

Том 27, № 4. С. 741-1116

**2024**

Официальный журнал  
Российского Научного Общества Иммунологов

**РОССИЙСКИЙ  
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ  
ЖУРНАЛ**



**RUSSIAN JOURNAL  
OF IMMUNOLOGY**

Official Journal  
of Russian Society of Immunology

Volume 27  
Number 4

**2024**



## XV Всероссийская школа по клинической иммунологии

### «ИММУНОЛОГИЯ ДЛЯ ВРАЧЕЙ»

2 – 8 февраля 2025 года

Пушкинские Горы, Псковская область

#### Организаторы:

Министерство здравоохранения  
Российской Федерации

Российская Академия Наук

Федеральная служба по надзору  
в сфере защиты прав потребителей  
и благополучия человека

Комитет по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга  
Администрация Псковской области

\*\*\*\*\*

ГНЦ – Институт иммунологии ФМБА России  
Институт экспериментальной медицины  
НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера Роспотребнадзора  
Первый Санкт-Петербургский государственный  
медицинский университет им. акад. И.П. Павлова

\*\*\*\*\*

Российское научное общество иммунологов  
Российская ассоциация аллергологов и клинических иммунологов  
Российское цитокиновое общество  
Ассоциация специалистов и организаций  
лабораторной службы «Федерация Лабораторной Медицины»  
Санкт-Петербургское региональное отделение Всероссийской Общественной  
Организации – Ассоциации Аллергологов и Клинических Иммунологов

#### В программе школы:

- Лекции ведущих российских иммунологов
- Лекции зарубежных специалистов
- Семинары по практическим вопросам иммунологии

#### Пакет слушателя включает:

- Посещение лекций и семинаров
- Проживание
- 3-разовое питание
- Трансфер Псков – Пушкинские Горы и обратно (аэропорт)

**Слушатели, зарегистрированные на сайте НМО [www.sovetnmo.ru](http://www.sovetnmo.ru),  
получат зачетные единицы**

Координатор проекта:  
*Зам. председателя СПб РО РААКИ,  
академик РАН, Тотолян Арег Артемович*  
197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14  
НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

**Заявки подавать до 1 декабря 2024 года.**  
**Секретариат: Ракитянская Наталья Владимировна**  
Тел./факс: (812) 644-63-12, e-mail: [shkola@spbraaci.ru](mailto:shkola@spbraaci.ru)  
Адрес для корреспонденции:  
197101, Санкт-Петербург, а/я 130, СПб РО РААКИ

РОССИЙСКОЕ НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО ИММУНОЛОГОВ  
(РНОИ)

---

# РОССИЙСКИЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

октябрь-декабрь

**2024, том 27**

**№. 4**

---

Основан в 1996 году

## Главный редактор

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

## Заместитель главного редактора

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

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

## Редакционная коллегия

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**Петров Рэм Викторович** – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом иммунологии Института 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 Михаль** – 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 биорганосинтеза 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. 47. Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.)

Заказ № 053

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**

October-December

**2024, volume 27**

**No. 4**

---

Published since 1996

## Editor-in-chief

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

## Deputy Editor-in-Chief

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

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

## Editorial board

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

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

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

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

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

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

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

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

**Musa R. 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. Simbirsev** – PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, St. Petersburg Institute of Pure Biochemicals, Head Researcher, St. Petersburg, 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.

**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

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 47. Circulation 2000 copies. (1<sup>st</sup> 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

Хрущёв К.А., Шилов С.Ю., Барков С.Ю., Шилов Ю.И. МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К СРАВНИТЕЛЬНОЙ ОЦЕНКЕ КЛЕТОЧНЫХ РЕАКЦИЙ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА У МОЛЛЮСКОВ <i>ROMAESA SP. (CAENOGASTROPODA, AMPULLARIIDAE)</i> ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АСЕПТИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ.....	749
Моисеев В.И., Мочалов К.С., Головизнин М.В. ФИЗИКО-ИНФОРМАЦИОННАЯ МОДЕЛЬ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ КАК РАЗВИТИЕ ТЕОРИИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СИСТЕМ П.К. АНОХИНА.....	757
Бедулева Л.В., Сидоров А.Ю., Терентьев А.С., Фомина К.В., Меньшиков И.В. РЕАКЦИЯ ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНОВ НА ИММУНИЗАЦИЮ Fc-ФРАГМЕНТАМИ IgG, НЕСУЩИМИ ЭПИТОПЫ, СПЕЦИФИЧНЫЕ К РЕГУЛЯТОРНОМУ РЕВМАТОИДНОМУ ФАКТОРУ .....	763
Куклина Е.М., Сурсякова Н.В., Данченко И.Ю., Глебездина Н.С., Байдина Т.В. МЕЛАТОНИН КАК ИНДУКТОР ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ КЛЕТОК Th17: НОВЫЕ МЕХАНИЗМЫ .....	769
Ревякина В.А., Мухомых В.А., Тармаева Н.А., Ларькова И.А. ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ АПОПТОЗА У БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ.....	775
Рязанцев Д.Ю., Габриелян Н.Г., Полякова С.М., Заериев С.К. ИММУНО-РКК ДЛЯ ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ ДЕТЕКЦИИ КОМПЛЕКСА «АНТИГЕН-АНТИТЕЛО» НА МОДЕЛИ АНТИГЕНОВ ГРУППЫ КРОВИ .....	781
Нероева Н.В., Балацкая Н.В., Нероев В.В., Бриллиантова А.Г., Катаргина Л.А., Лагарькова М.А. ДИНАМИКА КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ РЕТИНАЛЬНОГО ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ КОМБИНИРОВАННОЙ ИММУНОСУПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИИ В МОДЕЛИ ДЕГЕНЕРАЦИИ СЕТЧАТКИ НА КРОЛИКАХ .....	787
Уракова М.А., Капустин И.В., Плеханова Е.С., Пахмутова П.А., Шайхуллин А.А., Шареев Д.В., Брындина И.Г. ВЛИЯНИЕ ИММУНОСУПРЕССОРА FTY-720 НА КОАГУЛЯЦИОННУЮ, НИТРОКСИДЕРГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ И ВОДНЫЙ БАЛАНС ЛЕГКИХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АНТИФОСФОЛИПИДНОМ СИНДРОМЕ .....	795
Козлов В.К., Петленко С.В. ДИСФУНКЦИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ПЕРСОНАЛА ОБЪЕКТОВ ХИМИЧЕСКОЙ ОПАСНОСТИ: НАЗНАЧЕНИЕ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ИММУНОТЕРАПИИ .....	801
Андреева И.И., Уразмамбетов Р.Т., Чеботов С.А. СОСТОЯНИЕ ПСИХОЛОГИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СТУДЕНТОВ ВЫПУСКНОГО КУРСА МЕДИЦИНСКОГО ВУЗА.....	811
Чудакова Ю.М., Никитина С.Г., Балакирева Е.Е., Шмарин В.В., Салимова Т.А., Мартынов А.В., Шмарина Г.В., Костюк С.В. ПРИЗНАКИ ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ У ДЕТЕЙ С РАССТРОЙСТВАМИ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА.....	819
Алексеева А.С., Филиппова Ю.Ю., Бурмистрова А.Л. ЭКСПРЕССИЯ КЛЮЧЕВЫХ МОЛЕКУЛ КЛАССИЧЕСКОГО ПУТИ АКТИВАЦИИ ВОСПАЛЕНИЯ В ЛЕЙКОЦИТАХ КРОВИ ДЕТЕЙ С АУТИЗМОМ .....	825
Черевко Н.А., Новиков П.С., Худякова М.И., Архипов А.М., Логинова Е.А., Вековцев А.А., Былин П.Г. ВЛИЯНИЕ МОДУЛЯЦИИ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ НА КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И УРОВЕНЬ ОКСИТОЦИНА У ДЕТЕЙ С РАССТРОЙСТВАМИ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА.....	831
Камалов Т.М., Музафарова С.А. ОСОБЕННОСТИ СИНТЕЗА ЦИТОКИНОВ У ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ С ОЛИГОМЕНОРЕЕЙ И ДЕФИЦИТОМ МАССЫ ТЕЛА .....	839
Азизова З.Ш., Ешимбетова Г.З., Жураева Д.М. ДИСРЕГУЛЯЦИЯ РОСТОВЫХ ФАКТОРОВ И ПЛАЦЕНТАРНАЯ ДИСФУНКЦИЯ.....	845
Хамдамов Б.З., Турдыева Д.О., Рустамова Н.Б. СИНТЕЗ ЦИТОКИНОВ ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ ПРОТЕКАЮЩЕЙ БЕРЕМЕННОСТИ .....	853
Мусаходжаева Д.А., Рустамова Н.Б., Садыкова Х.З. НАРУШЕНИЕ ЦИТОКИНОВОГО БАЛАНСА У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН С ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ .....	859
Джаббарова Ю.К., Абдиева С., Суяркулова М.Э. HYPERMESIS GRAVIDARUM – ЭТО «ЦИТОКИНОВЫЙ ШТОРМ»? .....	865
Исанбаева Л.М., Мусаходжаева Д.А., Нарзуллоева Н.С. НАРУШЕНИЯ В СИНТЕЗЕ ЦИТОКИНОВ У ЖЕНЩИН С МИОМОЙ МАТКИ.....	871
Малащенко В.В., Хазиахматова О.Г., Юрова К.А., Тодосенко Н.М., Бограя М.М., Газатова Н.Д., Мелащенко О.Б., Белецкая М.А., Литвинова Л.С. ОСОБЕННОСТИ ПРОВосПалительного ОТвЕта Моноцитов/Макрофагов у БОльНЫХ МЕТАБОлическим Синдромом на примере ПРОдукции IL-6 и MСР-1 .....	877
Снигирев А.Я., Терентьева О.С., Шкляева Н.П. АНТИТЕЛА К gp120 ВИЧ-1 В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ АТЕРОСКЛЕРОЗА, ВЫЗВАННОГО ИММУНИЗАЦИЕЙ НАТИВНЫМИ ЛИПОПРОТЕИНАМИ ВЫСОКОЙ ПЛОТНОСТИ .....	883
Хованцева У.С., Матвеева Д.К., Чакал Д.А., Брешенков Д.Г., Чарчян Э.Р. ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ И СПОСОБНОСТЬ К ПРОВосПалительной АКТИВАЦИИ Гладкомышечных Клеток интимы аорты человека в эксперименте .....	887
Верхова С.С., Никифоров Н.Г., Чегодаев Е.С., Попов М.А. ПАЦИЕНТЫ С КОРОНАРНЫМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ ИМЕЛИ ИЗМЕНЕННОЕ СООТНОШЕНИЕ СУБПОПУЛЯЦИЙ МОНОЦИТОВ В КРОВИ, КОТОРОЕ БЫЛО СВЯЗАНО С ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИЕЙ КЛЕТОК .....	893
Шперлинг М.И., Кубышкин А.В., Урюпин К.И. ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ ПРОВосПалительных ЦИТОКИНОВ для ОЦЕНКИ РЕПАРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ТКАНЕЙ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ и Локальной Коррекции ГиАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ .....	899
Желтикова Т.М., Ахапкина И.Г., Антропова А.Б., Конищева А.Ю., Мазурина С.А., Мокроносорова М.А. СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ К ПАНАЛЛЕРГЕНАМ .....	907
Кухарев Я.В., Климов А.В., Климов В.В., Щербик Н.В., Шкатова А.Н., Слэзкин М.И., Хусейнова К.Д. КОРРЕЛЯЦИЯ ЧАСТОТЫ АТОПИЧЕСКОЙ КОМОРБИДНОСТИ С ЛАБОРАТОРНЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ РИНИТЕ.....	913

