

Были выявлены изменения в клеточном и гуморальном звеньях иммунитета при ХРС и его коморбидных состояниях: при ХРС и искривлении носовой перегородки – 4; при ХРС и хронического ринита – 5; при ХРС – 6; при ХРС и бронхиальной астмой – 9. При ХРС и искривлении носовой перегородки выявлялись изменения в виде увеличения абсолютного содержания В-лимфоцитов и снижения 3 индексов относительного синтеза. При ХРС и хронического ринита обнаружено увеличение абсолютного содержания В-лимфоцитов и снижения относительного количества Т-хелперов и 3 индексов относительного синтеза. При ХРС выявлялось увеличение содержания В-лимфоцитов и IgE (но значение было ниже 100 МЕ/мл), снижение относительного количества Т-хелперов и 3 индексов относительного синтеза. При ХРС и бронхиальной астмой имелось увеличение абсолютного содержания Т-хелперов, В-лимфоцитов, гипергаммаглобулинемия по классам А и Е (более 100 МЕ/мл) и снижение относительного количе-

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ Т-ЛИМФОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ РИНОСИНУСИТЕ И В КОМОРБИДНЫХ СОСТОЯНИЯХ (Me, Q_{0,25}-Q_{0,75}, P_{min}-P_{max})

TABLE 1. INDICATORS OF T LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH CHRONIC RHINOSINUSITIS AND IN COMORBID CONDITIONS (Me, Q_{0,25}-Q_{0,75}, P_{min}-P_{max})

Показатели Indicators	Контрольная группа Control group n = 35 (1)		ХРС CR n = 30 (2)		ХРС + ИНП CR + DNS n = 25 (3)		ХРС + ХР CR + CR n = 19 (4)		ХРС + БА CR + BA n = 17 (5)	
	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}
Лейкоциты, 10 ⁹ /л Leukocytes, 10 ⁹ /L	5,73	4,85-7,75	6,78	5,8-8,3	5,3	4,4-6,2	7,4	3,5-10,6	7,2	3,3-11,1
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	31,0	29,8-45,0	43,0	34,0-46,1	30	22-43	29,2	19,3-49,4	28,1	20,3-47,6
Лимфоциты, 10 ⁹ /л Lymphocytes, 10 ⁹ /L	1,78	1,61-2,83	2,9	1,90-3,82	1,9	1,3-2,6	1,8	1,4-3,5	1,9	1,3-3,9
CD3 ⁺ , %	67,0	60,0-72,0	63,1	56,2-70,3	64,2	58,4-70,2	62,5	54,3-69,7	61,2	54,1-68,4
CD3 ⁺ , 10 ⁹ /л CD3 ⁺ , 10 ⁹ /L	1,19	1,01-1,88	1,68	1,07-2,79	0,9	0,6-1,4	1,6	0,6-1,8	1,3	0,8-1,6
CD4 ⁺ , %	44,0	34,0-49,0	35,2	29,3-40,3	37,1	30,2-42,3	35,1	30,9-41,5	35,9	29,5-42,1
			P _{1,2} = 0,04				P _{1,4} = 0,043			P _{1,5} = 0,04
CD4 ⁺ , 10 ⁹ /л CD4 ⁺ , 10 ⁹ /L	0,78	0,55-1,27	0,9	0,57-2,79	0,63	0,4-0,9	1,01	0,3-1,4	1,9	1,2-2,4
									P ₁₋₅ = 0,034; P _{2,5} = 0,04; P ₃₋₅ = 0,045; P _{4,5} = 0,02	
CD8 ⁺ , %	27,0	20,0-34,0	28,1	23,5-32,5	26,5	23,2-32,1	27,7	22,3-30,6	27,8	22,7-31,2
CD8 ⁺ , 10 ⁹ /л CD8 ⁺ , 10 ⁹ /L	0,48	0,38-0,89	0,82	0,48-1,40	0,47	0,3-0,8	0,5	0,2-0,8	0,38	0,33-0,72
									P _{2,5} = 0,04	
CD16 ⁺ , %	21,2	15,4-28,5	20,1	15,4-24,6	20,1	15,3-24,1	19,1	14,5-24,2	19,5	13,9-25,5
CD16 ⁺ , 10 ⁹ /л CD16 ⁺ , 10 ⁹ /L	0,36	0,31-0,60	0,5	0,30-0,97	0,4	0,2-0,6	0,4	0,2-0,8	0,5	0,3-0,9
CD19 ⁺ , %	13,5	9-16	18,4	12,5-21,5	17,4	12,2-20,8	18,1	14,1-22,6	18,6	16,7-22,3
CD19 ⁺ , 10 ⁹ /л CD19 ⁺ , 10 ⁹ /L	0,27	0,18-0,38	0,4	0,23-0,56	0,36	0,2-0,49	0,4	0,29-0,6	0,5	0,40-0,63
			P _{1,2} = 0,03				P _{1,4} = 0,03			P _{1,5} = 0,03

Примечание. P_{1,2} – статистически значимые различия между группой больных ХРС и контрольной группой; P_{1,3} – статистически значимые различия между группой больных ХРС + ИНП и контрольной группой; P_{1,4} – статистически значимые различия между группой больных ХРС + ХР и контрольной группой; P_{1,5} – статистически значимые различия между группой больных ХРС + БА и контрольной группой; P_{2,3} – статистически значимые различия между группой больных ХРС и группой больных ХРС + ИНП; P_{2,4} – статистически значимые различия между группой больных ХРС и группой больных ХРС + ХР; P_{2,5} – статистически значимые различия между группой больных ХРС и группой больных ХРС + БА; P_{3,5} – статистически значимые различия между группой больных ХРС + ИНП и группой больных ХРС + ХР; P_{4,5} – статистически значимые различия между группой больных ХРС + ХР и группой больных ХРС + БА.

Note. P_{1,2} – statistically significant differences between the group of patients with CR and the control group; P_{1,3} – statistically significant differences between the group of patients with CR + DNS and the control group; P_{1,4} – statistically significant differences between the group of patients with CR + CR and the control group; P_{1,5} – statistically significant differences between the group of patients with CR + BA and the control group; P_{2,3} – statistically significant differences between the group of patients with CR and the group of patients with CR + DNS; P_{2,4} – statistically significant differences between the group of patients with CR and the group of patients with CR + CR; P_{2,5} – statistically significant differences between the group of patients with CR and the group of patients with CR + BA; P_{3,5} – statistically significant differences between the group of patients with CR + DNS and the group of patients with CR + CR; P_{4,5} – statistically significant differences between the group of patients with CR + CR and the group of patients with CR + BA.

ТАБЛИЦА 2. ПОКАЗАТЕЛИ ГУМОРАЛЬНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ РИНОСИНИУСИТЕ И В КОМОРБИДНЫХ СОСТОЯНИЯХ (Me, Q_{0,25}-Q_{0,75}, P_{min}-P_{max})

TABLE 2. INDICATORS OF HUMORAL IMMUNITY IN PATIENTS WITH CHRONIC RHINOSINUSITIS AND COMORBID CONDITIONS (Me, Q_{0,25}-Q_{0,75}, P_{min}-P_{max})

Показатели Indicators	Контрольная группа Control group n = 35 (1)		ХРС CR n = 30 (2)		ХРС + ИНП CR + DNS n = 25 (3)		ХРС + ХР CR + CR n = 19 (4)		ХРС + БА CR + BA n = 17 (5)	
	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}
IgA, г/л IgA, g/L	1,91	1,33-3,20	2,3	1,2-3,2n	1,9	0,9-3,1	2,2	1,5-3,7	2,5	1,1-3,4
IgM, г/л IgM, g/L	1,20	0,50-1,80	1,4	1,1-1,9	1,5	1-2	1,4	1,1-1,9	1,6	1,2-2,1
IgG, г/л IgG, g/L	10,30	8,18-14,12	10,4	5,8-14,3	11,2	6,2-14,4	12,5	7,6-14,4	12,1	6,7-15,2
IgE, МЕ/мл IgE, IU/mL	67,4	35,2-97,6	94,1	30,3-198,6	68,1	34,1-240,3	75,3	42-98,6	101,3	33,5-240,3
IgA/CD19⁺	7,38	7,07-8,2	4,9	3,9-7,03	4,9	3,9-7,03	5,4	3,0-6,2	4,5	3,6-7,0
IgM/CD19⁺	4,4	2,7-4,61	1,9	0,8-3,6	3,9	3,8-6,6	4,01	3,3-4,2	4,8	4,3-5,5
IgG/CD19⁺	42,9	36,2-45,4	10,3	7,21-26,6	14,33	14,21-26,6	28,7	25,3-35,3	29,3	27-39

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

ства Т-хелперов, абсолютного числа цитотоксических Т-лимфоцитов и 3 индексов относительного синтеза.

Заключение

Не было выявлено зависимости ХРС и его коморбидных состояний от количества нарушений клеточного и гуморального звеньев иммунитета. Меньше всего нарушений выявлено при сочетании ХРС и искривления носовой перегородки, больше при сочетании ХРС и БА, что безусловно

обусловлено тяжестью самой бронхиальной астмы. У всех пациентов ХРС независимо от коморбидности увеличено количество В-лимфоцитов и снижены индексы относительного синтеза, что доказывает первопричиной развития заболевания контакт с бактериальным агентом. Выявлено нарушение в содержании Т-хелперов, выраженная дисрегуляция обнаружена при сочетании ХРС и БА (разнонаправленные изменения в абсолютных и относительных показателях). Не было выявлено изменений в НК-клетках.

Список литературы / References

1. Егоров В.И., Савлевич Е.Л. Место врожденного иммунитета в развитии хронического риносинусита и перспективы тактики консервативного лечения // Альманах клинической медицины, 2016. Т. 44, № 7. С. 850-856. [Egorov V.I., Savlevich E.L. The role of innate immunity in the development of chronic rhinosinusitis and perspectives of its conservative management. *Almanakh klinicheskoy meditsiny = Almanac of Clinical Medicine*, 2016, Vol. 44, no. 7, pp. 850-856. (In Russ.)]
2. Лопатин А.С., Варвянская А.В. Острый и хронический риносинусит: принципы терапии // Медицинский совет, 2014. № 3. С. 24-27 [Lopatin A.S., Varvyanskaya A.V. Acute and chronic rhinosinusitis: principles of therapy. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*, 2014, no. 3, pp. 24-27. (In Russ.)]
3. Anand V.K. Epidemiology and economic impact of rhinosinusitis. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 2004, Vol. 193, pp. 3-5.
4. Bhattacharyya N. Clinical and symptom criteria for the accurate diagnosis of chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope*, 2006, Vol. 116, no. 7, pp. 1-22.
5. Fokkens W.J., Lund V.J., Hopkins C., Hellings P.W., Kern R., Reitsma S., Toppila-Salmi S., Bernal-Sprekelsen M., Mullol J., Alobid I., Terezinha Anselmo-Lima W., Bachert C., Baroody F., von Buchwald C., Cervin A., Cohen N., Constantinidis J., De Gaborry L., Desrosiers M., Diamant Z., Douglas R.G., Gevaert P.H., Hafner A., Harvey R.J., Joos G.F., Kalogjera L., Knill A., Kocks J.H., Landis B.N., Limpens J., Lebeer S., Lourenco O., Meco C., Matricardi P.M., O'Mahony L., Philpott C.M., Ryan D., Schlosser R., Senior B., Smith T.L., Teeling T., Tomazic P.V., Wang D.Y., Wang D., Zhang L., Agius A.M., Ahlstrom-Emanuelsson C., Alabri R., Albu S., Alhabash S., Aleksic A., Aloulah M., Al-Qudah M., Alsaleh S., Baban M.A., Baudoin T., Balvers T., Battaglia P., Bedoya J.D., Beule A., Bofares K.M., Braverman I., Brozek-Madry E., Richard B., Callejas C., Carrie S., Caulley L., Chussi D., de Corso E., Coste A., El Hadi U., Elfarouk A., Eloy P.H., Farrokhi S., Felisati G., Ferrari M.D., Fishchuk R., Grayson W., Goncalves P.M., Grdnic B., Grgic V., Hamizan A.W., Heinichen J.V., Husain S., Ping T.I., Ivaska J., Jakimovska F., Jovancevic L., Kakande E., Kamel R., Karpi schenko S., Kariyawasam H.H., Kawauchi H., Kjeldsen A., Klimek L., Krzeski A., Kopacheva Barsova G., Kim S.W., Lal D., Letort J.J., Lopatin A., Mahdjoubi A., Mesbahi A., Netkovski J., Nyenbue Tshipukane D., Obando-Valverde A., Okano M., Onerci M., Ong Y.K., Orlandi R., Otori N., Ouennoughy K., Ozkan M., Peric A., Plzak J., Prokopakis E., Prepageran N., Psaltis A., Pugin B., Raftopoulos M., Rombaux P., Riechelmann H., Sahtout S., Sarafoleanu C.C., Searyoh K., Rhee C.S., Shi J., Shkoukani M., Shukuryan A.K., Sicak M., Smyth D., Sindvongs K., Soklic Kosak T., Stjarne P., Sutikno B., Steinsvag S., Tantilipikorn P., Thanaviratananich S., Tran T., Urbancic J., Valiulius A., Vasquez de Aparicio C., Vicheva D., Virkkula P.M., Vicente G., Voegels R., Wagenmann M.M., Wardani R.S., Welge-Lussen A., Witterick I., Wright E., Zabolotniy D., Zsolt B., Zwetsloot C.P. European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps 2020. *Rhinology*, 2020, Vol. 58, Suppl. S29, pp. 1-464.
6. Hirsch A.G., Stewart W.F., Sundaresan A.S., Young A.J., Kennedy T.L., Scott Greene J., Feng W., Tan B.K., Schleimer R.P., Kern R.C., Lidder A., Schwartz B.S. Nasal and sinus symptoms and chronic rhinosinusitis in a population-based sample. *Allergy*, 2017, Vol. 72, no. 2, pp. 274-281.
7. Kim J.H., Choi G.E., Lee B.J., Kwon S.W., Lee S.H., Kim H.S., Jang Y.J. Natural killer cells regulate eosinophilic inflammation in chronic rhinosinusitis. *Sci. Rep.*, 2016, Vol. 6, 27615. doi: 10.1038/srep27615.

8. Kim J.H., Kim G.E., Cho G.S., Kwon H.J., Joo C.H., Kim H.S., Jang Y.J. Natural killer cells have impaired effector functions. *PLoS One*, 2013, Vol. 8, no. 10, e77177. doi: 10.1371/journal.pone.0077177.
9. Kim J.H., Cho C., Lee E.J., Suh Y.S., Choi B.I., Kim K.S. Prevalence and risk factors of chronic rhinosinusitis in South Korea according to diagnostic criteria. *Rhinology*, 2016, Vol. 54, no. 4, pp. 329-335.
10. Kim Y.M., Munoz A., Hwang P.H., Nadeau K.C. Migration of regulatory T cells toward airway epithelial cells is impaired in chronic rhinosinusitis with nasal polyposis. *Clin. Immunol.*, 2010, Vol. 137, no. 1, pp. 111-121.

Авторы:

Смирнова О.В. — д.м.н., профессор, заведующая лабораторией клинической патофизиологии, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», г. Красноярск, Россия

Синяков А.А. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», г. Красноярск, Россия

Authors:

Smirnova O.V., PhD, MD (Medicine) Professor, Head, Laboratory of Clinical Pathophysiology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

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

Поступила 29.03.2024
Принята к печати 31.03.2024

Received 29.03.2024
Accepted 31.03.2024

АЛЛЕРГОКАРТИРОВАНИЕ У ДЕТЕЙ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМ РИНИТОМ В РАЗЛИЧНЫХ СУБЪЕКТАХ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Пуговая Х.Б.¹, Максимова А.В.¹, Мигачёва Н.Б.², Ускова Т.Р.¹,
Татаурщикова Н.С.¹

¹ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва, Россия

² ГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
Самара, Россия

Резюме. Учитывая климатгеографическое положение и различия в смене сезонов на территории РФ имеется выраженная неоднородность в представительстве респираторных аллергенов. Очевидно, что в случае двойной или тройной сенсibilизации, диагностика ее истинной картины представляет сложную задачу. В подобных случаях крайне необходимым этапом аллергологического обследования является проведение аллергокомпонентного анализа.

Цель исследования – оценка спектра сенсibilизации пациентов, с АР в возрастной группе от 3 до 17 лет включительно, проживающих в разных регионах РФ. Проведение сравнительного анализа различий в спектре сенсibilизации пациентов с АР в Республике Ингушетия в разных возрастных группах.

В исследовании принимали участие 47 пациентов, 36 из них – дети до 18 лет: Москва n = 9 (Центральный федеральный округ), Самара n = 8 (Приволжский федеральный округ), Магас n = 19 (Северокавказский федеральный округ, Республика Ингушетия). Также в исследовании принимали участие 11 пациентов от 18 лет и старше из г. Магас. Был проведен анализ результатов, полученных на основании иммунного твердофазного аллергочипа ImmunoCAP ISAC и иммунного твердофазного аллергочипа ALEX2. Оценивались цифровые значения основных респираторных аллергенов, у пациентов с клиническими признаками АР в период с 01.01.2023 года по 27.01.2024 года. Диагноз «АР» выставлялся согласно общепринятым критериям постановки диагноза.

Основным причинно-значимым фактором формирования АР является главный мажорный аллерген пыльцы березы (Bet v1). Однако, для центрального ФО отмечена неоднородность представительства в группе луговых цветных деревьев, что необходимо учитывать при планировании аллерген-специфической иммунотерапии. Спектр сенсibilизации детей, с АР в северокавказском ФО (г. Магас) значительно отличается от центрального и приволжского ФО, где этиологическую основу формирования АР составляет главный мажорный аллерген пыльцы амброзии Amb a 1. При сравнении пациентов с АР разных возрастных групп из г. Магас не было установлено различий в спектре сенсibilизации.

Адрес для переписки:

Пуговая Хяди Баматгиреевна
ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы
народов имени Патриса Лумумбы»
386001, Россия, г. Магас, пр. И. Зязикова, 50.
Тел.: 8 (928) 214-29-26.
E-mail: pugoeba.khadi@mail.ru

Address for correspondence:

Khyadi B. Pugoeba
P. Lumumba Peoples' Friendship University of Russia
50 I. Zyazikov Ave
Magas
386001 Russian Federation
Phone: +7 (928) 214-29-26.
E-mail: pugoeba.khadi@mail.ru

Образец цитирования:

Х.Б. Пуговая, А.В. Максимова, Н.Б. Мигачёва,
Т.Р. Ускова, Н.С. Татаурщикова
«Аллергокартирование у детей с аллергическим
ринитом в различных субъектах Российской
Федерации» // Российский иммунологический журнал,
2024. Т. 27, № 3. С. 643-648.
doi: 10.46235/1028-7221-16752-AMI

© Пуговая Х.Б. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

Kh.B. Pugoeba, A.V. Maksimova, N.B. Migacheva,
T.R. Uskova, N.S. Tataurshchikova "Allergy mapping in
children with allergic rhinitis in different subjects of the Russian
Federation", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 643-648.
doi: 10.46235/1028-7221-16752-AMI

© Pugoeba Kh.B. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.46235/1028-7221-16752-AMI

Результаты свидетельствуют о высокой степени важности проведения алергокомпонентной диагностики для повышения эффективности проводимой алерген-специфической иммунотерапии.

Ключевые слова: алергический ринит, алергокартирование, сенсibilизация, факторы риска, заболеваемость, алергические заболевания

ALLERGY MAPPING IN CHILDREN WITH ALLERGIC RHINITIS IN DIFFERENT SUBJECTS OF THE RUSSIAN FEDERATION

Pugoeva Kh.B.^a, Maksimova A.V.^a, Migacheva N.B.^b, Uskova T.R.^a, Tataurshchikova N.S.^a

^a P. Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

^b Samara State Medical University, Samara, Russian Federation

Abstract. Given the climatic and geographical location and differences in the change of seasons in the Russian Federation, there is a marked heterogeneity in the representation of respiratory allergens. Obviously, in the case of double or triple sensitization, the diagnosis of its true picture is a difficult task. In such cases, allergy-component analysis is an extremely necessary stage of allergological examination. Purpose of the study: to assess the sensitization spectrum of AR patients in the age group from 3 to 17 years inclusive, living in different regions of the Russian Federation. Comparative analysis of differences in the sensitization spectrum of AR patients in the Republic of Ingushetia in different age groups.

The study involved 47 patients, 36 of them were children under 18 years of age: Moscow n = 9 (Central Federal District), Samara n = 8 (Volga Federal District), Magas n = 19 (North Caucasus Federal District, Republic of Ingushetia). Also, 11 patients aged 18 years and older from Magas city took part in the study. The results obtained by ImmunoCAP ISAC and ALEX2 immune solid-phase allergy test were analyzed. The numerical values of the main respiratory allergens were evaluated, in patients with clinical signs of AR in the period from 01.01.2023 to 27.01.2024. The diagnosis of AR was made according to generally accepted criteria for diagnosis.

The main causative factor of AR formation is the major allergen of birch pollen (Bet v1). However, for the Central Federal District, heterogeneity of representation in the group of bucciferous trees was noted, which should be taken into account when planning allergen-specific immunotherapy. The spectrum of sensitization of children with AR in the North Caucasian Federal District (Magas) differs significantly from the Central and Volga Federal Districts, where the main major allergen of Amb a 1 ragweed pollen forms the etiological basis of AR formation. When comparing patients with AR of different age groups from Magas city, no differences in the sensitization spectrum were found.

The results indicate a high degree of importance of allergy-component diagnostics to improve the effectiveness of allergen-specific immunotherapy.

Keywords: allergic rhinitis, allergy mapping, sensitization, risk factors, morbidity, allergic diseases

Введение

В течение последних десятилетий в Европе наблюдается резкое увеличение распространенности респираторных алергических заболеваний, к которым относятся круглогодичный и сезонный алергический ринит (АР) и бронхиальная астма (БА). Ожидается, что к 2050 г. респираторной алергией будут страдать до 4 млрд человек на земле [9]. В зависимости от климатической зоны и региона проживания меняется и

представительство спектра аэроалергенов, что в свою очередь ведет к различиям в спектрах сенсibilизации [4].

Последнее время пристальное внимание исследователей направлено на выявление региональных особенностей спектра сенсibilизации. Согласно опубликованным результатам в структуре сенсibilизации преобладает поливалентный пейзаж причинно-значимых алергенов [5].

По данным Ильиной Н.И., еще в 90-е годы прошлого века в структуре больных респиратор-

ной аллергией, проживающих на юге России, ведущая роль принадлежала сезонному аллергическому риниту, с сенсibilизацией к пыльце амброзии [2]. Сегодня амброзия также встречается во многих странах Европы. На сегодняшний день цветение амброзии отмечено в Московском регионе и городе Москве [1].

По данным Б.А. Шамгуновой и соавт., распространенность АР у взрослого населения Астраханской области в 2011 г., составляла 17,3%, atopической (пыльцевой) БА – 6%. Большинство больных также были сенсibilизированы к аллергенам растений семейства сложноцветных (77,3%) и маревых (77%), в одинаковой степени – к пыльце деревьев и злаковых трав (31,6 и 30,2% соответственно) [7].

Согласно данным исследования по Волгоградской области, основной причиной летне-осеннего поллиноза является пыльца лебеды, полыни и амброзии [6].

В Ставропольском крае в спектре сенсibilизации доминирует пыльца амброзии. Сенсibilизация к полыни встречается в 50,2%, лебеды в 46,8%, злаковых трав в 38,2%) и деревьев (2,6%) [6].

Недавно опубликованное руководство по молекулярной диагностике аллергии подчеркивает многие ее преимущества, одним из которых является оценка истинной сенсibilизации, что особенно важно у полисенсibilизированных пациентов [10]. Она все чаще входит в рутинную медицинскую практику и, на сегодняшний день, является неотъемлемым этапом аллергологического обследования для картирования чувствительности пациентов к различным аллергенам на молекулярном уровне [12].

Таким образом, особое географическое положение РФ определяет необходимость проведения дальнейших эпидемиологических исследований с целью изучения спектра сенсibilизации для данного конкретного региона.

Цель исследования – оценить спектр сенсibilизации пациентов, страдающих АР в возрастной группе 3 до 17 лет включительно, проживающих в разных регионах РФ; провести сравнительный анализ различий в спектре сенсibilизации пациентов с АР в Республике Ингушетия в разных возрастных группах.

Материалы и методы

Всего в исследовании принимали участие 47 пациентов. Из них дети до 18 лет – 36 пациентов: из Москвы – n = 9 (центральный федеральный округ), из Самары – n = 8 (Приволжский федеральный округ (ФО)), из г. Магас – n = 19 (Северокавказский ФО, Республика Ингушетия). А также 11 пациентов старше 18 лет из г. Магас.

Был проведен анализ результатов, полученных на основании иммунного твердофазного аллергочипа ImmunoCAP ISAC и иммунного твердофазного аллергочипа ALEX2. Оценивались цифровые значения основных респираторных аллергенов у пациентов с клиническими признаками АР в период с 01.01.2023 года по 27.01.2024 года. Диагноз АР выставлялся согласно общепринятым критериям постановки диагноза [3, 11]. У всех пациентов, включенных в исследование, диагноз «АР» был выставлен впервые. Длительность предъявляемых жалоб варьировалась от одного месяца до 1 года. Хорошая корреляция результатов между ALEX при сравнении с ISAC, особенно при высоких уровнях концентрации позволяет использовать обе тест системы для проведения популяционных исследований, даже в случае неоднородности исследуемых групп по используемым диагностическим методикам [8].

Результаты и обсуждение

78% пациентов в г. Москва имели полисенсibilизацию. При этом лидером являлся молекула Bet v1.

Согласно полученным результатам, подавляющее число пациентов с АР из Москвы имели повышенные уровни IgE специфического к AIn g1, Bet v1, Bet v6, Cor a_pollen, Amb a 1, Phl p1, Art v1 (76%). Из них 51% был сенсibilизирован к пыльце букоцветных деревьев, где примерно в одних и тех же долях были представлены береза (Bet v1 и Bet v6) – 25%, ольха (AIn g 1) – 16%, и орешник (Cor a_pollen) – 14%. Сенсibilизация к минорным молекулам пыльцы березы (Bet v6) отмечалась в 9% случаев. Данный факт наглядно демонстрирует важность и необходимость проведения предварительного аллергокомпонентного тестирования перед назначением пациенту аллерген-специфической иммунотерапии (АСИТ).

Сенсibilизация к пыльце луговых и злаковых трав с повышением уровня аллерген-специфических IgE антител к Phl p 1- отмечалась в 11% случаев, к пыльце сорных трав – в 10% случаев, где половина пациентов были сенсibilизированы к пыльце полыни (Art v1) – 5%, а вторая половина к пыльце амброзии (Amb a1) – 5%.

Сенсibilизация к бытовым и эпидермальным аллергенам (Der f1 и Rat n) отмечалась всего в 10% случаев (рис. 1).

Все пациенты из г. Самара также имели полисенсibilизацию при этом у всех обследованных отмечалась сенсibilизация к главному мажорному аллергену пыльцы березы (Bet v1).

У 16% обследованных отмечалась сенсibilизация к бытовым и эпидермальным аллергенам. Т. е. основным этиологическим фактором формирования АР выступали пыльцевые аллергены,

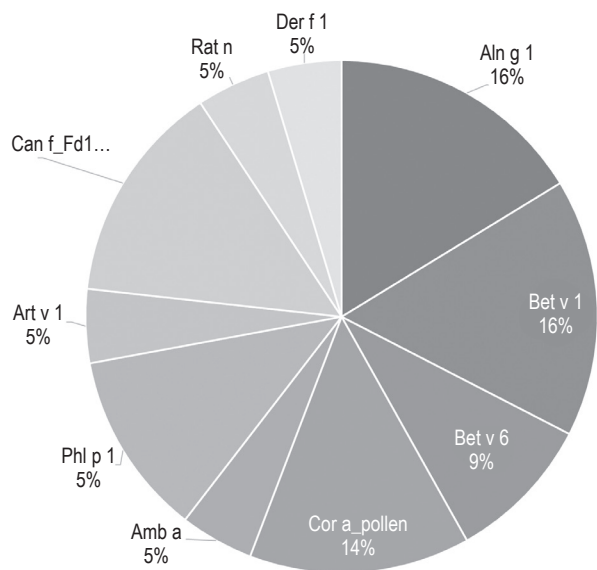


Рисунок 1. Распределение пациентов (в %) до 18 лет из г. Москвы, с аллергическим ринитом, по сенсibilизации к различным молекулам аллергенов

Figure 1. Distribution of patients (in %) under 18 years old from Moscow with allergic rhinitis according to sensitisation to different allergen molecules

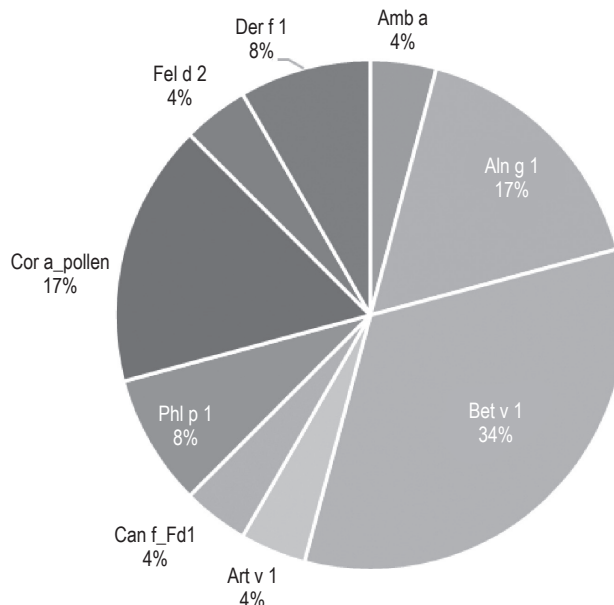


Рисунок 2. Распределение пациентов (в %) до 18 лет из г. Самары, с аллергическим ринитом, по сенсibilизации к различным молекулам аллергенов

Figure 2. Distribution of patients (in %) under 18 years of age from Samara, with allergic rhinitis, by sensitisation to different allergen molecules

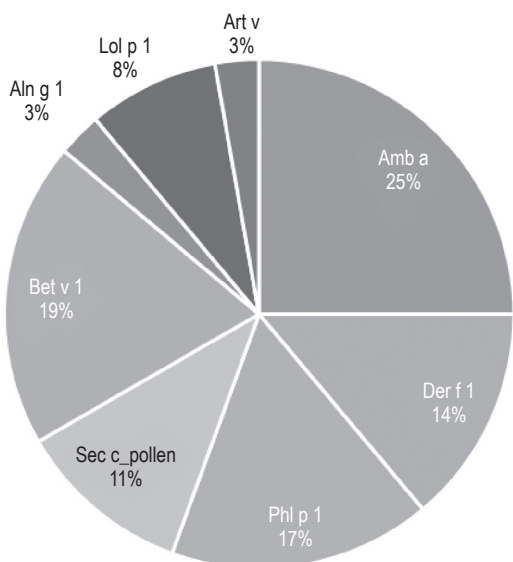


Рисунок 3. Распределение пациентов (в %) до 18 лет из г. Магас, с аллергическим ринитом, по сенсibilизации к различным молекулам аллергенов

Figure 3. Distribution of patients (in %) under 18 years of age from Magas city, with allergic rhinitis, according to sensitisation to different allergen molecules

где основу сенсibilизации составляла пыльца букоцветных деревьев: Aln g 1 – 17%, Bet v 1 – 34%. Сенсibilизация к луговым, злаковым и сорным травам отмечалась значительно реже: Amb a 1 – 4%, Art v 1 – 4%, Phl p 1 8%, Cor a_pollen – 17% (рис. 2).

Среди пациентов из г. Магас отмечалась достаточно выраженная неоднородность полученных результатов. Практически не проявлялась тенденция к полисенсibilизации, и процент полисенсibilизированных пациентов, по сравнению с г. Москва и с г. Самара, составил всего 31% в группе пациентов до 18 лет (рис. 3) и 27% в группе пациентов старше 18 лет.

Анализируя спектр сенсibilизации пациентов из г. Магас в возрастной группе до 18 лет, в первую очередь обращает на себя внимание тот факт, что основным этиологическим фактором формирования АР являлась пыльца сорных трав (28%), где основу сенсibilизации представлял мажорный аллерген пыльцы амброзии (Amb a 1) – 25%. Сенсibilизация к пыльце букоцветных деревьев отмечалась в 22%. При этом повышение уровня аллерген-специфических IgE антител к Bet v 1 в 19% случаев, Aln g 1 в 3% случаев. Сенсibilизация к пыльце луговых трав отмечалась в 28% случаев. Повышение уровня аллерген-специфических IgE антител к Phl p 1 в 17% случаев, Sec c_pollen в 11%. Процент сенсibilизи-

зации к бытовым аллергенам клещей домашней пыли (Der f1) составил 14%, что практически в 2 раза превышает частоту данной сенсибилизации у пациентов из г. Москва и г. Самара.

В группе пациентов старше 18 лет из г. Магас обращает на себя внимание, что основу сенсибилизации при АР составляет пыльцевая аллергия – 81% пациентов, включенных в исследование. Аналогичные результаты (87%) были продемонстрированы и в группе пациентов до 18 лет. Основу пыльцевой сенсибилизации у взрослых пациентов, включенных в исследования, составляет пыльца сорных трав – 44%. При этом повешение уровня аллерген-специфических IgE антител к Amb a1 выявлялось у подавляющего числа пациентов – 29%, к Art v1-5%, к Lol p 1 – 10%. Второе место в этиологическом спектре сенсибилизации занимает пыльца злаковых трав. Повешение уровня аллерген-специфических IgE антител к Phl p1 – 19%, Sec c_pollen – 9%. Повешение уровня аллерген-специфических IgE антител к Bet v1 составляло 9%. Процент сенсибилизации к бытовым аллергенам клещей домашней пыли (Der f1) составил 19%.

Таким образом, при сравнении двух возрастных групп пациентов с АР из г. Магас (до 18 лет и старше 18 лет), становится очевидным отсутствие возрастных различий в спектре сенсибилизации у пациентов данного региона.

Заключение

В ходе исследования были получены следующие результаты, в которых отмечен ряд закономерностей и различий.

Список литературы / References

1. Виноградова Ю.К., Майоров С.Р., Хорун Л.В. Черная книга флоры Средней России: чужеродные виды растений в экосистемах Средней России. М.: ГЕОС, 2010. 512 с. [Vinogradova Yu.K., Mayorov S.R., Khorun L.V. Black Book of Flora of Middle Russia: alien plant species in ecosystems of Middle Russia]. Moscow: GEOS, 2010. 512 p.
2. Ильина Н.И. Аллергия – это междисциплинарная проблема. Только на стыке специальностей можно достичь успеха в ее лечении // Эффективная фармакотерапия, аллергология и иммунология, 2012. № 2. С. 2-5. [Ilyina N.I. Allergy is an interdisciplinary problem. Only at the intersection of specialities it is possible to achieve success in its treatment. *Effektivnaya farmakoterapiya, allergologiya i immunologiya = Effective Pharmacotherapy, Allergology and Immunology*, 2012, no. 2, pp. 2-5. (In Russ.)]
3. Клинические рекомендации «Аллергический ринит» // Non nocere. Новый терапевтический журнал, 2023. № 4. С. 4452. [Clinical guidelines “Allergic rhinitis”. Non nocere. *Novyy terapevticheskiy zhurnal = Non Nocere. New Therapeutic Journal*, 2023, no. 4, p. 4452. (In Russ.)]
4. Мачарадзе Д.Ш. Некоторые особенности распространенности респираторной аллергии на юге России // Российский аллергологический журнал, 2019. Т. 16, № 1. С. 23-28. [Macharadze D.S. Some features of the prevalence of respiratory allergy in southern Russia. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Allergy*, 2019, Vol. 16, no. 1, pp. 23-28. (In Russ.)]
5. Разикова И.С., Дуствбаева Н.Д., Байбекова В.Ф., Айдарова Н.П. Спектр сенсибилизации к аэроаллергенам у пациентов с аллергическими заболеваниями, проживающих в Верхнечирчикском районе Республики Узбекистан // Российский аллергологический журнал, 2023.-Т. 20, № 4. С. 455-463. [Razikova I.S., Dustbabaeva N.D., Baibekova V.F., Aidarova N.P. Spectrum of sensitisation to aeroallergens in patients with allergic diseases living in the Verkhnechirchik district of the Republic of Uzbekistan. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Allergy*, 2023, Vol. 20, no. 4, pp. 455-463. (In Russ.)]

6. Шамгунова Б.А., Заклякова Л.В. Эпидемиология поллинозов: факты, основные тенденции // Астраханский медицинский журнал, 2010. № 2. С. 10-18. [Shamgunova B.A., Zaklyakova L.V. Epidemiology of pollinosis: facts, main trends. *Astrakhanskiy meditsinskiy zhurnal = Astrakhan Medical Journal*, 2010, no. 2, pp. 10-18. (In Russ.)]
7. Шамгунова Б.А., Левитан Б.Н., Сартова А.Р. Распределение четырехлокусных гаплотипов Hla -a-b-drb1-dqb1 у больных пыльцевой аллергией // Медицинский вестник Северного Кавказа, 2015. № 1. С. 60-63. [Shamgunova B.A., Levitan B.N., Sartova A.R. Distribution of four-locus haplotypes Hla -a-b-drb1-dqb1 in patients with pollen allergy. *Meditsinskiy vestnik Severnogo Kavkaza = Medical Bulletin of the North Caucasus*, 2015, no. 1, pp. 60-63. (In Russ.)]
8. Wojcikova J., Vlas T., Forstenlechner, P. Comparison of two multiplex arrays in the diagnostics of allergy. *Clin. Transl. Allergy*, 2019, Vol. 9, 2019, 31. doi: 10.1186/s13601-019-0270-y.
9. Global Initiative for Asthma. Global strategy for asthma management and prevention. Global Initiative for Asthma. 2018. Available at: <http://www.ginasthma.org>.
10. Matricardi P.M., Kleine-Tebbe J., Hoffmann H., Valenta R., Hilger C., Hofmaier S., Aalberse R.C., Agache I., Asero R., Ballmer-Weber B., Barber D., Beyer K., Biedermann T., Bilò M.B., Blank S., Bohle B., Bosshard P.P., Breiteneder H., Brough H.A., Caraballo L., Caubet J.C., Cramer R., Davies J.M., Douladiris N., Ebisawa M., Elgenmann P.A., Fernandez-Rivas M., Ferreira F., Gadermaier G., Glatz M., Hamilton R.G., Hawranek T., Hellings P., Hoffmann-Sommergruber K., Jakob T., Jappe U., Jutel M., Kamath S.D., Knol E.F., Korosec P., Kuehn A., Lack G., Lopata A.L., Mäkelä M., Morisset M., Niederberger V., Nowak-Węgrzyn A.H., Papadopoulos N.G., Pastorello E.A., Pauli G., Platts-Mills T., Posa D., Poulsen L.K., Raulf M., Sastre J., Scala E., Schmid J.M., Schmid-Grendelmeier P., van Hage M., van Ree R., Vieths S., Weber R., Wickman M., Muraro A., Ollert M. EAACI molecular allergology user's guide. *Pediatr. Allergy Immunol.*, 2016, Vol. 27, Suppl. 23, pp. 1-250.
11. Roberts G., Xatzipsalti M., Borrego L.M., Custovic A., Halken S., Hellings P.W., Papadopoulos N.G., Rotiroti G., Scadding G., Timmermans F., Valovirta E. Paediatric rhinitis: position paper of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy*, 2013, no. 68, pp. 1102-1116.
12. Sastre J. Molecular diagnosis in allergy. *Clin. Exp. Allergy*, 2010, Vol. 40, pp. 1442-1460.

Авторы:

Пугоева Х.Б. — прикрепленное лицо на соискание ученой степени кандидата медицинских наук на кафедре клинической иммунологии, аллергологии и адаптологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва, Россия

Максимова А.В. — к.м.н., доцент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и адаптологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва, Россия

Мигачёва Н.Б. — д.м.н., доцент, заведующая кафедрой педиатрии ГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Самара, Россия

Ускова Т.Р. — лаборант кафедры клинической иммунологии, аллергологии и адаптологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва, Россия

Татауршичкова Н.С. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой клинической иммунологии, аллергологии и адаптологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва, Россия

Authors:

Pugoeva Kh.B., Attached Person for the Degree of PhD (Medicine), Department of Clinical Immunology, Allergology and Adaptology, Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

Maksimova A.V., PhD (Medicine), Department of Clinical Immunology, Allergology and Adaptology, Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

Migacheva N.B., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Head, Department of Pediatrics, Samara State Medical University, Samara, Russian Federation

Uskova T.R., Laboratory Assistant, Department of Clinical Immunology, Allergology and Adaptology, Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

Tataurshchikova N.S., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Clinical Immunology, Allergology and Adaptology, Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

Поступила 04.04.2024

Отправлена на доработку 06.04.2024

Принята к печати 18.04.2024

Received 04.04.2024

Revision received 06.04.2024

Accepted 18.04.2024

ЗНАЧЕНИЕ ОБЪЕКТИВНЫХ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ ФУНКЦИИ НОСОВОГО ДЫХАНИЯ В ДИАГНОСТИЧЕСКОМ АЛГОРИТМЕ ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ РИНИТЕ

Волкова Д.А.¹, Скороходкина О.В.¹, Умарова Н.Н.²

¹ ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
г. Казань, Республика Татарстан, Россия

² ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет», г. Казань,
Республика Татарстан, Россия

Резюме. В настоящее время для оценки выраженности симптомов аллергического ринита (АР) рекомендуется использовать визуальную аналоговую шкалу (ВАШ), которая, несмотря на свои преимущества, является инструментом субъективной оценки симптомов самим пациентом, что часто не соотносится с истинным состоянием назальной проходимости. В свою очередь, для объективизации выраженности обструктивных изменений в полости носа у пациентов с АР может быть использована передняя активная риноманометрия (ПАРМ), которая является наиболее точным с физиологической и аэродинамической точки зрения методом оценки функции носового дыхания. При этом ПАРМ при проведении теста с деконгестантом позволяет дополнительно осуществить дифференциальную диагностику причин назальной обструкции. Проведенное нами исследование показало отсутствие корреляции между показателями ВАШ и ПАРМ. Кроме того, нами была продемонстрирована важность проведения ПАРМ с пробой с деконгестантом и последующей оценкой односторонних показателей потока и сопротивления, что позволило заподозрить у пациентов с АР наличие структурных изменений в полости носа, которые были зафиксированы в результате проведенной передней риноскопии и/или эндоскопического исследования. Таким образом, наряду с использованием ВАШ в диагностический алгоритм при АР необходимо включать ПАРМ, которая дает возможность не только подтвердить наличие или отсутствие нарушения носового дыхания, но и дифференцировать причины его возникновения для последующего выбора оптимальной тактики ведения пациентов с АР.

Ключевые слова: аллергический ринит, визуальная аналоговая шкала, передняя активная риноманометрия, проба с деконгестантом, передняя риноскопия, нарушения внутриносовых структур

Адрес для переписки:

Волкова Дарья Александровна
ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ
420012, Россия, Республика Татарстан,
г. Казань, ул. Бутлерова, 49.
Тел.: 8 (917) 921-68-17.
E-mail: volkdash190296@gmail.com

Address for correspondence:

Daria A. Volkova
Kazan State Medical University
49 Butlerov St
Kazan, Republic of Tatarstan
420012 Russian Federation
Phone: +7 (917) 921-68-17.
E-mail: volkdash190296@gmail.com

Образец цитирования:

Д.А. Волкова, О.В. Скороходкина, Н.Н. Умарова
«Значение объективных методов оценки функции
носового дыхания в диагностическом алгоритме
при аллергическом рините» // Российский
иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 649-658.
doi: 10.46235/1028-7221-16760-TVO

© Волкова Д.А. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

D.A. Volkova, O.V. Skorokhodkina, N.N. Umarova
“The value of objective methods for assessing nasal breathing
function in the diagnostic algorithm for allergic rhinitis”,
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 649-658.
doi: 10.46235/1028-7221-16760-TVO

© Volkova D.A. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16760-TVO

THE VALUE OF OBJECTIVE METHODS FOR ASSESSING NASAL BREATHING FUNCTION IN THE DIAGNOSTIC ALGORITHM FOR ALLERGIC RHINITIS

Volkova D.A.^a, Skorokhodkina O.V.^a, Umarova N.N.^b

^a Kazan State Medical University, Kazan, Republic of Tatarstan, Russian Federation

^b Kazan National Research Technological University, Kazan, Republic of Tatarstan, Russian Federation

Abstract. The visual analogue score (VAS) is recommended to assess the severity of symptoms of allergic rhinitis (AR), but despite its advantages, it is a tool for subjective assessment of symptoms and often does not correlate with the true state of nasal patency. Anterior active rhinomanometry (AAR) is the method to objectify obstructive changes in the nasal cavity in patients with AR and is the most accurate method to assess nasal breathing function from a physiological and aerodynamic point of view. In addition, AAR with a decongestant test allows a differential diagnosis of the causes of nasal obstruction. Our study showed that there was no correlation between VAS and AAR scores. In addition, we found the importance of performing AAR with a decongestant test and subsequent assessment of unilateral flow and resistance parameters, which allowed us to suspect the presence of structural changes in the nasal cavity in patients with AR, as recorded as a result of anterior rhinoscopy and/or endoscopic examination. Thus, in addition to the use of VAS, it is necessary to include AAR in the diagnostic algorithm for AR, which allows not only to confirm the presence or absence of nasal breathing impairment, but also to differentiate the causes of its occurrence for the subsequent selection of the optimal management of patients with AR.

Keywords: allergic rhinitis, visual analogue scale, anterior active rhinomanometry, decongestant test, anterior rhinoscopy, disorders of intranasal structures

Введение

Аллергический ринит (АР) является одним из самых распространенных хронических заболеваний верхних дыхательных путей, который характеризуется IgE-опосредованным воспалением слизистой оболочки полости носа вследствие воздействия причинно-значимого аллергена и манифестирует такими клиническими проявлениями, как заложенность носа, ринорея, чихание и зуд в полости носа [2].

В настоящее время, согласно актуальным отечественным клиническим рекомендациям, для оценки выраженности симптомов аллергического ринита, а также их влияния на общее самочувствие пациента рекомендуется использовать визуальную аналоговую шкалу (ВАШ). Данный инструмент применяется у пациентов как на старте терапии заболевания, так и в последующем — для оценки контроля эффективности проводимого лечения АР [1]. Однако следует отметить, что ВАШ является инструментом субъективной оценки симптомов самим пациентом,

что в полной мере может не отражать истинную выраженность объективных признаков заболевания [7, 8].