Зайцева Н.С., Сизякина Л.П., Уразмамбетов Р.Т. РОЛЬ ИММУНОПОСРЕДОВАННОЙ ДИСРЕГУЛЯЦИИ В ПРОГРЕССИРОВАНИИ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ У ВОЕННОСЛУЖАЩИХ В УСЛОВИЯХ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО СТРЕССА.....	919
Игнатова И.А., Иваненко Д.Б. КРАТКИЙ ОБЗОР СОВРЕМЕННЫХ СТАТЕЙ ОБ ЭТИОПАТОГЕНЕЗЕ И РЕАБИЛИТАЦИИ ПАЦИЕНТОВ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМ РИНИТОМ .....	925
Кологривова Е.Н., Плешко Р.И., Черемисина О.В., Болдышевская М.А., Герена Е.А., Насибов Т.Ф. ТКАНЕВЫЙ ПУЛ ГИПЕРСЕКМЕНТИРОВАННЫХ НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С ПРЕДОПУХОЛЕВЫМИ И ОПУХОЛЕВЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ГОРТАНИ И ГОРТАНОГЛОТКИ .....	929
Попиванова Т.В., Вишков В.А. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ КРОВИ ПРИ ГАСТРИТЕ У ШКОЛЬНИКОВ С СЕМЕЙНОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬЮ К РАКУ ЖЕЛУДКА И ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ .....	939
Попиванова Т.В., Вишков В.А. ЦИТОКИНЫ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ЭРОЗИВНЫМ ГАСТРИТОМ .....	947
Шодиева М.С., Тешаев Ш.Ж., Наврузова Ш.И. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ИНДИКАТОРЫ РИСКА ПЕРЕХОДА ХРОНИЧЕСКИХ ГАСТРИТОВ В ЯЗВЕННУЮ БОЛЕЗНЬ ЖЕЛУДКА У ПОДРОСТКОВ .....	953
Наврузова Ш.И., Эргашева М.У. ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ УРОЦИТОКИНОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТАХ У ДЕТЕЙ .....	959
Минасова А.А., Савочкина А.Ю., Нохрин Д.Ю., Шарабакина К.А., Пашкина Н.В., Никушкина К.В. ВЗГЛЯД НА ИММУНОЛОГИЧЕСКОЕ МУЖСКОЕ БЕСПЛОДИЕ С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ СОХРАНЕНИЯ ГОМЕОСТАЗА СЕМЕННОЙ ЖИДКОСТИ .....	967
Лабис В.В., Исакина М.О., Козлов И.Г. ДЕНТАЛЬНАЯ ИМПЛАНТАЦИЯ У ПАЦИЕНТОВ С КОМОРБИДНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ: ДА ИЛИ НЕТ?.....	975
Ширинский И.В., Филатова К.Ю., Ширинский В.С. ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ФАРМАКОДИНАМИКА ФИТОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ МЕТАБОЛИЧЕСКИМ ФЕНОТИПОМ ОСТЕОАРТРИТА .....	981
Козлов В.К. СПЕЦИФИЧЕСКАЯ АНТИТОКСИЧЕСКАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ: ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В МЕДИЦИНСКОЙ ПРАКТИКЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ.....	987
Боярая М.М., Вульф М.А., Сафуллина Л.А., Паскидов Д.В., Шнар В.А., Газатова Н.Д., Михайлова Л.В., Литвинова Л.С. ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНА VDR rs731236 И rs2228570 ВЛИЯЮТ НА УРОВЕНЬ ВИТАМИНА D У ЛИЦ КАЛИНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ .....	995
Евсеева Г.П., Книжникова Е.В., Абдулина Н.О., Пичугина С.В., Чайка М.С. ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЛЕГКИХ С ПОСТВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ ПНЕВМОФИБРОЗОМ .....	1001
Сизякина Л.П., Андреева И.И., Данилова Д.И. ПАРАДИГМА ВОЗМОЖНОСТЕЙ, ВЕДУЩИХ К ФОРМИРОВАНИЮ АУТОИММУННОГО И ИНФЕКЦИОННОГО ФЕНОТИПОВ ОБЩЕВАРИАбельной ИММУННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ .....	1009
Забокрицкий Н.А. НОВОЕ ИММУНОФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ БИОСОЕДИНЕНИЕ .....	1017
Ерофеева М.К., Бузицкая Ж.В., Шахланская Е.В., Писарева М.М., Стукова М.А., Лизонов Д.А. ОЦЕНКА ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ РОССИЙСКИХ ГРИППОЗНЫХ ВАКЦИН В ЭПИДЕМИЧЕСКИЕ СЕЗОНЫ 2018-2021 ГОДОВ.....	1021
Алешина Л.В., Гамова И.В., Гирча А.Ю., Беликова А.В., Алешин Д.В. МОБИЛЬНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ПРЕОДОЛЕНИИ АНТИПРИВИВОЧНОГО СКЕПСИСА.....	1029
Андреева Н.П. РЕЗУЛЬТАТЫ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ПОДРОСТКОВ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ .....	1035
Борисов А.Г., Тихонова Е.П., Костромина Р.А., Анисимова Е.Н., Садовский И.С., Бронникова Е.П., Перетягко О.В., Савченко А.А. НОВАЯ КОНЦЕПЦИЯ ПРОФИЛАКТИКИ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЙ .....	1041
Кригер Е.А., Самодова О.В., Самойлов Р.В., Щепина И.В. ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТОЯНИЯ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА К COVID-19 ЖИТЕЛЕЙ АРХАНГЕЛЬСКА .....	1049
Богатырева А.И., Киселева Д.Г., Чередниченко В.Р., Маркина Ю.В., Кириченко Т.В. ОСОБЕННОСТИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВАЦИИ МАКРОФАГОВ У ПАЦИЕНТОВ С АУТОИММУННЫМИ РЕВМАТИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ .....	1057
Юлдашев У.К., Музафарова С.А. НЕКОТОРЫЕ ПАРАМЕТРЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ЖЕНЩИН С ГИПЕРАНДРОГЕНИЕЙ .....	1065
Бахта А.А., Карпенко Л.Ю., Никонов И.Н. БУРЫЕ ВОДОРОСЛИ БЕЛОГО МОРЯ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИСТОЧНИК ФУКОИДАНА ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА КУР-НЕСУШЕК .....	1071
Орлова Е.Г., Логинова О.А., Горбунова О.Л., Ширшев С.В. ВЛИЯНИЕ КИСПЕПТИНА НА СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ РЕГУЛЯТОРНЫХ КЛЕТОК (Th17, Treg, iNKT) ТИМУСА IN VITRO.....	1077
Балацкая Н.В., Куликова И.Г., Еремеева Е.А., Андрияшин А.Е. ИММУНОКОРРИГИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ ФЕНОФИБРАТА «ТРАЙКОР» ПРИ ЛЕЧЕНИИ НАЧАЛЬНОЙ И ПРОМЕЖУТОЧНОЙ СТАДИЙ ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ.....	1085
Сагдуллаева С.А., Варакута Е.Ю., Штыр А.В. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГНОЙНОГО РАНЕВОГО ДЕФЕКТА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НЕТКАНОЙ ПОЛИМЕРНОЙ ПЬЕЗОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ В КОМБИНАЦИИ С ВАНКОМИЦИНОМ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ) .....	1091
Супрун Е.Н., Супрун С.В., Козлов В.К., Галянт О.И., Евсеева Г.П. ПОКАЗАТЕЛИ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ И СТАНДАРТНОЙ ИММУНОГРАММЫ ПРИ КОНТРОЛИРУЕМОМ И НЕКОНТРОЛИРУЕМОМ ТЕЧЕНИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ .....	1097
Хасанова Е.М., Греченко В.В., Громова Т.В., Сходова С.А., Ганковская Л.В. ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ TLR2 И TLR4 ПРИ УСПЕШНОМ И ПАТОЛОГИЧЕСКОМ СТАРЕНИИ .....	1107
АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ.....	1115
ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ .....	1116



## CONTENTS

### Short communications

*Khrushchev K.A., Shilov S.Yu., Barkov S.Yu., Shilov Yu.I.*

**METHODOLOGICAL APPROACHES TO THE COMPARATIVE ASSESSMENT OF CELLULAR REACTIONS OF INNATE IMMUNITY IN MOLLUSK *POMACEA* SP. (CAENOASTROPODA, AMPULLARIIDAE) IN EXPERIMENTAL ASEPTIC INFLAMMATION** .....749

*Moiseev V.I., Mochalov K.S., Goloviznin M.V.*

**PHYSICAL-INFORMATION MODEL OF THE IMMUNE SYSTEM AS A DEVELOPMENT OF P.K. ANOKHIN'S THEORY OF FUNCTIONAL SYSTEMS**.....757

*Beduleva L.V., Sidorov A.Yu., Terentiev A.S., Fomina K.V., Menshikov I.V.*

**RESPONSE OF LYMPHOID ORGANS TO IMMUNIZATION WITH Fc FRAGMENTS OF IgG CARRYING EPITOPES SPECIFIC TO REGULATORY RHEUMATOID FACTOR**.....763