В то же время, согласно последнему международному согласительному документу в области аллергологии и ринологии (International consensus statement on allergy and rhinology: Allergic rhinitis – 2023), оценка объективных параметров носового дыхания дает важную информацию о выраженности симптомов заболевания, поскольку восприятие пациента часто не коррелирует с результатами объективных методов исследования. В настоящее время, для оценки различных параметров носового дыхания используется передняя активная риноманометрия (ПАРМ), акустическая ринометрия, а также определение пикового носового потока на вдохе (PNIF) [11]. При этом ПАРМ считается наиболее точным с физиологической и аэродинамической точки зрения методом оценки функции носового дыхания, позволяющим регистрировать показатели скорости воздушного потока и трансназального градиента

давления с каждой стороны носовой полости, с последующим получением заключения о степени нарушения носового дыхания [6]. ПАРМ может быть использована для объективной оценки исходных параметров носового дыхания, а также после применения различных вариантов медикаментозной терапии с целью оценки контроля АР [10, 11]. Кроме того, согласно заключению Европейского комитета по стандартизации риноманометрической методологии, данный метод рекомендуется дополнять проведением пробы с использованием 2-адреномиметика, что позволит уточнить вероятные причины назальной обструкции [6].

Таким образом, передняя активная риноманометрия является высокоинформативным диагностическим инструментом, позволяющим не только объективизировать степень нарушения носового дыхания, но также и осуществить дифференциальную диагностику причин назальной обструкции, что дает возможность своевременно заподозрить сопутствующую патологию внутриносовых структур у пациента с АР, направить его к врачу-оториноларингологу для решения вопроса о необходимости хирургической коррекции.

Цель исследования — на основе проведения сравнительного анализа результатов субъективных (ВАШ) и объективных (ПАРМ) методов исследования функции носового дыхания у пациентов с АР определить их роль в диагностическом алгоритме при АР.

Материалы и методы

На базе республиканского центра клинической иммунологии ГАУЗ «РКБ МЗ РТ» обследовано 96 пациентов в возрасте от 18 до 62 лет (27 (21,7-34,5)), которым был установлен диагноз «аллергический ринит» (МКБ: J30.1, J30.3). Из них 48 мужчин (50%) и 48 женщин (50%).

Алгоритм диагностики АР включал проведение общеклинических методов обследования: анализ данных анамнеза и объективного осмотра, лабораторных методов исследования (ОАК с лейкоформулой, риноцитограммы) и инструментальных методов исследования, которые предполагали проведение передней риноскопии врачом-оториноларингологом (ЛОР) с последующим назначением по показаниям эндоскопического исследования полости носа. Кроме того, уже на первичном приеме всем пациентам было предложено заполнить шкалу влияния симптомов аллергического ринита на

общее самочувствие (ВАШ). При этом оценку выраженности симптомов АР необходимо было проводить самостоятельно, обозначая степень их выраженности в баллах от 0 до 10, где 0 баллов соответствовало отсутствию симптомов, а 10 баллов — максимально выраженным клиническим проявлениям АР. В последующем всем пациентам с целью объективной оценки функции носового дыхания была проведена передняя активная риноманометрия с использованием устройства «Ринолан» («Прессотахоспирограф ПТС-14П-01», Россия). Исследование проводилось с соблюдением рекомендаций Европейского комитета по стандартизации риноманометрической методологии (2005) [6]. Аэродинамические показатели вычислялись и записывались с помощью имеющегося в комплекте прибора программного обеспечения «Регистратура v. 2.233». При анализе степени нарушения носового дыхания учитывались следующие параметры: суммарный объем потока (СОП мл/сек) и сопротивления (СС Па/мл/сек) на вдохе и выдохе, а также аналогичные показатели для каждой половины носа при давлении 150 Па на вдохе и выдохе. Односторонняя оценка степени назальной обструкции проводилась в соответствии с классификацией, предложенной G. Mlynski, A. Veule, согласно которой отсутствие обструкции соответствовало значениям потока > 500 мл/сек, сопротивления < 0,3 Па/мл/сек [9]. Обструкция трактовалась как слабая при фиксации потока 300–500 мл/сек и сопротивления 0,3–0,5 Па/мл/сек. Умеренная обструкция соответствовала потоку 180–300 мл/сек и сопротивлению 0,5–0,8 Па/мл/сек и, наконец, выраженная — потоку менее 180 мл/сек и сопротивлению более 0,8 Па/мл/сек [9]. Далее 84 пациентам был проведен тест с деконгестантом. Протокол пробы предполагал исходное измерение односторонних показателей носовой проходимости с последующим использованием назального спрея с ксилометазолином 0,1% по 2 впрыскивания (200 мкг) в каждый носовой ход. В последующем, через 20 минут, выполнялось повторное исследование ПАРМ. При этом положительным результатом пробы, свидетельствующим об обратимости назальной обструкции, считалось достижение нормальных значений одностороннего потока более 500 мл/сек и одностороннего сопротивления менее 0,3 Па/мл/сек при 150 Па.

Кроме того, всем пациентам было осуществлено аллергологическое обследование, включающее постановку скарификационных кожных

проб с неинфекционными аллергенами, исследование уровня аллерген-специфических IgE (sIgE).

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием программы STATISTICA 10 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, USA). Описательный анализ включал расчет медианы и квартилей – Me ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$) для ненормально и несимметрично распределенных параметров. Достоверность различий между зависимыми выборками оценивали с помощью критерия Вилкоксона, между независимыми выборками применялся U-тест Манна–Уитни. Для оценки линейной зависимости между двумя непрерывными переменными использовался ранговый коэффициент корреляции Спирмена (r) [4].

Результаты и обсуждение

Анализ полученных результатов показал, что у 81,25% пациентов (78 человек) наблюдался персистирующий АР. Интермиттирующая форма заболевания была диагностирована у 18 (18,75%) пациентов. При этом подавляющая часть пациентов, 82 (85,4%), имели среднетяжелое течение АР, легкая степень тяжести отмечалась только у 14 (14,6%) пациентов. Следует отметить, что степень тяжести АР у наших пациентов была связана с нарушением носового дыхания, обусловленного преимущественно симптомом «заложенности носа», который, согласно данным анамнеза, наблюдался у 93 (96,9%) пациентов и наиболее значимо влиял на качество их жизни. Симптомы ринореи, сопровождающейся приступообразным чиханием, наблюдались у 86 (89,5%) и 84 (87,5%) соответственно. В меньшей степени пациентов беспокоил зуд полости носа (59 (61,5%)). В структуре сопутствующей патологии преобладал аллергический конъюнктивит, который наблюдался у 51 (53,1%) пациентов. Симптомы бронхиальной астмы отмечались у 18 (18,75%) пациентов, атопического дерматита – у 4 (4,1%), а у 3 пациентов (3,1%) аллергическому риниту сопутствовал полипозный риносинусит.

Проведенное аллергологическое обследование показало, что у 58 пациентов (60,4%) имелась полисенсibilизация и полиаллергия. При этом у значительной части обследованных – 74 (77%) была выявлена сенсibilизация к группе пыльцевых аллергенов, преимущественно к аллергенам пыльцы деревьев – 62 (64,6%). Сенсibilизация к аллергенам луговых трав наблюдалась

у 40 (41,7%) пациентов, а к аллергенам пыльцы сорных трав – у 34 (35,4%). Сенсibilизация к группе бытовых и эпидермальных аллергенов наблюдалась с меньшей частотой – у 28 (29,2%) и 26 (27,1%) пациентов соответственно.

Как нами ранее отмечалось уже на первичном приеме всем пациентам была проведена оценка степени выраженности проявлений аллергического ринита с использованием ВАШ. Анализ результатов показал, что значения ВАШ у пациентов с легким течением АР соответствовали 5 (3-6) баллам, а в случае среднетяжелого течения заболевания – были выше и составляли 6,5 (2-8), хотя статистически значимых различий показателей нам выявить не удалось ($p = 0,4063$). Одновременно, с целью объективизации степени выраженности обструктивных нарушений в полости носа всем пациентам была проведена ПАРМ, согласно результатам которой у 75 (78,1%) пациентов было зафиксировано нарушение носового дыхания по показателям СОП и СС на вдохе и выдохе, при этом умеренное и выраженное снижение назальной проходимости отмечалось у 39 (40,6%) и 21 (21,8%) пациентов соответственно. И только у 15 (15,6%) пациентов с АР регистрировалось незначительное снижение назальной проходимости (табл. 1).

В последующем нами был проведен корреляционный анализ показателей ВАШ и ПАРМ. Полученные результаты свидетельствовали об отсутствии взаимосвязи между показателями ВАШ и значениями СОП на вдохе и выдохе ($r = -0,154341$, $p = 0,133246$; $r = -0,122527$, $p = 0,234329$ соответственно). Аналогичные данные были получены и в отношении СС на вдохе ($r = 0,074738$, $p = 0,486379$) и выдохе ($r = 0,129479$, $p = 0,213578$). Далее нами был проведен корреляционный анализ в подгруппах пациентов, рандомизированных в зависимости от степени нарушения назальной проходимости (табл. 2). В итоге было сформировано 4 подгруппы: в первую подгруппу были включены пациенты, имеющие нормальные показатели назальной проходимости, вторую составили лица с незначительными нарушениями, в 3-ю и 4-ю подгруппы вошли пациенты с умеренными и выраженными проявлениями соответственно. Анализ полученных результатов показал, что только у пациентов с нормальными показателями проходимости носового дыхания была зарегистрирована значимая корреляция средней силы между показателями ВАШ и параметрами ПАРМ – СОП и СС на вдохе ($r = -0,543402$, $p = 0,010899$; $r = 0,495247$, $p = 0,026399$

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ ПАРМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ НАРУШЕНИЯ НАЗАЛЬНОЙ ПРОХОДИМОСТИ

TABLE 1. AAR INDICATORS DEPENDING ON THE DEGREE OF NASAL OBSTRUCTION

Проходимость Obstruction	n	Исходные параметры носового дыхания, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$) Initial parameters of nasal breathing, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)			
		СОП (суммарный общий поток), мл/сек TF (Total flow), mL/sec		СС (суммарное сопротивление), Па/мл/сек TR (Total resistance), Pa/mL/sec	
		Вдох Inspiratory	Выдох Expiratory	Вдох Inspiratory	Выдох Expiratory
Норма Norm	21	882 (724-1063)	812 (775-944)	0,17 (0,14-0,21)	0,18 (0,16-0,19)
Незначительное Slight	15	785 (577-865)	645 (610-661)	0,185 (0,170-0,250)	0,23 (0,23-0,25)
Умеренное Moderate	39	550 (442-624)	515 (442-563)	0,26 (0,240-0,325)	0,29 (0,27-0,34)
Выраженное Pronounced	21	308 (245-371)	319 (276-354)	0,45 (0,40-0,61)	0,465 (0,415-0,540)

соответственно). В то же время у пациентов с нарушениями назальной проходимости различной степени выраженности корреляции между показателями объективных (ПАРМ) и субъективных (ВАШ) методов оценки функции носового дыхания выявить не удалось (табл. 2).

Далее с целью детализации характеристики назальной проходимости у пациентов с АР нами была проведена оценка функции носового дыхания с каждой стороны полости носа. Так, при оценке значений ПАРМ правой половины носа была выявлена выраженная назальная обструкция у 31 (32,3%) пациента на вдохе и у 29 (30,2%) на выдохе. Умеренная степень нарушения носового дыхания отмечалась у 22 (22,9%) и 27 (28,1%) пациентов на вдохе и выдохе соответственно. Незначительная степень обструкции регистрировалась у 27 (28,1%) больных на вдохе и у 29 (30,2%) на выдохе. Отсутствие затруднения носового дыхания по данным ПАРМ правой половины носа было зафиксировано только у 16 (16,7%) обследуемых на вдохе и у 11 (11,5%) на выдохе (табл. 3). В свою очередь, при анализе степени нарушения носового дыхания с левой стороны носовой полости умеренная степень назальной обструкции была выявлена у 30 (31,3%) пациентов на вдохе и у 37 (38,5%) на выдохе, выраженная назальная обструкция от-

мечалась у 29 (30,2%) обследуемых на вдохе и у 23 (24%) на выдохе, незначительная степень нарушения носового дыхания – у 25 (26%) на вдохе и у 29 (30,2%) на выдохе. Отсутствие нарушения назальной проходимости слева на вдохе и выдохе отмечалось у 12 (12,5%) и 7 (7,3%) пациентов, соответственно (табл. 3).

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о расхождении результатов, характеризующих назальную проходимость у пациентов с АР, установленных при анализе суммарных показателей потока и сопротивления по отношению к значениям, зарегистрированным для каждой половины полости носа в отдельности. Все пациенты с нормальными показателями СОП и СС имели нарушение носового дыхания различной степени выраженности по показателям одностороннего потока и сопротивления при 150 Па. Следовательно, оценка односторонних показателей имеет более важное значение для объективизации назальной обструкции и поиска причин ее возникновения.

Далее для уточнения генеза назальной обструкции 84 пациентам с АР была проведена проба с деконгестантом, которая выявила обратимость указанных изменений только у 6 (7,1%) человек. У 78 (92,9%) пациентов по показателям ПАРМ признаки обструкции сохра-

ТАБЛИЦА 2. КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВАШ С ПАРАМЕТРАМИ ПАРМ – СУММАРНОГО ПОТОКА (СОП) И СУММАРНОГО СОПРОТИВЛЕНИЯ (СС) НА ВДОХЕ И ВЫДОХЕ

TABLE 2. CORRELATION ANALYSIS OF VAS INDICATORS WITH THE AAR PARAMETERS – TOTAL FLOW (TF) AND TOTAL RESISTANCE (TR) DURING INSPIRATORY AND EXPIRATORY EFFORT

Выборка: все пациенты, n = 96 Sample: all patients, n = 96				
Коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r) Spearman's rank correlation coefficient (r)				
	СОП вдох TF inspiratory	СОП выдох TF expiratory	СС вдох TR inspiratory	СС выдох TR expiratory
ВАШ VAS	-0,154341 (p = 0,133246)	-0,122527 (p = 0,234329)	0,074738 (p = 0,486379)	0,129479 (p = 0,213578)
Выборка: пациенты с нормальной назальной проходимостью, n = 21 Sample: patients with normal nasal patency, n = 21				
	СОП вдох TF inspiratory	СОП выдох TF expiratory	СС вдох TR inspiratory	СС выдох TR expiratory
ВАШ VAS	-0,543402 (*p = 0,010899)	-0,122256 (p = 0,597549)	0,495247 (*p = 0,026399)	0,089790 (p = 0,698712)
Выборка: пациенты с незначительным снижением назальной проходимости, n = 15 Sample: patients with a slight decrease in nasal patency, n = 15				
	СОП вдох TF inspiratory	СОП выдох TF expiratory	СС вдох TR inspiratory	СС выдох TR expiratory
ВАШ VAS	0,375909 (p = 0,167321)	0,253604 (p = 0,361753)	-0,399330 (p = 0,157209)	-0,242640 (p = 0,403251)
Выборка: пациенты с умеренным нарушением назальной проходимости, n = 39 Sample: patients with moderate nasal obstruction, n = 39				
	СОП вдох TF inspiratory	СОП выдох TF expiratory	СС вдох TR inspiratory	СС выдох TR expiratory
ВАШ VAS	-0,087371 (p = 0,596880)	-0,102458 (p = 0,534818)	-0,108893 (p = 0,527268)	0,121626 (p = 0,460767)
Выборка: пациенты с выраженным нарушением назальной проходимости, n = 21 Sample: patients with severe nasal obstruction, n = 21				
	СОП вдох TF inspiratory	СОП выдох TF expiratory	СС вдох TR inspiratory	СС выдох TR expiratory
ВАШ VAS	-0,058906 (p = 0,799781)	0,034554 (p = 0,881796)	-0,055952 (p = 0,820026)	0,010691 (p = 0,964318)

Примечание. Линейная зависимость между непрерывными переменными рассчитана с помощью рангового коэффициента корреляции Спирмена (r); * p < 0,05.

Note. Linear relationships between continuous variables were calculated using Spearman's rank correlation coefficient (r); * p < 0.05.

ТАБЛИЦА 3. ОСНОВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПАРМ ДЛЯ ПРАВОЙ И ЛЕВОЙ СТОРОНЫ НОСОВОЙ ПОЛОСТИ

TABLE 3. MAIN INDICATORS OF AAR FOR THE RIGHT AND LEFT SIDES OF THE NASAL CAVITY

Проходимость Obstruction	До деконгестанта (n = 96) Before decongestant test (n = 96)				После деконгестанта (n = 84) After decongestant test (n = 84)			
	Вдох Inspiratory		Выдох Expiratory		Вдох Inspiratory		Выдох Expiratory	
	Поток, мл/сек Flow, mL/sec	Сопротивление, Па/мл/сек Resistance, Pa/mL/sec	Поток, мл/сек Flow, mL/sec	Сопротивление, Па/мл/сек Resistance, Pa/mL/sec	Поток, мл/сек Flow, mL/sec	Сопротивление, Па/мл/сек Resistance, Pa/mL/sec	Поток, мл/сек Flow, mL/sec	Сопротивление, Па/мл/сек Resistance, Pa/mL/sec
Слева Left side								
Норма Norm	582 (547,5-646,0) n = 12	0,26 (0,235-0,275) n = 12	519 (508-547) n = 7	0,29 (0,27-0,30) n = 7	591 (539,5-645,5) n = 36	0,25 (0,23-0,28) n = 36	578,5 (548-597) n = 16	0,26 (0,250-0,275) n = 18
Незначительная Slight	374 (314-437) n = 25	0,4 (0,34-0,48) n = 25	367 (322-421) n = 29	0,41 (0,36-0,47) n = 29	379 (340-461) n = 27	0,4 (0,33-0,44) n = 27	415 (348,0-457,5) n = 48	0,36 (0,33-0,43) n = 48
Умеренная Moderate	228 (212-272) n = 30	0,66 (0,58-0,71) n = 30	235 (207-266) n = 37	0,64 (0,56-0,72) n = 37	259,5 (232-276) n = 14	0,575 (0,54-0,65) n = 14	268 (233-280) n = 15	0,56 (0,54-0,64) n = 15
Выраженная Pronounced	120 (88,0-153,5) n = 29	1,18 (0,98-1,65) n = 29	110 (72-148) n = 23	1,24 (0,97-1,90) n = 23	111 (97-158) n = 7	1,35 (0,95-1,55) n = 7	105 (72-119) n = 5	1,43 (1,26-2,08) n = 5
Справа Right side								
Норма Norm	610,5 (551,0-677,5) n = 16	0,245 (0,22-0,27) n = 16	547 (526-626) n = 11	0,27 (0,24-0,29) n = 11	617 (549,0-687,5) n = 36	0,24 (0,220-0,275) n = 36	557 (532-604) n = 23	0,27 (0,25-0,28) n = 23
Незначительная Slight	406 (322-452) n = 27	0,37 (0,33-0,47) n = 27	393 (339-445) n = 29	0,38 (0,34-0,44) n = 29	395 (372-439) n = 33	0,38 (0,34-0,40) n = 33	404 (363-442) n = 49	0,37 (0,34-0,41) n = 49
Умеренная Moderate	231 (201-267) n = 22	0,65 (0,56-0,75) n = 22	247 (233-279) n = 27	0,61 (0,54-0,64) n = 27	243 (218,5-252,0) n = 8	0,615 (0,595-0,695) n = 8	257 (240,5-288,0) n = 8	0,58 (0,520-0,625) n = 8
Выраженная Pronounced	74 (14-135) n = 31	1,615 (1,09-2,66) n = 31	108 (66-150) n = 29	1,3 (0,985-2,100) n = 29	97 (0-138) n = 7	1,09 (0,00-1,55) n = 7	125 (64,5-152,0) n = 4	1,255 (0,985-3,260) n = 4

нялись, что, вероятнее всего, свидетельствует о наличии структурных изменений в полости носа и требует консультации ЛОР. В нашем исследовании 46 пациентов были осмотрены оториноларингологом, который при проведении передней риноскопии выявил структурные изменения. Так, у 39 (84,8%) пациентов было обнаружено искривление носовой перегородки (ИНП) вправо или влево в равном количестве, в 5 (12,8%) случаях отмечалось двустороннее смещение. У 26 (56,5%) – определялась гипертрофия нижних и/или средних носовых раковин. В последующем 26 пациентам по назначению ЛОР дополнительно было выполнено эндоскопическое исследование полости носа. Результаты показали, что наряду с ИНП у 19 пациентов определялся гребень носовой перегородки (слева – 7, справа – 9, двусторонний – 3, в хрящевом отделе – 2, костном отделе – 9, в хрящевом и костном отделе носовой перегородки – 5), а у 5 пациентов определялся шип (слева – 1, справа – 3, двусторонний – 1, в хрящевом отделе – 1, костном отделе – 2, в хрящевом и костном отделе носовой перегородки – 2). В 2 случаях отмечался двусторонний гребень носовой перегородки в хрящевом отделе, у 1 пациента был выявлен гребень слева в костном и хрящевом отделе, 1 пациент имел гипертрофию нижних носовых раковин в задних отделах. Таким образом, проведение пробы с деконгестантом позволяет заподозрить структурные изменения в полости носа и своевременно направить пациента к ЛОР-врачу для проведения углубленного обследования.

Проведенное нами исследование показало несоответствие результатов ВАШ и объективных параметров носового дыхания, измеренных с помощью ПАРМ. Показатели ВАШ и ПАРМ коррелировали только у пациентов с нормальными параметрами носового дыхания (СОП и СС на вдохе). Следовательно, полученные нами данные свидетельствуют о том, что объективная картина назальной обструкции у пациентов с АР может не соответствовать их субъективной оценке по ВАШ. Ранее об этом сообщалось и другими авторами. Так, С.В. Рязанцев и соавт. показали, что совпадение субъективной оценки степени назальной обструкции по ВАШ и объективных данных по результатам ПАРМ было установлено лишь у 50% обследуемых пациентов, имеющих хронические заболевания носа [5]. В этой ситуации объективные методы оценки носового дыхания приобретают особую значимость. Тем более что именно показатели ПАРМ позволяют

получить наиболее полную информацию о характере и степени выраженности обструктивных изменений в полости носа, что в последующем позволяет правильно спланировать диагностический алгоритм у пациента с симптомами АР, включая своевременное консультирование ЛОР-врача. Кроме того, дополнительное проведение пробы с деконгестантом у пациентов с наличием субъективных жалоб на затрудненное носовое дыхание позволяет осуществить дифференциальную диагностику причин назальной обструкции. В нашем исследовании таких пациентов было абсолютное большинство (96,9%). При этом проведенный тест с деконгестантом показал отсутствие обратимости обструктивных изменений у 92,9% пациентов, что позволило заподозрить у них наличие структурных изменений в полости носа. Последующее проведение риноскопического и эндоскопического исследования подтвердили эти предположения. Аналогичные данные были получены и другими авторами. Так, в исследовании Будковой М.А. в соавт. продемонстрировано, что сниженные односторонние показатели ПАРМ у большинства пациентов были обусловлены наличием структурных нарушений в полости носа, что было подтверждено результатами риноскопического и эндоскопического обследования [3].

Таким образом, приведенные данные обосновывают необходимость включения ПАРМ в диагностический алгоритм АР, т. к. в комплексе с данными объективного осмотра ЛОР-врача, метод позволяет заподозрить наличие структурных изменений в полости носа, и оценить влияние данных изменений на функцию носового дыхания.

Заключение

Суммируя вышеизложенное, можно утверждать, что применение исключительно субъективных методов оценки выраженности симптомов АР (ВАШ) в диагностическом алгоритме при АР является недостаточным. Важно использовать объективные методы исследования, включая ПАРМ, которая является высокоинформативным инструментом обследования пациентов с симптомами назальной обструкции и позволяет не только подтвердить наличие или отсутствие нарушения носового дыхания, но и дифференцировать причины его возникновения для последующего выбора оптимальной тактики ведения пациентов.

Список литературы / References

1. Аллергический ринит. Проект клинических рекомендаций. 2023. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://raaci.ru/education/clinic_recomendations/471.html. (Дата обращения: 02.01.2024 г.) [Allergic rhinitis. Draft clinical guidelines. [Electronic resource]. Access mode: https://raaci.ru/education/clinic_recomendations/471.html. (Accessed: Jan 02, 2024). (In Russ)].
2. Астафьева Н.Г., Баранов А.А., Вишнева Е.А., Дайхес Н.А., Жестков А.В., Ильина Н.И., Карнеева О.В., Карпова Е.П., Ким И.А., Крюков А.И., Курбачева О.М., Мешкова Р.Я., Намазова-Баранова Л.С., Ненашева Н.М., Новик Г.А., Носуля Е.М., Павлова К.С., Пампура А.Н., Свистушкин В.М., Селимзянова Л.Р., Хаитов М.Р., Хаитов Р.М. Аллергический ринит // Российский аллергологический журнал, 2022. Т. 19, № 1. С. 100-141. [Astafieva N.G., Baranov A.A., Vishneva E.A., Daihes N.A., Zhestkov A.V., Ilina N.I., Karneeva O.V., Karpova E.P., Kim I.A., Kryukov A.I., Kurbacheva O.M., Meshkova R.Y., Namazova-Baranova L.S., Nenasheva N.M., Novik G.A., Nosulya E.V., Pavlova K.S., Pampura A.N., Svistushkin V.M., Selimzyanova L.R., Khaitov M.R., Khaitov R.M. Allergic rhinitis. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Allergy*, 2022, Vol. 19, no. 1, pp. 100-141. (In Russ.)]
3. Будковая М.А., Артемьева Е.С. Объективная оценка функции носового дыхания у пациентов после ринохирургических вмешательств // Российская оториноларингология, 2018. № 1. С. 25-33. [Budkovaya M.A., Artemyeva E.S. Objective assessment of nasal breathing function in patients after neurosurgical interventions. *Rossiyskaya otorinolaringologiya = Russian Otorhinolaryngology*, 2018, no. 1, pp. 25-33. (In Russ.)]
4. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1998. 459 с. [Glants S. Medical and biological statistics]. Moscow: Praktika, 1998. 459 p.
5. Рязанцев С.В., Будковая М.А., Артемьева Е.С. Дыхательная функция носа: современные подходы к диагностике и лечению патологических состояний // РМЖ. Медицинское обозрение, 2019. Т. 3, № 9 (II). С. 73-76. [Ryazantsev S.V., Budkovaya M.A., Artemyeva E.S. Nasal breathing: current diagnostic and treatment approaches. *RMZH. Meditsinskoe obozrenie = RMJ. Medical Review*, 2019, Vol. 3, no. 9 (II), pp.73-76. (In Russ.)]
6. Clement P.A. Standardisation Committee on Objective Assessment of the Nasal Airway, IRS, and ERS. Consensus report on acoustic rhinometry and rhinomanometry, *Rhinology*, 2005, Vol. 43, pp. 169-179.
7. Gani F, Lombardi C., Barrocu L., Landi M., Ridolo E., Bugiani M., Rolla G., Senna G., Passalacqua G. The control of allergic rhinitis in real life: a multicenter cross-sectional Italian study. *Clin. Mol. Allergy*, 2018, Vol. 16, 4. doi: 10.1186/s12948-018-0082-y.
8. Leger D., Bonnefoy B., Pigearias B., de La Giclais B., Chartier A. Poor sleep is highly associated with house dust mite allergic rhinitis in adults and children. *Allergy Asthma Clin. Immunol.*, 2017, Vol. 13, 36. doi: 10.1186/s13223-017-0208-7
9. Mlynski G., Beule A. Diagnostic methods of nasal respiratory function. *HNO*, 2008, Vol. 56, no. 1, pp. 81-99.
10. Papadopoulos N.G., Bernstein J.A., Demoly P., Dykewicz M., Fokkens W., Hellings P.W., Peters A.T., Rondon C., Togias A., Cox L.S. Phenotypes and endotypes of rhinitis and their impact on management: a PRACTALL report. *Allergy*, 2015, Vol. 70, no. 5, pp. 474-494.
11. Wise S.K., Damask C., Roland L.T., Ebert C., Levy J.M., Lin S., Luong A., Rodriguez K., Sedaghat A.R., Toskala E., Villwock J., Abdullah B., Akdis C., Alt J.A., Ansotegui I.J., Azar A., Baroody F., Benninger M.S., Bernstein J., Brook C., Campbell R., Casale T., Chaaban M.R., Chew F.T., Chambliss J., Cianferoni A., Custovic A., Davis E.M., del Gaudio J.M., Ellis A.K., Flanagan C., Fokkens W.J., Franzese C., Greenhawt M., Gill A., Halderman A., Hohlfeld J.M., Incorvaia C., Joe S.A., Joshi S., Kuruvilla M.E., Kim J., Klein A.M., Krouse H.J., Kuan E.C., Lang D., Larenas-Linnemann D., Laury A.M., Lechner M., Lee S.E., Lee V.S., Loftus P., Marcus S., Marzouk H., Mattos J., McCoul E., Melen E., Mims J.W., Mullol J., Nayak J.V., Oppenheimer J., Orlandi R.R., Phillips K., Platt M., Ramanathan M. Jr, Raymond M., Rhee C.S., Reitsma S., Ryan M., Sastre J., Schlosser R.J., Schuman T.A., Shaker M.S.,

Sheikh A., Smith K.A., Soyka M.B., Takashima M., Tang M., Tantilipikorn P., Taw M.B., Tversky J., Tyler M.A., Veling M.C., Wallace D., Wang Y., White A., Zhang L. International consensus statement on allergy and rhinology: Allergic rhinitis – 2023. *Int. Forum Allergy Rhinol.*, 2023, Vol. 13, no. 4, pp. 293-859.

Авторы:

Волкова Д.А. — аспирант кафедры клинической иммунологии с аллергологией, ассистент ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Казань, Республика Татарстан, Россия

Скороходкина О.В. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической иммунологии с аллергологией ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Казань, Республика Татарстан, Россия

Умарова Н.Н. — к.х.н., доцент кафедры аналитической химии, сертификации и менеджмента качества ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет», г. Казань, Республика Татарстан, Россия

Authors:

Volkova D.A., Postgraduate Student, Department of Clinical Immunology with Allergology, Assistant Professor, Kazan State Medical University, Kazan, Republic of Tatarstan, Russian Federation

Skorokhodkina O.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Clinical Immunology with Allergology, Kazan State Medical University, Kazan, Republic of Tatarstan, Russian Federation

Umarova N.N., PhD (Chemistry), Associate Professor, Department of Analytical Chemistry, Certification and Quality Management, Kazan National Research Technological University, Kazan, Republic of Tatarstan, Russian Federation

Поступила 31.03.2024

Отправлена на доработку 06.04.2024

Принята к печати 18.04.2024

Received 31.03.2024

Revision received 06.04.2024

Accepted 18.04.2024

КЛИНИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ КАК ПРЕДИКТОРЫ РАЗВИТИЯ ТЯЖЕЛОГО РЕЦИДИВА ХРОНИЧЕСКОЙ СПОНТАННОЙ КРАПИВНИЦЫ ПОСЛЕ ОКОНЧАНИЯ ТЕРАПИИ ОМАЛИЗУМАБОМ

Удовиченко Е.Н., Перфилова И.А.

ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского»
Министерства здравоохранения РФ, г. Саратов, Россия

Резюме. Хронической спонтанной крапивницей (ХСК) страдает около 1% населения, и распространенность ее увеличивается. Заболевание встречается как у детей, так и у взрослых, с заметным преобладанием среди последних женщин. Выявлены по крайней мере две возможные причины ХСК, два аутоиммунных эндотипа, с различными типами аутоантител, которые связаны с активацией тучных клеток кожи. В условиях клинической практики пациенты с ХСК получают терапию в соответствии с клиническими рекомендациями МЗ РФ по лечению крапивницы, согласно алгоритму действий врача. У пациентов с ХСК симптомы заболевания купируются с трудом, из-за особенных механизмов развития этого варианта заболевания. В последние годы были описаны специфические маркеры, включая клинические и лабораторные параметры ХСК, которые могут предсказать ответ на лечение у пациентов при ХСК. В реальной клинической практике мы встречаемся с трудностями при ведении этих пациентов. Одной из проблем является рецидивирование симптомов крапивницы после окончания лечения омализумабом, что негативно влияет на комплаентность пациентов и их психоэмоциональный фон. Проведен ретроспективный анализ амбулаторных карт 14 пациентов ХСК с возобновлением симптомов крапивницы после окончания лечения омализумабом. Пациенты были разделены на две группы: 1-я группа – 10 пациентов, у которых симптомы крапивницы стали поддаваться контролю приемом антигистаминных препаратов (переход на 1-ю ступень терапии) и 2-я группа – 4 пациента, которым потребовалось повторное назначение омализумаба (возврат на 3-ю ступень лечения). Проанализированы длительность ХСК, активность крапивницы по UAS7, сочетание ХСК с развитием ангиоотека, наличие сопутствующей аллергологической и аутоиммунной патологии, уровень CRP, общего IgE, наличие антител к ТРО. Не было выявлено тенденции к зависимости тяжести рецидивов ХСК после отмены омализумаба с возрастом, полом, длительностью заболевания, наличием сопутствующих аллергических заболеваний, наличием лекарственной гиперчувствительности.

Адрес для переписки:

Удовиченко Екатерина Николаевна
ФГБОУ ВО «Саратовский государственный
медицинский университет имени В.И. Разумовского»
Министерства здравоохранения РФ
410012, Россия, г. Саратов, ул. Зарубина, 53/57а, кв. 74.
Тел.: 8 (917) 210-67-13.
E-mail: udokate@mail.ru

Address for correspondence:

Ekaterina N. Udovichenko
V. Razumovsky Saratov State Medical University
53/57a Zarubin St, Apt 74
Saratov
410012 Russian Federation
Phone: +7 (917) 210-67-13.
E-mail: udokate@mail.ru

Образец цитирования:

Е.Н. Удовиченко, И.А. Перфилова «Клинические факторы как предикторы развития тяжелого рецидива хронической спонтанной крапивницы после окончания терапии омализумабом» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 659-666. doi: 10.46235/1028-7221-16803-CFA

© Удовиченко Е.Н., Перфилова И.А., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

E.N. Udovichenko, I.A. Perfilova "Clinical factors as predictors of the development of severe recurrence of chronic spontaneous urticaria after completion of omalizumab therapy", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 659-666. doi: 10.46235/1028-7221-16803-CFA

© Udovichenko E.N., Perfilova I.A., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16803-CFA

У пациентов с высокой активностью заболевания отмечена тенденция к более тяжелому течению рецидивов ХСК. Поиск и изучение предикторов ответа на лечение ХСК остаются актуальной задачей. Дальнейшие исследования для выявления предикторов ответа на лечение и тяжесть рецидивов поможет выделить группы пациентов для раннего перехода на более эффективные методы лечения, что позволит оптимизировать и персонализировать тактику ведения пациентов с ХСК.

Ключевые слова: хроническая спонтанная крапивница, омализумаб, предикторы эффективности, тяжесть рецидивов, UAS7, С-реактивный белок

CLINICAL FACTORS AS PREDICTORS OF THE DEVELOPMENT OF SEVERE RECURRENCE OF CHRONIC SPONTANEOUS URTICARIA AFTER COMPLETION OF OMALIZUMAB THERAPY

Udovichenko E.N., Perfilova I.A.

V. Razumovsky Saratov State Medical University, Saratov, Russian Federation

Abstract. Chronic spontaneous urticaria (CSU) affects about 1% of population, and its prevalence is increasing. The disease occurs in both children and adults, with predominance among women. At least two possible causes of CSU have been identified, two autoimmune endotypes, with different types of autoantibodies associated with activation of skin mast cells. In clinical practice, patients with CSU receive therapy accordance the clinical recommendations of the Ministry of Health of Russia for treatment of urticaria, according to the doctor's algorithm of actions. In patients with CSU, symptoms are difficult to relieve due to special mechanisms of development this variant of disease. In recent years, specific markers, including clinical and laboratory parameters, have been described that can predict response to treatment patients with CSU. In clinical practice, we encounter difficulties in managing these patients. One of these is recurrence of urticaria symptoms after cessation of omalizumab treatment, which negatively affects compliance of patients and its psycho-emotional background. A retrospective analysis of 14 patients with CSU with resumption symptoms after completion of omalizumab treatment was carried out. Patients were divided into two groups: 1 group – 10 patients that symptoms began controlled with antihistamines (go to 1st therapy stage); and 2 group – 4 patients who need re-prescription of omalizumab (stay on 3rd treatment stage). The duration of CSU, activity according to UAS7, combination with development of angioedema, presence of concomitant allergic and autoimmune pathologies, level of CRP, total IgE, and presence of TPO antibodies were analyzed. There was no tendency relapses severity CSU after omalizumab discontinuation with age, gender, duration of the disease, presence of concomitant allergic diseases and drug hypersensitivity. In patients with high disease activity was tendency toward more severe relapses of CSU. The search and study of predictors response to treatment of CSC remains actual task. Further research to identify predictors of response to treatment and relapses severity help identify groups of patients for early transition to more effective treatment methods, which optimize and personalize management of patients with CSU.

Keywords: chronic spontaneous urticaria; omalizumab, predictors of effectiveness, severity of relapses, UAS7, C-reactive protein

Введение

Хроническая крапивница (ХК) – распространенное воспалительное заболевание кожи, характеризующееся развитием рецидивирующих зудящих волдырей и/или ангиоотека, которое длится более 6 недель [26].

Согласно современным рекомендациям, ХК можно разделить на спонтанную (или идиопатическую) и индуцируемую. Спонтанная (или идиопатическая) хроническая крапивница (ХСК) возникает без известной причины, хроническая индуцируемая крапивница провоцируется раз-

личными физическими или нефизическими факторами.

ХСК страдает около 1% населения, и распространенность ее увеличивается. Заболевание встречается как у детей, так и у взрослых, с заметным преобладанием среди последних женщин. Примерно у 13% пациентов с ХСК проявляется исключительно развитием ангиоотечек [7]. Развитие волдырей и ангиоотека при ХСК обусловлено активацией тучных клеток кожи и высвобождением медиаторов воспаления [27].

Помимо тучных клеток, патогенез ХСК включает взаимодействие множества эффекторных клеток, включая Т-клетки, базофилы и эозинофилы [3, 6, 21]. Многие пациенты с ХСК сообщают об обострении заболевания в ответ на провоцирующие факторы, такие как стресс, инфекции, пищевые продукты или прием нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП). Хотя эти триггеры и обострение заболевания, которое они вызывают, во многих случаях связаны с повышенной активацией тучных клеток кожи, они не считаются основной причиной ХСК.

Выявлены по крайней мере две возможные причины ХСК, два аутоиммунных эндотипа, с различными типами аутоантител, которые связаны с активацией тучных клеток кожи [12]. Оба эти эндотипа ХСК имеют один и тот же фенотип, т. е. возникновение зудящих волдырей, ангиоотека или того и другого, с одинаковыми механизмами после активации тучных клеток. Две формы ХСК могут различаться по нескольким важным клиническим и лабораторным характеристикам, включая ответ на лечение [12, 18, 23].

При I типе ХСК наблюдается выработка антител IgE, направленных против аутоантигенов (аутоаллергенов), например тиреоидной пероксидазы (ТРО) и IL-24 [4, 23].

В последнее десятилетие прошлого века были выявлены данные, указывающие на роль аутоантител IgE в развитии ХСК. В последующем было проведено рандомизированное контролируемое исследование омализумаба при лечении ХСК (исследование X-CUISITE) [18], давшее положительный результат и толчок к дальнейшему изучению данной проблемы.

Вместе с дальнейшими исследованиями распространенности, роли и значимости аутоантител IgE у пациентов с ХСК, эффективности омализумаба были изучены эндотипы крапивницы: аутоиммунный I типа или аутоаллергический [4, 12, 23].

По данным исследований Mauger M. и соавт., у пациентов с ХСК с повышенным уровнем IgE-

анти-ТРО наблюдается быстрый положительный ответ на прием омализумаба [18]. Исследование, проведенное Zhang L. и соавт., продемонстрировало, что IgE-анти-ТРО является независимым предиктором резистентной к антигистаминным препаратам ХСК [25].

Роль нацеленных на тучные клетки и активирующих аутоантител IgG к IgE или к его высокоаффинному рецептору FcεRI в патогенезе ХСК известна уже более 30 лет. Впервые сообщалось в 1988 году, что пациенты с ХСК могут иметь гистамин-высвобождающие аутоантитела IgG против IgE, была проведена демонстрация образования волдырей в месте внутривенной инъекции аутологичной сыворотки в группе пациентов с ХСК [8].

При дальнейшем изучении механизмов развития ХСК идентифицирован IIb тип ХСК, характеризующийся антителозависимым процессом, при котором выявляются специфические антитела IgG к IgE или к его высокоаффинному рецептору FcεRI на тучных клетках [14]. Позднее пациенты с ХСК, у которых имеются аутоантитела IgG, были отнесены к аутоиммунному эндотипу типа IIb, отличному от типа IIa, включающему цитолитическое разрушение клеток-мишеней [12].

Тип IIb оставался недостаточно изученным в течение многих лет. Причины этого включают редкую доступность иммуноанализа для выявления IgG-анти-IgE и IgG-анти-FcεRI, а также то, что не все IgG-анти-IgE и IgG-анти-FcεRI являются функциональными, т. е. активируют тучные клетки и вызывают высвобождение медиаторов [5].

Недавно проведенное международное исследование «Профилирование крапивницы для идентификации подтипов» (PURIST) [24] было первым, в котором среди значительной популяции пациентов с ХСК были оценены 3 определяющих признака типа IIb, а именно: наличие положительного результата теста с аутологичной сывороткой, положительный иммуноанализ на IgG-анти-FcεRI или IgG-анти-IgE и положительный результат теста на базофилы (тест активации базофилов и/или анализ высвобождения гистамина базофилами) [15].

Результаты исследования PURIST показали, что менее 10% пациентов имеют тип IIb ХСК и что у них, как правило, наблюдается более тяжелое течение заболевания, низкий уровень общего IgE и высокий уровень аутоантител к тиреоидной пероксидазе [24].

За последнее десятилетие появилось несколько дополнительных маркеров ХСК типа Пб, включая ночные симптомы, эозинопению и низкие уровни общего IgA [11, 16, 22].

Кроме того, Kolkhir P. и соавт. показали взаимосвязь развития ХСК типа Пб с плохим и/или медленным ответом пациентов на традиционное лечение антигистаминными препаратами и омализумабом [13].

В условиях клинической практики пациенты с ХСК получают терапию в соответствии с клиническими рекомендациями МЗ РФ по лечению крапивницы [1], согласно алгоритму действий врача. У пациентов с ХИК симптомы заболевания купируются с трудом, из-за особенных механизмов развития этого варианта заболевания. Так, первая линия терапии H1-антигистаминные препараты второго поколения (АГ 2-го поколения) в стандартной дозе, по данным литературы эффективны менее чем у 50% пациентов с ХСК. Увеличение дозы АГ 2 поколения улучшает реакцию на лечение. Однако у каждого третьего-четвертого пациента по-прежнему сохраняются симптомы [9, 26]. Терапия третьей линии, омализумаб, моноклональное антитело против IgE, более эффективна, а уровень полного ответа колеблется от 26% до 83%, как показано в нескольких исследованиях, включая XCUISTE, ASTERIA [19]. Некоторым пациентам, не отвечающим на омализумаб, помогает циклоспорин, терапия четвертой линии.

В последние годы были описаны специфические маркеры, включая клинические и лабораторные параметры ХСК, которые могут предсказать ответ на лечение у пациентов при ХСК [2].

Показано, что высокая активность заболевания, наличие С-реактивного белка (CRP), D-димера, сопутствующая хроническая индуцируемая крапивница и предыдущее лечение кортикостероидами являются маркерами отсутствия или плохой реакции на АГ 2-го поколения. Низкие уровни общего IgE являются маркером отсутствия или плохой реакции на омализумаб. Положительные результаты анализа высвобождения гистамина базофилами и низкие уровни общего IgE являются маркерами хорошего ответа на циклоспорин [2, 26].

Несмотря на прогресс в терапии пациентов с ХСК и описание предикторов эффективности лечения для каждой ступени, в реальной клинической практике мы встречаемся с трудностями при ведении этих пациентов. Одной из проблем является рецидивирование симптомов крапивницы после окончания лечения омализумабом,

что негативно влияет на комплаентность пациентов и их психоэмоциональный фон, особенно при развитии тяжелого обострения, когда требуется повторное назначение омализумаба для купирования симптомов.

Материалы и методы

Проведен ретроспективный анализ амбулаторных карт пациентов ХСК, средний возраст $42,14 \pm 15,32$ лет, среди которых женщин – 10 (71,4%), мужчин – 4 (28,6%).

Для анализа были отобраны карты пациентов с возобновлением симптомов крапивницы после окончания лечения омализумабом (3 степени терапии). Пациенты были разделены на две группы: 1-я группа – 10 пациентов, у которых симптомы крапивницы стали поддаваться контролю приемом антигистаминных препаратов (переход на 1-ю степень терапии) и 2-я группа – 4 пациента, которым потребовалось повторное назначение омализумаба (возврат на 3-ю степень лечения). Всем пациентам проводился стандартный объем обследования, проводимый в реальной клинической практике согласно клиническим рекомендациям МЗ РФ 2023 г., с целью поиска возможных маркеров тяжести рецидивов ХСК после отмены терапии омализумабом. Проанализированы данные анамнеза, включая длительность ХСК, активность крапивницы по UAS7, сочетание ХСК с развитием ангиоотека, наличие сопутствующей аллергологической патологии (аллергический ринит, бронхиальная астма, непереносимость лекарственных препаратов), наличие аутоиммунных заболеваний. Среди лабораторных показателей рассмотрены показатели общего анализа крови, уровень CRP, общего IgE, наличие антител к ТРО.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием компьютерной программы STATISTICA 10.0 (StatSoft, США) с определением средних величин (M) и квадратичного отклонения (m).

Результаты и обсуждение

Проведен анализ амбулаторных карт 14 пациентов (4 мужчины, 10 женщин) в возрасте от 17 до 78 лет (в среднем $42,14 \pm 15,32$ лет) с возобновлением симптомов крапивницы после окончания лечения омализумабом.

Исходно у всех пациентов ХСК имела тяжелое течение, активность крапивницы до начала терапии по UAS7 оценивалась $25,7 \pm 8,65$ в 1-й группе

и $36,5 \pm 6,18$ во 2-й группе. В соответствии с клиническими рекомендациями МЗ РФ по лечению крапивницы [1] по данным амбулаторных карт пациенты получали H₁-антигистаминные препараты второго поколения в стандартной дозе, из-за отсутствия эффекта доза антигистаминных препаратов была увеличена до 4-кратной, затем были переведены на третью ступень терапии ХСК. Пациенты обеих групп на 1-ю и 2-ю ступени терапии получали СГКС: 70% (n = 7) в 1-й группе и 100% (n = 4) во второй группе, причем длительность использования СГКС среди пациентов 2-й группы составляла несколько месяцев в год.

Выраженность симптомов ХСК при рецидиве была различной. У большей части пациентов – 71,4% (n = 10) симптомы ХСК купировались антигистаминными препаратами 2-го поколения в стандартной дозе, таким образом, отмечено уменьшение тяжести течения ХСК и пациенты перешли на 1-ю ступень терапии. Однако в 28,6% (n = 4) – выраженность симптомов потребовала назначения СГКС в высоких дозах и в последующем эти пациенты продолжили получать лечение омализумабом.