*Kuklina E.M., Sursyakova N.V., Danchenko I.Yu., Glebezdina N.S., Baidina T.V.*

**MELATONIN AS AN INDUCER OF Th17 CELL DIFFERENTIATION: NEW MECHANISMS** .....769

*Revyakina V.A., Mukhortykh V.A., Tarmaeva N.A., Larkova I.A.*

**EVALUATION OF APOPTOSIS MARKERS IN PATIENTS WITH ATOPIC DERMATITIS** .....775

*Ryazantsev D.Yu., Gabrielyan N.G., Polyakova S.M., Zavriev S.K.*

**IMMUNO-RCA FOR HIGHLY SENSITIVE DETECTION OF THE ANTIGEN-ANTIBODY COMPLEX IN THE BLOOD GROUP ANTIGEN MODEL** .....781

*Neroeva N.V., Balatskaya N.V., Neroev V.V., Brilliantova A.G., Katargina L.A., Lagarkova M.A.*

**DYNAMICS OF CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN RETINAL PIGMENT EPITHELIUM TRANSPLANTATION IN THE CONTEXT OF COMBINED IMMUNOSUPPRESSIVE THERAPY IN THE RABBIT MODEL OF RETINAL DEGENERATION** .....787

*Urakova M.A., Kapustin I.V., Plekhanova E.S., Pakhmutova P.A., Shaykhullin A.A., Sharaev D.V., Bryndina I.G.*

**THE EFFECT OF IMMUNOSUPPRESSIVE AGENT FTY-720 ON COAGULATION, NITROXIDERGIC LUNG ACTIVITY AND WATER BALANCE IN EXPERIMENTAL ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME** .....795

*Kozlov V.K., Petlenko S.V.*

**IMMUNE SYSTEM DYSFUNCTION IN PERSONNEL OF CHEMICAL HAZARD FACILITIES: PURPOSE AND EFFECTIVENESS OF IMMUNOTHERAPEUTIC DRUGS** .....801

*Andreeva I.I., Urazmambetov R.T., Chebotov S.A.*

**THE STATE OF PSYCHOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL INDICATORS IN GRADUATE STUDENTS OF A MEDICAL UNIVERSITY** .....811

*Chudakova Yu.M., Nikitina S.G., Balakireva E.E., Shmarin V.V., Salimova T.A., Martynov A.V., Shmarina G.V., Kostyuk S.V.*

**IMMUNE ALTERATIONS IN CHILDREN WITH AUTISM SPECTRUM DISORDERS**.....819

*Alekseeva A.S., Filippova Yu.Yu., Burmistrova A.L.*

**EXPRESSION OF KEY MOLECULES OF THE CLASSICAL INFLAMMATION ACTIVATION PATHWAY IN BLOOD LEUKOCYTES OF AUTISTIC CHILDREN** .....825

*Cherevko N.A., Novikov P.S., Khudyakova M.I., Arkhipov A.M., Loginova E.A., Vekovtsev A.A., Bylin P.G.*

**THE INFLUENCE OF MODULATION OF INTESTINAL MICROBIOTA ON CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL PARAMETERS AND OXYTOCIN LEVELS IN CHILDREN WITH AUTISM SPECTRUM DISORDERS**.....831

*Kamalov T.M., Muzafarova S.A.*

**SPECIFIC FEATURES OF CYTOKINE SYNTHESIS IN ADOLESCENT GIRLS WITH OLIGOMENORRHEA AND LOW BODY MASS INDEX** .....839

*Azizova Z.Sh., Eshimbetova G.Z., Zhuraeva D.M.*

**GROWTH FACTOR DYSREGULATION AND PLACENTAL DYSFUNCTION** .....845

*Khamdamov B.Z., Turdyeva D.O., Rustamova N.B.*

**SYNTHESIS OF CYTOKINES DURING PHYSIOLOGICAL PREGNANCY** .....853

*Musakhodzhaeva D.A., Rustamova N.B., Sadykova H.Z.*

**CYTOKINE BALANCE IN PREGNANT WOMEN WITH PREECLAMPSIA**.....859

*Djabbarova Yu.K., Abdieva S., Suyarkulova M.E.*

**HYPEREMESIS GRAVIDARUM IS A CYTOKINE STORM?** .....865

*Isanbaeva L.M., Musakhodzhaeva D.A., Narzulloeva N.S.*

**DISORDERS IN CYTOKINE SYNTHESIS IN WOMEN WITH UTERINE FIBROIDS** .....871

*Malashchenko V.V., Khaziakhmatova O.G., Yurova K.A., Todosenko N.M., Bograya M.M., Gazatova N.D., Melashchenko O.B., Beletskaya M.A., Litvinova L.S.*

**CHARACTERISTICS OF THE PROINFLAMMATORY RESPONSE OF MONOCYTES/MACROPHAGES IN PATIENTS WITH METABOLIC SYNDROME, EXEMPLIFIED BY THE PRODUCTION OF IL-6 AND MCP-1**.....877

*Snigirev A.Ya., Terentieva O.S., Shklyayeva N.P.*

**ANTIBODIES TO HIV-1 gp120 IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF ATHEROSCLEROSIS CAUSED BY IMMUNIZATION WITH NATIVE HIGH-DENSITY LIPOPROTEINS**.....883

*Khovantseva U.S., Matveeva D.K., Chakal D.A., Breshenkov D.G., Charchyan E.R.*

**PHAGOCYTIC ACTIVITY AND PROINFLAMMATORY ACTIVATION POTENTIAL OF SMOOTH MUSCLE CELLS OF THE TUNICA INTIMA OF HUMAN AORTA UNDER EXPERIMENTAL CONDITIONS**.....887

*Verkhova S.S., Nikiforov N.G., Chegodaev E.S., Popov M.A.*

**PATIENTS WITH CORONARY ATHEROSCLEROSIS HAD AN ALTERED RATIO OF MONOCYTE SUBPOPULATIONS IN THE BLOOD, WHICH WAS ASSOCIATED WITH AN INFLAMMATORY CELL RESPONSE**.....893

*Shperling M.I., Kubyshkin A.V., Uryupin K.I.*

**DETERMINATION OF PROINFLAMMATORY CYTOKINE LEVELS TO ASSESS THE REPARATIVE POTENTIAL OF TISSUES IN ISCHEMIC DAMAGE AND LOCAL CORRECTION WITH HYALURONIC ACID**.....899

*Zhelitikova T.M., Akhapkina I.G., Antropova A.B., Konishcheva A.Yu., Mazurina S.A., Mokronosova M.A.*

**MODERN PROBLEMS OF SENSITIZATION TO PANALLERGENS** .....907

*Kukharev Ya.V., Klimov A.V., Klimov V.V., Tcherbik N.V., Shkatova A.N., Slezkin M.I., Huseinova K.D.*

**RANK CORRELATION BETWEEN ATOPIC COMORBIDITY AND LABORATORY PARAMETERS IN ALLERGIC RHINITIS**.....913

Zaitseva N.S., Sizyakina L.P., Urazmambetov R.T. <b>THE ROLE OF IMMUNO-MEDIATED DYSREGULATION IN THE PROGRESSION OF ALLERGIC PATHOLOGY IN MILITARY PERSONNEL UNDER OCCUPATIONAL STRESS</b> .....	919
Ignatova I.A., Ivanenko D.B. <b>ALLERGIC RHINITIS: A BRIEF OVERVIEW OF THE ETIOPATHOGENESIS AND REHABILITATION OF PATIENTS</b> .....	925
Kologrivova E.N., Pleshko R.I., Cheremisinina O.V., Boldyshevskaya M.A., Gereng E.A., Nasibov T.F. <b>TISSUE POOL OF HYPERSEGMENTED NEUTROPHILS IN PATIENTS WITH PRECANCEROUS AND TUMOR DISEASES OF THE LARYNX AND LARYNGOPHARYNX</b> .....	929
Polivanova T.V., Vshivkov V.A. <b>COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE BLOOD CYTOKINE PROFILE IN GASTRITIS IN SCHOOLCHILDREN WITH A FAMILY PREDISPOSITION TO GASTRIC CANCER AND PEPTIC ULCER</b> .....	939
Polivanova T.V., Vshivkov V.A. <b>BLOOD CYTOKINES IN CHILDREN WITH EROSIIVE GASTRITIS</b> .....	947
Shodieva M.S., Tshaev Sh.J., Navruzova Sh.I. <b>IMMUNOLOGICAL INDICATORS OF THE RISK OF THE TRANSITION FROM CHRONIC GASTRITIS TO GASTRIC ULCER IN ADOLESCENTS</b> .....	953
Navruzova Sh.I., Ergasheva M.U. <b>THE DIAGNOSTIC VALUE OF CYTOKINES IN CHRONIC GLOMERULONEPHRITIS IN CHILDREN</b> .....	959
Minasova A.A., Savochkina A.Yu., Nokhrin D.Yu., Sharabakina K.A., Pashkina N.V., Nikushkina K.V. <b>A VIEW OF IMMUNOLOGIC MALE INFERTILITY FROM THE PERSPECTIVE OF PRESERVING SEMINAL FLUID HOMEOSTASIS</b> .....	967
Labis V.V., Isakina M.O., Kozlov I.G. <b>DENTAL IMPLANTATION IN PATIENTS WITH COMORBID DISEASES: YES OR NO?</b> .....	975
Shirinsky I.V., Filatova K.Yu., Shirinsky V.S. <b>EFFICACY AND PHARMACODYNAMICS OF HERBAL MEDICINE IN PATIENTS WITH METABOLIC PHENOTYPE OF OSTEOARTHRITIS</b> .....	981
Kozlov V.K. <b>SPECIFIC ANTI-TOXIC IMMUNOTHERAPY: USE IN MEDICAL PRACTICE AND PERSPECTIVES</b> .....	987
Bograya M.M., Vulf M.A., Safiullina L.A., Paskidov D.V., Shnar V.A., Gazatova N.D., Mikhailova L.V., Litvinova L.S. <b>VDR GENE POLYMORPHISMS rs731236 AND rs2228570 AFFECT VITAMIN D LEVELS IN PEOPLE OF THE KALININGRAD REGION</b> .....	995
Evseeva G.P., Knizhnikova E.V., Abdulina N.O., Pichugina S.V., Chaika M.S. <b>PHAGOCYTIC ACTIVITY OF NEUTROPHIL BLOOD GRANULOCYTES IN CHILDREN WITH CHRONIC NON-SPECIFIC LUNG DISEASES WITH POST-INFLAMMATORY PNEUMOFIBROSIS</b> .....	1001
Sizyakina L.P., Andreeva I.I., Danilova D.I. <b>THE PARADIGM OF POSSIBILITIES LEADING TO THE FORMATION OF AUTOIMMUNE AND INFECTIOUS PHENOTYPES OF COMMON VARIABLE IMMUNE DEFICIENCY</b> .....	1009
Zabokritskiy N.A. <b>A NOVEL IMMUNOPHARMACOLOGICAL BIOCOMPOUND</b> .....	1017
Erofeeva M.K., Buzitskaya Zh.V., Shakhmanskaya E.V., Pisareva M.M., Stukova M.A., Lioznov D.A. <b>EVALUATION OF THE PREVENTIVE EFFECTIVENESS OF RUSSIAN INFLUENZA VACCINES IN THE EPIDEMIC SEASONS OF 2018-2021</b> .....	1021
Aleshina L.V., Gamova I.V., Girsha A.Yu., Belikova A.V., Aleshin D.V. <b>USE OF MOBILE COMMUNICATION TECHNOLOGY TO OVERCOME VACCINE SKEPTICISM</b> .....	1029
Andreeva N.P. <b>THE RESULTS OF VACCINATION AGAINST NOVEL CORONAVIRUS INFECTION IN ADOLESCENTS WITH ALLERGIC DISEASES</b> .....	1035
Borisov A.G., Tikhonova E.P., Kostromina R.A., Anisimova E.N., Sadowsky I.S., Bronnikova E.P., Peretyatko O.V., Savchenko A.A. <b>NEW CONCEPT FOR THE PREVENTION OF ACUTE RESPIRATORY INFECTIONS</b> .....	1041
Krieger E.A., Samodova O.V., Samoylikov R.V., Shchepina I.V. <b>STUDY OF THE STATE OF HUMORAL IMMUNITY TO COVID-19 IN ARKHANGELSK RESIDENTS</b> .....	1049
Bogatyрева A.I., Kiseleva D.G., Cherednichenko V.R., Markina Yu.V., Kirichenko T.V. <b>FEATURES OF PROINFLAMMATORY ACTIVATION OF MACROPHAGES IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS AND SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS</b> .....	1057
Yuldashev U.K., Muzafarova S.A. <b>SOME PARAMETERS OF THE IMMUNE SYSTEM IN WOMEN WITH HYPERANDROGENISM</b> .....	1065
Bakhta A.A., Karpenko L.Yu., Nikonov I.N. <b>BROWN ALGAE OF THE WHITE SEA AS A PROMISING SOURCE OF FUCOIDAN FOR INCREASING RESISTANCE IN LAYING HENS</b> .....	1071
Orlova E.G., Loginova O.A., Gorbunova O.L., Shirshov S.V. <b>THE KISSPEPTIN EFFECTS ON THE THYMIC REGULATORY CELL COMPOSITIONS (Th17, Treg, iNKT) <i>IN VITRO</i></b> .....	1077
Balatskaya N.V., Kulikova I.G., Ereemeeva E.A., Andryushin A.E. <b>IMMUNOCORRECTIVE EFFECTS OF TRICOR FENOFIBRATE IN THE TREATMENT OF THE EARLY AND INTERMEDIATE STAGES OF AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION</b> .....	1085
Sagdullaeva S.A., Varakuta E.Yu., Shtyr A.V. <b>MORPHOLOGICAL CHANGES IN PURULENT WOUND DEFECT OF THE ORAL MUCOSA WHEN USING A NON-WOVEN POLYMER MEMBRANE WITH VANCOMYCIN (EXPERIMENTAL STUDY)</b> .....	1091
Suprun E.N., Suprun S.V., Kozlov V.K., Galyant O.I., Evseeva G.P. <b>INDICATORS OF THE CYTOKINE PROFILE AND STANDARD IMMUNOGRAM IN THE CONTROLLED AND UNCONTROLLED COURSE OF BRONCHIAL ASTHMA IN CHILDREN</b> .....	1097
Khasanova E.M., Grechenko V.V., Gromova T.V., Skhodova S.A., Gankovskaya L.V. <b>ALTERATIONS IN EXPRESSION OF TLR2 AND TLR4 DURING SUCCESSFUL AND PATHOLOGICAL AGING</b> .....	1107
<b>AUTHOR INDEX</b> .....	1115
<b>SUBJECT INDEX</b> .....	1116

# МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К СРАВНИТЕЛЬНОЙ ОЦЕНКЕ КЛЕТОЧНЫХ РЕАКЦИЙ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА У МОЛЛЮСКОВ *POMACEA SP.* (*CAENOCASTROPODA, AMPULLARIIDAE*) ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АСЕПТИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ

Хрущёв К.А.<sup>1</sup>, Шилов С.Ю.<sup>2,3</sup>, Барков С.Ю.<sup>2,3</sup>, Шилов Ю.И.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь, Россия

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения РФ, г. Пермь, Россия

**Резюме.** Одной из существенных методических проблем, возникающих при исследовании клеток врожденного иммунитета беспозвоночных животных, является непригодность культуральных сред и даже солевых растворов, предназначенных для млекопитающих и человека. Другой важный методический момент – значительно выраженные реакции коагуляции, играющие важнейшую защитную роль у всех беспозвоночных животных, но проявляющиеся *in vitro* в клеточных суспензиях, приготовленных даже на оптимальных для данного животного солевых растворах. Для решения этой проблемы современные исследователи широко используют даже в функциональных тестах антикоагуляционный буфер с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА). С позиций традиционных подходов иммунологии млекопитающих использование ЭДТА возможно только для исследования морфологии клеток, но не их функций. Цель работы – адаптация методических подходов к сравнительной оценке клеточных реакций врожденного иммунитета у моллюсков *Pomacea sp.* при экспериментальном асептическом воспалении. Для оценки функций фагоцитирующих клеток у моллюсков *Pomacea sp.* мы использовали полный солевой раствор (ПСР) с оптимальными концентрациями глюкозы, ионов кальция, магния с обязательным добавлением для предотвращения коагуляции, клеточной агрегации и дегрануляции вместо ЭДТА натриевой соли гепарина в концентрации 100 ЕД/мл (ПСР-геп). В специально проведенном эксперименте показано, что при инкубации клеток гемолимфы в этом растворе сохраняется их жизнеспособность, оцениваемая методом проточной лазерной цитометрии при инкубации с аннексином V-PE (PE Annexin V) и 7-аминоактиномицином D (7-AAD), а также в тесте

## Адрес для переписки:

Шилов Станислав Юрьевич  
Институт экологии и генетики микроорганизмов  
Уральского отделения Российской академии наук  
614081, Россия, г. Пермь, ул. Голева, 13.  
Тел.: 8 (902) 794-12-90.  
E-mail: jshilov@mail.ru

## Address for correspondence:

Stanislav Yu. Shilov  
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms  
13 Golev St  
Perm  
614081 Russian Federation  
Phone: +7 (902) 794-12-90.  
E-mail: jshilov@mail.ru

## Образец цитирования:

К.А. Хрущёв, С.Ю. Шилов, С.Ю. Барков, Ю.И. Шилов  
«Методические подходы к сравнительной оценке  
клеточных реакций врожденного иммунитета у  
моллюсков *Pomacea sp.* (*Caenogastropoda, Ampullariidae*)  
при экспериментальном асептическом воспалении»  
// Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27,  
№ 4. С. 749–756.  
doi: 10.46235/1028-7221-16939-MAT

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

## For citation:

K.A. Khrushchev, S.Yu. Shilov, S.Yu. Barkov, Yu.I. Shilov  
“Methodological approaches to the comparative assessment  
of cellular reactions of innate immunity in mollusk *Pomacea*  
*sp.* (*Caenogastropoda, Ampullariidae*) in experimental aseptic  
inflammation”, *Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy*  
*Immunologicheskii Zhurnal*, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 749–756.  
doi: 10.46235/1028-7221-16939-MAT

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16939-MAT

с трипановым синим. Показана возможность исследования с использованием ПСР-геп поглотительной активности и ацидификации фагосом лейкоцитов гемолимфы, органа кроветворения (почки) и очага воспаления, индуцированного внутримышечным введением стерильной суспензии зимозана. В отличие от моллюсков *Limnaea stagnalis* и *Biomphalaria glabrata*, у которых хорошо документирована продукция активных форм кислорода фагоцитами в реакции люминолзависимой хемилюминисценции, мы не смогли индуцировать эту реакцию у моллюсков *Pomacea* sp. В специально проведенном эксперименте мы не выявили влияния натриевой соли гепарина в концентрации 100 ЕД/мл на продукцию активных форм кислорода фагоцитами крыс.