Средняя продолжительность ХСК у пациентов, которым потребовалось повторное назначение омализумаба, была несколько выше и составила $8,25 \pm 6,18$ лет, у пациентов 1-й группы – $5,6 \pm 3,35$ лет. Развитие ангиоотека наблюдалось одинаково часто в обеих группах – 80% (n = 8) и 75% (n = 3) соответственно, а другие формы крапивницы, в том числе индуцируемая крапивница, отмечена только у 30% (n = 3) среди пациентов 1-й группы.

Частота коморбидных атопических заболеваний составила: аллергический ринит – 30% (n = 3) в 1-й группе и 25% (n = 1) во 2-й группе, бронхиальная астма 30% (n = 3) в 1-й группе, сочетание двух заболеваний – 20% (n = 2) в 1-й группе. Среди пациентов с атопией проведен анализ сенсibilизации по группам аллергенов. Среди ингаляционных аллергенов одинаково часто имела сенсibilизация к пыльцевым аллергенам – 20% (n = 2) в 1-й группе и 25% (n = 1) во 2-й группе. Наличие лекарственной гиперчувствительности к НПВП выявлялось одинаково часто – 20% (n = 2) в 1-й группе и 25% (n = 1) во 2-й группе.

В соответствии с клиническими рекомендациями у пациентов с ХСК проводился анализ сопутствующих аутоиммунных заболеваний – в 1-й группе у 20% (n = 2) выявлена аутоиммунная патология щитовидной железы и во 2-й группе у

25% (n = 1) имелся аутоиммунный увеит (тяжелое, прогрессирующее течение).

Лабораторные анализы, выполняемые при ХСК, включали общий анализ крови (ОАК), скорость оседания эритроцитов (СОЭ) и С-реактивный белок (CRP). У всех пациентов общий анализ крови находился в пределах референсных значений. Что касается тестирования СОЭ (n = 14), ни у одного из пациентов не было выявлено отклонений от нормы (1–20 мм/ч). Выявлена тенденция к различию в уровне CRP. В 1-й группе CRP был отрицателен или незначительно повышен у 40% (n = 4), во второй группе отмечено умеренное и значительное повышение уровня CRP у 50% пациентов (n = 2).

Не выявлено различий в уровне общего IgE в обеих группах, средний уровень общего IgE составил $237,3 \pm 94,43$ МЕ/мл и 238 ± 49 МЕ/мл соответственно.

Доказательства наличия маркеров аутоиммунитета (положительные антитела к тиреоидной пероксидазе) были обнаружены у 20% (n = 2) в 1-й группе и 25% (n = 1) во 2-й группе пациентов.

Таким образом, не было выявлено тенденции к зависимости тяжести рецидивов ХСК после отмены омализумаба с возрастом, полом, длительностью заболевания, наличием сопутствующих аллергических заболеваний, наличием лекарственной гиперчувствительности.

По данным исследований высокий UAS7 является предиктором менее благоприятного ответа на антигистаминные препараты [26]. UAS7 – показатель, который оценивает активность заболевания и реакцию на лечение на основе количества волдырей и интенсивности зуда. У пациентов с высокой активностью заболевания отмечена тенденция к более тяжелому течению рецидивов ХСК.

Согласно клиническим рекомендациям МЗ РФ по крапивнице короткие курсы пероральных ГКС рекомендуются в случае тяжелого обострения ХСК. Однако всем пациентам, которым потребовалось повторное назначение омализумаба, на 1-й и 2-й ступенях терапии СГКС назначались длительно, что уже на начальных этапах лечения указывает на необходимость перевода пациентов на более эффективную терапию.

CRP является чувствительным маркером воспаления, и до трети пациентов с ХСК имеют повышенный уровень CRP [10]. В ряде ретроспективных исследования показано, что уровни CRP выше у пациентов, не ответивших на АГ препараты [10]. Высокие уровни CRP были связаны с положительным результатом кожного теста с

аутологичной сывороткой, высокой активностью крапивницы и повышением маркеров воспаления и коагуляции [20]. Возможно высокой активностью крапивницы можно объяснить значительное повышение уровня CRP во 2-й группе пациентов.

Многочисленные исследования подтверждают, что низкие уровни общего IgE являются предиктором отсутствия ответа или плохого ответа на омализумаб. Показано, что пороговый уровень для пациентов, не ответивших на лечение, был установлен на уровне 42 кUA/л. [17]. Однако не отмечено наличия связи уровня общего IgE и тяжести рецидива ХСК.

Учитывая наличие у каждого четвертого наблюдаемого пациента аутоиммунной патологии, для исключения аутоиммунной ХСК типа IIb возможно проведение этим пациентам анализа высвобождения гистамина базофилами, как маркера функциональных аутоантител IgG, кожного теста с аутологичной сывороткой, маркера аутореактивности, и наличия аутоантител IgG против FcεR1α при оценке методом иммуноанализа [12].

Тяжесть рецидивов после лечения омализумабом не зависела от продолжительности ХСК, наличия сопутствующих аллергических заболеваний, лекарственной гиперчувствительности или демографических данных пациента. Возможно, высокий исходный уровень UAS7 указывают на более агрессивное развитие рецидива ХСК.

Выводы

Поиск и изучение предикторов ответа на лечение ХСК остаются актуальной задачей. Существуют клинические и биохимические предикторы отсутствия ответа на антигистаминные препараты, омализумаб, циклоспорин. Необходимы дальнейшие исследования для выявления дополнительных факторов, которые могут повлиять на лечение и прогноз течения ХСК. Использование этих предикторов поможет выделить группы пациентов для раннего перехода на более эффективные методы лечения, что позволит оптимизировать и персонализировать тактику ведения пациентов с ХСК.

Список литературы / References

1. Клинические рекомендации МЗ РФ. Крапивница. 2023 г. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://raaci.ru/education/clinic_recomendations/470.html. [Clinical recommendations of the Ministry of Health of the Russian Federation. Hives. 2023. [Electronic resource]. Access mode: https://raaci.ru/education/clinic_recomendations/470.html. (In Russ.)]
2. Переверзина Н.О., Грибалева Е.О., Алленова А.С., Скандер Д.М., Колхир П.В. Потенциальные маркеры ответа на лечение у больных хронической спонтанной крапивницей // Лечащий врач, 2020. № 11. С. 27-31. [Pereverzina N.O., Gribaleva E.O., Allenova A.S., Skander D.M., Kolkhir P.V. Potential markers of response to treatment of patients with chronic spontaneous urticaria. *Lechashchiy Vrach = Attending Doctor*, 2020, no. 11, pp. 27-31. (In Russ.)]
3. Altrichter S., Frischbutter S., Fok J.S., Kolkhir P., Jiao Q., Skov P.S., Metz M., Church M.K., Maurer M. The role of eosinophils in chronic spontaneous urticaria. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2020, Vol. 145, pp. 1510-1516.
4. Altrichter S., Peter H.J., Pisarevskaja D., Metz M., Martus P., Maurer M. IgE mediated autoallergy against thyroid peroxidase—a novel pathomechanism of chronic spontaneous urticaria? *PLoS One*, 2011, Vol. 6, no. 4, e14794. doi: 10.1371/journal.pone.0014794.
5. Asero R., Tedeschi A., Lorini M., Salimbeni R., Zanoletti T., Miodonna A. Chronic urticaria: novel clinical and serological aspects. *Clin. Exp. Allergy*, 2021, Vol. 31, pp. 1105-1110.
6. Elias J., Boss E., Kaplan A.P. Studies of the cellular infiltrate of chronic idiopathic urticaria: prominence of T-lymphocytes, monocytes, and mast cells. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1986, Vol. 78, pp. 914-918.
7. Fricke J., Ávila G., Keller T., Weller K., Lau S., Maurer M., Zuberbier T., Keil T. Prevalence of chronic urticaria in children and adults across the globe: systematic review with meta-analysis. *Allergy*, 2020, Vol. 75, pp. 423-432.

8. Grattan C.E., Wallington T.B., Warin R.P., Kennedy C.T., Bradfield J.W. A serological mediator in chronic idiopathic urticaria--a clinical, immunological and histological evaluation. *Br. J. Dermatol.*, 1986, Vol. 114, pp. 583-590.
9. Guillen-Aguinaga S., Jauregui Presa I., Aguinaga-Ontoso E., Guillen-Grima F., Ferrer M. Updosing non-sedating antihistamines in patients with chronic spontaneous urticaria: a systematic review and meta-analysis. *Br. J. Dermatol.*, 2016, Vol. 175, no. 6, pp. 1153-1165.
10. Kolkhir P., Altrichter S., Hawro T., Maurer M. C-reactive protein is linked to disease activity, impact, and response to treatment in patients with chronic spontaneous urticaria. *Allergy*, 2018, Vol. 73, no. 4, pp. 940-948.
11. Kolkhir P., Church M.K., Altrichter S., Skov P.S., Hawro T., Frischbutter S., Metz M., Maurer M. Eosinopenia, in chronic spontaneous urticaria, is associated with high disease activity, autoimmunity, and poor response to treatment. *J Allergy Clin. Immunol. Pract.*, 2020, Vol. 8, pp. 318-325.
12. Kolkhir P., Church M.K., Weller K., Metz M., Schmetzer O., Maurer M. Autoimmune chronic spontaneous urticaria: what we know and what we do not know. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2017, Vol. 139, no. 6, pp. 1772-1781.
13. Kolkhir P., Kovalkova E., Chernov A., Danilycheva I., Krause K., Sauer M., Autoimmune chronic spontaneous urticaria detection with IgG anti-TPO and total IgE. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.*, 2021, Vol. 9, no. 11, pp. 4138-4146.e8.
14. Kolkhir P., Muñoz M., Asero R., Ferrer M., Kocatürk .E, Metz M., Xiang Y.K., Maurer M. Autoimmune chronic spontaneous urticaria. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2022, Vol. 149, no. 6, pp. 1819-1831.
15. Konstantinou G.N., Asero R., Ferrer M., Knol E.F., Maurer M., Raap U. EAACI taskforce position paper: evidence for autoimmune urticaria and proposal for defining diagnostic criteria. *Allergy*, 2013, Vol. 68, pp. 27-36.
16. Marcelino J., Baumann K., Skov P.S., Pereira Santos M.C., Wyrosiak I., Scheffel J. What basophil testing tells us about CSU patients – results of the CORSA study. *Front. Immunol.*, 2021, Vol. 12, 742470. doi:10.3389/fimmu.2021.742470.
17. Marzano A.V., Genovese G., Casazza G. Predictors of response to omalizumab and relapse in chronic spontaneous urticaria: a study of 470 patients. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2019, Vol. 33, no. 5, pp. 918-924.
18. Maurer M., Altrichter S., Bieber T., Biedermann T., Brautigam M., Seyfried S. Efficacy and safety of omalizumab in patients with chronic urticaria who exhibit IgE against thyroperoxidase. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2011, Vol. 128, pp. 202-209.e5.
19. Metz M., Ohanian T., Church M.K., Maurer M. Omalizumab is an effective and rapidly acting therapy in difficult-to-treat chronic urticaria: a retrospective clinical analysis. *J. Dermatol. Sci.*, 2014, Vol. 73, no. 1, pp. 57-62.
20. Montjoye L., Darrigade A.S., Gimenez-Arnau A., Herman A., Dumoutier L., Baeck M. Correlations between disease activity, autoimmunity and biological parameters in patients with chronic spontaneous urticaria. *Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol.*, 2020, Vol. 53, no. 2, pp. 55-66.
21. Natbony S.F., Phillips M.E., Elias J.M., Godfrey H.P., Kaplan A.P. Histologic studies of chronic idiopathic urticaria. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1983, Vol. 71, pp. 177-183.
22. Sauer M., Scheffel J., Frischbutter S., Kolkhir P., Xiang Y., Siebenhaar F. Lower IgA levels in chronic spontaneous urticaria are associated with lower IgE levels and autoimmunity. *Front. Immunol.*, 2021, Vol. 12, 657211. doi: 10.3389/fimmu.2021.657211.
23. Schmetzer O., Lakin E., Topal F.A., Preusse P., Freier D., Church M.-K. IL-24 is a common and specific autoantigen of IgE in patients with chronic spontaneous urticaria. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2018, Vol. 142, pp. 876-882.
24. Schoepke N., Asero R., Ellrich A., Ferrer M., Gimenez-Arnau A., Grattan C.E.H. Biomarkers and clinical characteristics of autoimmune chronic spontaneous urticaria: results of the PURIST study. *Allergy*, 2019, Vol. 74, pp. 2427-2436.
25. Zhang L., Qiu L., Wu J., Qi Y., Wang H., Qi R. IgE and IgG anti-thyroid autoantibodies in Chinese patients with chronic spontaneous urticaria and a literature review. *Allergy Asthma Immunol. Res.*, 2022, Vol. 14, pp. 131-142.

26. Zuberbier T., Aberer W., Asero R., Abdul Latiff A.H., Baker D., Ballmer-Weber B. The EAACI/GA2LEN/EDF/WAO guideline for the definition, classification, diagnosis and management of urticaria. *Allergy*, 2018, Vol. 73, pp. 1393-1414.
27. Zuberbier T., Latiff A.H.A., Abuzakouk M., Aquilina S., Asero R., Baker D. The International EAACI/GA2LEN/EuroGuiDerm/APAAACI guideline for the definition, classification, diagnosis and management of urticaria. *Allergy*, 2022, Vol. 77, pp. 734-766.

Авторы:

Удовиченко Е.Н. — к.м.н., доцент кафедры клинической иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения РФ, г. Саратов, Россия

Перфилова И.А. — к.м.н., доцент кафедры клинической иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения РФ, г. Саратов, Россия

Authors:

Udovichenko E.N., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Clinical Immunology and Allergology, V. Razumovsky Saratov State Medical University, Saratov, Russian Federation

Perfilova I.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Clinical Immunology and Allergology, V. Razumovsky Saratov State Medical University, Saratov, Russian Federation

Поступила 31.03.2024
Отправлена на доработку 06.04.2024
Принята к печати 18.04.2024

Received 31.03.2024
Revision received 06.04.2024
Accepted 18.04.2024

ОБОСНОВАННОСТЬ МЕДИЦИНСКИХ ОТВОДОВ ОТ ВАКЦИНАЦИИ У ЛИЦ С АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

Москалец О.В.

ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени
М.Ф. Владимирского», Москва, Россия

Резюме. Несмотря на огромные успехи, которые были достигнуты в борьбе с инфекционными болезнями благодаря массовой профилактической вакцинации, прежде всего, снижению детской смертности, периодически возникают вспышки вакциноуправляемых инфекций. Одна из причин — необоснованные медицинский отводы от прививок, которые широко применялись в прошлом, недостатки учета побочных проявлений после иммунизации, а также отказы родителей (полные или частичные) от профилактических прививок. В статье представлены данные ретроспективного анализа данных медицинской документации пациентов, направленных на консультацию к аллергологу-иммунологу для решения вопроса о возможности проведения вакцинации против новой коронавирусной инфекции (COVID-19), в том числе для подтверждения ранее выданных медицинских отводов. В исследование включено 87 пациентов (39 мужчин и 48 женщин), большинство из них было трудоспособного возраста. У 68 пациентов (78,2%) ранее были оформлены медицинские отводы от вакцинации, в том числе у 14 (20,6%) на основании сведений о побочных проявлениях после иммунизации, у 32 (47,1%) — на основании неблагоприятных реакций на введение других лекарственных средств и у 22 (32,3%) только на основании диагноза какого-либо аллергического заболевания. При этом медицинская документация, подтверждающая факты побочных проявлений после иммунизации или неблагоприятных реакций на медикаменты, в подавляющем большинстве случаев отсутствовала. Кроме того, у 3 пациентов в детстве вакцинация не проводилась из-за отказа родителей, а еще 16 больных обратились для оценки потенциального риска развития побочных проявлений после в связи с наличием у них аллергических заболеваний (бронхиальная астма, аллергический ринит, атопический дерматит, хроническая крапивница, рецидивирующие ангиоотеки). На основании клинико-anamnestических данных и проведения при необходимости лабораторных и инструментальных исследований временные противопоказания для проведения вакцинации были выявлены лишь у 6 (27,2%) пациентов. Абсолютные противопоказания отсутствовали. В остальных случаях отмечалась стойкая ремиссия либо заболевание полностью или частично контролировалось медикаментозно, что не являлось противопоказанием для проведения вакцинации на момент обращения. Таким образом, в большинстве случа-

Адрес для переписки:

Москалец Оксана Владимировна
ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского»
129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, 61/2.
Тел.: 8 (495) 681-60-00.
E-mail: 6816000@mail.ru

Address for correspondence:

Oxana V. Moskalets
M. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute
61/2 Schepkin St
Moscow
129110 Russian Federation
Phone: +7 (495) 681-60-00.
E-mail: 6816000@mail.ru

Образец цитирования:

О.В. Москалец «Обоснованность медицинских отводов от вакцинации у лиц с аллергической патологией» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 667-672.
doi: 10.46235/1028-7221-16806-VOM

© Москалец О.В. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

O.V. Moskalets "Validity of medical exemptions from vaccination in persons with allergic disorders", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 667-672.
doi: 10.46235/1028-7221-16806-VOM

© Moskalets O.V. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16806-VOM

ев медицинские отводы от прививок являются необоснованными или с течением времени становятся неактуальными. Вместе с тем, отсутствие медицинской документации серьезно затрудняет возможность объективно оценить риск развития побочных проявлений после иммунизации у пациентов с аллергическими заболеваниями.

Ключевые слова: вакцинация, отказ от прививок, медицинский отвод, аллергия, COVID-19, антивакцинальное движение

VALIDITY OF MEDICAL EXEMPTIONS FROM VACCINATION IN PERSONS WITH ALLERGIC DISORDERS

Moskalets O.V.

M. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow, Russian Federation

Abstract. Despite the enormous successes that have been achieved in the fight against infectious diseases thanks to mass preventive vaccination, primarily the reduction of child mortality, outbreaks of vaccine-preventable diseases sometimes occur. One of the reasons is unjustified medical exemptions from vaccinations, which were widely used in the past, the shortcomings of taking into account adverse events after immunization as well as parental refusals (complete or partial) from preventive vaccinations. The article presents data from a retrospective analysis of medical records of patients sent for consultation with an allergist-immunologist to decide on the possibility of vaccination against the new coronavirus infection (COVID-19), including to confirm previously issued medical exemptions. The study included 87 patients (39 men and 48 women), most of them were of working age. Sixty-eight patients (78.2%) had previously received medical exemptions from vaccination, including 14 (20.6%) based on information about adverse events after immunization, and 32 (47.1%) based on adverse reactions for the administration of other medications, and in 22 (32.3%) only on the basis of a diagnosis of any allergic disease. At the same time, medical documentation confirming the facts of adverse events after immunization or adverse reactions to medications was absent in the vast majority of cases. In addition, 3 patients were not vaccinated in childhood due to parental refusal, and another 16 patients were contacted to assess the potential risk of developing side effects after vaccination due to the presence of allergic diseases (bronchial asthma, allergic rhinitis, atopic dermatitis, chronic urticaria, recurrent angioedema). Based on clinical and anamnestic data and, if necessary, laboratory and instrumental studies, temporary contraindications for vaccination were identified in only 6 (27.2%) patients. There were no absolute contraindications. In other cases, stable remission was observed or the disease was fully or partially controlled with medication, which was not a contraindication for vaccination at the time of treatment. Thus, in most cases, medical exemptions from vaccinations are unfounded or become irrelevant over time. At the same time, the lack of medical documentation seriously makes it difficult to objectively assess the risk of developing adverse events after immunization in patients with allergic diseases.

Keywords: vaccination, refusal to vaccinate, medical exemption, allergies, COVID-19, anti-vaccination movement

Введение

Роль вакцинации в истории медицины трудно переоценить. Ежегодно благодаря вакцинации удается спасти приблизительно 3 млн детей, а у 750 тыс. она позволяет предотвратить тяжелые осложнения инфекционных заболеваний. Из 30 лет, на которые возросла средняя продолжительность жизни в XX веке, 25 обусловлено иммунопрофилактикой [1, 8, 10]. В 2012 г. Всемирная организация здравоохранения сформулировала основные положения современной концепции

иммунизации против наиболее значимых инфекционных заболеваний, которая предусматривает проведение иммунопрофилактики на протяжении всей жизни и необходимость высокого охвата населения (до 90%) профилактическими прививками для достижения эпидемиологической безопасности [11]. Особенно возрастает значение иммунопрофилактики в современном мире, в эпоху массовых миграций населения и развитого транспортного сообщения, что способствует быстрому распространению инфекций.

Вместе с тем, необходимо отметить, что несмотря на, казалось бы, неоспоримые преимущества специфической иммунопрофилактики, существует достаточно много проблем с ее массовым проведением, которые приводят к снижению коллективного иммунитета и, как следствие, вспышкам вакциноуправляемых инфекций. Прежде всего, это антипрививочные настроения, причины которых очень разнообразны, но в целом оказывают большое влияние на общество [2]. Другая важная проблема – медицинские отводы от прививок, которые раньше оформлялись достаточно просто, причем во многих случаях необоснованно. Например, при любой неблагоприятной реакции на любое лекарственное средство (прежде всего, это относится к детям). Особую категорию составляют лица с аллергическими заболеваниями, которым также часто дают медицинские отводы независимо от того, какая фаза заболевания (обострение или ремиссия) в конкретное время имеется у пациента или насколько хорошо оно контролируется [4].

Целью настоящего исследования был анализ причин ранее выданных медицинский отводов от вакцинации, для подтверждения которых пациенты были направлены к аллергологу-иммунологу.

Материалы и методы

Проведен ретроспективный анализ медицинской документации взрослых лиц, направленных на консультацию к аллергологу-иммунологу в 2021-2022 гг. для определения возможности проведения вакцинации против новой коронавирусной инфекции (COVID-19).

Проанализированы клинично-anamnestические данные и результаты обследования 87 пациентов, в том числе 39 (44,8%) мужчин и 48 (55,2%) женщин. Средний возраст составил $42 \pm 11,6$ лет. Распределение направленных на консультацию пациентов в зависимости от социального статуса представлено на рисунке 1.

Результаты и обсуждение

Как следует из рисунка 1, в подавляющем большинстве случаев (81,6%) на консультацию направляли работающих граждан, причем каждый второй пациент трудился в коммерческих организациях. Возможно, там более строго относились к исполнению Постановления главного государственного санитарного врача «О проведении профилактических прививок отдельным группам граждан по эпидемическим показани-

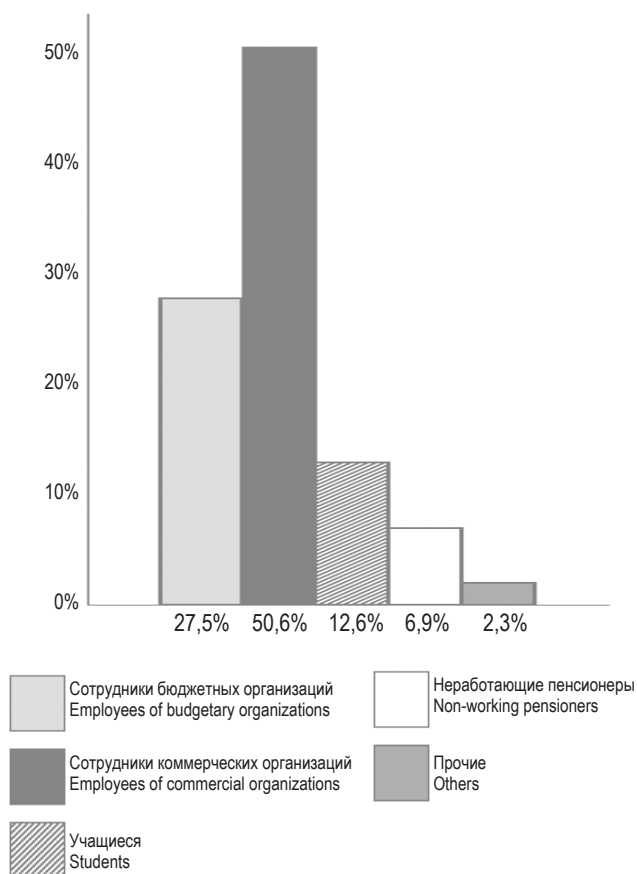


Рисунок 1. Социальный статус пациентов

Figure 1. The social status of patients

ям», чем в бюджетных. Доля учащихся составила 12,6%. Остальные (неработающие пенсионеры инвалиды, домохозяйки), на которых обязательная вакцинация против COVID-19 не распространялась, в совокупности составили лишь 9,2%.

У 68 пациентов (78,2%) причиной направления на консультацию были выданные ранее медицинские отводы от вакцинации, основанием для которых служили анамнестические сведения о побочных проявлениях после иммунизации (ПППИ) на введение других вакцин либо неблагоприятные реакции на прочие лекарственные средства, а также различные аллергические заболевания (рис. 2). Кроме того, родители нескольких молодых пациентов (3 чел., возраст до 23 лет) ранее по неустановленным причинам оформляли отказ от прививок ребенку. Еще у 16 лиц никогда не было медицинских отводов, специфическая иммунопрофилактика проводилась в соответствии с Национальным календарем профилактических прививок, но имелись те или иные аллергические заболевания, наличие которых

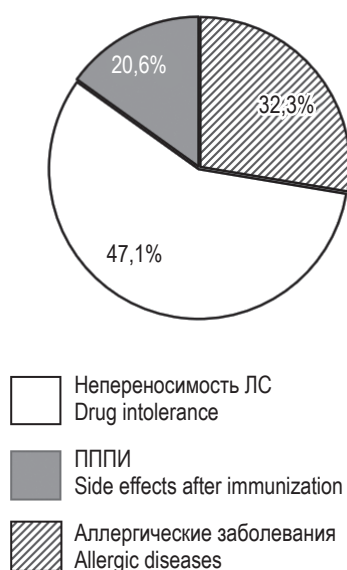


Рисунок 2. Причины медицинских отводов от вакцинации

Figure 2. Reasons for medical exemptions from vaccination

вызывало опасение у больных и лечащих врачей в безопасности вакцинации против COVID-19.

Таким образом, анамнестические сведения о ПППИ были у 14 (20,6%) пациентов, но документальное подтверждение ПППИ было лишь у 2 (в 1 случае – на АДС-М и еще в 1 – на противостолбнячную сыворотку). Вместе с тем, несмотря на отсутствие соответствующей медицинской документации, в 5 случаях нельзя было полностью исключить ПППИ, т. к. пациенты достаточно правдоподобно описывали клиническую картину и динамику развития событий. В остальных случаях анамнестические сведения были малоинформативны (больные не могли четко охарактеризовать симптомы, сроки их появления, а также некоторые из них не знали или не помнили названия вакцины, т. к. все произошло много лет назад).

Почти у половины пациентов (32 чел.) поводом для медицинских отводов служила непереносимость других лекарственных средств в анамнезе (антибиотики, местные анестетики, нестероидные противовоспалительные средства и др.), особенно если таких препаратов было несколько. Медицинская документация, подтверждающая данный факт, в подавляющем большинстве случаев также отсутствовала (у 29 чел. – 90,6%).

Необходимо отметить, что у каждого третьего пациента (22 чел.) причиной медицинских отводов были различные хронические аллергические

заболевания (бронхиальная астма, хроническая крапивница, рецидивирующие ангиоотеки, атопический дерматит), причем у многих впервые их оформляли в детстве на постоянной основе. Однако после сбора анамнеза и проведения необходимого обследования только у 6 (27,2%) пациентов были выявлены временные противопоказания для проведения вакцинации (неконтролируемая бронхиальная астма и/или аллергический ринит, обострение хронической крапивницы, рецидивирующие ангиоотеки). У 7 (31,8%) пациентов ранее установленный диагноз аллергического заболевания был сомнителен. В остальных случаях отмечалась стойкая ремиссия либо заболевание полностью или частично контролировалось медикаментозно, что не являлось противопоказанием для проведения вакцинации на момент обращения.

Опрос показал, что практически все респонденты, у которых в анамнезе отмечалась непереносимость различных лекарственных средств, опасались, что у них может развиваться аллергическая реакция на любую вакцину. Согласно данным литературы у пациентов с аллергическими заболеваниями уровень тревожности выше, чем в популяции, а также у них есть предрасположенность к разнообразным вегетососудистым реакциям, в том числе напоминающим анафилаксию. Следует признать, что если действительно в прошлом отмечалась неблагоприятная реакция на лекарственное средство, особенно тяжелая, то впоследствии у части больных может появиться так называемая «непереносимость» многих препаратов из различных фармакологических групп, в том числе и вакцин [7, 13]. Нельзя забывать и о совпадающих по времени реакциях, причиной которых могут быть разные немедикаментозные факторы. Особый контингент представляют родители детей, которые нередко пишут отказы от введения любой или какой-либо конкретной вакцины, особенно если проводится вакцинация по эпидемическим показаниям, причем это относится не только к России, но и к другим странам [5, 6, 9]. Вместе с тем, учитывая то, что вакцины против новой коронавирусной инфекции разрабатывались и регистрировались по ускоренной схеме, а зарубежные и наиболее широко применявшаяся в России вакцина – Гам-КОВИД-Вак – принципиально отличаются от всех ранее существовавших вакцин (технологии на основе мРНК или аденовирусного вектора), можно понять, почему население и даже некоторые медицинские работники относились к ним с осторожностью [3, 12].

Заключение

Многие медицинские отводы от вакцинации, ранее выданные больным с острой или хронической аллергической патологией, особенно в детстве, являются необоснованными или с течением времени становятся неактуальными. Вместе с тем, отсутствие медицинской документации с указанием сроков развития неблагоприятной реакции, симптомов, состояния гемодинамики и методов купирования, а также сертифицированных тест-систем для определения сенсибилизации к различным компонентам вакцин серьезно затрудняют объективную оценку воз-

можности проведения специфической иммунопрофилактики у конкретного индивида. Необходима работа с родителями, которые, поддавшись антипрививочным настроениям или не имея достаточной информации о безопасности проведения специфической иммунопрофилактики детям с хроническими заболеваниями (в том числе с аллергическими), необдуманно пишут отказы от вакцинации, тем самым создавая проблему своему повзрослевшему ребенку в будущем. Возможно, с учетом международного опыта, имеет смысл пересмотреть процедуру оформления отводов от вакцинации по немедицинским показаниям.

Список литературы / References

1. Брико Н.И., Фельдблюм И.В. Иммунопрофилактика инфекционных болезней в России: состояние и перспективы совершенствования // Эпидемиология и вакцинопрофилактика, 2017. Т.93, № 2. С. 4-9. [Briko N.I., Feldblum I.V. Immunoprophylaxis of infectious diseases in Russia: state and prospects of improvement. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2017, Vol. 93, no. 2, pp. 4-9. (In Russ.)]
2. Бронский В.И., Толканец С.В., Бронская К.В., Гут Е.В., Гаврилюк Е.Н. Социально-психологические характеристики противников вакцинации в период новой коронавирусной // Медико-биологические проблемы жизнедеятельности, 2022. Т. 28, № 2. С. 47-52. [Bronskiy V.I., Tolkanets S.V., Bronskaya K.V., Gut E.V., Gavrilyuk E.N. Socio-psychological characteristics of antivaccers during the period of a new coronavirus infection. *Mediko-biologicheskie problemy zhiznedeyatel'nosti = Medical and Biological Problems of Life*, 2022, Vol. 28, no. 2, pp. 47-52. (In Russ.)]
3. Демидова Т.В., Уфимцева Н.А. Коллизии вакцинопрофилактики в период пандемии // Медицинская сестра, 2021. Т. 23, № 4. С. 31-35. [Demidova T.V., Ufimtseva N.A. Collisions of vaccine prevention during a pandemic. *Meditsinskaya sestra = Nurse*, 2021, Vol. 23, no. 4, pp. 31-35. (In Russ.)]
4. Куличенко Т.В., Дымшиц М.Н., Лазарева М.А., Бабаян А.Р., Бокучаева Е.Г. Нарушение календаря вакцинопрофилактики детей: взгляд врачей и родителей на проблему // Педиатрическая фармакология, 2015. Т.12, № 3. С. 330-334. [Kulichenko T.V., Dymshits M.N., Lazareva M.A., Babayan A.R., Bokuchava E.G. Violation of the child vaccination calendar: the attitudes of doctors and parents. *Pediatricheskaya farmakologiya = Pediatric Pharmacology*, 2015, Vol. 12, no. 3, pp. 330-334. (In Russ.)]
5. Мокеев А.Г., Куршина М.В., Капишников П.А., Попова А.К., Шубенкова Е.П., Сорочкина М.Г. Отношение родителей детей дошкольного возраста к вакцинации по эпидемическим показаниям и причины отказа от прививок // Вестник «Биомедицина и Социология», 2023. Т. 8, № 2. С. 66-71. [Mokeev A.G., Kurshina M.V., Kapishnikov P.A., Popova A.K., Shubenkova E.P., Sorochkina M.G. The attitude of parents of preschool children to vaccination according to epidemic indications and the reasons for refusing vaccinations. *Vestnik "Biomeditsina i Sotsiologiya" = Bulletin "Biomedicine and Sociology"*, 2023, Vol. 8, no. 2, pp. 66-71. (In Russ.)]
6. Чернова Т.М., Тимченко В.Н., Мыскина Н.А. Причины нарушения графика вакцинации детей раннего возраста // Педиатрия, 2019. Т.10, № 3. С. 31-36. [Chernova T.M., Timchenko V.N., Myskina N.A. The reasons for the violation of the vaccination schedule for young children. *Pediatriya = Pediatrician*, 2019, Vol. 10, no.3, pp. 31-36. (In Russ.)]
7. Camargo C.A.Jr., Zhou L. Multiple drug intolerance syndrome and multiple drug allergy syndrome: Epidemiology and association with anxiety and depression. *Allergy*, 2018, Vol. 73, no. 10, pp. 2012-2023.
8. Chan M., Elias C., Fauci A., Lake A., Berkley S. Reaching everyone, everywhere with life-saving vaccines. *Lancet*, 2017, Vol. 389, no. 10071, pp. 777-779.
9. Constable C., Blank N.R., Caplan A.L. Rising rates of vaccine exemptions: problems with current policy and more promising remedies. *Vaccine*, 2014, Vol. 32, no. 16, pp. 1793-1797.
10. Mills A.R., Jadad K., Wilson J. Systematic review of qualitative studies exploring parental beliefs and attitudes toward childhood vaccination identifies common barriers to vaccination. *Clin. Epidemiol.*, 2005, Vol. 58, no. 11, pp. 1081-1088.

11. Peck M., Gacic-Dobo M., Diallo M.S., Nedelec Y., Sodha S.V., Wallace A.S. Global routine vaccination coverage, 2018. *MMWR Morb. Mortal Wkly Rep.*, 2019, Vol. 68, no. 42, pp. 937-942.
12. Ullah I., Khan K.S., Tahir M.J. Myths and conspiracy theories on vaccines and COVID-19: Potential effect on global vaccine refusals. *Vacunas*, 2021, Vol. 22, no. 2, pp. 93-97.
13. Ye G., Baldwin D.S., Hou R. Anxiety in asthma: a systematic review and metha-analysis. *Psychol. Med.*, 2021, Vol. 51, no. 1, pp. 11-20.

Автор:

Москалец О.В. — к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории биомедицинских методов исследования ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского», Москва, Россия

Author:

Moskalets O.V., PhD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Biomedical Research Methods, M. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow, Russian Federation

Поступила 31.03.2024

Отправлена на доработку 06.04.2024

Принята к печати 18.04.2024

Received 31.03.2024

Revision received 06.04.2024

Accepted 18.04.2024

ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ IL-1 β , IL-4, IL-8, IL-10 ПРИ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОМ ОРТОПЕДИЧЕСКОМ НЕСЪЕМНОМ ПРОТЕЗИРОВАНИИ

Первов Р.Ю.^{1,2}, Первов Ю.Ю.¹, Красников В.Е.¹, Яценко А.К.¹

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

² ГБУЗ «Дальнереченская стоматологическая поликлиника», г. Дальнереченск, Приморский край, Россия

Резюме. Несмотря на значительные успехи материаловедения, внедрение новых методов и принципов ортопедического лечения в практику врачей-стоматологов, встречаются осложнения после протезирования несъемными конструкциями. Результат стоматологического протезирования пациентов с дефектами твердых тканей зубов зависит не только от выбранных конструкции и материалов, из которых они изготовлены, но и тесно связан с функциональной активностью иммунной системы. Важным фактором мукозального иммунитета являются цитокины. Система цитокинов представляет собой одну из ключевых составляющих мукозального иммунитета. Она регулирует нормальные физиологические функции, восстановление гемостаза при взаимодействии на организм физических, химических и биологических факторов и участвуют в патогенезе аллергических, аутоиммунных, аутовосполительных процессах. Цель исследования – сравнить содержание IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-4 в нестимулированной слюне и десневой жидкости у пациентов в процессе адаптации к конструкциям, изготовленным из металлокерамики и оксидной керамики с опорой на зубах. За период 2021-2024 гг. нами обследовано 3 группы пациентов в возрасте 46 \pm 2 года, 1-я группа – группа сравнения, пациенты без стоматологических конструкций в полости рта (25 человек); 2-я группа – пациенты, прошедшее лечение с использованием коронок из металлокерамики (МК) с опорой на зубах (25 человек); 3-я группа пациенты, прошедшее лечение с использованием коронок из диоксида циркония (ZrO₂) с опорой на зубах (25 чел). Исходя из показателей в динамике IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-4 нами был сделан вывод о том, что меньшее влияние на мукозальный иммунитет слизистых оболочек рта оказывают конструкции, изготовленные из оксидной керамики, в сравнении с коронками, изготовленными из металлокерамики. Обнаружены схожие закономерности изменений уровня IL-1 β , IL-8, IL-4 в слюне и десневой жидкости у пациентов, прошедших стоматологическую реабилитацию, что позволяет использовать только слюну, в целях исключения сложности и специфичности забора десневой жид-

Адрес для переписки:

Первов Роман Юрьевич
ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
690002, Россия, г. Владивосток, пр. Острякова, 2б.
Тел.: 8 (924) 230-68-05.
E-mail: dr.pervov2016@yandex.ru

Address for correspondence:

Roman Yu. Pervov
Pacific State Medical University, Vladivostok,
Russian Federation
2b Ostryakov Ave
Vladivostok
690002 Russian Federation
Phone: +7 (924) 230-68-05.
E-mail: dr.pervov2016@yandex.ru

Образец цитирования:

Р.Ю. Первов, Ю.Ю. Первов, В.Е. Красников,
А.К. Яценко «Изменения уровня цитокинов IL-1 β , IL-4,
IL-8, IL-10 при стоматологическом ортопедическом
несъемном протезировании» // Российский
иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 673-682.
doi: 10.46235/1028-7221-16776-CIT

© Первов Р.Ю. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

R.Yu. Pervov, Yu.Yu. Pervov, V.E. Krasnikov, A.K. Yatsenko
“Changes in the levels of cytokines IL-1 β , IL-4, IL-8 and
IL-10 in dental orthopedic fixed prosthetics”, Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024,
Vol. 27, no. 3, pp. 673-682.
doi: 10.46235/1028-7221-16776-CIT

© Pervov R.Yu. et al., 2024

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16776-CIT

кости. Также изменения показателей цитокинов в слюне и десневой жидкости на разных этапах протезирования отражают уровень реакции мукозального иммунитета рта, что может служить критерием качества проведенного стоматологического лечения.

Ключевые слова: мукозальный иммунитет, цитокины, интерлейкины, стоматологическое протезирование коронками, коронки из металлокерамики, коронки из диоксида циркония

CHANGES IN THE LEVELS OF CYTOKINES IL-1 β , IL-4, IL-8 AND IL-10 IN DENTAL ORTHOPEDIC FIXED PROSTHETICS

Pervov R.Yu.^{a, b}, Pervov Yu.Yu.^a, Krasnikov V.E.^a, Yatsenko A.K.^a

^a Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

^b Dalnerechensk Dental Polyclinic, Dalnerechensk, Primorsky Krai, Russian Federation

Abstract. Despite significant advances in materials science, introduction of new methods and principles of prosthetic treatment into the practice of dentists, complications after prosthetics with fixed structures are encountered. The result of dental prosthetics of patients with defects of hard tissues of teeth depends not only on the chosen construction and materials from which they are made, but is closely connected with the functional activity of the immune system. Cytokines are an important factor of mucosal immunity. The cytokine system represents one of the key components of mucosal immunity. It regulates normal physiological functions, restoration of haemostasis in the interaction of physical, chemical and biological factors on the body and participates in the pathogenesis of allergic, autoimmune, and autoinflammatory processes. The aim of the study is to compare the content of IL-1 β , IL-8, IL-10, and IL-4 in unstimulated saliva and gingival fluid in patients during adaptation to metal-ceramic and oxide ceramic tooth-supported constructions. In the period from 2021-2024, we examined 3 groups of patients aged 46 \pm 2 years: group 1 – comparison group, patients without dental constructions in the oral cavity (25 people); group 2 – patients treated with tooth-supported metal-ceramic (MC) crowns (25 people); and group 3 – patients treated with tooth-supported zirconium dioxide (ZrO₂) crowns (25 people). On the basis of IL-1 β , IL-8, IL-10, and IL-4 we concluded that the mucosal immunity of oral mucous membranes is less affected by the structures made of oxide ceramics compared to the crowns made of metal-ceramics. Similar patterns of changes in the levels of IL-1 β , IL-8, and IL-4 in saliva and gingival fluid in patients who underwent dental rehabilitation were found, which allows us to use only saliva in order to eliminate the complexity and specificity of gingival fluid sampling. Also, changes in cytokine indices in saliva and gingival fluid at different stages of prosthodontics reflect the level of reaction of oral mucosal immunity, which can serve as a criterion of the quality of the performed dental treatment.

Keywords: mucosal immunity, cytokines, interleukins, dental crown prosthetics, metal-ceramic crowns, zirconia crowns

Введение

В настоящее время одними из самых распространенных способов лечения заболеваний твердых тканей зубов и их осложнений является терапевтические и ортопедические методы лечения. К терапевтическим методам лечения относятся эндодонтическое лечение и восстановление культи зуба пломбировочными материалами [12]. К ортопедическим методам лечения относится протезирование несъемными конструкциями: вкладками и коронками [3].

Несмотря на значительные успехи материаловедения, внедрение новых методов и принципов ортопедического лечения в практику врачей-сто-

матологов, встречаются осложнения после протезирования несъемными конструкциями [5]. Результат стоматологического протезирования пациентов с дефектами твердых тканей зубов зависит не только от выбранных конструкции и материалов, из которых они изготовлены, но и тесно связан с функциональной активностью иммунной системы [6].

При протезировании важную роль играет состояние мукозального иммунитета слизистых оболочек рта. Одними из ключевых составляющих иммунитета слизистых оболочек рта являются цитокины. Цитокины представляют собой полипептидные медиаторы межклеточного взаи-

модействия. Они регулируют нормальные физиологические функции, восстановление гемостаза при взаимодействии на организм физических, химических и биологических факторов и участвуют в патогенезе аллергических, аутоиммунных, аутовосполительных процессах. Их выделяют в самостоятельную систему регуляции, существующую наряду с нервной и эндокринными системами поддержания гомеостаза, причем все три системы тесно взаимосвязаны и взаимозависимы [9].

В литературе содержится недостаточно сведений, отражающих состояние мукозального иммунитета слизистой оболочки рта при протезировании различными видами несъемных ортопедических конструкций. Отсутствуют сведения о динамике иммунологических показателей (в десневой жидкости и слюне) в процессе стоматологического протезирования с использованием различных конструкционных материалов. Такие данные могут послужить критерием выбора конструкционного материала протеза, а также критерием оценки качества проведенного лечения.

Цель исследования – сравнить содержание IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-4 в нестимулированной слюне и десневой жидкости у пациентов в процессе адаптации к конструкциям, изготовленным из металлокерамики и оксидной керамики с опорой на зубах.

Материалы и методы

За период 2021–2024 гг. нами обследовано 3 группы пациентов в возрасте 46 \pm 2 года, 1-я группа – группа сравнения, пациенты без стоматологических конструкций (25 человек); 2-я группа – пациенты, проходившие лечение с использованием коронок изготовленных из металлокерамики (МК) с опорой на зубах (25 человек); 3-я группа пациенты, проходившее лечение с использованием коронок изготовленных из диоксида циркония (ZrO₂) с опорой на зубах (25 чел).

Среди обследованных основной группы было 20 мужчин и 30 женщины. Пациенты группы сравнения (1-я группа) были сопоставимы с ними по возрасту и полу.

Получив информированное согласие пациентов на проведение исследования, собирали нестимулированную слюну и десневую жидкость, в области протезируемого зуба, на этапах ортопедического лечения: до ортопедического лечения (группа а), после фиксации провизорной конструкции через 20 дней (группа б), после фиксации постоянной конструкции через 10 дней (группа в) и через 30 дней (группа г). У пациентов группы сравнения забор слюны осуществлялся однократно.

Слюну собирали утром натощак в пробирки для сбора слюны Salivette[®], Германия, давая пациенту пожевать тампон до пропитывания его слюной. Далее пробирки центрифугировали при 1000 g, 2 минуты при температуре 20 °С. Затем содержимое разливалось по пробиркам типа эппендорф и хранилось при температуре минус 23 градуса.

Десневую жидкость собирали стерильными абсорберами № 15, помещая их в десневую борозду до их пропитывания, после чего помещали абсорбер в эппендорф с NaCl 0,9% (физиологический раствор) и в течении 2 минут перемешивали на вортексе. Затем извлекали абсорбер и эппендорф замораживали при температуре минус 23 градуса.

Для определения уровня IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-4 в нестимулированной слюне и десневой жидкости был проведен иммуноферментный анализ с использованием тест-системы фирмы АО «Вектор-Бест», Россия.

Полученные результаты исследований были подвергнуты статистической обработке на персональном компьютере под управлением операционной системы Windows 11 с использованием статистической программы IBM[®] SPSS[®] Statistics, с вычислением медианы, 25% и 75% квартилей, n – количество наблюдений в выборке. О достоверности различий показателей в сравниваемых группах судили по критерию Манна–Уитни. Различия между сравниваемыми группами считали достоверными при p \leq 0,05.

Результаты и обсуждение

IL-1 β относится к провоспалительным цитокинам, он участвует в процессах острого и хронического воспаления как местного, так и системного характера, также данный цитокин индуцирует продукцию матриксных металлопротеиназ, тормозит синтез их ингибиторов, повышает продукцию RANKL и функциональную активность остеокластов. Также установлено, что тормозит миграцию остеобластов [8, 10].