**Ключевые слова:** моллюски, *Pomacea* sp., *Caenogastropoda*, *Ampullariidae*, врожденный иммунитет, фагоцитоз, pHrodo™, люминолзависимая хемилюминисценция, воспаление, сравнительная иммунология

## METHODOLOGICAL APPROACHES TO THE COMPARATIVE ASSESSMENT OF CELLULAR REACTIONS OF INNATE IMMUNITY IN MOLLUSK *POMACEA* SP. (*CAENOCASTROPODA*, *AMPULLARIIDAE*) IN EXPERIMENTAL ASEPTIC INFLAMMATION

Khrushchev K.A.<sup>a</sup>, Shilov S.Yu.<sup>b, c</sup>, Barkov S.Yu.<sup>b, c</sup>, Shilov Yu.I.<sup>a, b, c</sup>

<sup>a</sup> Perm State University, Perm, Russian Federation

<sup>b</sup> Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

<sup>c</sup> E. Wagner Perm State Medical University, Perm, Russian Federation

**Abstract.** One of the significant methodological problems that arise in the study of cells of the innate immunity of invertebrates is the unsuitability of culture media and even salt solutions intended for mammals and humans. Another important methodological point is the significantly pronounced reactions of coagulation, which play an important protective role in all invertebrates, but manifest themselves *in vitro* in cellular suspensions prepared even with optimal saline solutions for this animal. To solve this problem, researchers widely use an anticoagulation buffer with ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) even in functional tests. From the standpoint of traditional approaches of mammalian immunology, the use of EDTA is possible only for the study of cell morphology, but not their functions. The aim of the work is to adapt methodological approaches to the comparative assessment of cellular reactions of innate immunity in *Pomacea* sp mollusks in experimental aseptic inflammation. To evaluate the functions of phagocytic cells in mollusk *Pomacea* sp., we used a complete salt solution (CSS) with optimal concentrations of glucose, calcium ions, magnesium with addition to prevent coagulation, cellular aggregation and degranulation instead of EDTA sodium salt of heparin at a concentration of 100 IU/mL (CSS-hep). As a result of a specially conducted experiment, it was shown that during incubation of hemolymph cells in this solution, their viability is preserved, evaluated by flow laser cytometry during incubation with annexin V-PE (PE Annexin V) and 7-aminoactinomycin D (7-AAD), as well as in a test with trypan blue. The possibility of studying the phagocytic activity and a phagosome acidification of leukocytes from hemolymph, hematopoiesis organ (kidney) and the focus of inflammation induced by intramuscular injection of sterile suspension of zymosan using CSS-hep is shown. Unlike the *Limnaea stagnalis* and *Biomphalaria glabrata* mollusks, in which the production of reactive oxygen species by phagocytes in the luminol-dependent chemiluminescence reaction is well documented, we were unable to induce this reaction in *Pomacea* sp. mollusks. In a specially conducted experiment, we did not reveal the effect of the sodium salt of heparin at a concentration of 100 IU/mL on the production of reactive oxygen species by rat phagocytes.

**Keywords:** mollusks, *Pomacea* sp., *Caenogastropoda*, *Ampullariidae*, innate immunity, phagocytosis, pHrodo™, luminol-dependent chemiluminescence, inflammation, comparative immunology



Исследования проводились в рамках государственного задания «ИЭГМ УрО РАН» по теме: «Изучение механизмов регуляции клеток иммунной системы и разработка методов их оценки в норме и патологии», номер 124020500027-7.

## Введение

Несмотря на то, что с открытия И.И. Мечниковым явления фагоцитоза в 1882 г. в эксперименте на личинках морской звезды и формулировки им основных положений сравнительной патологии воспаления в 1892 г. [2] прошло много лет, проблемам сравнительной патологии уделяется недостаточно много внимания. В первой своей лекции И.И. Мечников писал: «Должна возникнуть отрасль общей зоологии, т. е. сравнительная патология животных, которая будет во многих отношениях отличаться от ныне существующей сравнительной патологии. В то время как эта последняя, основанная, главным образом, ветеринарами, применяется исключительно к высшим животным, а именно к позвоночным, настоящая сравнительная патология должна обнимать весь животный мир в его целом и изучать его с самой общей биологической точки зрения» (цит. по [2], С. 3). В связи с открытием в 1995–1998 гг. сходных по структуре распознающего домена сигнальных паттернраспознающих рецепторов (англ. Pattern Recognition Receptors, PRRs) у растений [15], беспозвоночных [11] и позвоночных [12, 13] животных и присуждением в 2011 г. за это открытие Нобелевской и других престижных премий, интерес к сравнительному исследованию реакций врожденного иммунитета значительно повысился. Наиболее важные исторические вехи в развитии сравнительной иммунологии и ключевые работы в этой области выделены одним из ее современных основоположников Эдвином Л. Купером [5]. Одна из существенных методических проблем, возникающих при исследовании клеток врожденного иммунитета беспозвоночных животных, — непригодность культуральных сред и даже солевых растворов, предназначенных для млекопитающих и человека, так как даже для близких представителей беспозвоночных растворы, идентичные циркулирующей жидкости, имеют разный состав. Другой важный методический момент — значительно выраженные реакции коагуляции (аналог системы коагуляционного гемостаза млекопитающих), клеточной агрегации и дегрануляции, играющие важнейшую защитную роль у всех беспозвоночных животных [10], но проявляющиеся *in vitro* в клеточных суспензиях,

приготовленных даже на оптимальных для данного животного солевых растворах. Для решения этой проблемы современные исследователи широко используют даже при исследовании фагоцитоза антикоагуляционный буфер с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) [6, 7, 14]. С позиций традиционных подходов иммунологии млекопитающих использование ЭДТА возможно только для исследования морфологии клеток, но не их функций. Учитывая важную роль внутриклеточного кальция в сигнальных активационных путях, не удивительно, что ЭДТА угнетает функции фагоцитирующих клеток, в частности — продукцию ими активных форм кислорода [9]. В последние годы увеличивается число экспериментальных иммунологических, фармакологических, физиологических исследований, выполняемых на нетрадиционных экзотических животных, к которым в частности относятся водные позвоночные и беспозвоночные животные, хорошо культивируемые в аквариуме в лабораторных условиях [8].

**Цель работы** — адаптация методических подходов к сравнительной оценке клеточных реакций врожденного иммунитета у моллюсков *Pomacea* sp. (*Caenogastropoda*, *Ampullariidae*) при экспериментальном асептическом воспалении.

## Материалы и методы

Моллюсков *Pomacea* sp. (*Caenogastropoda*, *Ampullariidae*) содержали в аквариуме объемом 100 л при температуре 24–26 °С со световым режимом 12 ч света и 12 ч темноты. Их кормили 1 раз в сутки в начале светового дня сбалансированным кормом Tetra ReptoMin (Tetra GmbH, Германия).

В качестве объекта для сравнительного исследования использовали неинбедных белых крыс 2–6 месячного возраста, которых содержали в условиях вивария на стандартной диете (со свободным доступом к пище и воде) и стандартном освещении (12 ч света и 12 ч темноты). Все исследования одобрены на соответствие нормам биомедицинской этики этическим комитетом при «ИЭГМ УрО РАН», протокол № 3 от 30.11.2015 г.

С учетом особенностей беспозвоночных животных всю работу проводили с использованием изотонического для клеток гемолимфы моллюсков *Pomacea* sp. полного солевого раствора (ПСР) следующего состава: 43 мМ NaCl, 1,8 мМ KCl, 4,25 мМ CaCl<sub>2</sub>, 1,87 мМ MgCl<sub>2</sub>, 5,5 мМ глюкоза, 10 мМ HEPES, pH = 7,6. Состав ПСР мы выбрали на основании опубликованных работ по биохимическому составу и физико-химиче-



ским свойствам гемолимфы моллюсков *Pomacea canaliculata* [6]. Для предотвращения коагуляции и агрегации клеток во всех исследованиях *in vitro* к ПСР *ex tempore* добавляли гепарина натриевую соль в концентрации 100 ЕД/мл (далее сокр. — ПСР-геп). В предварительном эксперименте проводили оценку возможного влияния гепарина на продукцию активных форм кислорода фагоцитирующими клетками костного мозга крыс в реакции люминолзависимой хемилюминисценции. Для остановки фагоцитоза помимо помещения суспензий на лед использовали антикоагуляционный буферный раствор следующего состава: 43 мМ NaCl, 1,8 мМ KCl, 10 мМ HEPES, 30 мМ ЭДТА; рН 7,6 (далее сокр. — АКБ-ЭДТА) [7, 14].

В отдельном эксперименте оценивали жизнеспособность и апоптоз клеток гемолимфы в условиях их инкубации при температуре 28 °С (опыт) и 4 °С (контроль) в течение 60 и 180 мин в ПСР-геп. или в АКБ-ЭДТА. Для оценки апоптоза клеток гемолимфы методом проточной лазерной цитометрии использовали набор реактивов BD PE Annexin V Apoptosis Detection Kit I (BD Pharmingen™). В 96-луночном планшете к 10 мкл клеток в концентрации 10<sup>6</sup>/мл добавляли 0,5 мкл аннексина V-PE (PE Annexin V) и 0,5 мкл 7-аминоактиномицина D (7-AAD) в рабочих концентрациях, инкубировали 20 мин в темноте при комнатной температуре, добавляли по 180 мкл АКБ-ЭДТА в каждую лунку, перемешивали и сразу же анализировали результаты на проточном лазерном цитометре. Анализ проводили в модулях Guava Nexin Assay и Guava ExpressPro Assay программного обеспечения Millipore CytoSoft 5.3 для проточного цитометра Guava EasyCyte (Millipore) по инструкции производителя. Параллельно оценивали целостность наружных клеточных мембран с помощью теста с трипановым синим и аппарата клеточного анализа Cellometer™ Auto T4 Cell Counter (Nexcelom Bioscience LLC). Клеточную суспензию разводили 1/10 холодным АКБ-ЭДТА и к 3 частям полученной суспензии добавляли на холоду 1 часть 0,4% изотонического раствора трипанового синего, приготовленного на АКБ-ЭДТА. Число жизнеспособных (неокрашенных) и погибших (окрашенных) клеток просчитывали с помощью программного обеспечения к прибору.