В десневой жидкости второй и третьей групп обследованных пациентов после временного протезирования было зафиксировано повышение уровня IL-1 β . По нашему мнению, это связано со значительно меньшей прецизионностью краевого прилегания временных конструкций к культе восстанавливаемых зубов по сравнению с прецизионностью постоянных конструкций. Имели значение и особенности материалов, используемых для изготовления провизорных конструкций, на поверхности которых в процессе их ношения происходила контаминация микро-

ТАБЛИЦА 1. ДИНАМИКА УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ В СЛЮНЕ ПАЦИЕНТОВ СО СТОМАТОЛОГИЧЕСКИМИ ОРТОПЕДИЧЕСКИМИ КОНСТРУКЦИЯМИ, n (ЧЕЛОВЕК)

TABLE 1. DYNAMICS OF CYTOKINE LEVELS IN SALIVA OF PATIENTS WITH DENTAL PROSTHETIC CONSTRUCTIONS, n (PEOPLE)

Показатели Indicators	Группы пациентов Patient groups						Контрольная группа Control group	
	Металлокерамические протезы Metal-ceramic prostheses		Протезы из диоксида циркония Zirconium dioxide prostheses				Без ортопедических конструкций Without orthopaedic structures	
Сроки Terms	До протезирования Before prostheses n = 25	После установки постоянных конструкций (10 дней) After installation of permanent structures (10 days) n = 25	После установки постоянных конструкций (30 дней) After installation of permanent structures (30 days) n = 25	До протезирования Before prostheses n = 25	После установки постоянных конструкций (20 дней) After installation of permanent structures (20 days) n = 25	После установки постоянных конструкций (10 дней) After installation of permanent structures (10 days) n = 25	После установки постоянных конструкций (30 дней) After installation of permanent structures (30 days) n = 25	Без ортопедических конструкций Without orthopaedic structures n = 25
Группа Group	2a	2b	2r	3a	3b	3v	3r	1
IL-1β (пг/мл) IL-1β (pg/mL)	45,42 (40,78-51,45) p _{1-2a} = 0,03	50,11 (28,31-59,23) p _{1-2b} = 0,048	56,09 (32,60-66,45) p _{1-2r} = 0,025	48,28 (29,80-82,88) p _{1-3a} = 0,05	44,38 (28,3900-66,5325)	42,68 (36,86-53,76) p _{1-3b} = 0,05	32,80 (21,12-57,33)	31,39 (20,25-43,89)
IL-8 (пг/мл) IL-8 (pg/mL)	11,10 (7,74-39,36) p _{1-2a} = 0,04	16,45 (9,65-132,60) p _{1-2b} = 0,047	8,85 (3,88-29,55)	12,50 (6,80-43,70) p _{1-3a} = 0,056	19,15 (9,25-71,23) p _{1-3b} = 0,036	15,65 (7,95-29,08) p _{1-3b} = 0,042	7,55 (4,33-10,95) p _{3r-3r} = 0,046	7,67 (4,60-11,70)
IL-10 (пг/мл) IL-10 (pg/mL)	3,12 (1,89-12,92)	3,29 (2,45-5,71) p _{1-2b} = 0,041	5,66 (1,91-10,89) p _{1-2r} = 0,05	3,15 (1,41-7,26)	3,65 (1,82-7,74)	2,60 (2,16-4,77)	4,57 (1,12-33,19) p _{1-3r} = 0,046	2,24 (0,78-3,71)
IL-4 (пг/мл) IL-4 (pg/mL)	6,58 (3,80-25,00)	8,52 (4,65-12,30) p _{1-2b} = 0,04	21,32 (7,49-34,66) p _{1-2r} = 0,002 p _{2a-2r} = 0,04	5,81 (4,06-9,06)	6,44 (4,5-13,3)	7,53 (5,17-10,09) p _{1-3b} = 0,05	12,62 (9,98-24,50) p _{1-3r} = 0,001 p _{3a-3r} = 0,017 p _{3b-3r} = 0,011	5,85 (3,76-7,28)

ТАБЛИЦА 2. ДИНАМИКА УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ В ДЕСНЕВОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ СО СТОМАТОЛОГИЧЕСКИМИ ОРТОПЕДИЧЕСКИМИ КОНСТРУКЦИЯМИ, n (ЧЕЛОВЕК)

TABLE 2. DYNAMICS OF CYTOKINE LEVELS IN GINGIVAL FLUID OF PATIENTS WITH DENTAL PROSTHETIC CONSTRUCTIONS, n (PEOPLE)

Показатели Indicators	Группы пациентов Patient groups								Контрольная группа Control group
	Металлокерамические протезы Metal-ceramic prosthodontics				Протезы из диоксида циркония Zirconium dioxide prosthodontics				
Сроки Terms	2a	2б	2в	2г	3а	3б	3в	3г	1
	До протезирования Before prosthodontics n = 25	После установки протезов (20 дней) After installation of prosthodontics (20 days) n = 25	После установки протезов (10 дней) After installation of permanent prosthodontics (10 days) n = 25	После установки протезов (30 дней) After installation of permanent prosthodontics (30 days) n = 25	До протезирования Before prosthodontics n = 25	После установки протезов (20 дней) After installation of prosthodontics (20 days) n = 25	После установки протезов (10 дней) After installation of permanent prosthodontics (10 days) n = 25	После установки протезов (30 дней) After installation of permanent prosthodontics (30 days) n = 25	Без ортопедических конструкций Without orthopaedic structures n = 25
Группа Group	2a	2б	2в	2г	3а	3б	3в	3г	1
IL-1β (пг/мл) IL-1β (pg/mL)	35,47 (6,07-203,30)	57,76 (16,82-148,90) p _{1-2б} = 0,034	50,3 (21,02-102,80) p _{1-2в} = 0,003	39,2 (18,10-76,44) p _{1-2г} = 0,03	44,80 (21,74-164,60) p _{1-3а} = 0,021	67,94 (17,16-121,60) p _{1-3б} = 0,024	49,10 (14,33-120,11) p _{1-3в} = 0,05	20,11 (6,89-65,62) p _{3а-3г} = 0,05 p _{3б-3г} = 0,028	27,00 (18,96-34,40)
IL-8 (пг/мл) IL-8 (pg/mL)	19,30 (12,7-43,9)	40,42 (13,8-111,45) p _{1-2б} = 0,046 p _{2а-2б} = 0,05	30,8 (18,60-89,52) p _{1-2в} = 0,003	22,4 (19,51-22,40) p _{1-2г} = 0,004	27,45 (11,10-63,27)	40,83 (10,65-122,96) p _{1-3б} = 0,042	33,62 (19,7-51,41) p _{1-3в} = 0,001	12,6 (11,40-22,85) p _{3б-3г} = 0,003	15,49 (11,42-18,09)
IL-10 (пг/мл) IL-10 (pg/mL)	0,28 (0,03-17,47)	12,05 (1,85-17,35) p _{1-2б} = 0,002	0,65 (0,00-6,85) p _{2в-2б} = 0,007	0,20 (0,00-0,76) p _{2г-2г} = 0,0001	0,60 (0,00-17,05)	16,95 (0,83-30,80) p _{1-3б} = 0,004 p _{3а-3б} = 0,038	0,36 (0,05-6,10) p _{3в-3в} = 0,004	0,01 (0,00-3,10) p _{2г-2г} = 0,002	0,10 (0,015-0,46)
IL-4 (пг/мл) IL-4 (pg/mL)	7,45 (5,10-16,00)	9,15 (1,88-19,05)	16,10 (3,83-21,40)	19,20 (8,45-33,08) p _{1-2г} = 0,022	9,00 (4,00-21,50)	11,90 (3,95-17,70)	6,20 (3,60-12,65)	16,80 (5,50-44,43)	8,10 (4,10-9,40)

ТАБЛИЦА 3. КОРРЕЛЯЦИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЦИТОКИНОВ МЕЖДУ ПОКАЗАТЕЛЯМИ В СЛЮНЕ И ДЕСНЕВОЙ ЖИДКОСТИ В ДИНАМИКЕ У ПАЦИЕНТОВ, ПРОШЕДШИХ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ

TABLE 3. CORRELATION OF CYTOKINE INDICES BETWEEN INDICES IN SALIVA AND GINGIVAL FLUID OVER TIME IN PATIENTS WHO HAVE UNDERGONE DENTAL TREATMENT

Prosthesis	IL-1 β	IL-4	IL-8	IL-10
МК протезы MC prosthesis	0,37*	0,84*	0,96*	0,20
Протезы из ZrO ₂ ZrO ₂ prosthesis	0,79*	0,79*	0,99*	0,24

Примечание. * – значимая положительная корреляция.

Note. *, significant positive correlation.

организмов и остатков пищи. Все это способствовало активации реакции воспаления. У пациентов с металлокерамическими протезами (группа 2в) и протезами, изготовленными из ZrO₂ (группа 3в) на 10-й день после фиксации конструкций, показатели IL-1 β незначительно превышали аналогичные показатели перед протезированием. Через 30 дней после фиксации в группах 2г и 3г показатели IL-1 β имели тенденцию к снижению. У пациентов с протезами, изготовленными из оксидной керамики, показатели сравнялись с референсными значениями, в отличие от пациентов использующих протезы, изготовленные из металлокерамики. Данные, полученные в нашем исследовании, согласуются с данными исследований А. Dimofte и соавт. (2021) и Mario Alberto Alarc n-S nchez и соавт. (2023) [13, 14].

Н.Н. Бреславец (2013) отмечал, что при протезировании металлопластмассовыми коронками наблюдалось увеличение IL-1 β в десневой жидкости через 7 дней после фиксации конструкций, и снижение его уровня через 6 месяцев и 2 года. Повышение показателя IL-1 β через 7 дней автор объясняет угнетением местной иммунологической резистентности с явлениями воспаления, вследствие ответной реакции маргинального пародонта на химический раздражитель, которым является цемент для фиксации [1]. Мы согласны, что цемент может являться химическим раздражителем для пародонта. Однако, по логике, через 6 месяцев и 2 года воспалительные явления должны оставаться, так как цемент при адекватном протезировании не меняет своего химического и количественного состава. Даже при условии изменения с периодом времени химического и количественного состава цемента будет иметь место нарушение прилегания коронки к маргинальной десне. Это в свою очередь будет вызывать травму и воспаление, что, соответственно, отразится в уровне IL-1 β в десневой жидкости. По нашему мнению, необходимо учитывать такие факторы,

как особенности конструкционных материалов протезов и особенности технологии изготовления конструкций. Полимерное пластмассовое покрытие и способ изготовления каркасов металлопластмассовых коронок методом литья имеют целый ряд недостатков, способных оказывать влияние на исследуемые автором показатели.

В процессе исследования выявлено, что по истечению 30 дней пользования постоянными конструкциями, наиболее высокий показатель IL-1 β в слюне и десневой жидкости выявлен у пациентов с протезами, изготовленными из металлокерамики. Это может объясняться менее точной прецизионностью протезов, так как каркасы металлокерамических конструкций изготавливаются методом литья, и включают в себя вторичную термическую обработку, нанесение керамики у края уступа и другие технологические этапы. Коронки, изготовленных из ZrO₂, фрезеруются в автоматическом режиме с использованием компьютерных программ, что существенно нивелирует погрешности, имеющие место при изготовлении металлокерамических конструкций. Нельзя исключить и использование различных цементов, на которые фиксируются протезы, что также может вызывать иммунную реакцию у пациентов.

IL-8, как и IL-1 β , относится к провоспалительным цитокинам, вызывает миграцию в зону воспаления различных типов клеток, преимущественно нейтрофилов. IL-8 воздействует на эндотелий сосудов, усиливая адгезию нейтрофилов к его поверхности. Является одним из важнейших цитокинов, участвующих в воспалительных реакциях [10].

В слюне после установки провизорной (временной) конструкции наблюдается повышение уровня IL-8 в 2 раза по сравнению с контрольной группой. Через 30 дней после фиксации коронок, изготовленных из металлокерамики, и коронок, изготовленных из ZrO₂, уровень IL-8 снижается

до референсных показателей. Данные, полученные в нашем исследовании согласовываются с данными исследований Д.В. Михальченко и соавт. (2015), которые исследовали уровень ИЛ-8 до протезирования, на 3-и и 7-е сутки после установки МК протезов, и не выявили достоверной разницы [6]. Наши исследования схожи по закономерностям с исследованием А. Dimofte и соавт. (2021), в которых на протяжении 3 месяцев после установки постоянных коронок происходило снижение показателей ИЛ-8 [14]. Есть и другое исследование, в котором показатель ИЛ-8 снижается на 7-е сутки после протезирования МК протезами по сравнению с уровнем до протезирования [2].

В десневой жидкости у пациентов с конструкциями, изготовленными из МК, по истечении 30 дней после постоянного протезирования уровень ИЛ-8 повышался в 1,5 раза по сравнению с группой контроля, в отличие от пациентов с коронками, изготовленных из ZrO_2 , у которых, уровень ИЛ-8 стал равен контрольной группе. Данные, полученные в нашем исследовании, согласуются с данными исследований Д.В. Михальченко и соавт. (2015) [6].

ИЛ-10 относится к противовоспалительным цитокинам, обладает биологической активностью направленной на подавление воспаления и иммунного ответа: осуществляет подавление функций антиген-представляющих клеток и продукции провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, TNF) макрофагами и дендритными клетками, а также иммунорегуляторных цитокинов клонами Т-лимфоцитов-хелперов. Подавляет синтез цитокинов Th1: ИЛ-2, $IFN\gamma$; Th2: ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13 и Th17 – ИЛ-17E. К тому же показано, что помимо иммуносупрессивных, он обладает иммунорегуляторными свойствами, в частности способен усиливать активность В-лимфоцитов и NK-клеток [10].

В десневой жидкости было зафиксировано повышение уровня ИЛ-10 после временного протезирования, и стабилизацию показателей после постоянного протезирования, в отличие от слюны, где уровень ИЛ-10 после постоянного протезирования повысился, что может говорить о местном прекращении иммунного ответа в области протезируемого зуба на механическую травму после фиксации коронки, удалении излишек постоянного цемента, и нарастании иммунных реакций на системном уровне на конструкционные материалы протезов. Данные нашего исследования не согласовываются с данными О.А. Раджабова и соавт. (2023). Авторы определили повышенное содержание ИЛ-10 у пациентов до протезирования и его снижение после, объясняя

это тем, что у пациентов нуждающихся в ортопедическом лечении снижен местный иммунитет полости рта [7], с чем можно согласиться, имея более подробные данные о состоянии полости рта перед протезированием: индексы гигиены, пародонтальные индексы, показатели которых влияют на результат.

ИЛ-4 является плейотропным про- и противовоспалительным, проаллергическим цитокином, обладает способностью активировать пролиферацию и функциональную активность В-лимфоцитов. Важнейшей функцией ИЛ-4 является стимуляция дифференцировки активированных антигеном наивных $CD4^+$ Т-лимфоцитов-хелперов в направлении Th2. ИЛ-4 обладает способностью подавлять активацию Th1, синтез TNF и $IFN\gamma$ и тем самым снижать их иммуностимулирующее действие, за счет чего ряд авторов относят его к противовоспалительным цитокинам [10, 14].

В слюне пациентов с металлокерамическими конструкциями и конструкциями, изготовленными из диоксида циркония с опорой на зубах, через 10 дней пользования протезами уровень ИЛ-4 возрастал в 1,5 и 1,3 раза соответственно, по сравнению с группой контроля. Через 30 дней наблюдалось увеличение этого показателя в 3,6 и 2,2 раза соответственно. Это свидетельствует об активации клеток иммунной системы в ответ на воздействие конструкционных материалов протеза и цемента, на который были установлены ортопедические конструкции, в более поздние сроки. Л.В. Дубова и соавт. (2015) доказали, что по истечению 5 лет пользования металлокерамическими протезами в тканях пародонта начинается воспалительный процесс, который сопровождается повышением ИЛ-4 [4]. Однако И.Р. Шафеев и соавт. (2016) выявили снижение ИЛ-4 у пациентов с установленными ортопедическими конструкциями. Однако у пациентов, принимавших участие в обследовании, были диагностированы воспалительные заболевания пародонта [11], что повлияло на результат исследования.

В десневой жидкости изменения уровня цитокина ИЛ-4 схожи с изменениями в слюне. Нами зарегистрировано, что после установки постоянных конструкций, изготовленных из металлокерамики уровень ИЛ-4 повышался через 10 дней в 2 раза и через 30 дней в 2,3 раза соответственно. После установки конструкций, изготовленных из диоксида циркония, уровень ИЛ-4 по истечении 10 дней не отличался от референсных величин, а после 30 дней повышался в 2 раза, что может говорить о реакции мукозального иммунитета на установку протеза и требует дальнейшего наблюдения.

Выводы

Показатели цитокинов в слюне и десневой жидкости на разных этапах протезирования могут служить критерием качества проведенного стоматологического лечения.

Более биосовместимыми протезами оказались конструкции, изготовленные из ZrO₂, что может служить, например, критерием выбора у пациен-

тов с непереносимостью стоматологических конструкционных материалов.

Обнаружены схожие закономерности изменений уровня IL-1β, IL-4, IL-8 в слюне и десневой жидкости у пациентов, прошедших стоматологическую реабилитацию, что позволяет использовать только слюну в целях исключения сложности и специфичности забора десневой жидкости.

Список литературы / References

1. Бреславец Н.Н. Оценка качества ортопедического лечения металлопластмассовыми несъемными цельнолитыми конструкциями в динамике иммунологических показателей цитокинов десневой жидкости // Новые технологии в стоматологии: XVIII Международная конференция челюстно-лицевых хирургов, 2013. С. 38. [Breslavets N.N. Evaluation of the quality of orthopedic treatment with metal-plastic fixed all-steel constructions in the dynamics of immunologic indicators of cytokines in gingival fluid. *New Technologies in Dentistry: XVIII International Conference of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 2013, p. 38. (In Russ.)]
2. Виравян В.А., Яковлев А.Т., Кунин В.А., Герез М.В., Герез В.С., Донов А.Н. Применение бальнеологического средства «Эльтон» в комплексе адаптационных мероприятий при несъемным протезированием у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями // Прикладные информационные аспекты медицины, 2022. Т. 25, № 3. С. 33-37. [Virabyan V.A., Yakovlev A.T., Kunin V.A., Gerez M.V., Gerez V.S., Donovan A.N. Application of balneological remedy "Elton" in the complex of adaptation measures in fixed prosthetics in patients with cardiovascular diseases. *Prikladnyye informatsionnye aspekty meditsiny = Applied Information Aspects of Medicine*, 2022, Vol. 25, no.3, pp. 33-37. (In Russ.)]
3. Гажва С.И., Тетерин А.И., Просвиркина Ж.С., Янышева К.А. Способы ортопедического лечения пациентов с разрушенными клиническими коронками опорных зубов. обзор литературы // Здоровье и образование в XXI веке, 2021. № 10. С. 56-63. [Gazhva S.I., Teterin A.I., Prosvirkina J.S., Yanysheva K.A. Methods of orthopedic treatment of patients with destroyed clinical crowns of supporting teeth. literature review. *Zdorovye i obrazovanie v XXI veke = Health and Education in the XXI century*, 2021, no.10, pp. 56-63. (In Russ.)]
4. Дубова Л.В., Дзаурова М.А., Киткина Т.Б. Сравнительная оценка влияния сплавов металлов, используемых для изготовления каркасов несъемных металлокерамических зубных протезов, на ткани полости рта в отдаленные сроки // Cathedra-Кафедра. Стоматологическое образование, 2015. № 54. С. 14-17. [Dubova L.V., Dzaurova M.A., Kitkina T.B. Comparative assessment of the effect of metal alloys used for fabrication of frameworks of fixed metal-ceramic dental prostheses on oral tissues in the long term. *Cathedra-Kafedra. Stomatologicheskoe obrazovanie = Cathedra-Cathedra. Dental Education*, 2015, no.54, pp. 14-17. (In Russ.)]
5. Михайлова Е.С. Современные методы лечения пациентов с непереносимостью стоматологических конструкционных материалов // Медицинский альянс, 2020. Т. 8, № 1. С. 80-89. [Mikhaylova E.S. Modern methods of treatment of patients with intolerance to dental construction materials. *Meditsinskiy alyans = Medical Alliance*, 2020, Vol. 8, no. 1, pp. 80-89. (In Russ.)]
6. Михальченко Д.В., Гумилевский Б.Ю., Наумова В.Н., Виравян В.А., Жидовинов А.В., Головченко С.Г. Динамика иммунологических показателей в процессе адаптации к несъемным ортопедическим конструкциям // Современные проблемы науки и образования, 2015. № 4. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=21099>. [Mikhaylova D.V., Gumilevsky B.Yu., Naumova V.N., Virabyan V.A., Zhidovinov A.V., Golovchenko S.G. Dynamics of immunological parameters in the process of adaptation to fixed orthopedic constructions. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*, 2015, no. 4. [Electronic resource]. Access mode: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=21099>. (In Russ.)]
7. Раджабов О.А., Бекмурадова Г. Параметры гуморального иммунитета полости рта у пациентов до начала ортопедического лечения // Центральноеазиатский журнал медицинских и естественных наук, 2023. Т. 4, № 2. С. 28-32. [Rajabov O.A., Bekmuradova G. Parameters of humoral immunity of the oral cavity in patients before orthopedic treatment. *Tsentrallynoaziatskiy zhurnal meditsinskikh i estestvennykh nauk = Central Asian Journal of Medical and Natural Sciences*, 2023, Vol. 4, no. 2, pp. 28-32. (In Russ.)]
8. Салимов О. Способ прогнозирования осложнений при дентальной имплантации у больных с соматическими заболеваниями // Журнал стоматологии и краниофациальных исследований, 2022. Т. 1, № 2. С. 16-22. [Salimov O. Method of prediction of complications during dental implantation in patients with somatic diseases. *Zhurnal stomatologii i kraniofatsialnykh issledovaniy = Journal of Dentistry and Craniofacial Research*, 2022, Vol. 1, no. 2, pp. 16-22. (In Russ.)]

9. Симбирцев А.С. Иммунофармакологические аспекты системы цитокинов // Бюллетень сибирской медицины, 2019. № 1. С. 84-95. [Simbirtsev A.S. Immunopharmacological aspects of the cytokine system. *Byulleten sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine*, 2019, no. 1, pp. 84-95. (In Russ.)]
10. Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека. СПб.: Фолиант, 2018. 512 с. [Simbirtsev A.S. Cytokines in the pathogenesis and treatment of human diseases]. St. Petersburg: Foliant, 2018. 512 p.
11. Шафеев И.Р., Булгакова А.И., Валеев И.В., Зубаирова Г.Ш. Клинико-иммунологическая оценка состояния полости рта у пациентов с несъемными эстетическими ортопедическими конструкциями и воспалительными заболеваниями пародонта // Стоматология для всех, 2016. № 2. С. 22-24. [Shafeev I.R., Bulgakova A.I., Valeev I.V., Zubairova G.Sh. Clinical and immunologic assessment of the oral cavity in patients with fixed aesthetic orthopedic constructions and inflammatory periodontal diseases. *Stomatologiya dlya vsekh = Stomatology for All*, 2016, no. 2, pp. 22-24. (In Russ.)]
12. Янушевич О.О., Бойков М.И., Волков Е.А., Кузьмина Э.М., Чиликин В.Н., Бычкова М.Н., Кочержинский В.В., Позднякова Т.И., Пустовойт Е.В., Зорян А.В. Терапевтическая стоматология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2022. 208 с. [Yanushevich O.O., Boykov M.I., Volkov E.A., Kuzmina E.M., Chilikin V.N., Bychkova M.N., Kocherzhinsky V.V., Pozdnyakova T.I., Pustovoit E.V., Zoryan A.V. Therapeutic Stomatology]. Moscow: GEOTAR-Media, 2022. 208 p.
13. Alarcón-Sánchez M.A., Heboyan A., Vicentis de Oliveira Fernandes G., Castro-Alarcón N., Romero-Castro N.-S. Potential impact of prosthetic biomaterials on the periodontium: a comprehensive review. *J. Molecules*, 2023, Vol. 28, no. 3, 1075. doi: 10.3390/molecules28031075.
14. Dimofte A., Dragomir L.-P., Popescu M.-R., Popescu D.-M., Gheorghe D.-N., Martu M.-A., Surlin P. Aspects of the relationship between fixed dental prostheses and periodontal tissue. *Rom. J. Med. Dent. Educ.*, 2021, Vol. 10, no. 1, pp. 25-32.

Авторы:

Первов Р.Ю. — ассистент института стоматологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток; врач — стоматолог-ортопед ГБУЗ «Дальнереченская стоматологическая поликлиника», г. Дальнереченск, Приморский край, Россия

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

Authors:

Pervov R. Yu., Assistant, Institute of Stomatology, Pacific State Medical University, Vladivostok; Orthopedic Dentist, Dalnerechensk Dental Polyclinic, Dalnerechensk, Primorsky Krai, Russian Federation

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

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

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

Яценко А.К. — к.м.н., доцент института стоматологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Yatsenko A.K., PhD (Medicine), Associate Professor, Institute of Stomatology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Поступила 30.03.2024
Отправлена на доработку 06.04.2024
Принята к печати 18.04.2024

Received 30.03.2024
Revision received 06.04.2024
Accepted 18.04.2024

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА (С-159)Т CD14 У РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ COVID-19

**Яцков И.А., Белоглазов В.А., Агеева Е.С., Рымаренко Н.В.,
Жукова А.А., Аблаева Р.Н.**

Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Резюме. Кластер дифференцировки 14 (CD14) является паттерн-распознающим рецептором для липополисахарида грамотрицательной флоры и имеет тесную взаимосвязь с толл-подобным рецептором 4-го типа (TLR4). Взаимодействие между CD14 и TLR4 приводит к синтезу таких цитокинов, как интерлейкин-1, интерлейкин-6 и фактор некроза опухоли- α . К тому же рецептор TLR4, по мнению ряда авторов, связан с процессом проникновения вируса новой коронавирусной инфекции в клетку, дополнительно стимулируя экспрессию основного «ключа» вируса – молекулы ангиотензин превращающего фермента 2 и подавляя апоптоз в инфицированных клетках. К сожалению, работы по изучению полиморфизма (159С) Т-гена CD14 при COVID-19 представлены лишь единичными публикациями, описывающими наблюдения только в западноевропейском регионе. В связи с этим, целью нашего исследования было изучение ассоциации между однонуклеотидным полиморфизмом (ОНП) гена кластера дифференцировки 14 (CD14) – (159С) Т (rs2569190) и восприимчивостью к новой коронавирусной инфекции в популяции Республики Крым. В исследование было включено 158 пациентов (87 женщин (55%) и 71 (45%) мужчина, средний возраст $45,6 \pm 6,14$ лет), перенесших COVID-19, проходивших реабилитацию в постковидном периоде в пульмонологическом отделении ГБУЗ РК «АНИИ им. И.М. Сеченова». Верификация перенесенной инфекции COVID-19 была основана на анамнестических данных и данных, проведенных на момент заболевания исследований (ПЦР). Контрольная группа составила 85 здоровых респондентов, по данным анамнеза не перенесших новую коронавирусную инфекцию. Для анализа полиморфизма (С-159)Т гена CD14 использовали аллель-специфическую ПЦР с электрофоретической детекцией в 3% агарозном геле (НПФ «Литех», Россия). Для сравнения частот комбинаций аллелей использовали критерий χ^2 и отношение шансов (95% ДИ). Распределение мутаций CD14 соответствовало равновесию Харди–Вайнберга ($p > 0,05$). Результаты исследования показали, что распределение полиморфных вариантов генотипов гена CD14 достоверно не отличалось во всех исследуемых группах. Доминирующим генотипом был гетерозиготный генотип СТ полиморфизма (С-159)Т гена CD14. Анализ показал, что наличие ОНП СТ и ТТ не было ассоциировано с риском развития новой коронавирусной инфекции ($p > 0,05$).

Адрес для переписки:

*Агеева Елизавета Сергеевна
Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский
институт имени С.И. Георгиевского
295051, Россия, Республика Крым,
г. Симферополь, бул. Ленина, 5/7.
Тел.: 8 (983) 257-83-49.
E-mail: ageevaeliz@rambler.ru*

Address for correspondence:

*Elizaveta S. Ageeva
Order of Labor Red Banner S. Georgievsky
Medical Institute
5/7 Lenin Blvd
Simferopol, Republic of Crimea
295051 Russian Federation
Phone: +7 (983) 257-83-49.
E-mail: ageevaeliz@rambler.ru*

Образец цитирования:

*И.А. Яцков, В.А. Белоглазов, Е.С. Агеева,
Н.В. Рымаренко, А.А. Жукова, Р.Н. Аблаева
«Полиморфизм гена (С-159)Т CD14 у реконвалесцентов
COVID-19» // Российский иммунологический журнал,
2024. Т. 27, № 3. С. 683-688.
doi: 10.46235/1028-7221-16718-CGP*

*© Яцков И.А. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0*

For citation:

*I.A. Yatskov, V.A. Beloglazov, E.S. Ageeva, N.V. Rymarenko,
A.A. Zhukova, R.N. Ablayeva "CD14 gene polymorphism
in COVID-19 convalescents: analysis of (C-159)T", Russian
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 683-688.
doi: 10.46235/1028-7221-16718-CGP*

*© Yatskov I.A. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License*

DOI: 10.46235/1028-7221-16718-CGP

ОНП (С-159)Т гена CD14 не ассоциирован с более высоким риском заражения COVID-19. Распределения встречаемости вариантов ОНП в группе переболевших лиц достоверно не отличалось от такового в группе контроля ($p > 0,05$).

Ключевые слова: полиморфизм, новая коронавирусная инфекция, (С-159)Т, CD14, SARS-CoV-2, TLR4, однонуклеотидный полиморфизм

CD14 GENE POLYMORPHISM IN COVID-19 CONVALESCENTS: ANALYSIS OF (C-159)T

Yatskov I.A., Beloglazov V.A., Ageeva E.S., Rymarenko N.V., Zhukova A.A., Ablayeva R.N.

Order of Labor Red Banner S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Abstract. Cluster of differentiation 14 (CD14) is a pattern recognition receptor for lipopolysaccharide of gram-negative flora and has a close relationship with toll-like receptor 4 (TLR4). The interaction between CD14 and TLR 4 leads to the synthesis of cytokines such as interleukin-1, interleukin-6 and tumor necrosis factor- α . The TLR4 receptor is associated with the penetration of the new coronavirus infection virus into the cell, additionally stimulating the expression of the angiotensin converting enzyme 2 molecule and suppressing apoptosis in infected cells. Work on the study of the (159C)T polymorphism of the CD14 gene in COVID-19 is represented by only a few publications describing observations only in the Western European region. The purpose of our study was to study the association between single nucleotide polymorphism (SNP) of the CD14 gene – (159C)T (rs2569190) and susceptibility to a new coronavirus infection in the population of the Republic of Crimea. The study included 158 patients (87 women (55%) and 71 (45%) men, average age 45.6 ± 6.14 years) who had COVID-19. Verification of previous COVID-19 was based on anamnestic data and data from studies performed at the time of illness (PCR). The control group consisted of 85 respondents who had not suffered a new coronavirus infection. To analyze the (C-159)T polymorphism of the CD14 gene, allele-specific PCR with electrophoretic detection in a 3% agarose gel (NPF "Litekh", Russia) was used. To compare the frequencies of allele combinations, the χ^2 test and odds ratio (95% CI) were used. The distribution of CD14 mutations followed Hardy-Weinberg equilibrium ($p > 0.05$). The results of the study showed that the distribution of CD14 gene genotypes did not differ significantly in all study groups. The dominant genotype was the heterozygous genotype CT of the (C-159)T polymorphism of the CD14 gene. The analysis showed that the presence of CT and TT SNPs was not associated with the risk of developing a new coronavirus infection ($p > 0.05$). Conclusions. The CD14 SNP (C-159)T is not associated with a higher risk of COVID-19 infection. The distribution of occurrence of SNP variants in the group of recovered individuals did not differ significantly from that in the control group ($p > 0.05$).

Keywords: polymorphism, new coronavirus infection, (C-159)T, CD14, SARS-CoV-2, TLR4, single nucleotide polymorphism

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-15-20021, <https://rscf.ru/project/23-15-20021/>.

Введение

Кластер дифференцировки 14 (CD14) в основном экспрессируется на поверхности клеточных мембран клеток моноцитарно-макрофагального ряда [3] и является компонентом врожденной иммунной системы, распознающим ряд антигенных паттернов, а в частности липополи-

сахарид (ЛПС, эндотоксин) грамотрицательной флоры [6, 15]. CD14, взаимодействуя с толл-подобным рецептором 4-го типа (TLR4), запускает провоспалительный каскад, приводя к синтезу таких цитокинов, как интерлейкин-1 (IL-1), IL-6, фактор некроза опухоли- α (TNF α) [13]. К тому же рецептор TLR4 по мнению ряда авторов связан с процессом проникновения вируса новой коронавирусной инфекции (НКИ) в клетку, дополнительно стимулируя экспрессию основного «ключа» вируса – молекулы ангиотензин превра-

шающего фермента 2 и подавляя апоптоз в инфицированных клетках [4, 12].

Ген CD14 человека расположен на хромосоме 5q31.1 [13]. Одним из наиболее изученных однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) гена CD14 является (159С)Т (rs2569190), включающий замену аллеля С на Т, что приводит к повышению транскрипционной активности и экспрессии молекулы CD14 [2].

В литературе имеются данные об особенностях полиморфизма (159С)Т гена CD14 при инфекционной патологии различного генеза, бруцеллезе [8], хламидийной инфекции [11], туберкулезе [3], инфекции *Helicobacter pylori* [5], вирусных гепатитах В и С [7], вирусе тяжелого острого респираторного синдрома [14], а также вирусе гриппа H1N1, где С-аллель полиморфизма CD14 (С-159)Т была ассоциирована с тяжелым течением и развитием жизнеугрожающих осложнений, а выявленный в двух случаях гаплотип (CD14 (159СС); FCGR2A (166Arg/Arg)), привел к фульминантному течению заболевания и летальному исходу [1].

К сожалению, работы по изучению полиморфизма (159С)Т гена CD14 при НКИ представлены лишь единичными публикациями, описывающими наблюдения только в западноевропейском регионе [10]. В связи с этим **целью нашего исследования** было изучение ассоциации между полиморфизмом гена (159С)Т (rs2569190) CD14 и восприимчивостью к новой коронавирусной инфекции (НКИ) в популяции Республики Крым.

Материалы и методы

В исследование было включено 158 пациентов (87 женщин (55%) и 71 (45%) мужчина, средний возраст $45,6 \pm 6,14$ лет), перенесших НКИ, проходивших реабилитацию в постковидном периоде в пульмонологическом отделении ГБУЗ РК «АНИИ им. И.М. Сеченова».

Критериями включения в исследование были: предшествующая новая коронавирусная инфекция. Подписанное информированное согласие на включение в исследование. Критериями исключения были: наличие осложненных форм вирусной пневмонии при наличии тяжелых функциональных легочных и внелегочных нарушений, возраст старше 75 лет.

Верификация перенесенной НКИ была основана на анамнестических данных и данных, проведенных на момент заболевания исследований (ПЦР). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Контрольную группу составили 85 относительно здоровых респондентов, не перенесших НКИ в анамнезе, 46 женщин (54%) и 39 муж-

чин (45%), средний возраст которых составил $42,2 \pm 4,32$ года.

Исследование проводилось в соответствии с правилами Хельсинкской декларации 1975 года, пересмотренной в 2013 году и одобренной Этическим комитетом ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского». Протокол комитета ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» (Симферополь) от 23 июня 2023 года (№ 7).

Для анализа полиморфизма CD14 (С-159)Т использовалась аллель-специфическая полимеразная цепная реакция с электрофоретической детекцией. ДНК выделяли из цельной крови пациентов с новой коронавирусной инфекцией и здоровых добровольцев с помощью набора для выделения ДНК-экспресс из крови в соответствии с предоставленной производителем инструкцией. Аллель-специфическую ПЦР проводили с использованием набора «CD14 (С-159)Т» (НПФ «Литех», Россия) в соответствии с инструкциями производителя. Детекция продуктов амплификации проводилась методом горизонтального электрофореза в 3%-ном агарозном геле.

Исследование проводилось в центре коллективного пользования научного оборудования «Молекулярная биология» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского».

Статистический анализ полученных данных производился с использованием пакета программ IBM SPSS Statistics 27. Ожидаемую частоту аллелей рассчитывали на основе закона Харди–Вайнберга. Для сравнения частот сочетаний аллелей использовали тест χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность. Ассоциация полиморфизмов с новой коронавирусной инфекцией анализировалась путем определения отношения шансов (ОШ) и 95%-ного доверительного интервала (95% ДИ), $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Распределение мутаций CD14 соответствовало равновесию Харди–Вайнберга ($p > 0,05$). Распределение полиморфных вариантов генотипов гена CD14 достоверно не отличалось во всех исследуемых группах. Доминирующим генотипом был гетерозиготный генотип СТ полиморфизма (С-159)Т гена CD14 (табл. 1, рис. 1).

Результаты нашего исследования показали, что наличие ОНП СТ и ТТ не было ассоциировано с риском развития новой коронавирусной инфекции ($p > 0,05$).

Abhijit Pati и соавт. ранее представили публикацию, в которой был проведен анализ работ по влиянию полиморфизма гена CD14 (С-159)Т, на тяжесть течения COVID-19, основанный на допандемических данных генетических иссле-

ТАБЛИЦА 1. ЧАСТОТЫ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОТИПА ПОЛИМОРФИЗМА CD14 (159C)T У ПЕРЕБОЛЕВШИХ COVID-19 И КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЫ (χ^2 , df = 1)

TABLE 1. ALLELE FREQUENCIES OF THE CD14 (159C)T POLYMORPHISM GENOTYPE IN COVID-19 SURVIVORS AND THE CONTROL GROUP (χ^2 , df = 1)

Генотип Genotype	COVID-19 n (%)	Контроль Controls n (%)	χ^2	p	ОШ OR	95% ДИ 95% CI
ТТ	33 (20,8)	18 (21,2)	0,013	0,911	0,983	0,515-1,876
СТ	74 (46,9)	44 (51,8)	0,358	0,550	0,821	0,484-1,392
СС	51 (32,3)	23 (27,0)	0,486	0,486	–	–

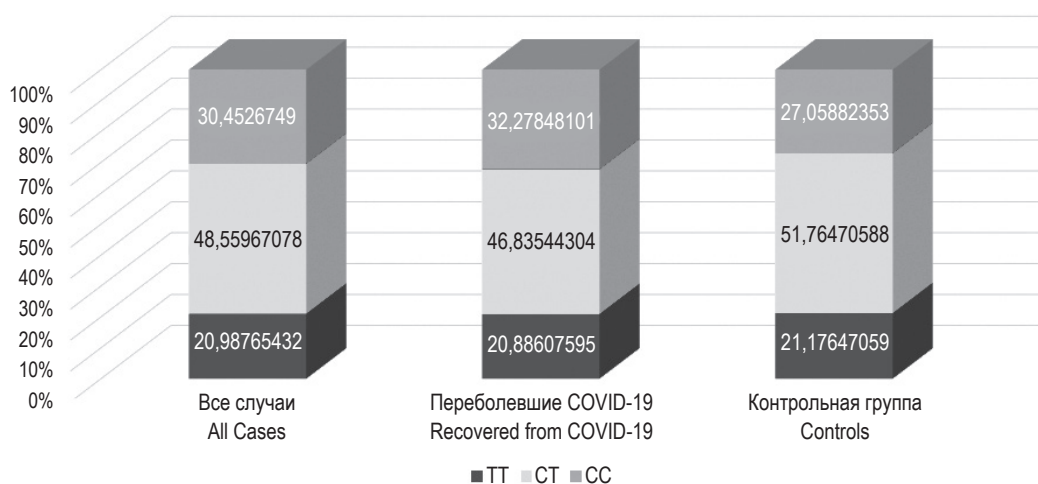


Рисунок 1. Частоты генотипа (С-159)Т полиморфизма гена CD14 в исследуемых группах (p > 0,05)

Figure 1. Frequencies of genotype (C-159)T polymorphism of the CD14 gene in the studied groups (p > 0.05)

дований. Авторы сообщили о наличии прямой корреляционной связи между показателем инфицирования НКИ на миллион населения и наличием минорного Т-аллеля гена CD14 (С-159)Т ($r = 0,57$, $p = 0,005$). В дополнение к этому, прямая корреляционная связь была выявлена между аллелем Т и показателем смертности от COVID-19 на миллион человек ($r = 0,61$, $p = 0,003$) [10]. Несмотря на то, что точный механизм влияния минорного аллеля (Т) на восприимчивость к НКИ неизвестен, полученные результаты подтверждают возможную роль ОНП (С-159)Т гена CD14 в восприимчивости, тяжести течения и исходе заболевания при НКИ.

Одним из возможных патогенетических путей является описанное в литературе повышение уровня sCD14 при выявлении минорного аллеля Т ОНП (С-159)Т гена CD14 [9], что в конечном итоге приводит к усиленному влиянию части агентов, в том числе ЛПС на клетки немиелоидного ряда, такие как эндотелиоциты, а также

повышенной активации TLR4-зависимых провоспалительных путей. Стоит отметить, что в исследовании существуют заметные ограничения, описанные и самими авторами. Анализ проводился только в ряде стран западной и центральной Европы, исследование носило характер обсервационного корреляционного, уступающим в точности выявления генетических особенностей предрасположенности к возникновению заболевания и тяжести течения дизайну «случай-контроль», к тому же авторы не учитывали факторы, влияющие на смертность от НКИ [9].

Выводы

- 1) ОНП (С-159)Т гена CD14 не ассоциирован с более высоким риском заражения НКИ.
- 2) Распределения встречаемости вариантов ОНП в группе переболевших лиц достоверно не отличалось от такового в группе контроля ($p > 0,05$).

Список литературы / References

1. Петров А.А., Страмбовская Н.Н., Говорин А.В., Витковский Ю.А. Генетический полиморфизм CD14, TNF α и FCGR2A у больных гриппом А H1N1 в Забайкальском крае // Медицинская иммунология, 2011. Т.13, № 1. С. 83-86. [Petrov V.V., Strambovskaia N.N., Govorin A.V., Vitkovsky Yu.A. Genetic polymorphisms of CD14, TNF α and FCGR2A in the patients with influenza A H1N1 in transbaikalia region. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2011, Vol. 13, no. 1, pp. 83-86. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2011-1-83-86.
2. Areeshi M.Y., Mandal R.K., Panda A.K., Bisht S.C., Haque S. CD14-159 C > T gene polymorphism with increased risk of tuberculosis: evidence from a meta-analysis. *PLoS One*, 2013, Vol. 8, no. 5, e64747. doi: 10.1371/journal.pone.0064747.
3. Ayaslioglu E., Kalpaklioglu F., Kavut A.B., Erturk A., Capan N., Birben E. The role of CD14 gene promoter polymorphism in tuberculosis susceptibility. *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, 2013, Vol. 46, no. 3, pp. 158-163.
4. Choudhury A., Mukherjee S. In silico studies on the comparative characterization of the interactions of SARS-CoV-2 spike glycoprotein with ACE-2 receptor homologs and human TLRs. *J. Med. Virol.*, 2020, Vol. 92, no. 10, pp. 2105-2113.
5. Karhukorpi J., Yan Y., Niemela S., Valtonen J., Koistinen P., Joensuu T. Effect of CD14 promoter polymorphism and *H. pylori* infection and its clinical outcomes on circulating CD14. *Clin. Exp. Immunol.*, 2002, Vol. 128, no. 2, pp. 326-332.
6. Martinez F.D. CD14, endotoxin, and asthma risk: actions and interactions. *Proc. Am. Thorac. Soc.*, 2007, Vol. 4, no. 3, pp. 221-225.
7. Meiler C., Muhlbauer M., Johann M., Hartmann A., Schnabl B., Wodarz N. Different effects of a CD14 gene polymorphism on disease outcome in patients with alcoholic liver disease and chronic hepatitis C infection. *World J. Gastroenterol.*, 2005, Vol. 11, no. 38, pp. 6031-6037.
8. Moghadampour M., Eskandari-Nasab E., Shabani F. Relationship between CD14-159C/T gene polymorphism and acute brucellosis risk. *Asian Pac. J. Trop. Med.*, 2016, Vol. 9, no. 3, pp. 247-251.
9. Panda A.K., Tripathy R., Das B. K. CD14 (C-159T) polymorphism is associated with increased susceptibility to SLE, and plasma levels of soluble CD14 is a novel biomarker of disease activity: A hospital-based case-control study. *Lupus*, 2021, Vol. 30, no. 2, pp. 219-227.
10. Pati A., Padhi S., Panda D., Suvankar S., Panda A.K. A CD14 Polymorphism (C-159T rs2569190) Is Associated with SARS-CoV-2 Infection and Mortality in the European Population. *J. Infect. Dis.*, 2021, Vol. 224, no. 5, pp. 921-922.
11. Rupp J., Goepel W., Kramme E., Jahn J., Solbach W., Maass M. CD14 promoter polymorphism -159C > T is associated with susceptibility to chronic Chlamydia pneumoniae infection in peripheral blood monocytes. *Genes Immun.*, 2004, Vol. 5, no. 5, pp. 435-438.
12. Teixeira J.P., Barone S., Zahedi K., Soleimani M. Kidney Injury in COVID-19: Epidemiology, Molecular Mechanisms and Potential Therapeutic Targets. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, Vol. 23, no. 4, 2242. doi: 10.3390/ijms23042242.
13. Wu Z., Zhang Z., Lei Z., Lei P. CD14: Biology and role in the pathogenesis of disease. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2019, Vol. 48, pp. 24-31.
14. Yuan F.F., Boehm I., Chan P.K., Marks K., Tang J.W., Hui D.S. High prevalence of the CD14-159CC genotype in patients infected with severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2007, Vol. 14, no. 12, pp. 1644-1645.
15. Zaroni I., Granucci F. Role of CD14 in host protection against infections and in metabolism regulation. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2013, Vol. 3, 32. doi: 10.3389/fcimb.2013.00032.

Авторы:

Яцков И.А. — к.м.н., доцент кафедры внутренней медицины № 2, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Белоглазов В.А. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой внутренней медицины № 2, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Authors:

Yatskov I.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Internal Medicine No. 2, Order of Labor Red Banner S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Beloglazov V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Internal Medicine No. 2, Order of Labor Red Banner S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Агеева Е.С. — д.м.н., доцент, заведующая кафедрой биологии медицинской, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Рымаренко Н.В. — д.м.н., профессор, профессор кафедры педиатрии с курсом инфекционных болезней, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Жукова А.А. — к.б.н., доцент кафедры биологии медицинской, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Аблаева Р.Н. — ассистент кафедры биологии медицинской, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Ageeva E.S., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Head, Department of Medical Biology, Order of Labor Red Banner S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Rymarenko N.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Professor, Department of Pediatrics with a Course in Childhood Infectious Diseases, Order of Labor Red Banner S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Zhukova A.A., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Medical Biology, Order of Labor Red Banner S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Ablaeva R.N., Assistant professor, Department of Medical Biology., Order of Labor Red Banner S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Поступила 29.03.2024
Отправлена на доработку 06.04.2024
Принята к печати 18.04.2024

Received 29.03.2024
Revision received 06.04.2024
Accepted 18.04.2024

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСТКОВИДНЫХ ПАЦИЕНТОВ С ИНФЕКЦИОННЫМ СИНДРОМОМ ИММУНОПАТОЛОГИИ

Добрынина М.А.^{1,2,3}, Зурочка А.В.^{1,3}, Зурочка В.А.^{1,3}

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

² ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический
центр имени А.И. Бурназяна» Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

³ ФБУН ФНИИВИ «ВИРОМ» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека, г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Пандемия коронавирусной инфекции COVID-19, вызванная вирусом SARS-CoV-2, привела к глобальной заболеваемости и высокой смертности во всем мире. На сегодняшний день известно, что, несмотря на выздоровление от COVID-19, подтвержденное как лабораторными, так и инструментальными методами диагностики, многие пациенты, вне зависимости от тяжести перенесенного заболевания, страдают от значительного ухудшения самочувствия и участвующих обострений хронических заболеваний. В ходе осмотров лечащими врачами они отмечают усталость, учащение случаев заболеваний ОРВИ за год, учащение рецидивов таких кожных заболеваний, как фурункулез, пиодермии, обострение легочной патологии, патологии мочевыводящих путей воспалительного генеза, а также хронических инфекционных заболеваний, таких как герпесвирусная и папилломавирусная инфекции, которые возникают впервые либо характеризуются участвующими рецидивами не менее чем, через шесть месяцев после выздоровления от острого COVID-19. Подобные стойкие постинфекционные последствия известны, как постковидный синдром.