Для индукции асептического воспаления моллюскам проводили анестезию по методу [7] и вводили стерильную суспензию зимозана А (Zymosan A from *Saccharomyces cerevisiae*, Sigma, Z4250) внутримышечно в подошвенную область ноги в дозе 0,5 мг/10 г массы тела [3]. Животных выводили

из эксперимента через 12 ч после инъекции флогогена. Контролем служили животные, которым вместо зимозана вводили эквивалентное количество ПСР. После анестезии и обездвиживания моллюска по методу [7] с помощью шприца забирала гемолимфу в пробирку эппендорф с гепарином (100 ЕД/мл), извлекали орган кроветворения (почка) и ткани в области инъекции флогогена, которые помещали в пробирки, содержащие ПСР-геп. Суспензию клеток из выделенных органов получали общепринятым методом гомогенизации в пробирках эппендорф в ПСР-геп в объеме до 1,0 мл с помощью стерильного полипропиленового пестика (Tissue Grinder, Axygen®). После подсчета исходного числа ядросодержащих клеток (ЯСК) в камере Нейбауэра (AC1000 Improved Neubauer, Hawksley, Великобритания) их отмывали центрифугированием и доводили их концентрацию до 25 × 10<sup>6</sup> ЯСК/мл. Показатели лейкоформулы оценивали традиционным микроскопическим методом с комбинированной окраской препаратов по Романовскому–Гимзе с докрасиванием эозином-метитиленовым синим по Лейшману при рН 7,4. Для оценки фагоцитарной активности лейкоцитов и ацидификации фагосом использовали частицы зимозана, меченого рН-сенситивным флуорохромом зеленым pHrodo™ (pHrodo™ Green Zymosan Bioparticles™ Conjugate for Phagocytosis, Thermo Fisher Scientific, P35365). В микропробирках эппендорф объемом 0,2 мл смешивали 4 мкл частиц (100 × 10<sup>6</sup> частиц/мл) и 4 мкл аутоплазмы гемолимфы, после инкубации смеси при 28 °С в течение 30 мин для опсонизации добавляли 4 мкл суспензии лейкоцитов (25 × 10<sup>6</sup> клеток/мл) и 88 мкл ПСР-геп. После инкубации в течение 120 мин при 28 °С пробирки помещали на лед и их содержимое количественно переносили в плоскодонные 96-луночные планшеты (АО «Медполимер», Россия), используя для отмывания и увеличения объема каждой пробы по 100 мкл охлажденного до 4 °С АКБ-ЭДТА с рН = 7,6. Общий объем каждой пробы был равен 200 мкл, что необходимо для просчета на цитометре абсолютного числа клеток и событий. Анализ интенсивности флуоресценции проводили с помощью планшетного проточного лазерного цитофлуориметра Guava EasyCyte (Hayward, CA, США), который позволяет непосредственно оценить абсолютное количество клеток на микролитр без использования эталонных частиц, благодаря применению стандартизированного микрокапилляра и высокоточного микронасоса (The Lee Company, США). Далее данные анализировали в программе Guava

CytoSoft 5.3, где в модулях Guava ExpressPlus и Guava Express PRO проводили последовательное гейтирование гистограмм, полученных с датчика переднего светорассеяния (Forward Scatter) по количеству флуоресцентных событий по датчику Green Fluorescence. При этом все отгетированные клетки объективно отражают уровень ацидификации фагосом, так как при физиологических значениях pH вне клетки green pHrodo™ не флуоресцирует, и интенсивность флуоресценции прямо пропорциональна снижению pH до 4,0–4,5 при ацидификации фагосом. Результаты выражали в виде числа флуоресцирующих событий, которое отражает общее число клеток с ацидифицированными фагосомами. Параллельно проводили оценку фагоцитоза немеченых частиц зимозана традиционным микроскопическим методом, при этом время инкубации клеток с объектами фагоцитоза составляло 30 мин при 28 °С.

Кислородзависимую микробицидность фагоцитирующих клеток оценивали методом люминолзависимой хемилюминесценции. В стимулированном варианте в лунке планшета (3912 Corning® 96-well White Flat Bottom Polystyrene Microplate, Corning Inc. Costar) смешивали 70 мкл ПСР-геп., 10 мкл натриевой соли люминола (Luminol sodium salt, Sigma, США, A4686-1G) на ПСР-геп. (конечная концентрация  $2 \times 10^{-4}$  М), 10 мкл лейкоцитов ( $25 \times 10^6$ /мл) и 10 мкл опсонизированного или неопсонизированного зимозана (конечные концентрации 15, 150 и 1500 мкг/мл). В спонтанном варианте смешивали те же компоненты, но вместо зимозана вносили 10 мкл ПСР-геп. Измерение проводили на люминометре Luminoskan Ascent® Thermo Labsystems (тип измерения – kinetic, integration time – 1000 ms, интервал – 3 мин, meas. count – 60) в течение 180 мин. Для статистического анализа использовали интегральный показатель хемилюминесценции за весь период измерения (integral, RLU).

Для сравнительного исследования использовали модель 12-часового зимозанового перитонита у крыс, индуцированного внутрибрюшинным введением стерильной суспензии зимозана в дозе 50 мг/кг по ранее детально описанным методам [3].

Статистический анализ проводили с помощью методов описательной статистики. Результаты представлены в виде средней арифметической и ее стандартной ошибки ( $M \pm m$ ).

## Результаты и обсуждение

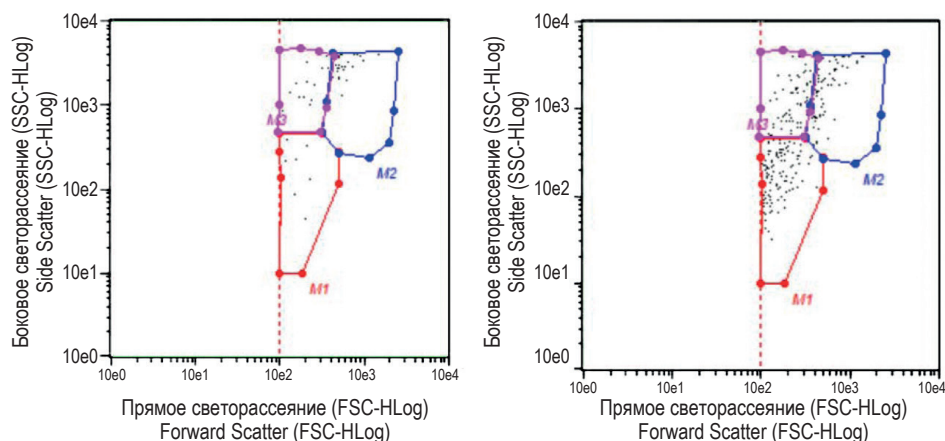
Установлено, что после инкубации при 28 °С в течение 60 и 180 мин число жизнеспособных, т. е.

PE Annexin V-7-AAD<sup>-</sup> не отличается от контроля без преинкубации и с инкубацией клеток при 4 °С и составляет в среднем 97,2%. Относительное число клеток с неповрежденной клеточной мембраной и не окрашивающихся трипановым синим составляет после самой длительной инкубации 98,1%. Таким образом, при использовании ПСР с добавлением 100 ЕД/мл натриевой соли гепарина жизнеспособность клеток сохраняется высокой.

Исследование влияния натриевой соли гепарина в концентрации 100 ЕД/мл на кислородзависимую микробицидность фагоцитирующих клеток в реакции люминолзависимой хемилюминесценции (ЛЗХЛ) провели с клетками костного мозга самцов крыс. Контролем служили пробы с добавлением вместо гепарина раствора Хенкса. Гепарин вносили в момент постановки реакции ЛЗХЛ. Установлено, что гепарин в исследованной концентрации статистически значимо не влияет на интегральные показатели хемилюминесценции (Integral RLU) при оценке различий по *t*-критерию Стьюдента для парных данных. Показатели Integral RLU для проб с гепарином и без него соответственно составили: в лунках без зимозана  $35,793 \pm 13,906$  и  $24,390 \pm 1,352$ ; в пробах с добавлением 15 мкг/мл опсонизированного зимозана  $1415,000 \pm 266,856$  и  $1569,333 \pm 273,271$ ; при концентрации опсонизированного зимозана 150 мкг/мл  $2707,667 \pm 172,853$  и  $4207,000 \pm 952,392$ ; при концентрации опсонизированного зимозана 1500 мкг/мл  $4724,333 \pm 1465,999$  и  $6198,333 \pm 2195,182$ . Таким образом, натриевая соль гепарина в концентрации 100 ЕД/мл не влияет на показатели реакции люминолзависимой хемилюминесценции и поэтому использование гепарина в качестве антикоагулянта, предотвращающего коагуляцию, агрегацию и дегрануляцию клеток предпочтительнее, чем использование ЭДТА, так как последний оказывает выраженный угнетающий эффект на функции фагоцитирующих клеток [9].

С использованием ПСР-геп мы исследовали поглотительную активность и ацидификацию фагосом лейкоцитов гемолимфы, органа кровотока (почки) и очага воспаления, индуцированного внутримышечным введением стерильной суспензии зимозана. Как видно из рисунка 1, в очаге воспаления увеличивается ацидификация фагосом, сопровождающаяся вследствие снижения pH увеличением числа флуоресцирующих зеленым цветом клеток, поглотивших меченые pHrodo™ объекты фагоцитоза.

В отличие от моллюсков *Lymnaea stagnalis* и *Biomphalaria glabrata*, у которых давно хорошо до-



**Рисунок 1.** Распределение флуоресцирующих событий по боковому (SSC) и прямому (FSC) светорассеянию после гейтирования по интенсивности зеленой флуоресценции при исследовании клеток очага воспаления  
**Примечание.** Слева – моллюск контрольной группы. Справа – моллюск опытной группы с воспалением.

**Figure 1.** Distribution of fluorescent events by side (SSC) and forward (FSC) scatter after gating according to the intensity of green fluorescence in the study of cells from inflammatory focus

Note. On the left is a mollusk of the control group. On the right is a mollusk of the experimental group with inflammation.

кументирована продукция активных форм кислорода фагоцитами в реакции люминолзависимой хемилюминисценции [4], мы не смогли индуцировать эту реакцию у моллюсков *Potamocera* sp. даже в условиях увеличения концентрации люминола и числа лейкоцитов в сравнении со стандартными условиями проведения реакции. Уровень люминисценции статистически значимо не отличался от показателей фона. Отсутствие люминисценции может быть связано с отсутствием у моллюсков компонентов НАДФН-оксидазного комплекса. Отсутствие реакции ЛЗХЛ отмечено и у насекомых [1], и для детекции активных метаболитов кислорода авторы предлагают использовать более чувствительный чем ЛЗХЛ метод

спиновых ловушек. Этим методом авторы установили, что активные формы кислорода могут быть образованы в незначительном количестве в течение фенолоксидазного каскада реакций, конечным итогом которого является образование меланина и меланизация гемолимфы насекомых.

## Заключение

Таким образом, результаты проведенной работы подтверждают существование у беспозвоночных животных многообразия вариантов эффекторных механизмов клеточных реакций врожденного иммунитета даже на примере брюхоногих моллюсков, что нуждается в дальнейших исследованиях.

## Список литературы / References

1. Глупов В.В., Слепнева И.А. Механизмы цитотоксичности // Патогены насекомых: Структурные и функциональные аспекты / Под ред. В.В. Глупова. М.: Круглый год, 2001. С. 501-513. [Glupov V.V., Slepneva I.A. Mechanisms of cytotoxicity. In: Insect pathogens: Structural and functional aspects. Ed. by V.V. Glupov]. Moscow: Kruglyy god, 2001, pp. 501-513.
2. Мечников И.И. Лекции о сравнительной патологии воспаления, читанные в апреле и мае 1891 г. в Пастеровском Институте. СПб.: К.Л. Риккера, 1892. 162 с.; Мечников И.И. Лекции о сравнительной патологии воспаления. – 2-е изд. – М., Пгт.: Гос. изд-во, 1923. 173 с. [Leçons sur la pathologie comparée de l'inflammation: faites à l'Institut Pasteur en avril et mai 1891 / par Élie Metchnikoff, Chef de Service and l'Institut Pasteur. Paris: G. Masson. 1892; Lectures on the comparative pathology of inflammation delivered at the Pasteur Institute in 1891 / by Elie Metchnikoff; translated from the French by F.A. Starling and E.H. Starling. Metchnikoff, Elie, 1845-1916. Date: 1893.

3. Шилов Ю.И., Шилов С.Ю., Барков С.Ю., Туляев Я.А., Котегов В.П., Баева Т.А., Шилова Н.А. Нейроэндокринная и фармакологическая регуляция функций фагоцитирующих клеток при экспериментальном зимозановом перитоните // Вестник Пермского федерального исследовательского центра, 2021. № 2. С. 15-26. [Shilov Ju.I., Shilov S.Ju., Barkov S.Ju., Tulyaev Ya.A., Kotegov V.P. Baeva T.A., Shilova N.A. Neuroendocrine and pharmacological regulation of functions of phagocytic cells under experimental zymosan-induced peritonitis. *Vestnik Permskogo federalnogo issledovatel'skogo tsentra = Perm Federal Research Center Journal*, 2021, no. 2, pp. 15-26. (In Russ.)]
4. Adema C.M., van Deutekom-Mulder E.C., van der Knaap W.P.W., Sminia T. Schistosomicidal activities of *Lymnaea stagnalis* haemocytes: the role of oxygen radicals. *Parasitology*, 1994, Vol. 109, Pt 4, pp. 479-485.
5. Cooper E.L. Advances in comparative immunology. Introduction. In: Advances in Comparative Immunology. Ed. by Edwin L. Cooper. Publisher: Springer International Publishing, 2018, pp. XIII-XVIII.
6. Cueto J.A., Giraud-Billoud M., Vega I.A., Castro-Vazquez A. Haemolymph plasma constituents of the invasive snail *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda, Architaenioglossa, Ampullariidae). *Molluscan Res.*, 2011, Vol. 31, pp. 57-60.
7. Cueto J.A., Rodriguez C., Vega I.A., Castro-Vazquez A. Immune defenses of the invasive apple snail *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda, Ampullariidae): Phagocytic hemocytes in the circulation and the kidney. *PLoS One*, 2015, Vol. 10, no. 4, e0123964. doi: 10.1371/journal.pone.0123964.
8. Exotic animal laboratory diagnosis. Ed. by J. Jill Heatley, Karen Russell. Description: Hoboken N.J.: Wiley Blackwell, 2020. 630 p.
9. Ginsburg I., Misgav R., Gibbs D.F., Varani J., Kohen R. Chemiluminescence in activated human neutrophils: role of buffers and scavengers. *Inflammation*, 1993, Vol. 17, no. 3, pp. 227-243.
10. Jiravanichpaisal P., Lee B.L., Söderhäll K. Cell-mediated immunity in arthropods: hematopoiesis, coagulation, melanization and opsonization. *Immunobiology*, 2006, Vol. 211, no. 4, pp. 213-236.
11. Lemaitre B., Nicolas E., Michaut L., Reichhart J.M., Hoffmann J.A. The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell*, 1996, Vol. 86, no. 6, pp. 973-983.
12. Medzhitov R., Janeway C.A. Jr. Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell*, 1997, Vol. 91, no. 3, pp. 295-298.
13. Poltorak A., He X., Smirnova I., Liu M.Y., Van Huffel C., Du X., Birdwell D., Alejos E., Silva M., Galanos C., Freudenberg M., Ricciardi-Castagnoli P., Layton B., Beutler B. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in *Tlr4* gene. *Science*, 1998, Vol. 282, no. 5396, pp. 2085-2088.
14. Rodriguez C., Simon V., Conget P., Vega I.A. Both quiescent and proliferating cells circulate in the blood of the invasive apple snail *Pomacea canaliculata*. *Fish Shellfish Immunol.*, 2020, Vol. 107, Pt A, pp. 95-103.
15. Song W.Y., Wang G.L., Chen L.L., Kim H.S., Pi L.Y., Holsten T., Gardner J., Wang B., Zhai W.X., Zhu L.H., Fauquet C., Ronald P. A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, *Xa21*. *Science*, 1995, Vol. 270, no. 5243, pp. 1804-1806.

**Авторы:**

**Хрущёв К.А.** — студент 4-го курса биологического факультета ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

**Шилов С.Ю.** — к.м.н., младший научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук; доцент кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения РФ, г. Пермь, Россия

**Authors:**

**Khrushchev K.A.**, 4<sup>th</sup> year Student, Biological Faculty, Perm State University, Perm, Russian Federation

**Shilov S.Yu.**, PhD (Medicine), Junior Research Associate, Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Associate Professor, Department of Normal Physiology, E. Wagner Perm State Medical University, Perm, Russian Federation



**Барков С.Ю.** — очный аспирант лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук; старший лаборант кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения РФ, г. Пермь, Россия

**Шилов Ю.И.** — к.м.н., доцент, старший научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук; доцент кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения РФ; доцент кафедры микробиологии и иммунологии ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», Пермь, Россия

**Barkov S. Yu.**, Postgraduate Student, Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Senior Laboratory Assistant, Department of Immunology, E. Wagner Perm State Medical University, Perm, Russian Federation

**Shilov Yu. I.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Senior Research Associate, Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Associate Professor, Department of Immunology, E. Wagner Perm State Medical University, Perm, Russian Federation; Associate Professor, Department of Microbiology and Immunology, Perm State University, Perm, Russian Federation

---

Поступила 09.04.2024

Отправлена на доработку 09.04.2024

Принята к печати 24.04.2024

---

Received 09.04.2024

Revision received 09.04.2024

Accepted 24.04.2024



# ФИЗИКО-ИНФОРМАЦИОННАЯ МОДЕЛЬ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ КАК РАЗВИТИЕ ТЕОРИИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СИСТЕМ П.К. АНОХИНА

Моисеев В.И.<sup>1</sup>, Мочалов К.С.<sup>2</sup>, Головизнин М.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,  
г. Уфа, Республика Башкортостан, Россия

**Резюме.** В статье рассматривается стандартная иммунологическая модель, в основе которой лежат принципы случайной комбинации молекул и клеток и случайной их встречи своими комплементарными участками, что сопровождается образованием обратимых комплексов и/или каскадом последующих реакций. В своей чистоте такая модель порождает разного рода парадоксы, которые не соответствуют реальности иммунных процессов. Как правило, развитие иммунологии выражается в построении все более подробных связей иммунологических событий, но добавление каждого нового события в цепочку связей должно приводить не к ускорению, а к замедлению итогового процесса в рамках комбинативно-комплементарной системы. В связи с этим ставится вопрос о новой возможной модели иммунной системы, за основу которой берется теория функциональных систем П.К. Анохина. В качестве ее дальнейшего развития предлагается физико-информационная модель (ФИМ) иммунной системы, которая предполагает два плана – информационный и физический – организации иммунной системы и их координацию на основе идей органического потенциала и процессов сопряжения. Информационный план представляется как абстрактное пространство степеней свободы системы, аналог фазового пространства в физике. Текущее и финальное состояние системы могут быть представлены как точки пространства состояний, деятельность системы с переходом от текущего к финальному состоянию – как траектория в данном пространстве. Акцептор результата действия в теории функциональных систем П.К. Анохина связан в этом случае с образом финального состояния как результата действия системы. Построение траектории деятельности системы можно представить как направление редукции органического потенциала системы – по аналогии с таковым в случае физических систем и их физических потенциалов. Органический потенциал достигает минимума в финальном состоянии и выражает потребность биосистемы в резуль-

---

#### Адрес для переписки:

Моисеев Вячеслав Иванович  
ФГБОУ ВО «Российский университет медицины»  
Министерства здравоохранения РФ  
117624, Россия, Москва, ул. Изюмская, 57, кв. 27.  
Тел.: 8 (967) 050-36-26.  
E-mail: vimo@list.ru

#### Address for correspondence:

Vyacheslav I. Moiseev  
Russian University of Medicine  
57 Izyumslaya St, Apt 27  
Moscow  
117624 Russian Federation  
Phone: +7 (967) 050-36-26.  
E-mail: vimo@list.ru

---

#### Образец цитирования:

В.И. Моисеев, К.С. Мочалов, М.В. Головизнин  
«Физико-информационная модель иммунной системы  
как развитие теории функциональных систем  
П.К. Анохина» // Российский иммунологический  
журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 757-762.  
doi: 10.46235/1028-7221-16723-PIM

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

#### For citation:

V.I. Moiseev, K.S. Mochalov, M.V. Goloviznin “Physical-  
information model of the immune system as a development  
of P.K. Anokhin’s theory of functional systems”, *Russian  
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii  
Zhurnal*, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 757-762.  
doi: 10.46235/1028-7221-16723-PIM

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16723-PIM

тате действия. Интегральная траектория деятельности системы далее раскладывается на все более мелкие параллельно-последовательные свои части, вплоть до элементарных актов активности системы, которые могут быть реализованы в процессах сопряжения. Последние представляют собой координацию двух процессов, в одном из которых происходит падение физического потенциала (несущий процесс), в другом – его рост (несомый процесс). Биологической значимостью обладают именно несомые процессы, которые реализуют собой фрагменты падения итогового органического потенциала системы. На этой основе в моделирование иммунной системы могут быть введены разного рода факторы направленности, которые канализируют и ускоряют хаотические процессы комбинативно-комплементарной системы.