SARS-CoV-2 инфекция сопровождается повреждением систем и приобретенного, и врожденного иммунитета. В предыдущих работах мы определили роль В-клеток, цитотоксических Т-лимфоцитов, натуральных киллеров и регуляторных свойств CD46, как и его вовлеченности в процессы проникновения вируса в клетку. В данном исследовании мы изучили связь иммунных нарушений этих факторов врожденного и приобретенного иммунитета с клиническими проявлениями постковидного инфекционного синдрома у данной категории пациентов и степенью выраженности поражения легких у этих пациентов в острый период COVID-19.

Результаты исследования показали, что у части пациентов спустя более чем шесть месяцев после перенесенного COVID-19 выявлено следующее: у пациентов, перенесших коронавирусную ин-

Адрес для переписки:

Добрынина Мария Александровна,
ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии»
Уральского отделения Российской академии наук
620078, Россия, г. Екатеринбург,
ул. Первомайская, 106.
Тел.: 8 (343) 374-00-70.
E-mail: iip@iip.uran.ru, mzurochka@mail.ru

Address for correspondence:

Maria A. Dobrynina
Institute of Immunology and Physiology,
Ural Branch, Russian Academy of Sciences
Pervomaiskaya St
Ekaterinburg
620078 Russian Federation
Phone: +7 (343) 374-00-70.
E-mail: iip@iip.uran.ru, mzurochka@mail.ru

Образец цитирования:

М.А. Добрынина, А.В. Зурочка, В.А. Зурочка
«Клинико-иммунологическая характеристика
постковидных пациентов с инфекционным синдромом
иммунопатологии» // Российский иммунологический
журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 689-698.
doi: 10.46235/1028-7221-16845-CAI

© Добрынина М.А. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

M.A. Dobrynina, A.V. Zurochka, V.A. Zurochka “Clinical
and immunological characteristics of post-COVID patients
with infectious immunopathology syndrome”, Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024,
Vol. 27, no. 3, pp. 689-698.
doi: 10.46235/1028-7221-16845-CAI

© Dobrynina M.A. et al., 2024

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16845-CAI

фекцию без поражения легких, не выявлены нарушения врожденного и приобретенного звеньев иммунной системы, кроме того, выявлены достоверные различия между клиническими проявлениями заболеваний с участвовавшими случаями рецидивов либо впервые выявленные после клинического выздоровления от перенесенной острой инфекции COVID-19 в зависимости от фенотипа нарушений иммунного статуса.

Ключевые слова: SARS-CoV-2 инфекция, постковидный синдром, иммунная система, натуральные киллеры, Т-клетки, Т-лимфоциты, В-лимфоциты, CD46, инфекционный синдром

CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF POST-COVID PATIENTS WITH INFECTIOUS IMMUNOPATHOLOGY SYNDROME

Dobrynina M.A.^{a, b, c}, Zurochka A.V.^{a, c}, Zurochka V.A.^{a, c}

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

^b State Research Center of the Russian Federation, A. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center, Federal Medical and Biological Agency, Moscow, Russian Federation

^c Federal Budgetary Institution of Science «Federal Scientific Research Institute of Viral Infections “Virome” Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing

Abstract. The COVID-19 pandemic, caused by the SARS-CoV-2 virus, has caused global morbidity and high mortality worldwide. Today it is known that, despite recovery from COVID-19, confirmed by both laboratory and instrumental diagnostic methods, many patients, regardless of the severity of the disease, suffer from a significant deterioration in health and increased exacerbations of chronic diseases. During examinations by attending physicians, they note fatigue, an increase in cases of acute respiratory viral infections per year, an increase in relapses of skin diseases such as furunculosis, pyoderma, exacerbation of pulmonary pathologies, pathologies of the urinary tract of inflammatory origin, as well as chronic infectious diseases such as herpesvirus and human papillomavirus infections, which occur for the first time or are characterized by frequent relapses no less than six months after recovery from acute COVID-19. Such persistent post-infectious consequences are known as post-COVID syndrome. SARS-CoV-2 infection is accompanied by damage to both the acquired and innate immune systems. In previous work, we determined the role of B cells, cytotoxic T lymphocytes, natural killer cells and the regulatory properties of CD46, as well as its involvement in the processes of viral entry into the cell. In this study, we studied the relationship of immune disorders of these factors of innate and acquired immunity with the clinical manifestations of post-COVID infectious syndrome in this category of patients and the severity of lung damage in these patients during the acute period of COVID-19. The results of the study showed that in some patients more than six months after suffering from COVID-19, the following was revealed: in patients who had a coronavirus infection without lung damage, no violations of the innate and acquired parts of the immune system were detected. In addition, significant differences were identified between clinical manifestations of diseases with increasing cases of relapses or newly identified after clinical recovery from an acute COVID-19 infection, depending on the phenotype of immune status disorders.

Keywords: SARS-CoV-2 infection, post-COVID syndrome, immune system, natural killer cells, T cells, T lymphocytes, B lymphocytes, CD46, infectious syndrome

Работа выполнена по теме Гос. заданий ИИФ УрО РАН «Имунофизиологические и патофизиологические механизмы регуляции и коррекции функций организма» № гос. регистрации 122020900136-4, НИИВИ «ВИРОМ» «Изучение механизмов формирования хронической вирусной инфекции у пациентов с постковидным

синдромом и нарушением функций иммунной системы. Разработка патогенетических подходов к эффективной профилактике и иммунокоррекции выявленных нарушений у пациентов с «постковидным синдромом» № гос. регистрации 124031800093-5.

Введение

Пандемия коронавирусной инфекции COVID-19, вызванная вирусом SARS-CoV-2, привела к глобальной заболеваемости и высокой смертности во всем мире. На сегодняшний день известно, что, несмотря на выздоровление от COVID-19, подтвержденное как лабораторными, так и инструментальными методами диагностики, многие пациенты, вне зависимости от тяжести перенесенного заболевания, страдают от значительного ухудшения самочувствия и участвовавших обострений хронических заболеваний [6]. В ходе осмотров лечащими врачами они отмечают усталость, учащение случаев заболеваний ОРВИ за год, учащение рецидивов таких кожных заболеваний, как фурункулез, пиодермии, обострение легочной патологии, патологии мочевыводящих путей воспалительного генеза, а также хронических инфекционных заболеваний, таких как герпесвирусная и папилломавирусная инфекции, которые возникают впервые либо характеризуются участвовавшими рецидивами не менее чем через шесть месяцев после выздоровления от острого COVID-19 [6]. Подобные стойкие постинфекционные последствия известны как постковидный синдром [11].

SARS-CoV-2 инфекция сопровождается повреждением систем и приобретенного, и врожденного иммунитета. В предыдущих работах мы определили роль В-клеток, цитотоксических Т-лимфоцитов, натуральных киллеров и регуляторных свойств CD46, как и его вовлеченности в процессы проникновения вируса в клетку [2, 3, 4, 10, 12]. В данном исследовании мы изучили связь иммунных нарушений этих факторов врожденного и приобретенного иммунитета с клиническими проявлениями постковидного инфекционного синдрома у данной категории пациентов и степенью выраженности поражения легких у этих пациентов в острый период COVID-19.

Материалы и методы

Был обследован 131 пациент из числа перенесших SARS-CoV-2 инфекцию. Критерием включения в группы исследований были: подтвержденный диагноз SARS-CoV-2 инфекции методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), наличие IgA, M, G к вирусу SARS-CoV-2 инфекции, данные компьютерной томографии о перенесенной пневмонии (варианты: — без поражения легких, поражение менее 50% легких, поражение более 50% легких) [7]. Кроме того, критериями включения являлись наличие жалоб на усталость, боль, учащение обострений хронических инфекцион-

ных заболеваний кожи, клер, слизистых, верхних и нижних дыхательных путей, почек [9].

Исследование проводилось не менее чем через 6 месяцев после перенесенной SARS-CoV-2 инфекции. Все пациенты были предварительно обследованы врачом-терапевтом и иммунологом-аллергологом для выявления сопутствующих заболеваний.

Определение групп сравнения проводилось по двум параметрам врожденного иммунитета — по количеству NK-клеток и панлейкоцитарному маркеру CD46⁺, а также по двум параметрам приобретенного иммунитета — снижению Т-цитотоксических лимфоцитов и повышению В-лимфоцитов с фенотипом CD3⁺CD19⁺CD5⁺CD27⁺.

На первом этапе пациенты, участвующие в исследовании, были разделены по степени поражения легких и в зависимости от клинических проявлений инфекционно-воспалительных заболеваний с участвовавшими случаями рецидивов либо впервые выявленные после клинического выздоровления от перенесенной острой инфекции COVID-19 (табл. 1). Таким образом, нами было выделено 3 группы сравнения:

Группа 1 — постковидные пациенты без поражения легких, n = 38.

Группа 2 — постковидные пациенты с поражением легких менее 50%, n = 68.

Группа 3 — постковидные пациенты с поражением легких более 50%, n = 25.

На втором этапе исследования пациенты также были разделены по степени поражения легких в зависимости от фенотипа повреждения иммунной системы (табл. 2). Таким образом, нами было выделено 3 группы сравнения:

Группа 1 — постковидные пациенты без поражения легких, n = 38.

Группа 2 — постковидные пациенты с поражением легких менее 50%, n = 68.

Группа 3 — постковидные пациенты с поражением легких более 50%, n = 25.

На третьем этапе работы пациенты были разделены по фенотипам повреждения иммунной системы в зависимости от клинических проявлений инфекционно-воспалительных заболеваний с участвовавшими случаями рецидивов либо впервые выявленные после клинического выздоровления от перенесенной острой инфекции COVID-19 (табл. 3). На этом этапе работы было сформировано 4 группы сравнения:

Группа 1 — постковидные пациенты с повышением В-клеток с фенотипом CD3⁺CD19⁺CD5⁺CD27⁺, n = 15.

ТАБЛИЦА 1. ВЫРАЖЕННОСТЬ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ ИНФЕКЦИОННОГО СИНДРОМА У ПОСТКОВИДНЫХ ПАЦИЕНТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ПОРАЖЕНИЯ ЛЕГКИХ В ОСТРЫЙ ПЕРИОД COVID-19

TABLE 1. THE SEVERITY OF CLINICAL MANIFESTATIONS OF THE INFECTIOUS SYNDROME IN POST-COVID PATIENTS DEPENDING ON THE DEGREE OF LUNG DAMAGE DURING THE ACUTE PERIOD OF COVID-19

Заболевания с участвовавшими случаями рецидивов либо впервые выявленные после клинического выздоровления от перенесенной острой инфекции COVID-19 / степень поражения легких по данным КТ Diseases with increasing cases of relapses or newly diagnosed after clinical recovery from acute COVID-19 infection / degree of lung damage according to CT data	Общее число обследованных пациентов Total number of patients examined (n = 131)		Группа 1 КТ0 Group 1 CT0 (n = 38)		Группа 2 КТ1-2 Group 2 CT1-2 (n = 68)		Группа 3 КТ3-4 Group 3 CT3-4 (n = 25)	
	Абс Abs.	%	Абс Abs.	%	Абс Abs.	%	Абс Abs.	%
Длительный субфебрилитет Long-term subfebrility	63	48,1	13	34,2	36	52,9	14	56,0
Рецидивирующий герпес Recurrent herpes	85	64,9	21	55,3	46	67,7	18	72,0
ВПЧ HPV	36	27,5	7	18,4	22	32,4	7	28,0
Высокая частота ОРВИ High incidence of ARVI	42	32,1	12	31,6	19	27,9	11	44,0
Гнойно-воспалительные заболевания кожи и подкожно-жировой клетчатки Purulent-inflammatory diseases of the skin and subcutaneous fat	42	32,1	11	29,0	20	29,4	11	44,0
Хронические инфекции ЛОР-органов Chronic infections of ENT organs	79	60,3	22	57,9	40	58,8	17	68,0
Часто повторяющиеся/ хронические бронхиты и/или пневмонии, ХОБЛ Recurrent/chronic bronchitis and/or pneumonia, COPD	43	32,8	10	26,3	21	30,9	12	48,0
Лихорадка неуточненного генеза Fever of unspecified origin	30	22,9	5	13,2	19	27,9	6	24,0
Воспалительные заболевания почек Inflammatory kidney diseases	26	19,9	4	10,5 $p_{1-2} < 0,05$	17	25,0	5	20,0
Заболевания зубов и десен Diseases of teeth and gums	48	36,6	16	42,1	24	35,3	8	32,0
Частые гнойные конъюнктивиты Frequent purulent conjunctivitis	14	10,7	4	10,5	4	5,9	6	24,0

Примечание. Достоверность различий между группами p_1-p_2 , p_1-p_3 , p_2-p_3 . Достоверными считались различия $p < 0,05$ (использовался критерий Стьюдента).

Note. Significance of differences between groups p_1-p_2 , p_1-p_3 , p_2-p_3 . Differences $p < 0.05$ were considered significant (Student's t test was used).

ТАБЛИЦА 2. НАЛИЧИЕ ФЕНОТИПОВ НАРУШЕНИЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ПОСТКОВИДНЫХ ПАЦИЕНТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ПОРАЖЕНИЯ ЛЕГКИХ В ОСТРЫЙ ПЕРИОД COVID-19

TABLE 2. PRESENCE OF PHENOTYPES OF IMMUNE SYSTEM DISORDERS IN POST-COVID PATIENTS, DEPENDING ON THE DEGREE OF LUNG DAMAGE DURING THE ACUTE PERIOD OF COVID-19

Фенотип нарушений иммунной системы / степень поражения легких по данным КТ Phenotype of immune system disorders / degree of lung damage according to CT data	Общее число обследованных пациентов Total number of patients examined (n = 131)		Группа 1 КТ 0 Group 1 CT 0 (n = 38)		Группа 2 КТ 1-2 Group 2 CT 1-2 (n = 68)		Группа 3 КТ 3-4 Group 3 CT 3-4 (n = 25)	
	Абс Abs.	%	Абс Abs.	%	Абс Abs.	%	Абс Abs.	%
Снижение NK Decrease in NK	50	38,2	0	0 p ₁₋₂ < 0,05 p ₁₋₃ < 0,05	40	58,8	10	40,0
Снижение экспрессии CD46 на Т-лимфоцитах Decreased expression of CD46 on T lymphocytes	57	43,5	0	0 p ₁₋₂ < 0,05 p ₁₋₃ < 0,05	45	66,2	12	48,0
Снижение Тс Reduction of T cytotoxic	26	19,9	0	0 p ₁₋₂ < 0,05 p ₁₋₃ < 0,05	21	30,9	5	17,9
Повышение В-клеток с фенотипом CD3⁺CD19⁺CD5⁺CD27⁺ Increased B cells with the CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD5 ⁺ CD27 ⁺ phenotype	15	11,5	0	0 p ₁₋₂ < 0,05 p ₁₋₃ < 0,05	12	17,7	3	12,0

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

Группа 2 – постковидные пациенты со снижением Т-цитотоксических клеток, n = 26.

Группа 3 – постковидные пациенты со снижением NK-клеток, n = 50.

Группа 4 – постковидные пациенты со снижением экспрессии рецептора CD46 на Т-лимфоцитах, n = 57.

Все исследования были одобрены Независимым локальным этическим комитетом при ГАУЗ ОТКЗ «Городская клиническая больница № 1» г. Челябинска, протокол № 8 от 11.04.2022 на базе которой проводились данные исследования.

Клинические исследования

Анкетирование пациентов с помощью анкеты иммунологического мониторинга пациентов, данные историй болезни из программы для ЭВМ «БАРС.ЗДРАВООХРАНЕНИЕ-МИС» ГАУЗ ОТКЗ «Городская клиническая больница № 1» г. Челябинска.

Иммунологические исследования

Оценка иммунного статуса осуществлялась методом проточной цитометрии на цитофлюо-

риметре Navios (Beckman Coulter, США) по стандартизованной технологии оценки лимфоцитарного звена иммунитета [5, 8].

В ходе исследования были определены следующие параметры: CD45⁺и CD46⁺ (панлейкоцитарный маркер для гейтирования лимфоцитов), CD45⁺(CD46⁺), CD3⁺ (Т-лимфоциты), CD45⁺(CD46⁺), CD3⁺, CD4⁺ (хелперы индукторы), CD45⁺(CD46⁺), CD3⁺, CD8⁺ (цитотоксические Т-лимфоциты), CD45⁺(CD46⁺), CD3⁺CD16⁺, CD56⁺ (ТНК-клетки) CD45⁺(CD46⁺), CD3⁻, CD16⁺, CD56⁺ (натуральные киллеры), CD45⁺(CD46⁺), CD3⁻, CD19⁺CD5⁺ (В-лимфоциты), CD45⁺(CD46⁺), CD3⁺, CD4⁺, CD25⁺, CD127⁻ (Т-регуляторные клетки/супрессоры), CD45⁺(CD46⁺), CD3⁺, CD4⁺, CD25⁺ (активированные хелперы, ранняя активация лимфоцитов), CD45⁺(CD46⁺), CD3⁺, HLA-DR (активированные Т-лимфоциты – поздняя активация лимфоцитов), В-клеток памяти CD27⁺(Beckman Coulter, BioLegend, США).

Уровни общих IgM, IgG, IgA, специфических IgM, IgG к коронавирусу COVID-19,

ТАБЛИЦА 3. КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ИНФЕКЦИОННОГО СИНДРОМА У ПОСТКОВИДНЫХ ПАЦИЕНТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФЕНОТИПА ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ

TABLE 3. CLINICAL MANIFESTATIONS OF THE INFECTIOUS SYNDROME IN POST-COVID PATIENTS DEPENDING ON THE PHENOTYPE OF IMMUNE DISORDERS

Заболевания с участвовавшими случаями рецидивов либо впервые выявленные после клинического выздоровления от перенесенной острой инфекции COVID-19 / фенотип нарушений иммунной системы Diseases with increasing incidence of relapses or newly identified after clinical recovery from acute COVID-19 infection / phenotype of immune system disorders	Повышение В-клеток с фенотипом CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD5 ⁺ CD27 ⁺ Increased B cells with the CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD5 ⁺ CD27 ⁺ phenotype n = 15		Снижение Тс Reduction of T cytotoxic n = 26		Снижение NK Decrease in NK n = 50		Снижение экспрессии CD46 на Т-лимфоцитах Decreased expression of CD46 on T lymphocytes n = 57	
	Абс Abs.	%	Абс Abs.	%	Абс Abs.	%	Абс Abs.	%
Длительный субфебрилитет Long-term subfebrility	7	46,7	11	42,3	25	50,0	32	56,1
Рецидивирующий герпес Recurrent herpes	4	26,7 p ₁₋₂ < 0,05 p ₁₋₃ < 0,05 p ₁₋₄ < 0,05	18	69,2	37	74,0	38	66,7
ВПЧ HPV	1	6,7 p ₁₋₃ < 0,05 p ₁₋₄ < 0,05	3	11,5	12	24,0	16	28,1
Высокая частота ОРВИ High incidence of ARVI	6	40,0	5	19,2 p ₂₋₃ < 0,05	26	52,0	20	35,1
Гнойно-воспалительные заболевания кожи и подкожно-жировой клетчатки Purulent-inflammatory diseases of the skin and subcutaneous fat	4	26,7	7	26,9	13	26,0	22	38,6
Хронические инфекции ЛОР-органов Chronic infections of ENT organs	7	46,7	12	46,2 p ₂₋₃ < 0,05	35	70,0	30	52,6
Часто повторяющиеся/ хронические бронхиты и/или пневмонии, ХОБЛ Recurrent / chronic bronchitis and/or pneumonia, COPD	1	6,7 p ₁₋₂ < 0,05 p ₁₋₃ < 0,05 p ₁₋₄ < 0,05	10	38,5	18	36,0	21	36,8
Лихорадка неуточненного генеза Fever of unspecified origin	2	13,3	5	19,2	12	24,0	12	21,1
Воспалительные заболевания почек Inflammatory kidney diseases	1	6,7 p ₁₋₄ < 0,05	5	19,2	7	14,0	14	24,6
Заболевания зубов и десен Diseases of teeth and gums	2	13,3 p ₁₋₄ < 0,05	7	26,9	16	32,0	20	35,1
Частые гнойные конъюнктивиты Frequent purulent conjunctivitis	0	0 p ₁₋₃ < 0,05 p ₁₋₄ < 0,05	2	7,7	6	12,0	5	8,8

Примечание. Достоверность различий между группами p₁₋₂, p₁₋₃, p₁₋₄, p₂₋₃, p₂₋₄, p₃₋₄. Достоверными считались различия p < 0,05 (использовался критерий Стьюдента).

Note. Significance of differences between groups p₁₋₂, p₁₋₃, p₁₋₄, p₂₋₃, p₂₋₄, p₃₋₄. Differences p<0.05 were considered significant (Student's t test was used).

C1-ингибитора, C3а и C5а компонентов комплекса проводилось методом иммуноферментного на иммуноферментном анализаторе Multiscan FC ThermoScientific (Китай) с использованием наборов реагентов «Вектор-Бест» (Россия).

Гематологические исследования

Общий анализ крови (исследовано 25 параметров: лейкоцитарный, эритроцитарный и тромбоцитарный ростки кроветворения), количественный и качественный состав ростков кроветворения проведен стандартизованным методом на гематологическом анализаторе Medonic M20 (Швеция).

Статистическая обработка данных

Обработка и анализ данных лабораторных исследований осуществлялись с помощью R 3.1.1 12 (R Foundation for Statistical Computing, Вена, Австрия) и Microsoft Excel версии 14.0. Так как распределение в количественных данных было не нормальным (p -value теста Шапиро–Уилка $< 0,05$), то использованные статистические критерии были непараметрическими. Достоверность процентов высчитывалась по критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

В ходе исследования при делении выборки по степени поражения легких в зависимости от клинических проявлений инфекционно-воспалительных заболеваний с участвовавшими случаями рецидивов либо впервые выявленных после клинического выздоровления от перенесенной острой инфекции COVID-19 достоверных различий получено не было, за исключением воспалительных заболеваний почек в группах 1 и 2 (табл. 1).

Таким образом, несмотря на существенную разницу в процентах между изучаемыми группами, отсутствие достоверности, вероятнее всего, связано с недостаточной выборкой анализируемого количества пациентов.

На втором этапе работы мы сопоставили фенотипы нарушений иммунной системы у постковидных пациентов в зависимости от степени поражения легких в остром периоде коронавирусной инфекции (табл. 2). В отличие от данных, полученных нами на первом этапе исследования, на втором этапе получены достоверные различия между группой 1 (КТ 0) по сравнению с другими группами. При этом в группе 1 не было найдено ни одного фенотипа нарушений в отличие от второй и третьей групп (КТ менее 50% поражения легких и более 50% поражения легких соот-

ветственно), и эти показатели были достоверно лучше, чем в группах с поражением легких.

Таким образом, второй этап исследования показал, что формирование фенотипов иммунной патологии характерно только для пациентов с поражением легких вне зависимости от степени поражения легких.

На третьем этапе исследования мы разделили обследованных пациентов с постковидным синдромом по фенотипам иммунных нарушений и клиническим проявлениям инфекционного синдрома иммунопатологии [9, 10] согласно анкетированию и данным историй болезни этих пациентов (табл. 3). Как оказалось данное исследование, некоторые показатели (герпесвирусная инфекция, хронические заболевания легких) дали достоверно высокие различия по Т-цитотоксическим, NK-клеткам и рецептору CD46 на Т-лимфоцитах (приобретенный и врожденный иммунитет) относительно В-лимфоцитов. В отличие от этих двух видов патологии папилломавирусная инфекция, воспалительные заболевания почек, воспалительные заболевания зубов и десен, а также рецидивирующие гнойные конъюнктивиты вызывали в основном различия по врожденным звеньям иммунитета (NK-клетки и CD46-рецептор комплекса).

Таким образом, наиболее выраженные клинико-иммунологические проявления постковидного синдрома выявляются при сравнении заболеваний инфекционно-воспалительной природы с фенотипами нарушений иммунной системы.

Все это свидетельствует о том, что обследование постковидных пациентов следует проводить не только изучая их клинические характеристики, но и обязательно оценивать состояние иммунной системы таких пациентов для постановки правильного диагноза и назначения этиологической и патогенетической терапии, в том числе и иммунной терапии.

Выводы

1. Достоверных различий между группами пациентов, разделенных по степени поражения легких в острый период COVID-19 в зависимости от клинических проявлений инфекционно-воспалительных заболеваний с участвовавшими случаями рецидивов либо впервые выявленных после клинического выздоровления от перенесенной острой инфекции COVID-19 получено не было, за исключением воспалительных заболеваний почек в группах 1 и 2 (КТ0 и КТ1, КТ2 соответственно).

2. При сопоставлении фенотипов нарушений иммунной системы у постковидных пациентов в зависимости от степени поражения легких в остром периоде коронавирусной инфекции получены достоверные различия между группой 1 (КТ0) по сравнению с другими группами. При этом в группе 1 не было найдено ни одного фенотипа нарушений в отличие от второй и третьей групп (КТ1, КТ2 и КТ3, КТ4 соответственно), и эти показатели были достоверно лучше, чем в

группах с поражением легких. Это свидетельствует о том, что формирование фенотипов иммунной патологии характерно только для пациентов с поражением легких вне зависимости от степени поражения легких.

3. Наиболее выраженные клинико-иммунологические проявления постковидного синдрома выявляются при сравнении заболеваний инфекционно-воспалительной природы с фенотипами нарушений иммунной системы.

Список литературы / References

1. Временные методические рекомендации профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 18 (26.10.2023). [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/064/610/original/%D0%92%D0%9C%D0%A0_COVID-19_V18.pdf. [Temporary guidelines for prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19). Version 18 (10.26.2023). [Electronic resource]. Access mode: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/064/610/original/%D0%92%D0%9C%D0%A0_COVID-19_V18.pdf. (In Russ.)]
2. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Комелькова М.В., Ло Ш. Исследование нарушения натуральных киллеров у пациентов, перенесших Covid-19 // Российский иммунологический журнал, 2022. Т. 25, № 2. С. 161-166. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Komelkova M.V., Lo Sh. Study of natural killer cell disorders in patients who have had Covid-19. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2022, T. 25, no. 2, p. 161-166. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-1132-ION.
3. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Комелькова М.В., Ло Ш., Зурочка В.А., Ху Д., Рябова Л.В., Сарapultsev А.П. Исследование экспрессии CD45⁺ и CD46⁺ на субпопуляциях лимфоцитов периферической крови постковидных пациентов // Российский иммунологический журнал, 2022. Т. 25, № 4. С. 431-436. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Komelkova M.V., Lo Sh., Zurochka V.A., Hu D., Ryabova L.V., Sarapultsev A.P. Study of the expression of CD45⁺ and CD46⁺ on subpopulations of peripheral blood lymphocytes of post-Covid patients // *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2022, Vol. 25, no. 4, pp. 431-436. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-1160-SOC.
4. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Комелькова М.В., Luo S., Семенова Д.А. Оценка взаимосвязи нарушения цитотоксических Т-лимфоцитов с другими компартментами иммунной системы у постковидных пациентов // Вестник уральской медицинской академической науки, 2022. Т. 19, № 3. С. 294-303. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Komelkova M.V., Luo S., Semenova D.A. Assessment of the relationship between the disturbance of cytotoxic T-lymphocytes and other compartments of the immune system in post-Covid patients. *Vestnik uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki = Bulletin of the Ural Medical Academic Science*, 2022, Vol. 19, no. 3, pp. 294-303. (In Russ.)]
5. Зурочка А.В., Хайдуков С.В., Кудрявцев И.В., Черешнев В.А. Проточная цитометрия в биомедицинских исследованиях. Екатеринбург: РИОУрОРАН, 2018. 720 с. [Zurochka A.V. Khaidukov S.V., Kudryavtsev I.V., Chereshev V.A. Flow cytometry in biomedical research]. Ekaterinburg: RIO Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 2018. 720 p.
6. Канорский С.Г. Постковидный синдром: распространенность и патогенез органных поражений, направления коррекции. Систематический обзор // Кубанский научный медицинский вестник, 2021. Т. 28, № 6. С. 90-116. [Kanorskii S.G. Post-COVID syndrome: prevalence, organ pathogenesis and routes of correction. A systematic review. *Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik = Kuban Scientific Medical Bulletin*, 2021, Vol. 28, no. 6, pp. 90-116. (In Russ.)]
7. Лучевая диагностика коронавирусной болезни (COVID-19): организация, методология, интерпретация результатов. Методические рекомендации № 72. Москва, 2020. 75 с. [Radiation diagnostics of coronavirus disease (COVID-19): organization, methodology, interpretation of results. Methodological recommendations No. 72]. Moscow, 2020. 75 p.
8. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян А.А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлюориметров-анализаторов» // Российский иммунологический журнал, 2014, Т. 8 (17), № 4. С. 974-992. [Khaidukov S.V., Baydun L.A., Zurochka A.V., Totolyan A.A. Standardized technology "Study of the subpopulation

composition of peripheral blood lymphocytes using flow cytofluorimeter analyzers". *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2014, Vol. 8 (17), no. 4, pp. 974-992. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2012-3-255-268.

9. Cioboata R., Nicolosu D., Streba C.T., Vasile C.M., Olteanu M., Nemes A., Gheorghe A., Calarasu C., Turcu A.A. Post-COVID-19 Syndrome Based on Disease Form and Associated Comorbidities. *Diagnostics (Basel)*, Vol. 12, no. 10, 2502. doi: 10.3390/diagnostics12102502.

10. Dobrynina M.A., Ibragimov R.V., Kritsky I.S., Verkhovskaya M.D., Mosunov A.A., Sarapultsev G.P., Zurochka A.V., Zurochka V.A., Sarapultsev A.P., Komelkova M.V., Ryabova L.V., Praskurnichiy E.A. Post-COVID immunopatologysyndrome: characteristics of phenotypical changes in the immune system in post-COVID patients. *Medical Immunology (Russia)*, 2023, Vol. 25, no. 4, pp. 791-796. doi: 10.15789/1563-0625-PCI-2707.

11. Pierce J.D., Shen Q., Cintron S.A., Hiebert J.B. Post-COVID-19 syndrome. *Nurs. Res.*, 2022, Vol. 71, no. 2, pp. 164-174.

12. Vassiliev P., Gusev E., Komelkova M., Kochetkov A., Dobrynina M., Sarapultsev A. Computational Analysis of CD46 Protein Interaction with SARS-CoV-2 Structural Proteins: Elucidating a Putative Viral Entry Mechanism into Human Cells. *Viruses*, 2023, no. 15, 2297. doi: 10.3390/v15122297.

Авторы:

Добрынина М.А. — к.м.н., научный сотрудник лаборатории иммунопатофизиологии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук; старший научный сотрудник лаборатории трансмиссивных вирусных инфекций ФБУН ФНИИВИ «ВИРОМ» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Екатеринбург; доцент кафедры терапии Медико-биологического университета инноваций и непрерывного образования ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

Authors:

Dobrynina M.A., PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Immunopathophysiology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Senior Research Associate, Laboratory of Transmissible Viral Diseases, Federal Budgetary Institution of Science «Federal Scientific Research Institute of Viral Infections "Virome" Federal Service for Surveillance on Costumer Rights Protection and Human Wellbeing, Yekaterinburg; Associate Professor, Department of Therapy, University of Innovation and Continuing Education, State Research Center of the Russian Federation — A. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center, Federal Medical and Biological Agency, Moscow, Russian Federation

Зурочка А.В. — д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунопатофизиологии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук; ведущий научный сотрудник лаборатории трансмиссивных вирусных инфекций ФБУН ФНИИВИ «ВИРОМ» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Екатеринбург, Россия

Zurochka A.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Honored Worker of Science of the Russian Federation, Leading Research Associate, Laboratory of Immunopathophysiology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Leading Research Associate, Laboratory of Transmissible Viral Diseases, Federal Budgetary Institution of Science «Federal Scientific Research Institute of Viral Infections “Virome” Federal Service for Surveillance on Costumer Rights Protection and Human Wellbeing, Yekaterinburg, Russian Federation

Зурочка В.А. — д.м.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунопатофизиологии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук; старший научный сотрудник лаборатории трансмиссивных вирусных инфекций ФБУН ФНИИВИ «ВИРОМ» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Екатеринбург, Россия

Zurochka V.A., PhD, MD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Immunopathophysiology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Senior Research Associate, Laboratory of Transmissible Viral Diseases, Federal Budgetary Institution of Science «Federal Scientific Research Institute of Viral Infections “Virome” Federal Service for Surveillance on Costumer Rights Protection and Human Wellbeing, Yekaterinburg, Russian Federation

Поступила 01.04.2024
Отправлена на доработку 06.04.2024
Принята к печати 18.04.2024

Received 01.04.2024
Revision received 06.04.2024
Accepted 18.04.2024

ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОГО СТАТУСА ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕННОМ КОНТАКТЕ СО СВИНЦОМ

Кузьмина Л.П., Хотулева А.Г., Цидильковская Э.С., Коляскина М.М.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова», Москва,
Россия

Резюме. Иммунная система чувствительна к воздействию факторов внешней среды, в том числе, по данным многочисленных исследований, иммунотоксическим действием обладает свинец. При этом имеются данные о разнонаправленном характере воздействия свинца на иммунную систему, определяемом степенью воздействия данного тяжелого металла, что обуславливает актуальность изучения изменения иммунологических показателей у работников современного свинецперерабатывающего предприятия с учетом специфики уровней и комплекса воздействующих факторов. В эпоху персонализированной медицины мониторинг потенциального воздействия производственных факторов, влияющих на иммунную систему, может способствовать индивидуальному подходу к профилактике нарушений состояния здоровья, связанных с профессиональной деятельностью. Цель исследования: оценить изменения показателей иммунного статуса у работников предприятия по вторичной переработке свинецсодержащих изделий. Основная группа – 62 мужчины, работающие на свинецперерабатывающем предприятии, контрольная группа – 47 мужчин, работающих вне контакта с вредными производственными факторами. Лабораторное обследование включало исследование уровня свинца в крови, клинический анализ крови, определение уровней IL-1 β , IL-10, IL-8, MCP-1, C3 и C4 компонентов комплемента, IgA, IgM, IgG в сыворотке крови. В основной группе по сравнению с контрольной выявлены более высокое количество нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, более высокие уровни IL-8, C3 и C4 компонентов системы комплемента, более низкие уровни IgM. В основной группе достоверно чаще выявлены следующие изменения показателей в сравнении с референтными значениями: повышение C3 компонента комплемента (51,6% в основной группе по сравнению с 12,5% в контрольной группе), снижение IgG (24,2% по сравнению с 6,2%) и повышение IgA (22,6% по сравнению с 6,2%). Выявлены ассоциации между уровнем свинца в крови и количеством лимфоцитов, уровнем IgG, между стажем работы в контакте со свинцом и уровнем MCP-1 и C3 компонента комплемента. Результаты проведенных исследований выявили наличие изменений показателей иммунного статуса у работников свинецперерабатывающего предприятия, которые демонстрируют наличие у свинца провоспалительного эффекта, влияния на гуморальный иммунный статус. Выявленные изменения иммунологических показателей могут лежать в основе механизмов формирования патологических состояний, ассоциированных с воздействием свинца, что определяет актуальность

Адрес для переписки:

Хотулева Анастасия Григорьевна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова»
105275, Россия, Москва, пр. Буденного, 31.
Тел.: 8 (915) 260-61-89.
E-mail: hotuleva_an@mail.ru

Address for correspondence:

Anastasia G. Khotuleva
Izmerov Research Institute of Occupational Health
31 Budenny Ave
Moscow
105275 Russian Federation
Phone: +7 (915) 260-61-89.
E-mail: hotuleva_an@mail.ru

Образец цитирования:

Л.П. Кузьмина, А.Г. Хотулева, Э.С. Цидильковская,
М.М. Коляскина «Оценка показателей иммунного
статуса при производственном контакте со свинцом»
// Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27,
№ 3. С. 699-706.
doi: 10.46235/1028-7221-16610-AOI

© Кузьмина Л.П. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

L.P. Kuzmina, A.G. Khotuleva, E.S. Tsidilkovskaya,
M.M. Kolyaskina "Assessment of immune status markers
during occupational lead exposure", Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024,
Vol. 27, no. 3, pp. 699-706.
doi: 10.46235/1028-7221-16610-AOI

© Kuzmina L.P. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16610-AOI

продолжения исследований по оценке изменения иммунологических показателей в динамике и разработке системы мониторинга состояния иммунного статуса у работающих в контакте со свинцом и его соединениями для оптимизации профилактических мероприятий.

Ключевые слова: свинец, воздействие свинца, иммунный статус, иммуноглобулины, цитокины, система комплемента

ASSESSMENT OF IMMUNE STATUS MARKERS DURING OCCUPATIONAL LEAD EXPOSURE

Kuzmina L.P., Khotuleva A.G., Tsidilkovskaya E.S., Kolyaskina M.M.

Izmerov Research Institute of Occupational Health, Moscow, Russian Federation

Abstract. The immune system is sensitive to the effects of environmental factors, and according to numerous studies, lead has an immunotoxic effect. At the same time, there is evidence of the multidirectional nature of the impact of lead on the immune system, determined by the degree of exposure to this heavy metal, which makes it current to study changes in immunological markers in workers of a modern lead recycling plant, taking into account levels and complexity of exposure. In the era of personalized medicine, monitoring the potential influence of occupational factors exposure on the immune system can facilitate a personalized approach to the prevention of work-related health conditions. The aim of the study: to evaluate changes in immune status markers among employees of lead recycling plant. The main group – 62 men working at a lead recycling plant, the control group – 47 men not exposed to occupational factors. Laboratory examination included a determination of the lead blood level, a clinical blood test, the serum levels of IL-1 β , IL-10, IL-8, MCP-1, C3 and C4 complement components, IgA, IgM, IgG. In the main group, compared to the control group, a higher number of neutrophils, lymphocytes, monocytes, higher levels of IL-8, C3 and C4 components of the complement system, and lower levels of IgM were detected. In the main group, the following changes in markers were significantly more often detected in comparison with reference values: an increase in the C3 component of complement (51.6% in the main group compared to 12.5% in the control group), decreased IgG (24.2% compared to 6.2%) and increased IgA (22.6% compared to 6.2%). Associations were identified between the lead blood level and the number of lymphocytes, the level of IgG, between work experience in contact with lead and the level of MCP-1 and C3 complement components. The results of the studies revealed the presence of changes in the immune status markers of workers at a lead recycling plant, which demonstrate a proinflammatory effect of lead and an influence on the humoral immune status. The identified changes in immunological parameters may underlie the mechanisms of formation of pathological conditions associated with lead exposure, which determines the relevance of continuing research to assess dynamic changes in immunological parameters and develop a system for monitoring the immune status of workers exposed to lead and its compounds to optimize preventive measures.

Keywords: lead, lead exposure, immune status, immunoglobulins, cytokines, complement system

Введение

Иммунная система является одной из систем, наиболее подверженных воздействию различных факторов внешней среды, в том числе и производственных. При этом в патогенезе заболеваний, ассоциированных с воздействием вредных производственных факторов, важное значение имеют нарушения в функционировании иммунной системы. В эпоху персонализированной медицины мониторинг потенциального воздействия производственных факторов, влияющих на иммунную систему, может способствовать индивидуальному подходу к профилактике наруше-

ний состояния здоровья, связанных с профессиональной деятельностью.

Свинец является одним из металлов, включенных ВОЗ в список приоритетных загрязнителей. Международные организации выдвигают все новые и новые инициативы по минимизации риска воздействия этого тяжелого металла и его производных на здоровье человека и окружающую среду [4]. Свинец обладает кумулятивным эффектом и оказывает токсическое действие на различные органы и системы, в том числе и на иммунную. Экспериментальные и клинические исследования доказывают негативное воздействие соединений свинца как на клеточный, так

и гуморальный врожденный и приобретенный иммунитет, роль свинца в развитии дисбаланса цитокинов [5, 6, 8, 9, 11, 12, 14].

Экспериментальные исследования на лабораторных животных демонстрируют ослабление сопротивляемости бактериальной инфекции, индукцию образования аутоантител под воздействием свинца [11, 13]. Имеются данные об индукции свинцом реакций гиперчувствительности I типа [5, 11], повышенной восприимчивости к острым респираторным заболеваниям у работников, подвергающихся воздействию свинца [13], ассоциации уровня свинца в крови с вероятностью наличия некоторых хронических инфекционных заболеваний и изменением микробиоты [3, 7].

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что влияние хронического воздействия свинца может привести как к стимуляции, так и подавлению иммунной системы [8, 12], лежащих в основе иммунопатологических процессов, при этом направленность иммунного ответа может определяться длительностью и степенью воздействия свинца.

Таким образом, имеющиеся данные позволяют рассматривать воздействие свинца как фактор, потенцирующий развитие иммунопатологических процессов, лежащих в основе иммунодефицитных состояний, аутоиммунной и аллергической патологии. В связи с этим актуальным является изучение влияния хронического воздействия свинца и его соединений на иммунный статус работников современных предприятий по переработке свинца, в которых, несмотря на усовершенствования технологических процессов, проведение санитарно-технических мероприятий концентрация свинца в воздухе рабочей зоны остается выше предельно допустимой концентрации (ПДК) [2].

Цель работы – оценить изменения показателей иммунного статуса у работников предприятия по вторичной переработке свинецсодержащих изделий.

Материалы и методы

Основная группа включала 62 мужчин в возрасте от 30 до 66 лет, медиана возраста – 40,5 (36; 48) лет, работающих на предприятии по переработке свинецсодержащих изделий (преимущественно аккумуляторов), со стажем от 1 до 14 лет, медиана стажа 8 (4; 10) лет.

Обследованные основной группы представлены лицами различных профессий, подвергающихся в процессе своей профессиональной деятельности воздействию свинца: 43,5% – плавильщики, 25,8% – слесари, 12,9% – мастера участка плавки и рафинирования свинца, 6,5% – машинисты крана, 4,8% – электромонтеры, по

3,2% – электрогазосварщики, мастера по ремонту металлургического оборудования. Уровень свинца в воздухе рабочей зоны основных производственных помещений составлял $0,05500 \pm 0,01375$ мг/м³ (ПДК – 0,05 мг/м³).

Контрольная группа включала 47 мужчин в возрасте от 31 до 69 лет, медиана возраста – 42 (37; 48) лет, работающих вне контакта с вредными производственными факторами.

Уровень свинца в крови определяли с помощью многоканального атомно-абсорбционного спектрометра AAnalyst 800 с электротермической атомизацией (референтные значения – до 40 мкг/дл). Клинический анализ крови выполнен на автоматическом гематологическом анализаторе Sysmex XN-1000. Уровни цитокинов (IL-1 β , IL-10, IL-8, MCP-1) и иммуноглобулинов А, М, G определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов АО «Вектор-Бест». Уровни С3 и С4 компонентов комплемента исследовали методом иммунотурбидиметрии с использованием наборов реагентов DiaSys.

Проведение исследования одобрено заключением локального комитета по этике ФГБНУ «НИИ МТ» (протокол № 5 от 02.08.2023 г.).

Статистический анализ проведен с использованием программы Statistica 10.0. Количественные данные представлены в виде медианы и квартилей: Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$), где Me – медиана, $Q_{0,25}$ – нижний квартиль, $Q_{0,75}$ – верхний квартиль. Наличие различий между группами по количественным данным определялось с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни, по качественным признакам – с использованием критерия хи-квадрат, при значении ожидаемых частот менее 10 применялась поправка Йетса. Анализ взаимосвязей между количественными переменными проводился на основании расчета непараметрического коэффициента корреляции Спирмена (r).

Результаты и обсуждение

Уровень свинца в крови у лиц основной группы составил 38,9 (31,2-51,9) мкг/дл, в 46,8% выявлено превышение по сравнению с референтными значениями, что подтверждает наличие экспозиции к свинцу в данной группе. По результатам выполненных исследований показано, что у лиц, не контактирующих со свинцом, уровень свинца в крови составляет 5,6 (3,8-7,8) мкг/дл.

При проведении сравнительного анализа показателей клинического анализа крови между обследованными группами выявлено более высокое количество лейкоцитов у работников предприятия по вторичной переработке свинца по сравнению с контрольной группой, отличия выявлены

по абсолютному количеству нейтрофилов, лимфоцитов и моноцитов, различий по относительному количеству клеток различных популяций не выявлено (табл. 1). При анализе зависимости лейкоцитарных показателей от уровня свинца в крови выявлено достоверно ($p = 0,035$) более высокое количество лимфоцитов при уровне свинца больше 40 мкг/дл – 2,9 (2,55-3,25) $\times 10^9$ /л, чем

при уровне свинца в пределах референтных значений – 2,56 (2,24-2,95) $\times 10^9$ /л, зависимости от стажа работы в контакте со свинцом не выявлено.

При сравнении уровней цитокинов в основной группе выявлены более высокие концентрации хемокина IL-8, играющего важную роль в регуляции воспалительного процесса, по сравнению с контрольной группой (табл. 1). Взаимосвя-

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ ИММУННОГО СТАТУСА У ОБСЛЕДОВАННЫХ ГРУПП

TABLE 1. MARKERS OF IMMUNE STATUS IN THE EXAMINED GROUPS

Показатель Indicator	Основная группа Main group	Контрольная группа Control group	Уровень значимости Significance level
WBC, $\times 10^9$ /л WBC, $\times 10^9$ /L	8,5 (6,92-9,75)	6,95 (5,86-8,47)	$p < 0,001$
Нейтрофилы, $\times 10^9$ /л Neutrophils, $\times 10^9$ /L	4,26 (3,59-5,63)	3,98 (3,21-4,56)	$p = 0,034$
Лимфоциты, $\times 10^9$ /л Lymphocytes, $\times 10^9$ /L	2,65 (2,32-3,23)	2,23 (1,93-2,63)	$p = 0,001$
Моноциты, $\times 10^9$ /л Monocytes, $\times 10^9$ /L	0,8 (0,69-0,97)	0,65 (0,53-0,74)	$p < 0,001$
Эозинофилы, $\times 10^9$ /л Eosinophils, $\times 10^9$ /l	0,13 (0,10-0,22)	0,15 (0,07-0,23)	$p = 0,755$
Базофилы, $\times 10^9$ /л Basophils, $\times 10^9$ /L	0,04 (0,02-0,06)	0,04 (0,03-0,05)	$p = 0,993$
Нейтрофилы, % Neutrophils, %	52,5 (47,6-61,2)	55,2 (48,6-60,7)	$p = 0,457$
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	33,7 (25,5-39,8)	33,2 (29,9-36,9)	$p = 0,694$
Моноциты, % Monocytes, %	9,9 (8,2-11,6)	8,8 (7,7-10,1)	$p = 0,1$
Эозинофилы, % Eosinophils, %	1,7 (1,1-2,9)	2,0 (1,1-3,2)	$p = 0,479$
Базофилы, % Basophils, %	0,5 (0,3-0,8)	0,55 (0,4-0,7)	$p = 0,314$
IL-1 β , пг/мл IL-1 β , pg/mL	0,44 (0,1-2,0)	1,1 (0,10-3,38)	$p = 0,538$
IL-10, пг/мл IL-10, pg/mL	3,2 (2,25-4,84)	2,88 (1,42-3,68)	$p = 0,319$
IL-8, пг/мл IL-8, pg/mL	11,43 (8,32-16,66)	8,58 (7,75-12,10)	$p = 0,036$
МСР-1, пг/мл MCP-1, pg/mL	298,2 (248,3-399,3)	330,1 (244,7-397,0)	$p = 0,488$
С3 компонент комплемента, г/л C3 complement component, g/L	1,86 (1,52-2,23)	1,33 (1,09-1,65)	$p < 0,001$
С4 компонент комплемента, г/л C4 complement component, g/L	0,28 (0,20-0,31)	0,22 (0,18-0,27)	$p = 0,002$
IgA, г/л IgA, g/L	2,49 (2,06-4,37)	2,29 (2-3)	$p = 0,074$
IgM, г/л IgM, g/L	1,05 (0,69-1,41)	1,26 (0,95-1,72)	$p = 0,023$
IgG, г/л IgG, g/L	10,5 (7,51-11,63)	10,66 (9,25-11,80)	$p = 0,461$

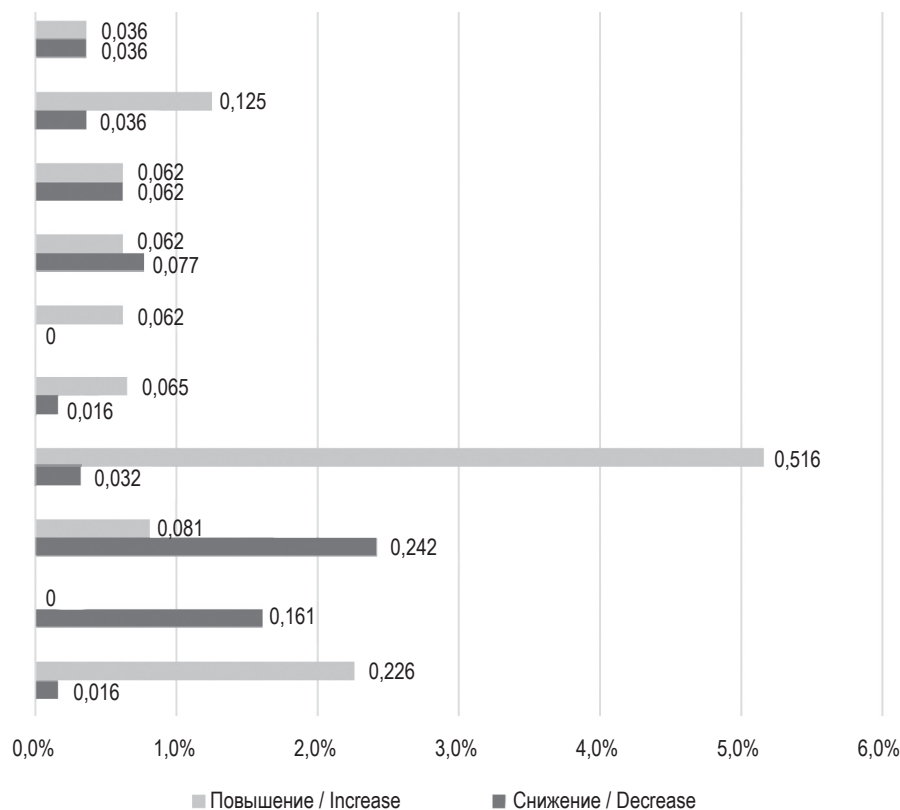


Рисунок 1. Частота изменений уровней иммуноглобулинов и компонентов комплемента по сравнению с референтными значениями в обследованных группах

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

Figure 1. Frequency of changes in the levels of immunoglobulins and complement components compared with the reference values in the examined groups

Note. *, $p < 0.05$ compared to the control group.

зей между уровнями цитокинов и концентрацией свинца в крови не выявлено, имеется ассоциация уровня МСР-1 со стажем работы: при стаже до 10 лет уровень данного хемокина достоверно ($p < 0,001$) ниже – 262,7 (233,3–332,2) пг/мл по сравнению с обследованными со стажем 10 и более лет – 399,3 (290,9–459,4) пг/мл.

Уровни компонентов системы комплемента С3 и С4 достоверно выше в основной группе, чем в контрольной (табл. 1). При этом при оценке частоты изменения показателей по сравнению с референтными значениями показано, что различия между группами есть только по повышению уровня С3 компонента комплемента по сравнению с референтными значениями, выявленному в 51,6% в основной группе и в 12,5% в контрольной (рис. 1). Также показано, что повышение уровня С3 компонента систем комплемента более выражено при большем стаже работы в контакте со свинцом ($p = 0,049$): при стаже до 10 лет уровень С3-комплемента – 1,72 (1,41–2,17) г/л, при стаже 10 и более лет – 2,12 (1,61–2,38) г/л.

Таким образом, выявленные различия иммунологических показателей между основной и контрольной группами, зависимости от уровня свинца в крови и стажа работы свидетельствуют об активации воспалительного процесса у работающих в контакте со свинцом и его соединениями, что подтверждает имеющиеся данные о наличии у свинца провоспалительного эффекта [8, 9, 14]. При этом хроническое воспаление может инициировать развитие заболеваний или усугубить имеющиеся, в патогенезе которых важное значение играет воспалительный процесс.

При оценке различий в концентрации показателей гуморального иммунитета между обследованными группами выявлены более низкие уровни IgM в основной группе (табл. 1). При анализе частоты изменений уровней иммуноглобулинов в сравнении с референсным диапазоном в обследованных группах различий по проценту обследованных со сниженным IgM в основной и контрольной группах не выявлено (рис. 1), продемонстрировано увеличение обследованных в

основной группе со сниженными уровнями IgG (24,2%) и с повышенными уровнями IgA (22,6%) по сравнению с процентом лиц с данными изменениями в контрольной группе.

При анализе наличия взаимосвязей между уровнями иммуноглобулинов и концентрацией свинца выявлена отрицательная корреляционная взаимосвязь уровня IgG с содержанием свинца в крови ($r = -0,298$, $p = 0,019$), что подтверждает влияние воздействия свинца на состояние гуморального иммунитета. При анализе уровней IgG у лиц основной группы в зависимости от содержания свинца в крови показано, что у обследованных с уровнем свинца более 40 мкг/дл концентрация IgG составляла 8,96 (6,86-11,23) г/л, что достоверно ($p = 0,01$) ниже, чем у лиц с уровнем свинца менее 40 мкг/дл – 10,94 (9,64-14,14) г/л.

Таким образом, снижение IgG и IgM при воздействии свинца можно рассматривать как признак иммуносупрессивного действия свинца на гуморальный иммунитет, которое демонстрировали ранее проведенные исследования [5, 6], повышение IgA можно рассматривать как ответную реакцию на воздействие свинецсодержащего аэрозоля на дыхательные пути. Полученные данные согласуются с работами, демонстрирующими изначальное повышение уровней иммуно-

глобулинов в сыворотке при производственном контакте со свинцом и последующее снижение при развитии свинцовой интоксикации [1, 10], что может свидетельствовать о нарушении адаптационных механизмов при воздействии свинца на иммунную систему при увеличении степени воздействия тяжелого металла на организм, что проявляется недостаточностью гуморального иммунитета.

Заключение

Результаты проведенных исследований выявили наличие изменений показателей иммунного статуса у работников свинецперерабатывающего предприятия, которые демонстрируют наличие у свинца провоспалительного эффекта, влияния на гуморальный иммунный статус. Выявленные изменения иммунологических показателей могут лежать в основе механизмов формирования патологических состояний, ассоциированных с воздействием свинца, что определяет актуальность продолжения исследований по оценке изменения иммунологических показателей в динамике и разработке системы мониторинга состояния иммунного статуса у работающих в контакте со свинцом и его соединениями для оптимизации профилактических мероприятий.

Список литературы / References

1. Вертелецкая М.И., Боброва И.В., Махнева С.А., Болотнова Т.В. Нарушения иммунной системы у стажированных рабочих и больных хронической свинцовой интоксикацией // Тюменский медицинский журнал, 2013. № 2. С. 7-8. [Verteletskaya M.I., Bobrova I.V., Makhneva S.A., Bolotnova T.V. Disorders of the immune system in interned workers and patients with chronic lead intoxication. *Tyumenskiy meditsinskiy zhurnal = Tyumen Medical Journal*, 2013, no. 2, pp. 7-8. (In Russ.)]
2. Кузьмина Л.П., Соркина Н.С., Хотулева А.Г., Безрукавникова Л.М., Артемова Л.В. Проблема «свинец и здоровье работающих» в условиях современного производства // Медицина труда и промышленная экология, 2018. № 4. С. 14-18. [Kuzmina L.P., Sorkina N.S., Khotuleva A.G., Bezrukavnikova L.M., Artemova L.V. The problem "lead and health of workers" in the conditions of modern industry. *Meditina truda i promyshlennaya ekologiya = Journal of Occupational Health and Industrial Ecology*, 2018, no. 4, pp. 14-18. (In Russ.)]
3. Островская С.С., Шаторная В.Ф. Иммунологические аспекты воздействия свинца и кадмия на организм // Вісник проблем біології і медицини, 2017. № 2. С. 20-24. [Ostrovskaya S.S., Shatornaya V.F. Immunological aspects of the impact of lead and cadmium on the body. *Vestnik problem biologii i meditsini = Bulletin of Problems in Biology and Medicine*, 2017, no. 2, pp. 20-24. (In Russ.)]
4. Хамидулина Х.Х., Давыдова Ю.О. Международное регулирование свинца и его соединений // Гигиена и санитария, 2013. № 6. С. 57-59. [Khamidulina Kh.Kh., Davydova Yu.O. International regulation of the lead and its compounds. *Gigiena i sanitariya = Hygiene and Sanitation*, 2013, no. 6, pp. 57-59. (In Russ.)]
5. Шейбак В.М., Павлюковец А.Ю. Иммунотоксические и иммунорегуляторные эффекты воздействия свинца на организм млекопитающих // Проблемы здоровья и экологии, 2012. Т. 31, № 1. С. 120-125. [Sheibak V.M., Pavliukovets A.Y. Immunotoxic and immunoregulatory effects of lead impact on mammals. *Problemy zdorovya i ekologii = Health and Ecology Issues*, 2012, Vol. 31, no. 1, pp. 120-125. (In Russ.)]
6. Ebrahimi M., Khalili N., Razi S., Keshavarz-Fathi M., Khalili N., Rezaei N. Effects of lead and cadmium on the immune system and cancer progression. *J. Environ. Health Sci. Eng.*, 2020, Vol. 18, no. 1, pp. 335-343.

7. Eggers S., Safdar N., Malecki K.M. Heavy metal exposure and nasal *Staphylococcus aureus* colonization: analysis of the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). *Environ. Health*, 2018, Vol. 17, no. 1, 2. doi: 10.1186/s12940-017-0349-7.
8. Goyal T., Mitra P., Singh P., Sharma S., Purohit P., Sharma P. Effect of occupational co-exposure to lead and cadmium on selected immunomodulatory cytokines. *Toxicol. Ind. Health.*, 2022, Vol. 38, no. 1, pp. 1-10.
9. Metryka E., Chibowska K., Gutowska I., Falkowska A., Kupnicka P., Barczak K., Chlubek D., Baranowska-Bosiacka I. Lead (Pb) exposure enhances expression of factors associated with inflammation. *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, Vol. 19, no. 6, 1813. doi: 10.3390/ijms19061813.
10. Mishra K.P., Chauhan U.K., Naik S. Effect of lead exposure on serum immunoglobulins and reactive nitrogen and oxygen intermediate. *Hum. Exp. Toxicol.*, 2006, Vol. 25, no. 11, pp. 661-665.
11. Mishra K.P. Lead exposure and its impact on immune system: a review. *Toxicol. In Vitro*, 2009, Vol. 23, no. 6, pp. 969-972.
12. Mishra K.P., Rani R., Yadav V.S., Naik S. Effect of lead exposure on lymphocyte subsets and activation markers. *Immunopharmacol Immunotoxicol.*, 2010, Vol. 32, no. 3, pp. 446-449.
13. Suzuki T., Hidaka T., Kumagai Y., Yamamoto M. Environmental pollutants and the immune response. *Nat. Immunol.*, 2020, Vol. 21, no. 12, pp. 1486-1495.
14. Valentino M., Rapisarda V., Santarelli L., Bracci M., Scorcelletti M., Di Lorenzo L., Cassano F., Soleo L. Effect of lead on the levels of some immunoregulatory cytokines in occupationally exposed workers. *Hum. Exp. Toxicol.*, 2007, Vol. 26, no. 7, pp. 551-556.

Авторы:

Кузьмина Л.П. — д.б.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, заместитель директора по научной работе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова», Москва, Россия

Хотулева А.Г. — к.м.н., старший научный сотрудник ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова», Москва, Россия

Authors:

Kuzmina L.P., PhD, MD (Biology), Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Izmerov Research Institute of Occupational Health, Moscow, Russian Federation

Khotuleva A.G., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Izmerov Research Institute of Occupational Health, Moscow, Russian Federation

Цидильковская Э.С. — к.м.н., старший научный сотрудник ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова», Москва, Россия

Tsidilkovskaya E.S., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Izmerov Research Institute of Occupational Health, Moscow, Russian Federation

Коляскина М.М. — к.м.н., старший научный сотрудник ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова», Москва, Россия

Kolyaskina M.M., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Izmerov Research Institute of Occupational Health, Moscow, Russian Federation

Поступила 29.03.2024
Принята к печати 02.04.2024

Received 29.03.2024
Accepted 02.04.2024

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ С ВКЛЮЧЕНИЕМ КОМПОНЕНТОВ ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ БУРЫХ ВОДОРОСЛЕЙ

Супрун С.В.¹, Супрун Е.Н.^{1,2}, Телепнева Р.С.¹, Наговицына Е.Б.¹,
Лебедько О.А.¹

¹ Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства – Хабаровский филиал ФГБНУ
«Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания, г. Хабаровск, Россия

² ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет», г. Хабаровск, Россия

Резюме. Бронхиальная астма (БА) является одним из самых распространенных хронических заболеваний легких у детей, частота встречаемости достигла 15% среди детской популяции населения Земли и в последние десятилетия не имеет тенденции к снижению на разных уровнях. Классическая базисная терапия БА направлена на купирование ее основного механизма – воспаления, в первую очередь атопического, и позволила получить значимые положительные результаты в лечении заболевания, что привело к снижению тяжести течения БА. Однако доля больных, у которых достигнут контроль БА, не превышает 30%, полный контроль достигается лишь у 5%. Такая ситуация связана с влиянием различных модифицируемых экзо- и эндогенных неспецифических, неатопических факторов на патогенез БА, приводит к поиску возможных дополнительных методов коррекции. Несмотря на выявленные биологические, иммуномодулирующие свойства компонентов бурых водорослей, механизмы их действия особенно при БА освещены недостаточно, что стало целью данного исследования – определение возможного иммуномодулирующего эффекта продукта функционального питания у детей с БА, впервые созданного именно для детского возраста в виде напитка «ДороМарин» на основе бурых водорослей (ламинарии Дальневосточной) и его использования дополнительно к стандартной терапии для улучшения контроля течения данного заболевания.

Комплексно было обследовано 56 детей с БА в возрасте от 5 до 17 лет, разделенных на 2 группы: получавшие дополнительно к стандартной терапии функциональный продукт питания (n = 20) и получавшие только стандартную терапию (n = 36). Лабораторные исследования включали ОАК,

Адрес для переписки:

Супрун Стефания Викторовна
Научно-исследовательский институт охраны
материнства и детства
680022, Россия, г. Хабаровск, ул. Воронежская, 49.
Тел.: 8 (914) 543-47-13.
Факс: 8 (4212) 70-05-91;
E-mail: stefanya-suprun@yandex.ru

Address for correspondence:

Stefaniya V. Suprun
Research Institute of Maternity and Childhood Protection
49 Voronezhskaya St
Khabarovsk
680022 Russian Federation
Phone: +7 (914) 543-47-13.
Fax: +7 (4212) 70-05-91.
E-mail: stefanya-suprun@yandex.ru

Образец цитирования:

С.В. Супрун, Е.Н. Супрун, Р.С. Телепнева,
Е.Б. Наговицына, О.А. Лебедько «Клинико-
иммунологическая эффективность комплексной
терапии бронхиальной астмы у детей с включением
компонентов дальневосточных бурых водорослей»
// Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27,
№ 3. С. 707-716.
doi: 10.46235/1028-7221-16735-CAI

© Супрун С.В. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

S.V. Suprun, E.N. Suprun, R.S. Telepneva, E.B. Nagovitsina,
O.A. Lebedko "Clinical and immunological efficacy of complex
therapy for bronchial asthma in children with the inclusion
of components of far eastern brown algae", Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024,
Vol. 27, no. 3, pp. 707-716.
doi: 10.46235/1028-7221-16735-CAI

© Suprun S.V. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16735-CAI

иммунограмму, определение ИФА методом цитокинов (IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-18, TNF α), МПМ ИКК крови, ДНК герпесвирусов. На фоне комплексного лечения отмечались изменения интерлейкинового профиля (IL-6, IL-10, IL-18), характерные для снижения интенсивности воспалительных процессов, в том числе неспецифических, выраженных в тенденции к снижению общего числа лимфоцитов, увеличению иммунорегуляторного индекса как за счет роста количества Т-хелперов, так и снижения Т-киллеров. Это подтвердилось снижением моноцитов, СОЭ. Улучшение энергообеспеченности иммунокомпетентных клеток крови (гранулоцитов и моноцитов), снижение числа пациентов с активной репликацией ВЭБ, вируса герпеса 6-го типа свидетельствуют о его иммуномодулирующем действии. Результатом этих изменений явилась положительная клиническая динамика показателей контроля над БА, что позволяет рекомендовать включение продукта функционального питания на основе бурых Дальневосточных водорослей дополнительно к стандартной терапии детям с БА в возрасте 5-17 лет.

Ключевые слова: бронхиальная астма, дети, водоросли, иммуномодуляция, контролируемое течение, вирусы группы герпеса

CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL EFFICACY OF COMPLEX THERAPY FOR BRONCHIAL ASTHMA IN CHILDREN WITH THE INCLUSION OF COMPONENTS OF FAR EASTERN BROWN ALGAE

Suprun S.V.^a, Suprun E.N.^{a, b}, Telepneva R.S.^a, Nagovitsina E.B.^a, Lebedko O.A.^a

^a *Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Khabarovsk, Russian Federation*

^b *Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russian Federation*

Abstract. Classical basic therapy for asthma is aimed at stopping inflammation, primarily atopic, and has achieved significant positive results in the treatment of the disease, which has led to a decrease in the severity of asthma. The proportion of patients in whom asthma control is achieved does not exceed 30%; complete control is achieved in 5%, that is associated with the influence non-atopic factors on the pathogenesis of BA, leading to the search for additional methods of correction. Despite the identified biological, immunomodulatory properties of the components of brown algae, the mechanisms of their action, in asthma, are not sufficiently illuminated, which became the purpose of this study: to determine the possible immunomodulatory effect of a functional food product in children with asthma based on brown algae (Far Eastern kelp) and its use in addition to standard therapy to improve control of the course of this disease. Children with asthma (n = 56) aged from 5 to 17 years were comprehensively examined and divided into 2 groups: those who received a functional food product in addition to standard therapy (n = 20) and those who received only standard therapy (n = 36). Laboratory tests included CBC, immunogram, cytokines (IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-18, TNF α), blood ICC MPM, and herpesvirus DNA. Against the background of complex treatment, changes in the interleukin profile (IL-6, IL-10, IL-18) were noted, characteristic of a decrease in the intensity of inflammatory processes, including nonspecific ones, expressed in a tendency towards a decrease in the total number of lymphocytes, an increase in the immunoregulatory index both due to an increase in the number of T helper cells and and reduction of killer T cells. This was confirmed by a decrease in monocytes and ESR. Improved energy supply of immunocompetent blood cells (granulocytes and monocytes), a decrease in the number of patients with active replication of EBV and herpes virus type 6 indicate its immunomodulatory effect. The result of these changes was the positive clinical dynamics of asthma control indicators, which allows us to recommend the inclusion of a functional food product based on Far Eastern brown algae in addition to standard therapy for children with asthma aged 5-17 years.

Keywords: bronchial asthma, children, algae, immunomodulation, controlled course, herpes viruses

Введение

Бронхиальная астма (БА) является одним из самых распространенных хронических заболеваний легких у детей. В последние десятилетия отмечается рост распространенности БА, и к настоящему времени ее частота встречаемости достигла 15% среди детской популяции населения Земли, Россия в целом [3] и Хабаровский край, в частности, не составляют исключения из этой тенденции, что подтверждается двукратным ростом распространенности бронхиальной астмы среди детей (до 14 лет – с 11 до 20% и подростков – с 12 до 25%) Хабаровского края в период с 2005 по 2020 годы [5].

Существующая классическая базисная терапия БА направлена на купирование ее основного механизма – воспаления, в первую очередь атопического, и позволила получить значимые положительные результаты в лечении заболевания, что привело к снижению тяжести течения БА. Однако доля больных, у которых достигнут контроль БА, не превышает 30%, полный контроль достигается лишь у 5%. Даже когда базисная терапия осуществляется под непосредственным наблюдением специалиста, согласно принятым схемам терапии, с бесплатным предоставлением препаратов, в группе больных БА без значимой сопутствующей патологии полного контроля удается добиться лишь у 34% пациентов, хорошего – у 38% и 28% больных остается с неконтролируемым течением патологического процесса [9]. В России имеют место сходные соотношения степеней контроля заболевания [4]. Такая ситуация связана, в том числе, с влиянием различных экзо- и эндогенных неспецифических, неатопических факторов, таких как климат, уровень витамина D в сыворотке крови, микроэлементный состав сыворотки и форменных элементов крови, общее состояние клеточных мембран организма, персистенция герпесподобных вирусов в эпителии дыхательных путей [7, 8] и многие другие на патогенез БА. Это побуждает к поиску возможностей использования дополнительных методов коррекции модифицируемых факторов. Одним из таких методов является применение биологически активных веществ гидробионтов, в частности бурых водорослей, энтеросорбирующее, антиоксидантное и иммунокорректирующее влияние которых известно издревле. Морские водоросли широко применялись человеком в его повседневной жизни, они включались в рацион питания, использовались как лекарство и как косметическое средство. Установлено, что активные элементы морских водорослей всасываются практически полностью, поскольку их состав близок к плазме человека.

Водоросли обладают избирательной кумулятивной способностью, в результате чего в их слоевищах накапливается разнообразный комплекс микроэлементов, концентрация некоторых из них в тканях в десятки (кальций), сотни (бром, хром) и тысячи (йод, цинк, барий) раз превышает их содержание в морской воде, при чем минеральные вещества в биомассе находятся в виде солей и органических комплексов, что облегчает их усвоение человеческим организмом.

Основной химический состав бурых водорослей может быть представлен следующими группами компонентов: минеральные вещества, в том числе микроэлементы; органические вещества: липидно-пигментный комплекс (жирные кислоты, пигменты), полифенольные вещества, азотсодержащие вещества (белки и свободные аминокислоты), структурные углеводы (альгиновые кислоты, фукоидан, целлюлоза), запасные углеводы (маннит, ламинаран) [1] (рис. 1).

Набор и соотношение элементов в составе водорослей близок к таковому в морской воде и организме человека, вследствие этого водоросли способны возмещать нехватку элементов и содействовать нормализации обмена веществ. Также антиоксидантная активность, которой обладают полиненасыщенные жирные кислоты бурых водорослей, превышает активность витамина E в несколько раз. Эти растения содержат необходимые человеку моно- и дийодтирозин, Токсичные продукты метаболизма, радионуклиды и соли тяжелых металлов могут быть удалены из организма человека при участии полисахаридов водорослей [6].

Содержащиеся в бурых водорослях полисахариды не только обладают способностью к сорбции радионуклидов, тяжелых металлов и бактерий, нормализации липидного обмена, активации секреторной и моторной функций кишечника [10], но и могут модулировать различные свойства иммунной системы [2]. Однако конкретные механизмы реализации их иммуномодулирующего действия на различных уровнях регуляции иммунного ответа требуют дальнейшего уточнения.

В связи с этим **целью работы** стало определение возможного иммуномодулирующего эффекта продукта функционального питания у детей с БА, впервые созданного именно для детского возраста в виде напитка на основе бурых водорослей ламинарии дальневосточной гомогенизированной, безалкогольного «ДороМарин» и его использования дополнительно к стандартной терапии для улучшения контроля течения данного заболевания.

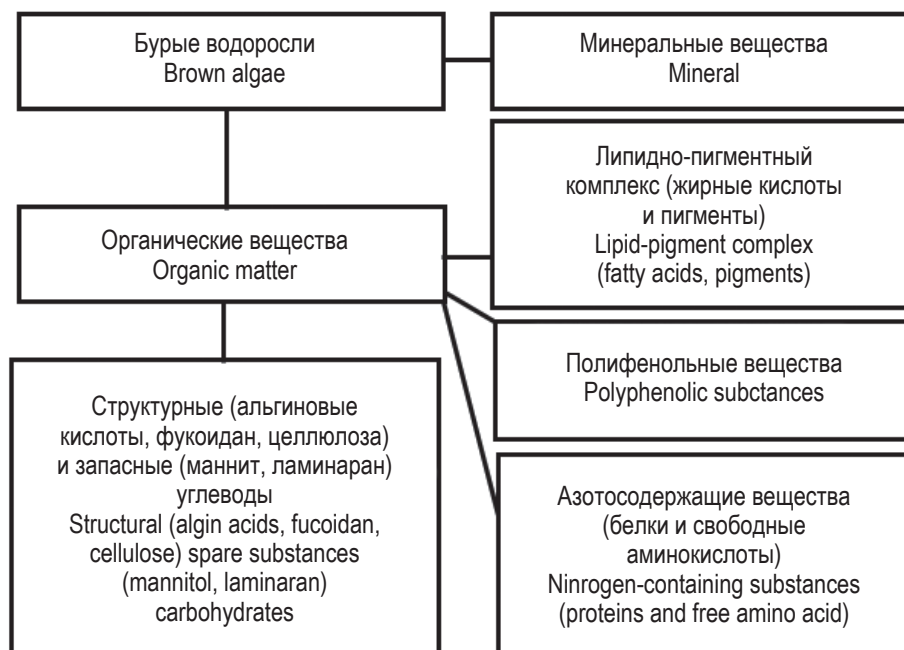


Рисунок 1. Основной химический состав бурых водорослей

Figure 1. Basic chemical composition of brown algae

Материалы и методы

Проведение исследований и отбор групп проводился в период с 21.01.2021 по 18.06.2021 гг. Обследовано 56 детей с БА, поступивших на лечение в педиатрическое отделение клиники НИИ ОмИД и обратившихся на амбулаторный прием в клинику-диагностическое отделение, в возрасте от 5 до 17 лет, средний возраст составил $12,17 \pm 0,83$ года.

Пациентам проводилось стандартное клиническое обследование, при установлении диагноза «БА» определялся уровень контроля с использованием критериев, приведенных в «Клинических рекомендациях по диагностике и лечению БА» [3]. Диагноз формулировался в соответствии с классификацией основных клинических форм заболеваний у детей согласно МКБ-10.

Родители всех пациентов были проинформированы о цели исследования, получено их добровольное информированное согласие на проведение диагностических и лечебных мероприятий. Пациенты были разделены на 2 группы: 1-я группа, основная ($n = 20$) – дети с БА, получавшие дополнительно к стандартной терапии функциональный продукт питания; 2-я группа, сравнения ($n = 36$) – дети с БА, получавшие только стандартную терапию (36 пациентов).

Дополнительная коррекция включала продукт функционального питания для детей – напиток безалкогольный «ДороМарин» на основе бурых водорослей – ламинарии дальневосточной гомогенизированной с добавлением нату-

рального сока зеленых яблок (Разрешительные документы: Сертификат соответствия № РОСС RU.НВ61.Н11693 от 11.08.2020 г., срок действия по 10.08.2023 г.; Свидетельство о государственной регистрации № KZ.16.01.98.007.E.000627.07.18 от 31.07.2018 г., выданного на основе Экспертного заключения Экспертного совета по регистрации биологически активных добавок к пище, детского питания, пищевых добавок и других продуктов № 12/ЭК-0999-18 от 27.05.2018 г.).

Функциональный продукт питания использовался в течение 2 месяцев по следующей схеме:

- детям с массой тела 20-50 кг – 10 мл × 2 раза в день утром за 20-30 мин до еды и вечером через 1,5-2 часа после еды;
- более 50 кг – 15 мл × 2 раза в день утром за 20-30 мин до еды и вечером через 1,5-2 часа после еды.

Для регистрации каких-либо побочных явлений прием продукта был начат в условиях круглосуточного или дневного стационара клиники с последующим продолжением употребления в домашних условиях под контролем родителей. Для оценки эффективности иммунокоррекции через 2 месяца получения продукта проведено повторное обследование детей в динамике по тем же клинико-лабораторным параметрам.

Исследовали общий анализ крови на автоматическом анализаторе МЕК – 7300 К (Япония), субпопуляции лимфоцитов на цитометре FACSCalibur Becton Dickinson, уровни сывороточных IgA, M, G, E общего, цитокинов (IL-4,

IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-18, TNF α) иммуноферментным методом на автоматическом спектрофотометре Lazurite и с тест-системами АО «Вектор-Бест», активность нейтрофилов крови в спонтанном и стимулированном тестах с частицами латекса, восстановления нистросиний тетразолий тест (НСТ) в формазан, с расчетом индексов («ФАН-тест», «НСТ-тест», «Реа-комплекс», г. Чита). Оценка функционально-энергетического статуса иммунокомпетентных клеток (ИКК) периферической крови (лимфоцитов, моноцитов, гранулоцитов) проводилась методом иммунофенотипирования с определением мембранного потенциала митохондрий (МПМ) на основе регистрации локальных изменений трансмембранного электрохимического потенциала и визуализации митохондрий с низким и высоким потенциалом мембраны на цитометре BD FACS Calibur (США) в программе Cell Quest Pro. Выявление ДНК ВЭБ (Human herpes virus 4 type) и вируса герпеса человека 6-го типа (Human herpes virus 6 type) в мазках из ротоглотки определяли методом ПЦР с применением тест-системы ООО «ИнтерЛабСервис» (Москва) «АмлпСенс®EBN/CMV/HHV6 – скрин-Fl. Детекцию проводили в режиме реального времени с использованием термоциклера С 1000 Touch CFX96 (Bio-Rad, США).

При статистическом анализе результатов исследования использовались стандартные методы с применением пакета программ: STATISTICA 10.0 для Windows (версия 12.0). Достоверность различий между группами оценивали с помощью t-критерия Стьюдента при рядах с нормальным распределением данных и Манна–Уитни в случае ненормального распределения, при сравнении долей использовался Z-критерий.

Исследования проводились в соответствии с принципами текущего пересмотра Хельсинкской декларации (64th WMA General Assembly, Fortaleza, Brazil, October, 2013), при наличии персонального согласия исследуемых и/или их законных представителей. Электронная таблица Excel с первичными данными хранилась под защитой пароля и была доступна только участникам исследования. Дизайн исследования утвержден этическим комитетом ХФ ДНЦ ФПД – НИИ ОМид протокол № 9 от 22.12.2020 г.

Результаты и обсуждение

Анализ показателей общего анализа крови выявил определенные изменения. У детей с БА, получавших «ДороМарин», отмечены некоторые показатели уменьшения воспалительных процессов в виде тенденции к снижению лейкоцитов с $8,2 \pm 0,8 \times 10^9$ до $7,3 \pm 0,5 \times 10^9$, ($p = 0,09$), числа эозинофилов с $5,84 \pm 1,34\%$ до $4,25 \pm 0,76\%$ ($p = 0,09$),

подтверждается достоверным снижением моноцитов ($8,47 \pm 0,36\%$ и $6,81 \pm 0,67\%$, $p = 0,03$), СОЭ $9,11 \pm 1,17$ мм/час и $6,31 \pm 0,85$ мм/час, $p = 0,047$).

Течение воспалительного процесса, в первую очередь, определяется соотношениями сигнальных молекул иммунной системы – цитокинов, именно их содержание в средах организма и микроокружении модулирует дифференцировку специфических иммунокомпетентных клеток и конкретные пути иммунного ответа.

В ходе наших исследований показано значимое влияние функционального продукта питания на основе бурых дальневосточных водорослей «ДороМарина» на интерлейкиновый статус детей с БА (табл. 1).

Значимых различий в уровне IL-4, непосредственно регулирующего атопическое воспаление, не обнаружено. Однако обнаружены достоверные различия в интерлейкинах неспецифического воспаления. Отмечается достоверное, многократное падение (с $40,5$ пг/мл до $0,89$ пк/мл) уровня IL-6, основного интерлейкина неспецифического воспаления в группе сравнения падения достоверно менее выражено; достоверное, многократное падение (с $166,1$ пг/мл до $3,3$ пг/мл) IL-10, блокирующего Th1-тип воспаления и соответственно реципрокно усиливающего Th2-тип, в группе сравнения достоверное снижение отсутствует; достоверный, многократный рост (с $2,36$ пг/мл до $205,5$ пг/мл) IL-18, который прямо ингибирует действие IL-4 и соответственно атопическое воспаление, кроме того он активирует Th1 иммунный ответ, в группе сравнения этот интерлейкин достоверно снижается.

Изменения соотношений цитокиновой сети находят свою реализацию в следующих звеньях иммунитета. При исследовании влияния продукта функционального питания «ДороМарин» на лимфоцитарное звено иммунного ответа у детей с БА получены следующие результаты.

После окончания дополнительного к стандартной терапии приема продукта в лимфоцитарном звене иммунитета не выявилось достоверных различий, но имел место ряд выраженных тенденций: снижение абсолютного количества всех лимфоцитов с $3110,2 \pm 320,47$ до $2889,9 \pm 193,9$.

Для абсолютного числа T-лимфоцитов (CD3) отмечено некоторое падение с $2112,6 \pm 244,7$ до $1999,2 \pm 141,6$ клеток, при этом их процентное содержание до и после коррекции продуктом практически не менялось – $68,6 \pm 1,29\%$ против $69,2 \pm 1,69\%$. Обнаружена тенденция к росту абсолютного числа и процентного содержания T-хелперов (CD4) с $1157,4 \pm 115,8$ до $1193,9 \pm 100,7$ клеток и с $38,6 \pm 1,9\%$ до $41,2 \pm 1,8\%$. Установлено снижение абсолютного числа и процентного содержания T-киллеров (CD 8) с $938,4 \pm 146,6$ до

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА КРОВИ У ДЕТЕЙ ПРИАМУРЬЯ С БА ПРИ ДОПОЛНИТЕЛЬНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПРОДУКТА ПИТАНИЯ

TABLE 1. INDICATORS OF BLOOD CYTOKINE STATUS IN CHILDREN OF THE AMUR REGION WITH ASTHMA WITH ADDITIONAL USE OF A FUNCTIONAL FOOD PRODUCT

Цитокины Cytokines	До приема Before n = 20	После приема After n = 20	t/U (p)	Стандартная терапия Standard therapy (n = 36)	t/U (p)
IL-4, пг/мл IL-4, pg/mL Me (Min-Max) LQ-HQ	2,94 (0,0-26,8) 0,9-2,4	2,54 (0,0-19,1) 1,6-3,4	0,16	3,86 (0,0-28,7) 1,7-8,39	0,22
IL-6, пг/мл IL-6, pg/mL Me (Min-Max) LQ-HQ	40,1 (0,3-112,1) 5,4-84,6	0,89 (0,0-6,4) 0,3-1,5	0,001	16,2 (0,0-52,3) 3,4-30,8	0,001
IL-10, пг/мл IL-10, pg/mL Me (Min-Max) LQ-HQ	166,1 (1,1-311,2) 103,7-200,8	3,3 (0,0-23,1) 2,0-7,5	0,001	150,5 (1,3-211,4) 90,2-185,7	0,001
IL-18, пг/мл IL-18, pg/mL Me (Min-Max) LQ-HQ	2,36 (0,0-9,6) 0,0-3,2	205,5 (1,8-357,3) 137,3-262,2	0,001	1,3 (0,0-8,4) 0,3-2,3	0,001
TNFα, пг/мл TNF α , pg/mL	2,82 \pm 0,43	2,90 \pm 0,31	0,26	5,05 \pm 0,91	0,003

780,3 \pm 62,17 клеток и с 29,9 \pm 1,77% до 27,4 \pm 1,70%. Также снизились абсолютное количество клеток и доля натуральных киллеров (CD 16) с 371,4 \pm 36,12 до 303,8 \pm 35,56 клеток и с 12,75 \pm 1,1% до 10,56 \pm 1,1%. Абсолютное количество и процентное содержание активных В-лимфоцитов не имело различий до и после приема продукта. Имуннорегуляторный индекс (ИРИ) имел четкую тенденцию к росту с 1,436 \pm 0,13 до 1,638 \pm 0,15.

Анализ показателей гуморального звена иммунитета, полученных до и после употребления продукта «ДороМарин», дал следующие результаты. Не обнаружено даже тенденций к изменению в уровне IgA, отвечающего, в первую очередь, за местный иммунитет на уровне слизистых оболочек. Напротив, IgM и IgG имели тенденцию к снижению с 1,91 г/л до 1,82 г/л и с 18,14 г/л до 16,27 г/л. Вероятно, это связано со снижением общей инфекционной нагрузки на фоне использования препарата.

В ходе исследования нейтрофильного фагоцитоза до и после приема «ДороМарина» достоверных различий не обнаружено. Выявлена выраженная тенденция к снижению спонтанной НСТ-теста (с 41,7 \pm 4,8% до 27,8 \pm 3,9%, p = 0,09) и соответственно увеличению фагоцитарного резерва по данному тесту (с 5,94 \pm 2,9% до 16,37 \pm 4,7%, p = 0,08).

Большой интерес представляют не только количественные, но и функциональные показатели иммунокомпетентных клеток крови при бронхиальной астме, поэтому было проведено исследование изменений МПМ этих клеток (табл. 2).

Выявлено достоверное уменьшение доли клеток со сниженным МПМ в пуле гранулоцитов с 16,49 \pm 3,79 до 6,51 \pm 1,56 (p = 0,03) и моноцитов с 26,81 \pm 3,33 до 17,46 \pm 2,71 (p = 0,04), при чем в группе сравнения такого снижения не произошло. Это доказывает положительный эффект дополнительной коррекции использования функционального продукта питания на основе дальневосточных водорослей, при чем именно на функциональную активность клеток местного воспаления, роль которого в патогенезе БА неоднократно подтверждалась.

Противовирусный эффект комплексной терапии у детей с БА был обнаружен при исследовании мазков из ротоглотки на активность персистирующих герпес-инфекций (4-ВЭБ и 6 типов) до и после проводимой коррекции. Частота выделения вирусов герпетической группы у обследованных детей до введения дополнительного продукта составила ВЭБ – 45,0%, герпес 6-го типа – 42,1% (рис. 2).

После получения продукта у детей, страдающих БА и выделявших ДНК вирусов Эпштейна–Барр и герпеса 6-го типа элиминация инфекта

ТАБЛИЦА 2. ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ (%) ИКК КРОВИ СО СНИЖЕННЫМ МПМ У ДЕТЕЙ ПРИАМУРЬЯ С БА ПРИ ДОПОЛНИТЕЛЬНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПРОДУКТА ПИТАНИЯ

TABLE 2. FREQUENCY OF OCCURRENCE (%) OF BLOOD ICC WITH REDUCED MPM IN CHILDREN OF THE AMUR REGION WITH ASTHMA WITH ADDITIONAL USE OF THE FUNCTIONAL FOOD PRODUCT

Blood ICC	До приема Before n = 20	После приема After n = 20	Z (p)	Стандартная терапия Standard therapy (n = 36)	Z (p)
Лимфоциты Lymphocytes	58,25±2,19	57,07±3,44	0,42	56,16±2,46	0,47
Гранулоциты Granulocytes	16,49±3,79	6,51±1,56	0,03	16,32±3,40	0,01
Моноциты Monocytes	26,81±3,33	17,46±2,71	0,04	29,94±3,90	0,03

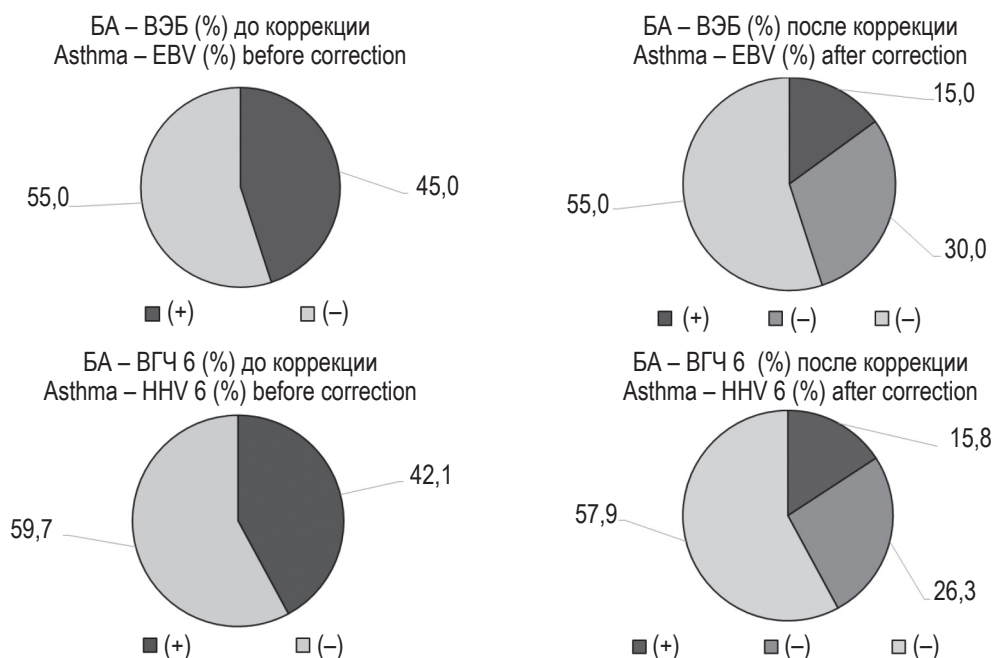


Рисунок 2. Частота выделения вирусов ВЭБ и герпеса 6-го типа у детей Приамурья с бронхиальной астмой при дополнительном использовании продукта функционального питания

Figure 2. Frequency of isolation of EBV and herpes viruses type 6 in children of the Amur region with bronchial asthma with additional use of a functional food product

отмечалась у большинства исследуемых в 66,7% и в 62,5% случаев соответственно.

Вышеописанные иммуностропные свойства продукта «ДороМарин» в группе больных, страдающих БА, привели к выраженному клиническому эффекту (рис. 3).

Процент пациентов с полностью контролируемой БА на фоне его использования вырос более чем в два раза, с 42,1% до 84,6% ($p = 0,003$), в первую очередь за счет детей, у которых заболевание ранее контролировалось частично, их доля упала почти в 6 раз, с 42,1% до 7,7% ($p = 0,006$). Доля

детей с неконтролируемой БА имеет недостоверную тенденцию к снижению с 15,8% до 7,7% ($p = 0,21$). Это подтверждает функциональный характер изменений, происходящих под действием продукта «ДороМарин» в организме пациентов с БА.

Таким образом, иммуномодулирующее действие функционального продукта питания на основе бурых водорослей (ламинарии дальневосточной гомогенизированной), включенного в комплекс дополнительно к стандартной терапии, представлено положительной клинической

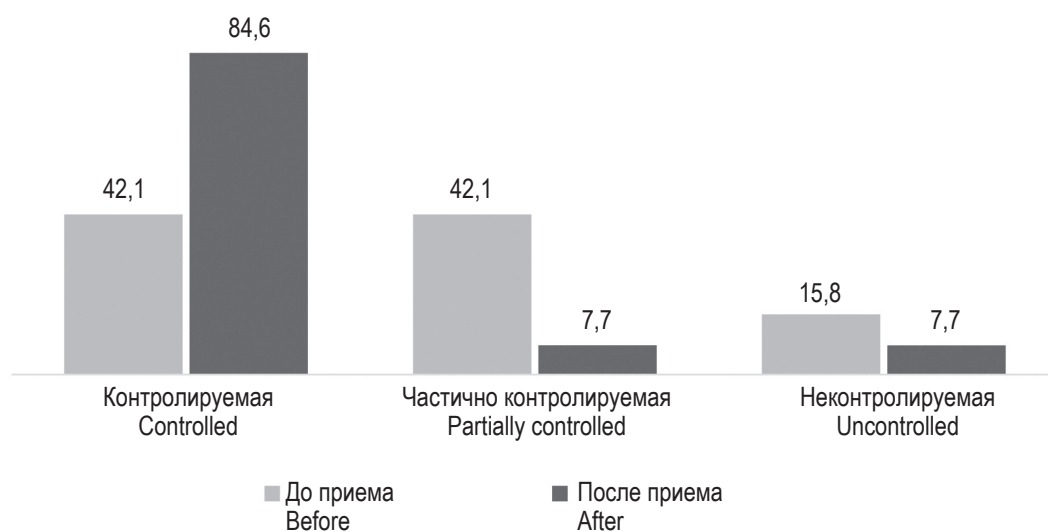


Рисунок 3. Уровень контроля БА (%) у детей Приамурья при дополнительном использовании функционального продукта питания

Figure 3. Level of BA control (%) in children of the Amur region with additional use of a functional food product

лабораторной динамикой при БА у детей и подтвердилось регистрацией патента на изобретение № 2790970 от 28.02.2023.

Заключение

Биологические, в том числе иммуномодулирующие эффекты веществ, содержащиеся в бурых водорослях (ламинарии дальневосточной) подтверждены [1, 10], но их механизмы действия особенно при БА освещены недостаточно. В данной работе на фоне комплексного лечения с включением продукта функционального питания, впервые созданного именно для детского возраста в виде напитка «ДороМарин», отмечались изменения интерлейкинового профиля (IL-6, IL-10, IL-18), характерные для снижения интенсивности воспалительных процессов, в том числе неспецифических, выраженных в тенденции к снижению общего числа лимфоцитов, увеличению иммунорегуляторного индекса как за счет роста количества Т-хелперов, так и сни-

жения Т-киллеров. Это подтвердилось и описанными изменениями в общем анализе крови (снижением моноцитов и СОЭ). Улучшение энергообеспеченности иммунокомпетентных клеток крови (гранулоцитов и моноцитов), снижение числа пациентов с активной репликацией ВЭБ и вируса герпеса 6 типа свидетельствуют о его иммуномодулирующем действии. Результатом этих изменений явилась положительная клиническая динамика показателей контроля над БА. Учитывая полученные данные, для повышения качества лечения и профилактики наиболее распространенных в детской практике иммунозависимых заболеваний бронхолегочной патологии, приводящей к хронизации процесса, в том числе БА, с целью улучшения иммунитета рекомендовать своевременное назначение продукта функционального питания для детей 5-17 лет – напитка на основе бурых дальневосточных водорослей, обладающего научно доказанным иммуномодулирующим действием, с учетом лечебных и профилактических показаний.

Список литературы / References

1. Боголицын К.Г., Каплицин П.А., Ульяновский Н.В., Пронина О.А. Комплексное исследование химического состава бурых водорослей белого моря // Химия растительного сырья, 2012. № 4. С. 153-160. [Bogolitsyn K.G., Kaplin P.A., Ulyanovsk N.V., Pronina O.A. A comprehensive study of the chemical composition of brown algae of the White Sea. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya = Chemistry of Vegetable Raw Materials*, 2012, no. 4, pp. 153-160. (In Russ.)]
2. Ермак И.М., Давыдова В.Н., Аминин Д.Л. Иммуномодулирующая активность каррагинанов из красных водорослей дальневосточных морей. // Тихоокеанский медицинский журнал, 2009. № 3. С. 40-45. [Ermak I.M., Davidova V.N., Aminin D.L., Barabanova A.O., Sokolova E.V., Bogdanovich R.N., Polyakova A.M., Soloviova T.F. Immunomodulating activity of the Far Eastern sea red algae-derived carrageenans. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2009, no. 3, pp. 40-45. (In Russ.)]

3. Клинические рекомендации «Бронхиальная астма» Министерства здравоохранения Российской Федерации. [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://spulmo.ru/upload/kr_bronhastma_2019.pdf. [Clinical recommendations "Bronchial asthma" Ministry of Health of the Russian Federation. [Electronic resource]. Access mode: http://spulmo.ru/upload/kr_bronhastma_2019.pdf (In Russ.)]
4. Леонтьева Н.М., Демко И.В., Собко Е.А., Ищенко О.П. Уровень контроля бронхиальной астмы и приверженность терапии у пациентов молодого возраста // РМЖ. Медицинское обозрение, 2020. Т. 4, № 4. С. 180-185. [Leontyeva N.M., Demko I.V., Sobko E.A., Ishchenko O.P. Level of asthma symptom control and adherence to treatment in young patients. *RMZh. Meditsinskoe obozrenie = Russian Medical Inquiry*, 2020, Vol. 4, no. 4, pp. 180-185. (In Russ.)]
5. О состоянии службы охраны здоровья женщин и детей в Хабаровском крае (статистические материалы) 2020. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://miac.medkhv.ru/federal-reports/>. [On the state of the health protection service for women and children in the Khabarovsk Territory (statistical materials) 2020. [Electronic resource]. Access mode: <https://miac.medkhv.ru/federal-reports/>. (In Russ.)]
6. Семенова Е.В., Билименко А.С., Чеботок В.В. Использование морских водорослей в медицине и фармации // Современные проблемы науки и образования, 2019. № 5. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=29072>. [Semenova E.V., Bilimenko A.S., Chebotok V.V. The use of seaweed in medicine and pharmacy. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*, 2019, no. 5. [Electronic resource]. Access mode: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=29072>. (In Russ.)]
7. Супрун Е.Н., Супрун С.В., Власова М.А., Кудерова Н.И., Евсеева Г.П., Лебедько О.А. Влияние активации вируса Эпштейна-Барр и вируса герпеса человека 6 типа на течение и контроль бронхиальной астмы у детей Приамурья // Инфекция и иммунитет, 2022. Т. 12, № 6. С. 1175-1180. [Suprun E.N., Suprun S.V., Vlasova M.A., Kuderova N.I., Evseeva G.P., Lebed'ko O.A. An impact of activated Epstein-Barr Virus and HHV-6 on the course and control of bronchial asthma in children of the Amur Region. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, Vol. 12, no. 6. pp. 1175-1180. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-AIO-2006.
8. Jaison K., Kumr S.M. The role of environmental factors in acquiring bronchial asthma- A questionnaire based case-control study. *Ann. Trop. Med. Public Health*, 2020, Vol. 23, no. 23. doi: 10.36295/ASRO.2020.2323108.
9. Lee L.K., Ramakrishnan K., Safioti G. Asthma control is associated with economic outcomes, work productivity and health-related quality of life in patients with asthma. *BMJ Open Respir. Res.*, 2020, Vol. 7, no. 1, e000534. doi: 10.1136/bmjresp-2019-000534.
10. Roshia de Souza M.C., Marques C.T., Guerra Dore C.M. Antioxidant activities of sulfated polysaccharides from brown and red seaweeds. *J. Appl. Physiol.*, 2007, Vol. 19, pp. 153-160.

Авторы:

Супрун С.В. — д.м.н., главный научный сотрудник группы медико-экологических проблем здоровья матери и ребенка лаборатории комплексных методов исследования бронхолегочной и перинатальной патологии, Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства — Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания, г. Хабаровск, Россия

Супрун Е.Н. — к.м.н., старший научный сотрудник группы медико-экологических проблем здоровья матери и ребенка лаборатории комплексных методов исследования бронхолегочной и перинатальной патологии; врач — аллерголог-иммунолог, Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства — Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания; доцент кафедры госпитальной и факультетской педиатрии с курсом пропедевтики детских болезней ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет», г. Хабаровск, Россия

Authors:

Suprun S.V., PhD, MD (Medicine), Chief Research Associate of the Group of Health and Environmental Problems of Mother and Child Health, Laboratory of Integral Methods of Bronchopulmonary and Perinatal Pathology, Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Khabarovsk, Russian Federation

Suprun E.N., PhD (Medicine), Senior Research Associate of the Group of Health and Environmental Problems of Mother and Child Health, Laboratory of Integral Methods of Bronchopulmonary and Perinatal Pathology Research, Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; Associate Professor of Department of Hospital and Faculty Pediatrics with a Course of Propaedeutic of Children's Diseases, Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russian Federation

Телепнева Р.С. — научный сотрудник группы медико-экологических проблем здоровья матери и ребенка лаборатории комплексных методов исследования бронхолегочной и перинатальной патологии, Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства — Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания, г. Хабаровск, Россия

Наговицына Е.Б. — к.м.н., старший научный сотрудник группы молекулярно — генетической диагностики лаборатории комплексных методов исследования бронхолегочной и перинатальной патологии, Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства — Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания, г. Хабаровск, Россия

Лебедько О.А. — д.м.н., заведующая лабораторией комплексных методов исследования бронхолегочной и перинатальной патологии, директор Научно-исследовательского института охраны материнства и детства — Хабаровского филиала ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания, г. Хабаровск, Россия

Telepneva R.S., Research Associate of the Group of Health and Environmental Problems of Mother and Child Health, Laboratory of Integral Methods of Bronchopulmonary and Perinatal Pathology Research, Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Khabarovsk, Russian Federation

Nagovitsina E.B., PhD (Medicine), Senior Research Associate of Molecular Genetic Diagnostics Group, Laboratory of Integral Methods of Bronchopulmonary and Perinatal Pathology Research, Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Khabarovsk, Russian Federation

Lebedko O.A., PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory of Integral Methods of Bronchopulmonary and Perinatal Pathology Research, Director of Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Khabarovsk, Russian Federation

Поступила 31.03.2024
Отправлена на доработку 02.04.2024
Принята к печати 23.04.2024

Received 31.03.2024
Revision received 02.04.2024
Accepted 23.04.2024

РОЛЬ ФАКТОРОВ ИММУНИТЕТА В РАЗВИТИИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ

Левкович М.А., Крукиер И.И., Авруцкая В.В.,
Ермолова Н.В., Кравченко Л.В.

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
г. Ростов-на-Дону, Россия

Резюме. Преждевременные роды (ПБ) несут высокий риск развития нарушений нервно-психического развития, когнитивных и соматических проблем у ребенка. Материнская иммунная система играет решающую роль в поддержании физиологической беременности. Однако конкретные механизмы, нарушения развития беременности мало изучены. Недостаточно исследований о роли активации иммунокомпетентных клеток (ИКК) при преждевременных родах, приводящей к сократимости матки. Понимание значимости факторов иммунной системы в формировании преждевременных родов может позволить разработать стратегии пролонгирования беременности и таким образом привести к улучшению перинатальных исходов.

Цель работы – изучить роль иммунных факторов в развитии преждевременных родов.

Было обследовано 70 беременных в III триместре с привычным невынашиванием (ПНБ) и 25 здоровых беременных (контрольная группа).

Наблюдаемые беременные с ПНБ были разделены на две группы: I группа – пациентки, родившие преждевременно (n = 30); II группа – пациентки, родившие в срок (n = 40). Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови изучен методом цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител к: CD3, CD4, CD8, CD16, CD19 (АО «Сорбент», Россия) (FITC), CD11b (Beckman Coulter, США); CD14, CD25, CD69, CD71, CD28, CD107a, HLA-DR (Beckman Coulter, США) (PE). Для создания базы данных и проведения статистического исследования использованы возможности электронной таблицы Excel и пакетов приложений (Megastat и Statistica 6.0). При определении статистической значимости между исследуемыми группами использовался критерий Манна–Уитни для независимых групп и критерий Уилкоксона для зависимых групп.

Модуляция количества и функциональной активности ИКК у пациенток с ПНБ имело значительную корреляцию с исходом беременности. Неадекватная активация иммунной системы является фактором, который может привести к недонашиванию беременности. Прерывание беременности до срока ассоциировано с субпопуляционными сдвигами, усилением активационных потенциалов иммунокомпетентных клеток по сравнению с доношенными родами, что является важной особенностью воспалительной реакции. Выявленные иммунные изменения позволят разработать методы ранней профилактики и новые подходы к лечению этого осложнения беременности.

Ключевые слова: преждевременные роды, T-лимфоциты, маркеры активации, иммунная система

Адрес для переписки:

Левкович Марина Аркадьевна
ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет»
344022, Россия, г. Ростов-на-Дону,
пер. Нахичеванский, 29.
Тел.: 8 (918) 570-64-36.
E-mail: xlma@mail.ru

Address for correspondence:

Marina A. Levkovich
Rostov State Medical University
29 Nakhichevansky Lane
Rostov-on-Don
344022 Russian Federation
Tel.: +7 (918) 570-64-36.
E-mail: xlma@mail.ru

Образец цитирования:

М.А. Левкович, И.И. Крукиер, В.В. Авруцкая,
Н.В. Ермолова, Л.В. Кравченко «Роль факторов
иммунитета в развитии преждевременных родов»
// Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27,
№ 3. С. 717–722.
doi: 10.46235/1028-7221-16928-TRO

© Левкович М.А. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

M.A. Levkovich, I.I. Krukier, V.V. Avrutskaya,
N.V. Ermolova, L.V. Kravchenko “The role of immune
factors in the development of preterm birth”, Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024,
Vol. 27, no. 3, pp. 717–722.
doi: 10.46235/1028-7221-16928-TRO

© Levkovich M.A. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16928-TRO

THE ROLE OF IMMUNE FACTORS IN THE DEVELOPMENT OF PRETERM BIRTH

Levkovich M.A., Krukier I.I., Avrutskaya V.V., Ermolova N.V., Kravchenko L.V.

Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Abstract. Preterm birth (PB) carries a high risk of developing neuropsychological development disorders, cognitive and somatic problems in the child. The maternal immune system plays a critical role in maintaining a physiological pregnancy. However, specific mechanisms and disorders of pregnancy development have been little studied. There is a lack of research on the role of immune competent cell (ICC) activation in preterm labor leading to uterine contractility. Understanding the importance of immune system factors in the formation of preterm birth may allow the development of strategies to prolong pregnancy and, thus, lead to improved perinatal outcomes. The purpose of the work is to study the role of immune factors in the development of preterm birth. Seventy pregnant women in the third trimester with recurrent miscarriage (RPL) and 25 healthy pregnant women (control group) were examined. Observed pregnant women with RPL were divided into two groups: Group I – patients who gave birth prematurely (n = 30); and Group II – patients who gave birth at term (n = 40). The population and subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes was studied by cytofluorimetry using monoclonal antibodies to: CD3, CD4, CD8, CD16, CD19 (JSC "Sorbent", Russia) (FITC), CD11b (Beckman Coulter, USA); CD14, CD25, CD69, CD71, CD28, CD107a, HLA-DR (Beckman Coulter, USA) (PE). To create a database and conduct statistical research, the capabilities of an Excel spreadsheet and application packages (Megastat and Statistica 6.0) were used. When determining statistical significance between the study groups, the Mann-Whitney test was used for independent groups and the Wilcoxon test for dependent groups.

Modulation of the number and functional activity of ICC in patients with RPL had a significant correlation with pregnancy outcome. Inadequate activation of the immune system is a factor that can lead to miscarriage. Termination of pregnancy before term is associated with subpopulation shifts, increased activation potencies of immunocompetent cells compared to full-term birth, which is an important feature of the inflammatory response. The identified immune changes will allow the development of early prevention methods and new approaches to the treatment of this pregnancy complication.

Keywords: preterm birth, T lymphocytes, activation markers, immune system

Введение

Важность проблемы преждевременных родов (ПР) для общественного здравоохранения обусловлена их связью с высоким уровнем детской смертности, а также экономическими последствиями.

Младенцы, родившиеся недоношенными, на протяжении всей жизни страдают от заболеваний, связанных с повышенным риском развития церебрального паралича, умственной отсталости, глухоты, проблем с дыханием и нарушений зрения. Недоношенные новорожденные подвергаются высокому риску заражения инфекциями. Некоторые расстройства, такие как проблемы с чтением или обучением, могут появиться даже в школьном возрасте. Причины преждевременных родов многочисленны, сложны и изучены лишь частично. Медицинские, психосоциальные и биологические факторы могут играть роль в преждевременных родах.

Нарушение иммунной адаптации матери может быть связано с рядом патологий беременно-

сти, в том числе с ПР, возникающими в результате нарушения толерантности плода и матери, а также чрезмерного преждевременного воспаления [2, 4].

Однако процессы нарушения иммунной регуляции, приводящие к преждевременному прерыванию беременности, остаются не ясными. Недостаточно исследований о роли активации иммунокомпетентных клеток (ИКК) при преждевременных родах, приводящей к сократимости матки. Понимание значимости факторов иммунной системы в формировании преждевременных родов может позволить разработать стратегии пролонгирования беременности и таким образом привести к улучшению перинатальных исходов.

Цель работы – изучить роль иммунных факторов в развитии преждевременных родов.

Материалы и методы

Было проведено комплексное обследование беременных женщин. Критериями включения в

исследование были: беременность III триместра. Критериями исключения были тяжелая экстрагенитальная патология, инфекционные заболевания беременной, многоплодная беременность.

Было обследовано 70 беременных в III триместре с привычным невынашиванием (ПНБ) и 25 здоровых беременных (контрольная группа).

Наблюдаемые беременные с ПНБ были разделены на две группы: I группа – пациентки, родившие преждевременно ($n = 30$); II группа – пациентки, родившие в срок ($n = 40$). Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови изучен методом цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител к: CD3, CD4, CD8, CD16, CD19 (АО «Сорбент», Россия) (FITC), CD11b (Beckman Coulter, США); CD14, CD25, CD69, CD71, CD28, CD107a, HLA-DR (Beckman Coulter, США) (PE).

Для создания базы данных и проведения статистического исследования использованы возможности электронной таблицы Excel и пакетов приложений (Megastat и Statistica 6.0). При определении статистической значимости между исследуемыми группами использовался критерий Манна–Уитни для независимых групп и критерий Уилкоксона для зависимых групп.

Результаты и обсуждение

Преждевременные роды у обследованных пациенток сопровождались изменениями показателей иммунитета. Наблюдаемые особенности иммунного статуса пациенток с разными исходами беременности представлены на рисунке 1.

CD8⁺T-клетки являются наиболее часто встречающейся популяцией T-лимфоцитов в компартменте иммунных клеток на границе между матерью и плодом. В обеих исследуемых группах уровень CD8⁺ клеток был выше, чем у женщин, родивших в срок ($p < 0,05$), значительный рост показателя отмечен у пациенток, родивших раньше срока ($p < 0,05$). Наши результаты демонстрируют важность материнских цитотоксических T-лимфоцитов во время поздней беременности и ее осложнений, таких как преждевременные роды.

Натуральные киллерные клетки (NK) играют ключевую роль на протяжении всей беременности, продуцируя цитокины/хемокины, которые индуцируют инвазию трофобласта, ремоделирование тканей, эмбриональное развитие и плацентацию. NK-клетки также могут приобретать цитотоксическую активность и осуществлять иммунную защиту.

Изменения коснулись уровня CD16-клеток, который был максимально выражен у женщин, родивших раньше срока ($p < 0,05$). Иммунная толерантность важна для предотвращения отторже-

ния плода иммунокомпетентными клетками матери, однако иммунная активация также играет важную роль в развитии плаценты и росте плода. С другой стороны, преждевременная активация NK-клеток на поздних сроках беременности может привести к нарушению толерантности в интерфейсе мать-плод и, как следствие, к преждевременным родам [6].

CD69 представляет собой трансмембранный гликопротеин, экспрессирующийся на поверхности лимфоцитов при ранней активации. CD25-альфа-цепь рецептора интерлейкина-2 (IL2RA) является важной молекулой, участвующей в иммунных реакциях, играя решающую роль в их функционировании в регуляции иммунного ответа.

Нарушения в T-клеточном звене у пациенток с ПНБ коснулись активационного потенциала цитотоксических T-лимфоцитов с выраженным увеличением экспрессии CD69 и CD25, наиболее высокие значения данных показателей отмечены в группе преждевременно родивших женщин.

Вовлечение CD69, CD25 может привести к активации NK- и T-лимфоцитов, что в свою очередь усиливает цитотоксичность и синтез провоспалительных цитокинов, неблагоприятных для пролонгирования беременности.

Функциональная активность CD8T-лимфоцитов, оцениваемая по уровню экспрессии CD71, достоверно возростала только у женщин, роды у которых произошли раньше положенного срока ($p < 0,05$). При этом активационные маркеры HLA-DR на цитотоксических T-лимфоцитах демонстрировали повышение у пациенток с различным исходом беременности.

Молекулы HLA-DR участвуют в презентации антигенов, в антигенспецифической активации T-лимфоцитов, необходимы для формирования адекватного иммунного ответа, однако увеличение их экспрессии может отрицательно повлиять на течение беременности.

CD28, молекула костимуляции T-лимфоцитов, принимает участие в активации T-клеток и синтезе IL-2, имеет решающее значение для течения беременности. Однако достоверных различий по уровню CD3⁺CD28⁺ у беременных в исследуемых группах мы не обнаружили.

CD11b, трансмембранный гликопротеин, способствующий адгезии и миграции клеток, играет решающую роль в иммунных воспалительных реакциях [5].

Наши данные показывают избыточную экспрессию CD11b на поверхности CD14⁺ у пациенток, родивших раньше срока ($p < 0,05$), что может привести к увеличению продукции свободных радикалов, провоспалительных цитокинов, оказывая негативное влияние на течение беременности (табл. 1).

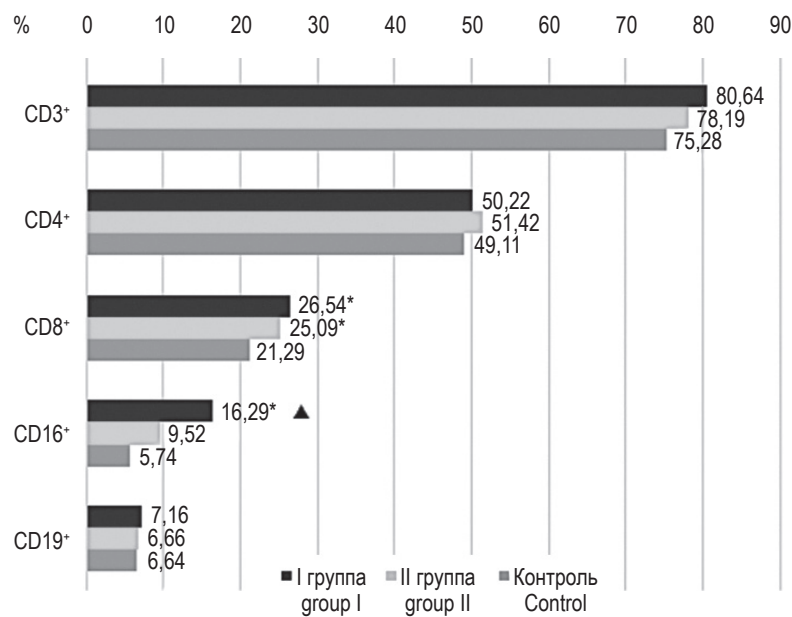


Рисунок 1. Показатели иммунного статуса у пациенток клинических групп

Примечание. * – значение ($p < 0,05$) при сравнении I и контрольной группы; ▲ – значение ($p < 0,05$) при сравнении I и II группы.

Figure 1. Indicators of immune status in patients of clinical groups

Note. *, value ($p < 0.05$) when comparing group I and control group; ▲, value ($p < 0.05$) when comparing groups I and II.

ТАБЛИЦА 1. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

TABLE 1. FUNCTIONAL ACTIVITY OF IMMUNE SYSTEM CELLS

	Клинические группы Clinical groups		
	I группа Group I	II группа Group II	Контроль Control
CD8 ⁺ CD25 ⁺ , %	5,03±0,97* ▲	2,71±0,60*	1,40±0,19
CD8 ⁺ CD69 ⁺ , %	7,10±1,07* ▲	4,41±1,23	2,08±0,20
CD8 ⁺ CD71 ⁺ , %	7,66±1,42* ▲	4,11±0,71	3,84±0,92
CD8 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	9,80±1,36*	9,03±1,26*	6,60±0,14
CD14 ⁺ CD11b ⁺ , %	12,38±1,14*	4,36±0,21	3,19±0,46
CD3 ⁺ CD28 ⁺ , %	11,25±1,34	10,74±6,29	11,62±1,13
CD16 ⁺ CD107a ⁺ , %	5,08±0,54* ▲	2,28±0,09	2,34±0,13

Примечание. * – значение ($p < 0,05$) при сравнении I и контрольной группы; ▲ – значение ($p < 0,05$) при сравнении I и II группы.

Note. *, value ($p < 0.05$) when comparing group I and control group; ▲, value ($p < 0.05$) when comparing groups I and II.

Ассоциированный с лизосомами мембранный белок CD107a (LAMP-1), маркер дегрануляции CD8⁺T-клеток и NK-клеток, представляет собой мембранный белок литических гранул. В нашей работе показатели CD16⁺CD107a⁺ у пациенток

1-й группы превышали показатели контрольной и II группы ($p < 0,05$), что подтверждает роль CD107a в преждевременном прерывании беременности, приводящем к выбросу гранзима и перфорина [7].

Заключение

Таким образом, модуляция количества и функциональной активности ИКК у пациенток с ПНБ имела значительную корреляцию с исходом беременности. Неадекватная активация иммунной системы является фактором, который может привести к недонашиванию беременности. Прерывание беременности до срока ассоциировано с

субпопуляционными сдвигами, усилением активационных потенциалов иммунокомпетентных клеток по сравнению с доношенными родами, что является важной особенностью воспалительной реакции. Выявленные иммунные изменения позволяют разработать стратегии ранней профилактики и новые подходы к лечению этого осложнения беременности.

Список литературы / References

1. Артымук Н.В., Елизарова Н.Н. Факторы риска преждевременного разрыва плодных оболочек у женщин с преждевременными родами в Кемеровской области // *Фундаментальная и клиническая медицина*, 2016. Т. 1, № 2. С. 6-11. [Artyumuk N.V., Elizarova N.N. Risk factors for premature rupture of membranes in women with premature birth in the Kemerovo region. *Fundamentalnaya i klinicheskaya meditsina = Fundamental and Clinical Medicine*, 2016, Vol. 1, no. 2, pp. 6-11. (In Russ.)]
2. Левкович М.А., Нефедова Д.Д., Плахотя Т.Г. Иммунологические предикторы невынашивания беременности в I триместре // *Журнал акушерства и женских болезней*, 2017. Т. 66, № 5. С. 38-39. [Levkovich M.A., Nefedova D.D., Plahot T.G. Immunological predictors of miscarriage in the first trimester. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney = Journal of Obstetrics and Women's Diseases*, 2017, Vol. 66, no. 5, pp. 38-39. (In Russ.)]
3. Крукиер И.И., Авруцкая В.В., Левкович М.А., Нарежная Е.В., Смолянинов Г.В., Ержданян Л.Л., Никашина А.А. Особенности изменения биорегуляторов и органических кислот в сыворотке крови и амниотической жидкости женщин со спонтанными преждевременными родами // *Вестник Российской академии медицинских наук*, 2018. Т. 73, № 6. С. 361-367. [Krukier I.I., Avrutskaya V.V., Levkovich M.A., Narezhnaya E.V., Smolyaninov G.V., Erzhanyan L.L., Nikashina A.A. Features of changes in bioregulators and organic acids in blood serum and amniotic fluid of women with spontaneous premature birth. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2018, Vol. 73, no. 6, pp. 361-367. (In Russ.)]
4. Смирнова А.В., Борзова Н.Ю., Сотникова Н.Ю., Малышкина А.И. Клинико-иммунологические факторы риска очень ранних преждевременных родов // *Проблемы репродукции*, 2020. Т. 26, № 2. С. 113-119. [Smirnova A.V., Borzova N.Yu., Sotnikova N.Yu., Malyshkina A.I. Clinical and immunological risk factors for very early preterm birth. *Problemy reproduksii = Problems of Reproduction*, 2020, Vol. 26, no. 2, pp. 113-119. (In Russ.)]
5. Yougbaré I., Tai W.-Sh., Zdravic D., Oswald B.E., Lang S. Activated NK cells cause placental dysfunction and miscarriages in fetal alloimmune thrombocytopenia. *Nat. Commun.*, 2017, Vol. 8, no. 1, 224. doi: 10.1038/s41467-017-00269-1.
6. Zhang J., Shynlova O., Sabra S., Bang A., Briollais L., Lye S.J. Immunophenotyping and activation status of maternal peripheral blood leukocytes during pregnancy and labour, both term and preterm. *J. Cell. Mol. Med.*, 2017, Vol. 21, no. 10, pp. 2386-2402.

Авторы:

Левкович М.А. — д.м.н., доцент, ведущий научный сотрудник отдела аллергических и аутоиммунных заболеваний, Научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

Крукиер И.И. — д.б.н., ведущий научный сотрудник акушерско-гинекологического отдела, Научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

Authors:

Levkovich M.A., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Leading Research Associate, Department of Allergy and Autoimmune Diseases, Research Institute of Obstetrics and Pediatrics, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Krukier I.I., PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Obstetrics and Gynecology Department, Research Institute of Obstetrics and Pediatrics, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Ермолова Н.В. — д.м.н., доцент, руководитель акушерско-гинекологического отдела, Научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

Авруцкая В.В. — д.м.н., доцент, профессор кафедры акушерства и гинекологии № 2 ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

Кравченко Л.В. — д.м.н., ведущий научный сотрудник педиатрического отдела, Научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

Ermolova N.V., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Head, Obstetrics and Gynecology Department, Research Institute of Obstetrics and Pediatrics, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Avrutskaya V.V., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology No. 2, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Kravchenko L.V., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Department of Pediatrics, Research Institute of Obstetrics and Pediatrics, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Поступила 03.04.2024
Отправлена на доработку 04.04.2024
Принята к печати 17.04.2024

Received 03.04.2024
Revision received 04.04.2024
Accepted 17.04.2024

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОАКТИВНОЙ АНТИРЕТРОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ НА НЕЙРОЭНДОКРИННУЮ РЕГУЛЯЦИЮ ИММУНОГЕНЕЗА У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ

Бахметьев Б.А.¹, Бочаров Г.А.^{2,3}, Зверев С.Я.⁴, Калашникова Н.С.⁴

¹ Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» г. Пермь, Россия

² ФГБУН «Институт вычислительной математики имени Г.И. Марчука» Российской академии наук, Москва, Россия

³ ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

⁴ ГБУЗ «Пермский краевой Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», г. Пермь, Россия

Резюме. Проведен анализ параметров иммунной и эндокринной систем у 84 ВИЧ-инфицированных детей в возрасте от 1 до 182 месяцев. Часть обследованных детей (36 пациентов) не получали высокоактивную антиретровирусную терапию. Остальные (48 пациентов) получали разные варианты антиретровирусной терапии. В образцах венозной крови детей, определяли лейкоцитарный состав. Одновременно определяли концентрацию гормонов. Регистрация экспрессии CD-молекул на лимфоцитах проводилась на проточном цитофлюориметре. Вирусную нагрузку в плазме крови ВИЧ-инфицированных детей количественно определяли методом ПЦР «в реальном времени». Снижение уровней свободного тироксина, кортизола и прогестерона наблюдалось у детей на фоне приема препаратов антиретровирусной терапии, по сравнению с их сверстниками, не принимавшими эти препараты. Выявлены позитивные корреляции между уровнем соматотропного гормона и численностью CD3⁺, CD4⁺ и CD8⁺. Аналогичная позитивная корреляция с числом Т-лимфоцитов установлена для свободного тироксина. Уровень прогестерона также позитивно коррелирует со значениями CD3⁺ и CD8⁺, но демонстрирует отрицательную корреляцию с числом CD4⁺. Еще одна позитивная корреляционная связь с числом Т-лимфоцитов в группе детей, не принимавших антиретровирусные препараты – выявлена с уровнем дегидроэпиандростерона. У детей на фоне антиретровирусной терапии появляются позитивные корреляционные связи между уровнем кортизола и CD3⁺, кортизолом и

Адрес для переписки:

Бахметьев Борис Аркадьевич
Институт экологии и генетики микроорганизмов
Уральского отделения Российской академии наук
614081, Россия, г. Пермь, ул. Голева 13.
Тел.: 8 (922) 306-22-16.
E-mail: bachmetyev@mail.ru

Address for correspondence:

Boris A. Bakhmetyev
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms,
Ural Branch, Russian Academy of Sciences
13 Golev St
Perm
614081 Russian Federation
Phone: +7 (922) 306-22-16.
E-mail: bachmetyev@mail.ru

Образец цитирования:

Б.А. Бахметьев, Г.А. Бочаров, С.Я. Зверев,
Н.С. Калашникова «Влияние высокоактивной
антиретровирусной терапии на нейроэндокринную
регуляцию иммуногенеза у ВИЧ-инфицированных
детей» // Российский иммунологический журнал, 2024.
Т. 27, № 3. С. 723–738.
doi: 10.46235/1028-7221-16712-EOH

© Бахметьев Б.А. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

B.A. Bakhmetyev, G.A. Bocharov, S.Ya. Zverev,
N.S. Kalashnikova “Effect of highly-active antiretroviral
therapy on neuroendocrine regulation of immunogenesis in
HIV-infected children”, Russian Journal of Immunology/
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3,
pp. 723–738.
doi: 10.46235/1028-7221-16712-EOH

© Bakhmetyev B.A. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16712-EOH

CD8⁺, эстрадиолом и CD4/CD8, прогестероном и числом CD8⁺. Как и у детей, не принимавших антиретровирусные препараты, значимая позитивная связь выявлена между концентрацией свободного тироксина и значениями CD4⁺. Негативные корреляционные связи регистрируются между уровнем эстрадиола и процентом CD3⁺.

На фоне приема антиретровирусных препаратов корреляционный анализ между концентрацией вирусной РНК и исследованными гормонами значимые позитивные корреляции демонстрируют эстрадиол и тестостерон.

Однако на фоне приема антиретровирусных препаратов наблюдается негативная корреляция между уровнем тиреотропного гормона и концентрации вирусной РНК. Результаты корреляционного анализа между концентрацией вирусной РНК и исследованными иммунологическими параметрами в этой группе детей свидетельствует о своеобразной «нормализации» под действием антиретровирусной терапии, так как единственная позитивная корреляция с концентрацией вируса установлена для CD4⁺. Таким образом, изменение состояния эндокринной системы у перинатально ВИЧ-инфицированных детей может иметь важное значение в мониторинге системной регуляции иммуногенеза.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, гормоны, вирусная нагрузка, лейкоциты, CD-фенотип, дети

EFFECT OF HIGHLY-ACTIVE ANTIRETROVIRAL THERAPY ON NEUROENDOCRINE REGULATION OF IMMUNOGENESIS IN HIV-INFECTED CHILDREN

Bakhmetyev B.A.^a, Bocharov G.A.^{b,c}, Zverev S.Ya.^d, Kalashnikova N.S.^d

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

^b G. Marchuk Institute of Calculation Mathematics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

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

^d Perm Territory Centre for Prevention and Treating of AIDS and Infection Diseases, Perm, Russian Federation

Abstract. Comparative assay has been made against the parameters of the immune and endocrine systems in 84 HIV-infected children born from HIV-infected mothers. One group of analyzed children (36 patients) did not receive highly-active antiretroviral therapy. Another group (48 patients) received different variants of highly-active antiretroviral therapy. Children aged from 1 to 182 months were examined. Venous blood samples taken from young patients were used to determine leukocyte blood composition considering the relative (%) and absolute number of blood cell counts. Hormone concentration was determined concurrently. CD-molecule expression by mononuclear cells was registered using flow cytofluorimeter. Plasma viral load in HIV-infected children was quantitatively detected with RT-PCR. Statistically significant lowering in the levels of free thyroxin, cortisol and progesterone was observed in children against a background of highly-active antiretroviral therapy as compared to those without HAART use. Correlation assay between the hormone level and the immunological parameters in children not receiving the antiretroviral preparations revealed marked positive correlations among the somatotrophic hormone level and CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ absolute numbers. Similar positive correlation with absolute T-subset number was found against free T4. The progesterone level also positively correlated with relative CD3⁺ and CD8⁺ numbers and showed negative correlation with absolute CD4⁺ amount. There is another positive correlation with relative T-subset number against the dehydroepiandrosterone level in the group of children without antiretroviral preparation therapy. As for HIV-infected group of children, against a background of highly-active antiretroviral therapy, the results of correlation assay between the hormone concentrations and cell parameters were found to significantly vary. There were observed positive correlations between the levels of cortisol and CD3⁺ (%), cortisol and CD8⁺ (%), estradiol and CD4/CD8, progesterone and absolute CD8⁺ number. As with children not receiving the antiretroviral preparations marked positive relation was revealed between the concentration of free thyroxin and absolute values of CD4⁺. Negative correlations were recorded between the estradiol level and the relative CD3⁺ numbers. Against a background of applying the antiretroviral preparations the correlation assay conducted between the viral RNA concentration (lg of copy number of mRNA/ml) and analyzed endocrinological parameters was found to have marked positive

correlation with HIV concentration demonstrated by estradiol and testosterone. During the antiretroviral therapy, however, the negative correlation between the thyrotropin level and Ig concentration of viral RNA was observed. Analytical results of correlation among the viral RNA concentration (lg copy number of mRNA/ml) and analyzed immunological parameters in this group of children evidence for specific 'normalization' due to highly-active antiretroviral therapy as the only positive correlation with virus concentration was detected for CD4⁺T subsets.

Therefore, the alteration in endocrine system state in children born from HIV-infected mothers could be of great significance while monitoring the systemic regulation of the immunogenesis.

Keywords: HIV-infection, hormones, viral load, leukocytes, CD phenotype, children

Работа выполнена в рамках государственного задания № 124020500027-7.

Введение

Известно, что при инфицировании вирусом иммунодефицита человека первого типа (ВИЧ) у пациентов часто наблюдаются расстройства со стороны нейроэндокринной регуляции гомеостаза [2, 10, 14, 15]. Спектр этих нарушений довольно широк, затрагивает гипоталамус, гипофиз, надпочечники, щитовидную и поджелудочную железы, гонады, может сопровождаться липодистрофией, метаболическим и даже wasting-синдромами [4, 8]. У детей с перинатальной ВИЧ-инфекцией наблюдается задержка роста и развития с одновременным нарушением композиции тела, которые начинают проявляться уже в 3-месячном возрасте и тесно ассоциированы с иммунологическими и эндокринными нарушениями [6, 11, 13].

Наиболее вероятной причиной появления эндокринной дисфункции при ВИЧ-инфекции являются продукты вирусного генома. Это, прежде всего, gp120, который обладает нейротоксичностью, непосредственно в мозге может стимулировать продукцию кортиколиберина и аргенина вазопрессина, а также непосредственно блокировать рецепторы для соматолиберина [9, 12]. Uрг и Tat считаются ответственными за изменение чувствительности клеток к глюкокортикоидам. Tat обладает нейродегенеративными эффектами, а Uрг непосредственный «виновник» резистентности к инсулину, характерной для ВИЧ-инфекции [1, 7].

Другим фактором значимым для развития эндокринных дисфункций у ВИЧ-инфицированных пациентов считается прием противовирусных препаратов, некоторые из которых могут модулировать функцию эндокринных желез. Установлено, что одновременное введение глюкокортикоидов и ингибитора протеаз ритонавира может вызвать у ВИЧ-инфицированных пациентов подавление функции надпочечников за счет фармакологического воздействия этого препарата на

обмен стероидов [3]. Непосредственные нарушения после приема препаратов антиретровирусной терапии выявлены в обмене половых стероидных, тиреоидных и гормонов коры надпочечников при лечении взрослых ВИЧ-инфицированных пациентов. В экспериментальной работе, выполненной на кошках, показано, что введение зидовудина кошкам, инфицированным FIV (вирус иммунодефицита кошек), может нормализовать нарушенную функцию щитовидной железы и надпочечников, наблюдаемую у этих животных без терапии [5].

Материалы и методы

Проведен сравнительный анализ параметров иммунной и эндокринной систем у 84 ВИЧ-инфицированных детей, рожденных ВИЧ-инфицированными матерями. Часть обследованных детей (36 пациентов) не получали высокоактивную антиретровирусную терапию (ВААРТ). Остальные (48 пациентов) получали разные варианты ВААРТ (табл. 1). В процессе исследования, проведенного в соответствии с нормами биомедицинской этики (этический комитет «ИЭГМ УрО РАН» № IRB 00010009 протокол № 25 от 23.01.2024), были обследованы дети в возрасте от 1 до 182 месяцев. В образцах венозной крови детей, взятой после письменного информированного согласия их родителей, определяли лейкоцитарный состав с учетом относительного (%) и абсолютного числа форменных элементов крови. Регистрация экспрессии CD-молекул на мононуклеарных клетках проводилась на проточном цитофлюориметре FACSCalibur (Becton Dickinson, США). Абсолютное число данных клеток рассчитывали из абсолютного числа лейкоцитов крови и процентного соотношения в них гранулоцитов и лимфоцитов, полученных на QVSTM AUTOREADTM Plus Centrifugal Hematology System (Becton Dickinson, США). Диагноз ВИЧ-инфекции детям, рожденным инфицированными матерями, окончательно устанавливали по достижению ими возраста 18 месяцев серологическими методами: результаты иммунофермент-

ного анализа (ИФА) подтверждали выявлением антител к индивидуальным структурным белкам вируса методом иммуноблота. Вирусную нагрузку в плазме крови ВИЧ-инфицированных детей количественно определяли методом ПЦР «в реальном времени» с использованием наборов и оборудования фирмы Abbott (США). Концентрацию гормонов в крови определяли с помощью ИФА с коммерческими наборами Nema-Medica Co LTD (Россия). Для статистического анализа полученных данных использовали стандартный пакет прикладных программ Statistica (StatSoft Inc., США). Достоверность различий между двумя группами проводили по U-критерию Манна–Уитни. Корреляционный анализ между показателями проводили с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Как следует из данных, представленных в таблице 2, лечение детей препаратами высокоактивной противовирусной терапии не сопровождалось значимыми изменениями антропометрических данных. Однако достаточно четко просматривается тенденция на уменьшение веса, роста и размеров тела у детей, принимавших препараты ВААРТ.

Анализ лейкоцитарного состава крови у ВИЧ-инфицированных детей (табл. 3) свидетельствует

о снижении содержания гранулоцитов и увеличении содержания лимфоцитов после приема антиретровирусных препаратов. В то же время абсолютное число лимфоцитов у ВААРТ⁺ детей увеличивается статистически не значимо.

Об эффективности действия препаратов ВААРТ можно судить по изменению численности CD4⁺T-клеток, абсолютное число которых в группе детей, получавших препараты в 2 раза выше, чем у детей без их приема (табл. 4). Соотношение CD4/CD8 также увеличивается у детей с ВААРТ. Однако данное увеличение соотношения не столь значительно, что, по-видимому, связано с противоположным трендом в содержании CD8⁺ на фоне приема антиретровирусных препаратов.

В таблице 5 представлены данные определения концентрации гормонов у ВИЧ-инфицированных детей. Статистически значимое снижение уровней свободного тироксина (Т4), кортизола и прогестерона наблюдалось у детей при приеме препаратов ВААРТ, по сравнению с их сверстниками, не принимавшими антиретровирусные препараты.

Корреляционный анализ между уровнями гормонов и иммунологическими параметрами (табл. 6) у детей, не принимавших антиретровирусные препараты, выявил значимые позитивные корреляции между концентрацией соматотропного гормона (СТГ) и абсолютными числами CD3⁺, CD4⁺ и CD8⁺. Аналогичная позитивная корреляция с абсолютным числом

ТАБЛИЦА 1. ВАРИАНТЫ ПРИМЕНЯЕМЫХ СХЕМ ВААРТ

TABLE 1. OPTIONS FOR HAART REGIMENS USED HAART COMBINATION

Комбинация ВААРТ HAART combination	Число наблюдений Number of observations
Абаковир, ламивудин, невирапин Abacavir, lamivudine, nevirapine	19
Абаковир, ламивудин, калетра Abacavir, lamivudine, kaletra	18
Абаковир, ламивудин, стокрин Abacavir, lamivudine, stocrin	4
Ламивудин, зидовудин, калетра Lamivudine, zidovudine, kaletra	2
Ламивудин, зидовудин, невирапин Lamivudine, zidovudine, nevirapine	2
Ламивудин, калетра, фосфазид Lamivudine, kaletra, phosphazide	1
Абаковир, невирапин, фосфазид Abacavir, nevirapine, phosphazide	1
Ламивудин, зидовудин, стокрин Lamivudine, zidovudine, stocrine	1
Без лечения No treatment	36

ТАБЛИЦА 2. СРАВНЕНИЕ АНТРОПОМЕТРИЧЕСКИХ ДАННЫХ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ БЕЗ И С ВААРТ

TABLE 2. COMPARISON OF ANTHROPOMETRIC DATA IN HIV-INFECTED CHILDREN WITHOUT AND WITH HAART

Антропометрические данные Anthrometric data	Параметры Parametres	ВААРТ- HAART-	ВААРТ+ HAART+	р
Вес (кг) Weight (kg)	M	16,9	14,1	0,31
	N	36	48	
	25-й процентиль 25 th percentile	9,7	9,2	
	Медиана Median	14,4	13,5	
	75-й процентиль 75 th percentile	19,1	16	
Рост (м) Height (m)	M	98,3	91,9	0,28
	N	36	48	
	25-й процентиль 25 th percentile	77	74	
	Медиана Median	99	93,5	
	75-й процентиль 75 th percentile	114	101	
BMI (кг/м ²) BMI (kg/m ²)	M	0,001626	0,001478	0,68
	N	36	48	
	25-й процентиль 25 th percentile	0,001481	0,001559	
	Медиана Median	0,001564	0,001559	
	75-й процентиль 75 th percentile	0,00176	0,001731	
S (м ²) S (m ²)	M	18,73	16,56	0,33
	N	36	48	
	25-й процентиль 25 th percentile	12,39	11,92	
	Медиана Median	17,26	16,56	
	75-й процентиль 75 th percentile	21,77	18,75	

T-лимфоцитов установлены для свободного Т4. Уровень прогестерона также позитивно коррелирует с относительными значениями CD3⁺ и CD8⁺, но демонстрирует отрицательную корреляцию с абсолютным числом CD4⁺. Еще одна позитивная корреляционная связь с относительным числом T-лимфоцитов в группе ВААРТ- выявлена с уровнем дегидроэпиандростерона (ДГЭА).

В группе ВИЧ-инфицированных детей на фоне приема препаратов ВААРТ (HAART⁺) результаты корреляционного анализа между концентрациями гормонов и клеточными параметрами существенно отличаются. Появляются позитивные корреляционные связи между уров-

нем кортизола и CD3⁺ (%), кортизолом и CD8⁺ (%), эстрадиолом и CD4/CD8, прогестероном и абсолютным числом CD8⁺. Как и у детей без ВААРТ, значимая позитивная связь выявлена между концентрацией свободного Т4 и абсолютными значениями CD4⁺. Негативные корреляционные связи регистрируются между уровнем эстрадиола и относительными числами CD3⁺ (R = -0,39, p = 0,006) и CD8⁺ (R = -0,39, p = 0,006).

Результаты определения вирусной нагрузки в крови ВИЧ-инфицированных детей представлены на рисунке 1. Десятичные логарифмы концентрации копий мРНК в крови детей на фоне приема антиретровирусных препаратов снижает-

ТАБЛИЦА 3. КЛЕТочный СОСТАВ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ У ДЕТЕЙ БЕЗ И С ВААРТ

TABLE 3. CELLULAR COMPOSITION OF BLOOD LEUKOCYTES IN CHILDREN WITHOUT AND WITH HAART

Гематологические данные Hematological data	Параметры Parametres	ВААРТ- HAART-	ВААРТ+ HAART+	p
Лейкоциты (абс.) Leukocytes (abs.)	M	9211	8543	0,48
	N	36	48	
	25-й процентиль 25 th percentile	6850	6200	
	Медиана Median	9000	8450	
	75-й процентиль 75 th percentile	10200	10100	
Гранулоциты (%) Granulocytes (%)	M	49,7	39,7	0,004
	N	36	48	
	25 процентиль 25 th percentile	39,5	29	
	Медиана Median	49	38	
	75 процентиль 75 th percentile	59	49	
Лимфоциты (%) Lymphocytes (%)	M	41,8	52,8	0,001
	N	36	48	
	25-й процентиль 25 th percentile	29,5	43	
	Медиана Median	41	55,5	
	75-й процентиль 75 th percentile	52,5	62	
Лимфоциты (абс.) Lymphocytes (abs.)	M	2529	2409	0,61
	N	36	48	
	25-й процентиль 25 th percentile	627,5	850	
	Медиана Median	2130	1811	
	75-й процентиль 75 th percentile	3559	4515	
Моноциты (абс.) Monocytes (abs.)	M	3945	4548	0,08
	N	36	48	
	25-й процентиль 25 th percentile	2036	3074	
	Медиана Median	3350	4312	
	75-й процентиль 75 th percentile	5257	5673	

ТАБЛИЦА 4. ЭКСПРЕССИЯ CD3, CD4 И CD8 НА ЛИМФОЦИТАХ ДЕТЕЙ БЕЗ И С ВААРТ

TABLE 4. EXPRESSION OF CD3, CD4 AND CD8 ON LYMPHOCYTES OF CHILDREN WITHOUT AND WITH HAART

Иммунологические данные Immunological data	Параметры Parameters	ВААРТ- HAART ⁻	ВААРТ+ HAART ⁺	р
CD3 ⁺ (%)	M	71,1	70,3	0,62
	N	36	48	
	25-й процентиль / 25 th percentile	63	64	
	Медиана / Median	73	68,5	
	75-й процентиль / 75 th percentile	77,5	76	
CD3 ⁺ (абс.) CD3 ⁺ (abs.)	M	3433	3720	0,32
	N	36	48	
	25-й процентиль / 25 th percentile	2233	2534	
	Медиана / Median	3171	3527	
	75-й процентиль / 75 th percentile	4107	4713	
CD4 ⁺ (%)	M	27,2	33,4	0,002
	N	36	48	
	25-й процентиль / 25 th percentile	20,5	28,5	
	Медиана / Median	27,5	34,5	
	75-й процентиль / 75 th percentile	32,5	38,5	
CD4 ⁺ (абс.) CD4 ⁺ (abs.)	M	1063	1539	0,009
	N	36	48	
	25-й процентиль / 25 th percentile	562	1042	
	Медиана / Median	1047	1322	
	75-й процентиль / 75 th percentile	1447	2087	
CD8 ⁺ (%)	M	43,8	36,6	0,01
	N	36	48	
	25-й процентиль / 25 th percentile	34	27,5	
	Медиана / Median	45,5	33,5	
	75-й процентиль / 75 th percentile	50,5	46	
CD8 ⁺ (абс.) CD8 ⁺ (abs.)	M	1660	1588	0,70
	N	36	48	
	25-й процентиль / 25 th percentile	932	1044	
	Медиана / Median	1406	1395	
	75-й процентиль / 75 th percentile	1775	1978	
CD4/CD8	M	0,777	1,061	0,003
	N	36	48	
	25-й процентиль / 25 th percentile	0,445	0,684	
	Медиана / Median	0,618	1,0	
	75-й процентиль / 75 th percentile	0,851	1298	

ТАБЛИЦА 5. ИЗМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ГОРМОНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ БЕЗ И С ВААРТ

TABLE 5. CHANGES IN SERUM HORMONE CONCENTRATIONS IN HIV-INFECTED CHILDREN WITHOUT AND WITH HAART

Гормоны Hormones	Параметры Parameters	ВААРТ- HAART-	ВААРТ+ HAART+	Р
СТГ (мМЕ/л) HGH (mIU/L)	M	22,34	21,52	0,57
	N	9	21	
	25-й процентиль 25 th percentile	11,18	9,83	
	Медиана Median	18,46	12,92	
	75-й процентиль 75 th percentile	30,36	36,19	
ТТГ (мМЕ/л) TSH (mIU/L)	M	1,74	1,84	0,64
	N	36	47	
	25-й процентиль 25 th percentile	0,81	1,06	
	Медиана Median	1,71	1,42	
	75-й процентиль 75 th percentile	2,40	2,41	
Т3 (пмоль/л) T3 (pmol/L)	M	4,57	4,59	0,81
	N	36	48	
	25-й процентиль 25 th percentile	4,12	4,14	
	Медиана Median	4,34	4,40	
	75-й процентиль 75 th percentile	4,81	4,76	
Т4 (пмоль/л) T4 (pmol/L)	M	16,49	15,22	0,001
	N	36	48	
	25-й процентиль 25 th percentile	15,09	12,71	
	Медиана Median	16,21	14,59	
	75-й процентиль 75 th percentile	17,66	16,11	
Кортизол (нмоль/л) Cortisol (nmol/L)	M	348,99	266,51	0,048
	N	36	48	
	25-й процентиль 25 th percentile	185,64	180,07	
	Медиана Median	365,09	231,52	
	75-й процентиль 75 th percentile	461,61	342,21	

Таблица 5 (окончание)
Table 5 (continued)

Гормоны Hormones	Параметры Parameters	ВААРТ- HAART-	ВААРТ+ HAART+	р
Эстрадиол (нмоль/л) Estradiol (nmol/L)	М	0,680	0,571	0,55
	Н	36	48	
	25-й процентиль 25 th percentile	0,168	0,174	
	Медиана Median	0,200	0,231	
	75-й процентиль 75 th percentile	0,759	0,854	
Прогестерон (нмоль/л) Progesterone (nmol/L)	М	1,25	0,96	0,02
	Н	35	47	
	25-й процентиль 25 th percentile	0,68	0,27	
	Медиана Median	1,08	0,89	
	75-й процентиль 75 th percentile	1,53	1,21	
Тестостерон (нмоль/л) Testosterone (nmol/L)	М	0,73	0,72	0,98
	Н	35	43	
	25-й процентиль 25 th percentile	0,18	0,21	
	Медиана Median	0,34	0,35	
	75-й процентиль 75 th percentile	0,77	0,68	
ДГЭА (мкг/мл) DHEA (µg/mL)	М	0,29	0,30	0,44
	Н	35	44	
	25-й процентиль 25 th percentile	0,05	0,07	
	Медиана Median	0,11	0,12	
	75-й процентиль 75 th percentile	0,30	0,28	

ся более чем в 5 раз, что свидетельствует об эффективности проведенной ВААРТ.

При проведении корреляционного анализа между lg концентрации вирусной РНК (числа копий мРНК/мл) и исследованными эндокринологическими параметрами у детей без назначения ВААРТ (ВААРТ-) значимые позитивные корреляции с концентрацией ВИЧ демонстрирует СТГ ($R = 0,51$, $p = 0,001$) и свободный трийодотронин ($R = 0,35$, $p = 0,035$). Кроме того, в этой группе детей установлена негативная корреляция между вирусной нагрузкой и уровнем прогестерона концентрация которого у детей без ВААРТ выше, чем у сверстников, принимавших противовирусные препараты (табл. 5). Зарегистрированы статисти-

чески значимые позитивные ранговые корреляции (табл. 7) между уровнем вирусной нагрузки и численностью лейкоцитов, лимфоцитов, CD4⁺ и CD8⁺. Негативная корреляция с уровнем вирусной мРНК установлена только для относительно числа Т-лимфоцитов (CD3⁺). На фоне ВААРТ корреляционный анализ между вирусной РНК (lg числа копий мРНК/мл) и исследованными эндокринологическими параметрами значимые позитивные корреляции с концентрацией ВИЧ демонстрируют эстрадиол ($R = 0,46$, $p = 0,001$) и тестостерон ($R = 0,36$, $p = 0,017$). Однако на фоне приема антиретровирусных препаратов наблюдается негативная корреляция между уровнем ТТГ и lg концентрации вирусной РНК ($R = -0,38$,

ТАБЛИЦА 6. КОРРЕЛЯЦИИ МЕЖДУ ЭНДОКРИННЫМИ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ В КРОВИ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ БЕЗ И С ВААРТ

TABLE 6. CORRELATIONS BETWEEN ENDOCRINE AND IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN THE BLOOD OF HIV-INFECTED CHILDREN WITHOUT AND WITH HAART

Показатели Parameters	ВААРТ- HAART-			ВААРТ+ HAART+		
	N	R*	p	N	R*	p
СТГ (мМЕ/л) & CD3+ (%) HGH (mIU/L) & CD3+ (%)	36	-0,25	0,142	44	-0,17	0,261
СТГ (мМЕ/л) & CD3+ (абс.) HGH (mIU/L) & CD3+ (abs.)	36	0,43	0,008	44	-0,24	0,124
СТГ (мМЕ/л) & CD4+ (%) HGH (mIU/L) & CD4+ (%)	36	-0,30	0,072	44	0,16	0,301
СТГ (мМЕ/л) & CD4+ (абс.) HGH (mIU/L) & CD4+ (abs.)	36	0,41	0,014	44	0,05	0,750
СТГ (мМЕ/л) & CD8+ (%) HGH (mIU/L) & CD8+ (%)	36	-0,03	0,851	44	-0,18	0,234
СТГ (мМЕ/л) & CD8+ (абс.) HGH (mIU/L) & CD8+ (abs.)	36	0,53	0,001	44	-0,14	0,359
СТГ (мМЕ/л) & CD4/CD8 HGH (mIU/L) & CD4/CD8	36	-0,18	0,306	44	0,18	0,245
ТТГ (мМЕ/л) & CD3+ (%) TSH (mIU/L) & CD3+ (%)	36	0,03	0,880	47	0,12	0,406
ТТГ (мМЕ/л) & CD3+ (абс.) TSH (mIU/L) & CD4+ (abs.)	36	0,15	0,393	47	0,18	0,234
ТТГ (мМЕ/л) & CD4+ (%) TSH (mIU/L) & CD4+ (%)	36	0,11	0,542	47	-0,10	0,518
ТТГ (мМЕ/л) & CD4+ (абс.) TSH (mIU/L) & CD4+ (abs.)	36	-0,01	0,949	47	-0,07	0,645
ТТГ (мМЕ/л) & CD8+ (%) TSH (mIU/L) & CD8+ (%)	36	-0,13	0,449	47	0,07	0,651
ТТГ (мМЕ/л) & CD8+ (абс.) TSH (mIU/L) & CD8+ (abs.)	36	-0,02	0,930	47	0,12	0,428
ТТГ (мМЕ/л) & CD4/CD8 TSH (mIU/L) & CD4/CD8	36	0,16	0,364	47	-0,07	0,649
Т3 (пмоль/л) & CD3+ (%) T3 (pmol/L) & CD3+ (%)	36	-0,13	0,461	48	-0,23	0,120
Т3 (пмоль/л) & CD3+ (абс.) T3 (pmol/L) & CD3+ (abs.)	36	0,18	0,301	48	-0,14	0,328
Т3 (пмоль/л) & CD4+ (%) T3 (pmol/L) & CD4+ (%)	36	0,07	0,705	48	0,06	0,699
Т3 (пмоль/л) & CD4+ (абс.) T3 (pmol/L) & CD4+ (abs.)	36	0,38	0,023	48	0,05	0,729
Т3 (пмоль/л) & CD8+ (%) T3 (pmol/L) & CD8+ (%)	36	-0,14	0,406	48	-0,15	0,321
Т3 (пмоль/л) & CD8+ (абс.) T3 (pmol/L) & CD8+ (abs.)	36	0,15	0,391	48	-0,11	0,476

Таблица 6 (продолжение)
Table 6 (continued)

Показатели Parameters	БААРТ- HAART-			БААРТ+ HAART+		
	N	R*	p	N	R*	p
Т3 (пмоль/л) & CD4/CD8 T3 (pmol/L) & CD4/CD8	36	0,13	0,461	48	0,11	0,463
Т4 (пмоль/л) & CD3+ (%) T4 (pmol/L) & CD3+ (%)	36	0,11	0,518	48	0,04	0,790
Т4 (пмоль/л) & CD3+ (абс.) T4 (pmol/L) & CD3+ (abs.)	36	0,33	0,050	48	0,32	0,027
Т4 (пмоль/л) & CD4+ (%) T4 (pmol/L) & CD4+ (%)	36	0,11	0,506	48	-0,14	0,340
Т4 (пмоль/л) & CD4+ (абс.) T4 (pmol/L) & CD4+ (abs.)	36	0,25	0,145	48	0,15	0,325
Т4 (пмоль/л) & CD8+ (%) T4 (pmol/L) & CD8+ (%)	36	0,02	0,925	48	0,12	0,398
Т4 (пмоль/л) & CD8+ (абс.) T4 (pmol/L) & CD8+ (abs.)	36	0,25	0,144	48	0,35	0,016
Т4 (пмоль/л) & CD4/CD8 T4 (pmol/L) & CD4/CD8	36	0,11	0,537	48	-0,11	0,462
Кортизол (нмоль/л) & CD3+ (%) Cortisol (nmol/L) & CD3+ (%)	36	-0,16	0,350	48	0,30	0,036
Кортизол (нмоль/л) & CD3+ (абс.) Cortisol (nmol/L) & CD3+ (abs.)	36	0,16	0,351	48	0,09	0,538
Кортизол (нмоль/л) & CD4+ (%) Cortisol (nmol/L) & CD4+ (%)	36	0,01	0,946	48	-0,20	0,182
Кортизол (нмоль/л) & CD4+ (абс.) Cortisol (nmol/L) & CD4+ (abs.)	36	0,16	0,352	48	-0,16	0,285
Кортизол (нмоль/л) & CD8+ (%) Cortisol (nmol/L) & CD8+ (%)	36	-0,12	0,502	48	0,32	0,025
Кортизол (нмоль/л) & CD8+ (абс.) Cortisol (nmol/L) & CD8+ (abs.)	36	0,05	0,770	48	0,10	0,512
Кортизол (нмоль/л) & CD4/CD8 Cortisol (nmol/L) & CD4/CD8	36	0,07	0,705	48	-0,26	0,072
Эстрадиол (нмоль/л) & CD3+ (%) Estradiol (nmol/L) & CD3+ (%)	36	-0,31	0,063	48	-0,39	0,006
Эстрадиол (нмоль/л) & CD3+ (абс.) Estradiol (nmol/L) & CD3+ (abs.)	36	0,22	0,194	48	-0,28	0,052
Эстрадиол (нмоль/л) & CD4+ (%) Estradiol (nmol/L) & CD4+ (%)	36	-0,08	0,655	48	0,26	0,072
Эстрадиол (нмоль/л) & CD4+ (абс.) Estradiol (nmol/L) & CD4+ (abs.)	36	0,36	0,032	48	0,26	0,078
Эстрадиол (нмоль/л) & CD8+ (%) Estradiol (nmol/L) & CD8+ (%)	36	-0,15	0,382	48	-0,39	0,006

Таблица 6 (окончание)
Table 6 (continued)

Показатели Parameters	БААРТ- HAART-			БААРТ+ HAART+		
	N	R*	p	N	R*	p
Эстрадиол (нмоль/л) & CD8 ⁺ (абс.) Estradiol (nmol/L) & CD8 ⁺ (abs.)	36	0,22	0,196	48	-0,20	0,163
Эстрадиол (нмоль/л) & CD4/CD8 Estradiol (nmol/L) & CD4/CD8	36	0,00	0,993	48	0,39	0,006
Прогестерон (нмоль/л) & CD3 ⁺ (%) Progesterone (nmol/L) & CD3 ⁺ (%)	35	0,45	0,007	47	0,19	0,210
Прогестерон (нмоль/л) & CD3 ⁺ (абс.) Progesterone (nmol/L) & CD3 ⁺ (abs.)	35	-0,14	0,434	47	0,36	0,014
Прогестерон (нмоль/л) & CD4 ⁺ (%) Progesterone (nmol/L) & CD4 ⁺ (%)	35	-0,05	0,788	47	-0,19	0,203
Прогестерон (нмоль/л) & CD4 ⁺ (абс.) Progesterone (nmol/L) & CD4 ⁺ (abs.)	35	-0,41	0,013	47	-0,01	0,968
Прогестерон (нмоль/л) & CD8 ⁺ (%) Progesterone (nmol/L) & CD8 ⁺ (%)	35	0,34	0,048	47	0,20	0,167
Прогестерон (нмоль/л) & CD8 ⁺ (абс.) Progesterone (nmol/L) & CD8 ⁺ (abs.)	35	-0,20	0,260	47	0,28	0,053
Прогестерон (нмоль/л) & CD4/CD8 Progesterone (nmol/L) & CD4/CD8	35	-0,17	0,336	47	-0,19	0,190
Тестостерон (нмоль/л) & CD3 ⁺ (%) Testosterone (nmol/L) & CD3 ⁺ (%)	35	0,01	0,951	43	0,10	0,542
Тестостерон (нмоль/л) & CD3 ⁺ (абс.) Testosterone (nmol/L) & CD3 ⁺ (abs.)	35	0,03	0,877	43	0,05	0,734
Тестостерон (нмоль/л) & CD4 ⁺ (%) Testosterone (nmol/L) & CD4 ⁺ (%)	35	-0,03	0,855	43	-0,02	0,898
Тестостерон (нмоль/л) & CD4 ⁺ (абс.) Testosterone (nmol/L) & CD4 ⁺ (abs.)	35	0,06	0,742	43	0,07	0,676
Тестостерон (нмоль/л) & CD8 ⁺ (%) Testosterone (nmol/L) & CD8 ⁺ (%)	35	-0,01	0,960	43	0,09	0,559
Тестостерон (нмоль/л) & CD8 ⁺ (абс.) Testosterone (nmol/L) & CD8 ⁺ (abs.)	35	-0,04	0,815	43	0,07	0,647
Тестостерон (нмоль/л) & CD4/CD8 Testosterone (nmol/L) & CD4/CD8	35	-0,01	0,952	43	-0,04	0,815
ДЭАС (мкг/мл) & CD3 ⁺ (%) DEAS (μg/mL) & CD3 ⁺ (%)	35	0,33	0,049	44	0,25	0,100
ДЭАС (мкг/мл) & CD3 ⁺ (абс.) DEAS (μg/mL) & CD3 ⁺ (abs.)	35	-0,32	0,060	44	0,16	0,305
ДЭАС (мкг/мл) & CD4 ⁺ (%) DEAS (μg/mL) & CD4 ⁺ (%)	35	-0,06	0,751	44	0,05	0,736
ДЭАС (мкг/мл) & CD4 ⁺ (абс.) DEAS (μg/mL) & CD4 ⁺ (abs.)	35	-0,32	0,063	44	0,02	0,889
ДЭАС (мкг/мл) & CD8 ⁺ (%) DEAS (μg/mL) & CD8 ⁺ (%)	35	0,27	0,121	44	0,13	0,417
ДЭАС (мкг/мл) & CD8 ⁺ (абс.) DEAS (μg/mL) & CD8 ⁺ (abs.)	35	-0,32	0,065	44	0,10	0,505
ДЭАС (мкг/мл) & CD4/CD8 DEAS (μg/mL) & CD4/CD8	35	-0,16	0,356	44	-0,06	0,685

ТАБЛИЦА 7. КОРРЕЛЯЦИИ МЕЖДУ ЭНДОКРИННЫМИ, ИММУНОЛОГИЧЕСКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ И ВИРУСНОЙ НАГРУЗКОЙ В КРОВИ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ БЕЗ И С ВААРТ

TABLE 7. CORRELATIONS BETWEEN ENDOCRINE, IMMUNOLOGICAL PARAMETERS AND VIRAL LOAD IN THE BLOOD OF HIV-INFECTED CHILDREN WITHOUT AND WITH HAART

Показатели Parameters	HAART ⁻			HAART ⁺		
	N*	R**	p	N	R	p
СТГ (мМЕ/л) & Lg VN HGH (mUI/L) & Lg VN	36	0,51	0,001	44	0,18	0,236
ТТГ (мМЕ/л) & Lg VN TSH (mUI/L) & Lg VN	36	-0,04	0,820	47	-0,38	0,008
Т3 (пмоль/л) & Lg VN T3 (pmol/L) & Lg VN	36	0,35	0,035	48	0,21	0,152
Т4 (пмоль/л) & Lg VN T4 (pmol/L) & Lg VN	36	0,07	0,701	48	0,08	0,590
Кортизол (нмоль/л) & Lg VN Cortisol (nmol/L) & Lg VN	36	-0,01	0,967	48	0,07	0,616
Эстрадиол (нмоль/л) & Lg VN Estradiol (nmol/L) & Lg VN	36	0,19	0,259	48	0,46	0,001
Прогестерон (нмоль/л) & Lg VN Progesterone (nmol/L) & Lg VN	35	-0,34	0,048	47	-0,08	0,607
Тестостерон (нмоль/л) & Lg VN Testosterone (nmol/L) & Lg VN	35	0,03	0,871	43	0,36	0,017
ДЭАС (мкг/мл) & Lg VN DEAS (mkg/ml) & Lg VN	35	-0,23	0,190	44	-0,14	0,356
CD3⁺ (%) & Lg VN CD3 ⁺ (%) & Lg VN	36	-0,44	0,008	48	-0,02	0,870
CD3⁺ (абс.) & Lg VN CD3 ⁺ (abs.) & Lg VN	36	0,25	0,137	48	0,03	0,833
CD4⁺ (%) & Lg VN CD4 ⁺ (%) & Lg VN	36	-0,13	0,458	48	0,25	0,088
CD4⁺ (абс.) & Lg VN CD4 ⁺ (abs.) & Lg VN	36	0,40	0,015	48	0,31	0,034
CD8⁺ (%) & Lg VN CD8 ⁺ (%) & Lg VN	36	-0,27	0,110	48	-0,10	0,503
CD8⁺ (абс.) & Lg VN CD8 ⁺ (abs.) & Lg VN	36	0,36	0,033	48	0,05	0,720
CD4/CD8 & Lg VN	36	0,10	0,547	48	0,21	0,155
Лейкоциты (абс.) & Lg VN VN Leukocytes (abs.) & Lg VN	36	0,34	0,041	48	0,14	0,329
Лимфоциты (%) & Lg VN VN Lymphocytes (%) & Lg VN	36	0,42	0,011	48	0,19	0,189
Моноциты (абс.) & Lg VN VN Monocytes (abs.) & Lg VN	36	-0,15	0,375	48	-0,18	0,231
Лимфоциты (абс.) & Lg VN VN Lymphocytes (abs.) & Lg VN	36	0,46	0,005	48	0,25	0,081

Примечание. * – lg числа копий вирусной мРНК; ** – коэффициент корреляции Спирмена

Note. *, lg viral mRNA copy number; **, Spearman correlation coefficient

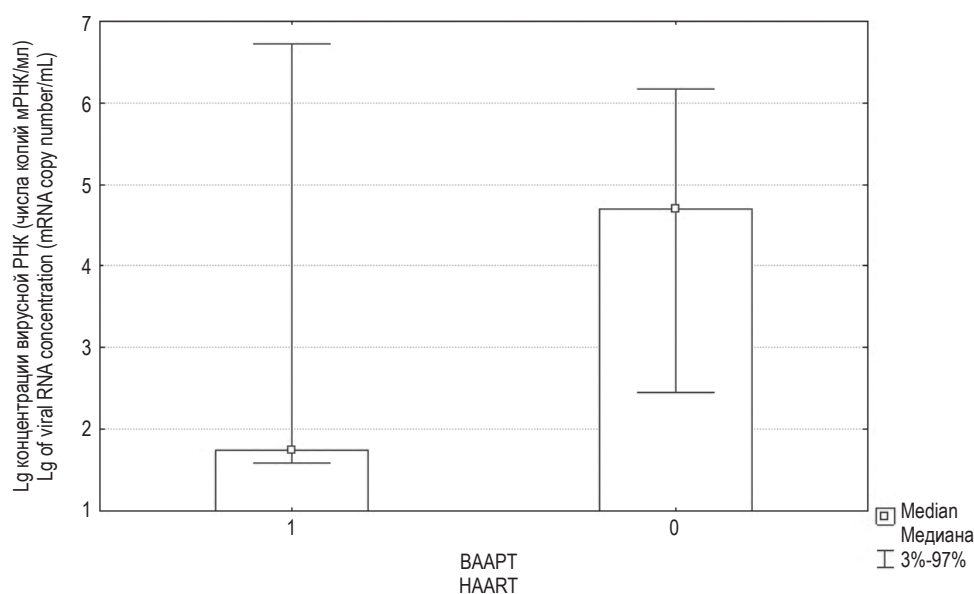


Рисунок 1. Вирусная нагрузка у детей без (0) и с ВААРТ (1)

Figure 1. Viral load in children without (0) and with HAART (1)

$p = 0,008$). Результаты корреляционного анализа между концентрацией вирусной РНК (lg числа копий мРНК/мл) и исследованными иммунологическими параметрами в этой группе детей (ВААРТ⁺) свидетельствует о своеобразной «нормализации», так как единственная позитивная корреляция с концентрацией вируса установлена для CD4⁺T-клеток.

Заключение

Таким образом, выявленные в настоящей работе различия в концентрациях гормонов и иммунологических параметров у ВИЧ-инфицированных детей, не принимавших или

принимавших ВААРТ, позволяют предполагать, что изменение состояния эндокринной системы у детей, рожденных от ВИЧ-инфицированных матерей, может иметь важное значение в мониторинге системной регуляции иммуногенеза. Различия в направленности вектора исследованных корреляционных связей между иммунологическими, эндокринными параметрами и вирусной нагрузкой у ВААРТ⁺ и ВААРТ⁻ перинатально инфицированных детей, выявленные в настоящей работе, свидетельствуют о самостоятельном эффекте антиретровирусной терапии на нейроэндокринную регуляцию иммуногенеза и требует дальнейшего изучения.

Список литературы / References

1. Butler T.R., Smith K.J., Self R.L., Braden B.B., Prendergast M.A. Neurodegenerative effects of recombinant HIV-1 Tat(1-86) are associated with inhibition of microtubule formation and oxidative stress-related reductions in microtubule-associated protein-2(a,b). *Neurochem. Res.*, 2011, Vol. 36, no. 5, pp. 819-828.
2. Chereshev V.A., Bocharov G., Bazhan S., Bakhmetyev B., Gainova I., Likhoshvai V., Argilaguat J.M., Martinez J.P., Rump J.A., Mothe B., Brander C., Meyerhans A. Pathogenesis and treatment of HIV infection: the cellular, the immune system and the neuroendocrine systems perspective. *Int. Rev. Immunol.*, 2013, Vol. 32, no. 3, pp. 282-306.
3. Dort K., Padia S., Wispelwey B., Moore C. C. Adrenal suppression due to an interaction between ritonavir and injected triamcinolone: a case report. *AIDS Res. Ther.*, 2009, Vol. 6, 10. doi:10.1186/1742-6405-6-10
4. Gertner J.M., Kaufman F.R., Donfield S.M., Sleeper L.A., Shapiro A.D., Howard C., Gomperts E.D., Hilgartner M.W. Delayed somatic growth and pubertal development in human immunodeficiency virus-infected hemophilic boys: Hemophilia Growth and Development Study. *J. Pediatr.*, 1994, Vol. 124, no. 6, pp. 896-902.
5. Gomez N. V., Castillo V. A., Gisbert M. A., Pisano P., Mira G., Fontanals A., Blatter M. F. Immune-endocrine interactions in treated and untreated cats naturally infected with FIV. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2011, Vol. 143, no. 3-4, pp. 332-337.

6. Isanaka S., Duggan C., Fawzi W.W. Patterns of postnatal growth in HIV-infected and HIV-exposed children. *Nutr. Rev.*, 2009, Vol. 67, no. 6, pp. 343-359.
7. Kino T., Chrousos G.P. Human immunodeficiency virus type-1 accessory protein Vpr: a causative agent of the AIDS-related insulin resistance/lipodystrophy syndrome? *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2004, Vol. 1024, pp. 153-167.
8. Loomba-Albrecht L.A., Bregman T., Chantry C.J. Endocrinopathies in children infected with human immunodeficiency virus. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.*, 2014, Vol. 43, no. 3, pp. 807-828.
9. Mellado M., Llorente M., Rodriguez-Frade J.M., Lucas P., Martinez C., del Real G. HIV-1 envelope protein gp120 triggers a Th2 response in mice that shifts to Th1 in the presence of human growth hormone. *Vaccine*, 1998, Vol. 16, no. 11-12, pp. 1111-1115.
10. Mifsud S., Gauci Z., Gruppetta M., Mallia Azzopardi C., Fava S. Adrenal insufficiency in HIV/AIDS: a review. *Expert Rev. Endocrinol. Metab.*, 2021, Vol. 16, no. 6, pp. 351-362.
11. Newell M. L., Borja M. C., Peckham C. Height, weight, and growth in children born to mothers with HIV-1 infection in Europe. *Pediatrics*, 2003, Vol. 111, no. 1, pp. e52-e60.
12. Pozzoli G., Tringali G., Dello Russo C., Vairano M., Preziosi P., Navarra P. HIV-1 Gp120 protein modulates corticotropin releasing factor synthesis and release via the stimulation of its mRNA from the rat hypothalamus in vitro: involvement of inducible nitric oxide synthase. *J. Neuroimmunol.*, 2001, Vol. 118, no. 2, pp. 268-276.
13. Schwartz L.J., St Louis Y., Wu R., Wiznia A., Rubinstein A., Saenger P. Endocrine function in children with human immunodeficiency virus infection. *Am. J. Dis. Child.*, 1991, Vol. 145, no. 3, pp. 330-333.
14. Youssef J., Sadera R., Mital D., Ahmed M.H. HIV and the pituitary gland: clinical and biochemical presentations. *J. Lab. Physicians*, 2021, Vol. 13, no. 1, pp. 84-90.
15. Zaid D., Greenman Y. Human immunodeficiency virus infection and the endocrine system. *Endocrinol. Metab.*, 2019, Vol 34, no. 2, 95. doi: 10.3803/enm.2019.34.2.95.

Авторы:

Бахметьев Б.А. – к.м.н., доцент, ведущий научный сотрудник, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» г. Пермь, Россия

Authors:

Bakhmetyev B.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Leading Research Associate, Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Бочаров Г.А. — д.ф.-м.н., ведущий научный исследователь ФГБУН «Институт вычислительной математики имени Г.И. Марчука» Российской академии наук; профессор, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

Зверев С.Я. — д.м.н., заведующий лабораторией ГБУЗ «Пермский краевой Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», г. Пермь, Россия

Калашникова Н.С. — к.б.н., биолог ГБУЗ «Пермский краевой Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», г. Пермь, Россия

Bocharov G.A., PhD, MD (Physics and Mathematics), Leading Researcher, G. Marchuk Institute of Calculation Mathematics, Russian Academy of Sciences; Professor, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Zverev S.Ya., PhD, MD (Medicine), Head of Laboratory, Perm Territory Centre for Prevention and Treating of AIDS and Infection Diseases, Perm, Russian Federation

Kalashnikova N.S., PhD (Biology), Biologist, Perm, Russian Federation

Поступила 30.03.2024
Отправлена на доработку 06.04.2024
Принята к печати 18.04.2024

Received 30.03.2024
Revision received 06.04.2024
Accepted 18.04.2024

Аблаева Р.Н.	683	Колупаев В.А.	579	Ратушный А.Ю.	595
Авруцкая В.В.	717	Коляскина М.М.	699	Романова Н.В.	531
Агеева Е.С.	683	Конджария И.Г., Миквабия З.Я.	559	Романов В.А.	531, 573
Амаба С.Т.	559	Костюк Г.П.	595	Рыжкова О.В.	515
Антипова О.В.	515	Котова Н.В.	579	Рымаренко Н.В.	683
Арискина О.Б.	627	Кравченко Л.В.	717	Рысева А.А.	627
Балабина Н.М.	515	Красников В.Е.	673	Сайдакова Е.В.	553
Барышникова Н.В.	493	Криволапова И.М.	505	Сашенков С.Л.	579
Бахметьев Б.А.	723	Крицкая И.С.	505	Семечкин Н.В.	531, 573
Бахта А.А.	477	Крукиер И.И.	717	Серебрякова М.К.	613
Бедулева Л.В.	471	Крынский С.А.	595	Серенко Е.В.	457
Белоглазов В.А.	683	Кудрявцев И.В.	613	Сивкова Д.С.	493
Береснева Н.С.	621	Кузнецова Р.Н.	613	Сидоров А.Ю.	471
Борисенко А.И.	493	Кузьмина Л.П.	699	Синьков А.В.	515
Борода А.В.	483	Кузьмин В.В.	499	Синькова Г.М.	515
Бочаров Г.А.	723	Кузьмичева Н.А.	449	Синяков А.А.	635
Бочкарев П.Ю.	621	Кулакова А.С.	545	Скороходкина О.В.	649
Валикова О.В.	483	Лебедько О.А.	707	Смирнова О.В.	635
Васева Е.М.	493	Левкович М.А.	717	Смолягин А.И.	449
Власова В.В.	553	Лилеева Е.Г.	531	Смыр С.Д.	559
Власова Е.В.	505	Макарова О.В.	413	Снимщикова И.А.	545
Волкова Д.А.	649	Максимова А.В.	643	Собенин И.А.	539
Воробьев С.В.	613	Малашенкова И.К.	595	Соломатина Л.В.	421, 621
Гладышева И.В.	441	Малишевская О.И.	493	Сташкевич Д.С.	523
Гольдина И.А.	457	Малькова В.М.	627	Стельмах Ю.Л.	515
Горухчиева Ф.А.	559	Марасаева Е.А.	539	Сумеркина В.А.	427
Гриценко В.А.	433, 441	Маркин А.М.	499	Супрун Е.Н.	707
Гусев Е.Ю.	621	Маркова Е.В.	457	Супрун С.В.	707
Давыдова Е.В.,	587	Маткаримова А.А.	567	Сурина Н.М.	605
Девальд И.В.,	523	Матуа А.З.	559	Суркова Р.С.	539
Демко А.Е.	627	Мельникова В.Д.	595	Сулова Т.А.	523
Джалилова Д.Ш.	413	Меньшикова Л.В.	515	Татаурщикова Н.С.	643
Дидковский Н.А.	595	Меньшиков И.В.	471	Телепнева Р.С.	707
Добрынина М.А.	689	Мигачёва Н.Б.	643	Телешева Л.Ф.	427
Ермолова Н.В.	717	Мирошниченко И.В.	449	Терентьев А.С.	463
Жиемуратова Г.К.	567	Михайлова И.В.	449	Терентьева О.С.	463
Жукова А.А.	683	Монашенко Д.Н.	613	Тихонов Я.Н.	483
Зайцева И.П.	573	Морозова Н.В.	441	Трапш Х.З.	559
Зайцев О.Н.	573	Москалец О.В.	667	Удовиченко Е.Н.	659
Зверев С.Я.	723	Мухлынина Е.А.	421	Умарова Н.Н.	649
Здор В.В.	483	Мякотина Д.Э.	427	Ускова Т.Р.	643
Зотова М.А.	427	Наговицына Е.Б.	707	Федотова И.Б.	605
Зудова А.И.	421, 621	Николенко М.В.	493	Филиппова Е.А.	595
Зурочка А.В.	689	Норка А.О.	613	Филиппова Ю.В.	449
Зурочка В.А.,	689	Огурцов Д.П.	595	Фомина К.В.	463
Зурочка В.А.	579	Орехов А.Н.,	539	Хайлов Н.А.	595
Ильин М.В.	531	Орлова Г.М.	515	Хованцева У.С.	499
Исмаилова А.А.	567	Осипова И.В.	627	Хотулева А.Г.	699
Кайдан М.А.	595	Пашинина О.А.	433	Храмова Т.В.	463, 471
Каландарова А.Н.	567	Пашкова Т.М.	433	Цветков И.С.	413
Калашникова Н.С.	723	Пашнина И.А.	505	Цидильковская Э.С.	699
Калягин А.Н.	515	Пашнин С.Л.	587	Чередниченко В.Р.	499
Карпенко Л.Ю.	477	Первов Р.Ю.	673	Черкасов С.В.	441
Карташова О.Л.	433	Первов Ю.Ю.	673	Чертович Н.Ф.	499
Карян Б.Г.	531	Перфилова И.А.	659	Шкляева Н.П.	471
Каширских Д.А.	539	Пивоварова Л.П.	627	Шмелькова Д.М.	523
Коваленко С.Н.	613	Плотникова М.О.	545	Якушкина Н.Ю.	545
Козицына А.И.	477	Полетаева И.И.	605	Яценко А.К.	673
Козлова Н.М.	515	Полякова В.С.	449	Яцков И.А.	683
Колбин К.Г.	483	Приходько Ю.С.	493		
Колобов А.А.	449	Пугоева Х.Б.	643		

адипонектин	428	лейкоциты	724	судороги	605
активность лимфоцитов	428	лептин	428	супернатант	494
аллергические заболевания	644	липопротеиды низкой плотности	500, 540	терминальные эффекторы	533
аллергический ринит	644, 649	макрофаги	500	тимус	414
аллергия	668	маркеры активации	717	тканевая деструкция	628
аллергокартирование	644	мастоциты	484	трансплантация	458
ангиотензин 2	472	медицинский отвод	668	трансендотелиальный транспорт	500
ангиотензинпревращающий фермент 2	464, 472	метаболизм	532	тяжесть рецидивов	660
анкилозирующий спондилит	532	метаболически здоровое ожирение	546	устойчивость к гипоксии	414
антибактериальное действие	442	метаболический синдром	428	фагоцитоз	560
антивакцинальное движение	668	метаболически нездоровое ожирение	546	фагоцитоз нейтрофилов	580
антинуклеарные антитела	506	миграция	500	факторы риска	644
атеросклероз	500, 540	микробицидность	560	фенотипическое разнообразие В-лимфоцитов	588
аудиогенная эпилепсия	605	миогенный лейкоцитоз	580	физическая активность	573
аутоантитела	472	многоядерные варианты эндотелиальных клеток	500	физическая нагрузка	580
аутовоспалительные синдромы	516	моноциты	500	функции	532
аутоиммунные заболевания	506	морфогенез	494	хирургические инфекции	434
ацетаминофен	422	мукозальный иммунитет	674	хлорпромазин	458
биоупленкообразование	434, 442	мультиплексный анализ	605	хроническая спонтанная крапивница	660
биоупленкообразование	494	мышья	414, 422	хронический колит	414
боевой стресс	588	наивные клетки	553	хронический риносинусит	636
бронхиальная астма	708	нарушения внутриносевых структур	649	циркулирующие иммунные комплексы	540
вакцинация	668	натуральные киллеры	690	цитокины	458, 484, 596, 605, 622, 674, 700
визуальная аналоговая шкала	649	негативные симптомы	596	черепно-мозговая травма	614
вирусная нагрузка	724	нейровоспаление	588, 622	шизофрения	596
вирусы группы герпеса	708	нейтрофил	532	экспериментальная агрессия	458
ВИЧ-инфекция	724	нейтрофильные гранулоциты	560	экспериментальная модель	422
водоросли	708	неспецифический иммунитет	478	экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит	472
возбудители	434	неэффективный мозговой кровоток	622	экспрессия генов	428
воздействие свинца	700	новая коронавирусная инфекция	684	эндокринология	478
возрастная динамика	560	НСТ-активность нейтрофилов	580	эндотелиальные клетки	500
воспаление	414, 605, 628	однонуклеотидный полиморфизм	684	эндотелий	500
гематоэнцефалический барьер	622	ожирение	546	эпидемиологическая характеристика	568
геморрагический инсульт	622	омализумаб	660	эффективный мозговой кровоток	622
гемосидерин	464	острый колит	414	В-клетки памяти	588
гетерогенность	532	острый панкреатит	628	В-лимфоциты	690
гиперплазия макрофагов селезенки	464	отказ от прививок	668	(С-159)Т	684
гипоксия	628	оториноларингология	636	С-реактивный белок	660
гипотиреоз	478	отравление	422	<i>C. propinquum</i>	442
гормоны	724	парацетамол	422	<i>C. pseudodiphtheriticum</i>	442
гуморальное звено иммунитета	636	парацетамол	422	<i>Candida</i>	494
гуморальный и клеточный иммунитет	573	пассивное табакокурение	450	CD-лимфоциты	580
гуморальный иммунный ответ	458	первичные иммунодефициты	568	CD-фенотип	724
десалирование	540	передняя активная риноманометрия	649	CD14	684
дети	506, 568, 708, 724	периодическая болезнь	516	CD4 ⁺ Т-клетки	533
дифференцировка Т-хелперов	614	полиморфизм	524, 684	CD46	690
жители Абхазии	560	полиморфизм гена	628	CD8 ⁺ Т-клетки	533
заболеваемость	644	полиморфизм гена IL-17F	524	<i>Citrobacter freundii</i>	434
зародышевые центры	464	полиорганный недостаток	622	<i>Corynebacterium amycolatum</i>	442
иммунная система	690, 717	постковидный синдром	690	COVID-19	472, 668
иммунный статус	573, 700	посттравматическое стрессовое расстройство	588	DVL-1	546
иммуноглобулины	700	предикторы эффективности	660	EA.hy926	500
иммунограмма	580	преждевременные роды	717	HIF-1A	628
иммунологические параметры селезенки	450	проба с деконгестантом	649	HIF-1 α	628
иммунологические показатели	568	пролиферативная активность	458	IL-1 α	605
иммуномодуляция	708	протоочная цитометрия	560, 614, 636	IL-1 β	605
иммунорегуляция	596	распространенность	568	IL-2	605
иммуностарение	560	ревматоидный артрит	524	IL-6	605
ингибиторы IL-1	516	ревматология	506	IL-10	588, 596
интерлейкины	428, 674	регион Приаралья	568	IL-17A	524
инфекционный синдром	690	рост	434	IL-17F	524
кандидоз	494	русская популяция	524	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	434
каталаза	494	свинец	700	PD-1	533
кислородзависимый	532	селезенка	464	SARS-CoV-2	684
клетки центральной памяти	553	семейная средиземноморская лихорадка	516	SARS-CoV-2 инфекция	690
клетки эффекторной памяти	553	сенсбилизация	644	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	434
клеточные культуры	484	сиалидазная активность	540	S белок SARS-CoV-2	464, 472
клеточный иммунитет	596, 636	сиаловая кислота	540	Т-клетки	690
клеточный иммунный ответ	458	синдром поликистозных яичников	484	Т-лимфоциты	690, 717
клиническое наблюдение	516	синтетические тетрапептиды KK1	450	Т-хелперы 17-го типа	614
колхицин	516	синтетические тетрапептиды KK5	450	Т-хелперы	614
колхицинорезистентность	516	синтетический аналог активного центра ГМ-КСФ — пептид ZP2	434	TIGIT	553
коморбидные состояния	636	синтетический пептид ZP2	442	TLR4	684
контролируемое течение	708	система комплемента	700	TNF α	605
коронки из диоксида циркония	674	системное воспаление	422, 622	UAS7	660
коронки из металлокерамики	674	слизистая оболочка носа	636	WIF-1	546
крысы	450	собики	478	WNT-сигнальный путь	546
крысы линии «0»	605	спленоциты	458		
крысы линии Крушинского—Молодкиной	605	спортсмены	580		
культивирование	484	стоматологическое протезирование	674		
кумуляционные клетки	484	коронками	674		
лабораторная диагностика	478, 506	студенты	573		
лейкоцитарные индексы	478				

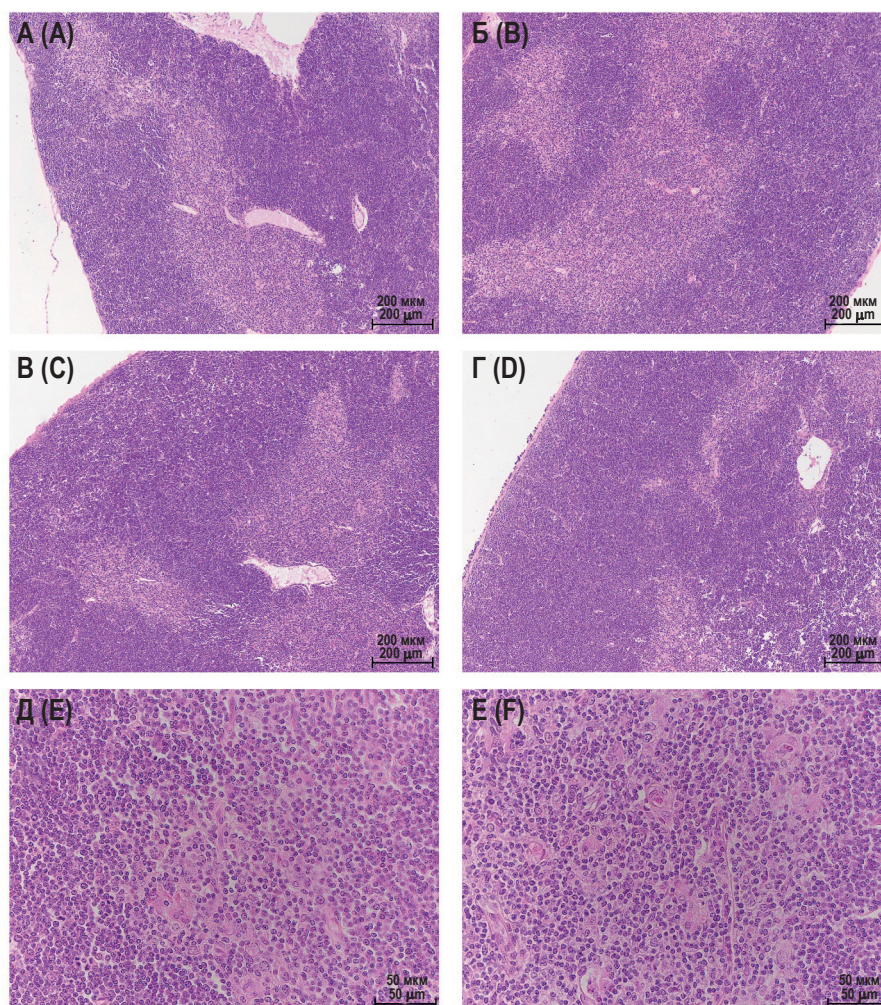


Рисунок 2. Морфологическая характеристика тимуса у ВК (А) и НК (Б), ВХК (А, В, Д) и НХК (Б, Г, Е) мышей С57В1/6

Примечание. А, Б – контрольные группы мышей, корковое вещество плотно заселено лимфоцитами, границы между корковым и мозговым веществом четкие. В – хронический колит, границы коркового и мозгового вещества очагово-нечеткие. Г – хронический колит, гиперплазия коркового вещества, тимическое тельце в виде кистоподобной полости в корковом веществе. Д, Е – хронический колит, тимические тельца из эпителиальных клеток. Окраска гематоксилином и эозином.

Figure 2. Morphological characteristics of the thymus in adult male C57Bl/6 mice with different tolerance to hypoxia in control groups (A, B) and with chronic ulcerative colitis (C-F)

Note. A, C, E, tolerant to hypoxia. B, D, F, susceptible to hypoxia. A, B, control groups, the cortex is densely populated with lymphocytes, the boundaries between the cortex and medulla are clear. C, chronic colitis, the boundaries of the cortex and medulla are focally indistinct. D, chronic colitis, hyperplasia of the cortex, thymic body in the form of a cyst-like cavity in the cortex. E, F, chronic colitis, thymic bodies formed by epithelial cells. Hematoxylin and eosin staining.

**ПОДПИСНОЙ ИНДЕКС:
ПРЕССА РОССИИ – 15590**

ISSN 1028-7221



9 771234 567898