*Ключевые слова:* стандартная иммунологическая модель, комбинативно-комплементарная модель, теория функциональных систем, физико-информационная модель, иммунная система, процесс сопряжения, органический потенциал

## PHYSICAL-INFORMATION MODEL OF THE IMMUNE SYSTEM AS A DEVELOPMENT OF P.K. ANOKHIN'S THEORY OF FUNCTIONAL SYSTEMS

Moiseev V.I.<sup>a</sup>, Mochalov K.S.<sup>b</sup>, Goloviznin M.V.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Russian University of Medicine, Moscow, Russian Federation

<sup>b</sup> Bashkir State Medical University, Ufa, Republic of Bashkortostan, Russian Federation

**Abstract.** The article deals with the standard immunological model, which is based on the principles of random combination of molecules and cells and their random encounter with their complementary sites, which is accompanied by the formation of reversible complexes and/or a cascade of subsequent reactions. In its purity, such a model gives rise to various kinds of paradoxes that do not correspond to the reality of immune processes. As a rule, the development of immunology is expressed in the construction of more and more detailed links of immunologic events, but the addition of each new event to the chain of links should lead not to acceleration, but to slowing down of the final process within the combinatorial-complementary system. In this connection, the question of a new possible model of the immune system is raised, which is based on P.K. Anokhin's theory of functional systems. As its further development the physical-information model (PhIM) of the immune system is proposed, which assumes two plans, informational and physical, of the immune system organization and their coordination on the basis of the ideas of organic potential and processes of conjugation. The information plan is represented as an abstract space of degrees of freedom of the system, analogous to phase space in physics. The current and final state of the system can be represented as points of the state space, the activity of the system with the transition from the current to the final state, as a trajectory in this space. The acceptor of the action result in the theory of functional systems of P.K. Anokhin is connected in this case with the image of the final state as the result of the system action. The construction of the trajectory of the system's activity can be represented as the direction of reduction of the organic potential of the system, by analogy with that in the case of physical systems and their physical potentials. The organic potential reaches a minimum in the final state and expresses the need of the biosystem as a result of action.

*Keywords:* standard immunology model, combinatorial-complementary model, functional systems theory, physical-information model, immune system, coupling process, organic potential

Благодаря большим успехам в развитии молекулярной биологии во второй половине XX века, сегодня в биомедицине господствует парадигма понимания биосистемы как преимущественно физико-химической системы, основные принципы организации которой лежат на уровне физико-химических процессов. Не исключением является здесь и иммунология. Можно говорить о господстве в современной иммунологии своего рода комбинативного подхода, когда основные элементы системы – это молекулы и клетки, которые случайно движутся в биологических средах организма и случайно встречаются комплементарными участками, что приводит к ряду последовательных событий. В целом имеем такой образ иммунной системы, который можно было бы обозначить как комбинативно-комплементарная система с каскадными механизмами.

Комбинативно-комплементарная система – система, состоящая из множества элементов, которые могут независимо комбинировать свои состояния, и также обладают комплементарными участками, которые могут случайно встречаться, образуя обратимые комплексы. Таковы, например, модели протекания биохимических реакций с участием ферментов, когда фермент и субстрат случайно встречаются комплементарными участками, что приводит к определенной реакции. Таковы же процессы встречи антитела и антигена и т. д. Элементы с комплементарными участками случайно встречаются, образуют временные комплексы, затем могут распадаться, и весь цикл может повторяться. Либо образование комплекса приводит к трансформации некоторых или всех участников, что создает новые элементы.

Каскадный механизм – цепочка событий, в которых каждое последующее событие определяется предыдущим событием как своей причиной. Например, антиген активирует антиген-презентирующую клетку, которая активирует соответствующий Т-хелпер, который активирует В-лимфоцит.

Представление об иммунных процессах на основе комбинативно-комплементарных процессов вместе с каскадными механизмами можно, по-видимому, принять сегодня как стандартную иммунологическую модель, согласно которой строятся все основные представления в современной иммунологии.

В то же время если эту модель довести до своей чистоты, то она порождает множество пара-

доксов. Например, общая тенденция усложнения комбинативно-комплементарных моделей в иммунологии состоит часто в том, что в имеющиеся ранее цепочки событий вставляется все большее число более детальных промежуточных событий, которые якобы должны ускорять имеющийся процесс. Например, встраивание Т-хелпера в процесс активации В-лимфоцита антигеном рассматривается как условие ускорения распознавания антигена, т. е. вместо более ранней простой цепи антиген В-лимфоцит рассматривается более детальная цепь антиген – Т-хелпер – В-лимфоцит. Но дело в том, что в рамках комбинативно-комплементарной модели добавление каждого нового промежуточного звена – это добавление своего рода еще одной двери с кодовым замком, которую приходится отпирать случайным перебором цифр, и каждая дополнительная такая дверь может только замедлить процесс. Известно, что разных клонов В-лимфоцитов существует порядка  $10^8$ , а клонов Т-хелперов – порядка  $10^{10}$ , т. е. вероятность их встречи равна  $10^{-18}$ ! Реально же процесс Т-В-кооперации реализуется примерно за 10 дней (это значит, что за 1 день нужно реализовать  $10^{17}$  комбинаций, т. е. за 1 секунду – порядка  $10^{12}$  комбинаций!). Это невысказанный молекулярно-клеточный пулемет!

В целом комбинативно-комплементарная модель в иммунологии представляет иммунную систему как своего рода царство слепо-глухих, которые могут использовать только контактные взаимодействия – своего рода молекулярное ощупывание. И последнее протекает в форме случайных комбинаций в хаотической среде жидких биологических сред, где господствует хаотическое броуновское движение.

Реальные же иммунные процессы протекают достаточно быстро и направленно, что заставляет предположить наличие каких-то дополнительных факторов, которые как бы накладываются на случайные комбинации и направляют и ускоряют случайные процессы. В связи с этим актуальным является вопрос о возможных более функциональных и целостных моделях понимания иммунных процессов. Одним из таких перспективных подходов несомненно является теория функциональных систем П.К. Анохина.

В самом деле, в отличие от других систем организма (нервной, эндокринной, сердечно-сосудистой), иммунная система не имеет четко оформленного макроносителя, подобного мозгу

и нервам в случае нервной системы или сердца и сосудов сердечно-сосудистой системы. Иммуноная система более субстратна на клеточно-молекулярном уровне, и по мере повышения по уровням организации все более приобретает характер функциональной целостности, что вполне соответствует принципам теории функциональных систем.

П.К. Анохиным был предложен принцип функциональной системы, основанный на взаимодействии центральных и периферических структур, обеспечивающих достижение конечных приспособительных результатов [1]. Общая архитектура функциональных систем включает несколько этапов: синтез входящих сигналов (афферентный синтез), принятие решения, прогнозирование ожидаемых результатов (акцептор результатов действия), синтез исходящих сигналов (эфферентный синтез), выполнение действия и оценку результатов с помощью обратной связи. Системообразующим фактором выступает конечный приспособительный результат. Отклонение от достижений этого результата приводит к перестройкам взаимоотношений между компонентами функциональной системы. Саморегуляция является циклическим процессом, в котором необходима информация о конечном адаптивном эффекте для центральных регуляторов. Эта информация выражается в отклонении конечного эффекта от уровня константы. Импульсы, идущие из центральных регуляторов к периферии, корректируют конечный результат. Путь возбуждения от конечного адаптивного эффекта через рецепторы в центральной нервной системе получил название обратной афферентации.

Функциональные системы — единство материальных, энергетических и информационных процессов. Аппарат акцептора результатов действия играет центральную роль в оценке информации. Информация связана с материальными и энергетическими факторами. Информационные процессы в функциональных системах получили новую интерпретацию благодаря концепции информационного эквивалента объектов действительности [2]. В этих системах циркулирует информация о потребностях и их удовлетворении, оцениваемая акцептором результатов действия.

Идея применения теории функциональных систем в иммунологии не нова [6]. Перспективы применения этой теории к конкретным иммун-

ным процессам в некоторой мере сталкиваются с трудностью понимания тех медиаторных механизмов, которые могли бы скоординировать функциональный уровень целостного организма с уровнем клеточно-молекулярных иммунных процессов. В попытке обеспечить такую координацию одним из авторов данной статьи была предложена в свое время так называемая физико-информационная модель биосистемы (ФИМ) [5].

Суть этой модели состоит в том, что в организации биосистемы выделяются два основных уровня — информационный и физический. На информационном уровне представлен акцептор результата действия в виде целевой ситуации, которую система пытается достичь. Здесь же реализуется та структура реальности (онтология), которая строится на основе данных органов чувств и разного рода принципов организации сенсорного материала. Онтология системы моделируется как многомерное пространство степеней свободы — аналог фазового пространства в физике и синергетике. Акцептор результата действия и текущее состояние системы могут быть представлены как точки в этом пространстве состояний. Пытаясь перейти из текущего в финальное состояние, система строит схему траектории в пространстве состояний — сначала абстрактной траектории, затем все более конкретных, которые учитывают возможность их реализации органами действия системы, обход препятствий, разбиения более интегральных активностей на все более частные и т. д.

В частности, схемы траекторий в пространстве состояний могут строиться системой на основе так называемых органических потенциалов — таких скалярных функций, определенных на состояниях системы, которые принимают минимум на финальном состоянии системы и выражают идею своего рода органического напряжения, редукцией которого система реализует свою активность. Здесь так же имеется аналогия с физическими потенциалами физических систем, но органические потенциалы скоординированы с акцептором результата действия и выражают конкретные потребности данной системы. Продвигаясь по траектории, система все более движется в сторону падения органического потенциала, стремясь к финальному состоянию как минимуму этого потенциала.



Раскладывая интегральную траекторию активности на все более мелкие последовательно-параллельные части, происходит разбиение интегральной схемы движения на самые малые активности – своего рода дифференциалы движения, которые могут быть реализованы отдельными процессами сопряжения – синтезом АТФ, сокращением актин-миозиновых нитей, активным транспортом ионов и т. д.

В общем случае процесс сопряжения – это схема координации двух процессов, в одном из которых происходит падение некоторого физического потенциала (несущий процесс), в другом же такой потенциал возрастает (несомый процесс). Биосистеме нужны именно несомые процессы, которые идут с ростом тех или иных физических потенциалов и самопроизвольно протекать не могут [4]. Чтобы обеспечить их реализацию, биосистема использует схему сопряжения несомых процессов с несущими в рамках процессов сопряжения. В свое время факт устойчивого отклонения от падения физических потенциалов в рамках несомых процессов был отмечен Э. Бауэром в его знаменитом принципе устойчивого неравновесия биосистемы: в отличие от физических систем, биосистемы устойчиво отклоняются от состояния физического равновесия [3]. В рамках ФИМ мы объясняем это устойчивое отклонение от физических потенциалов тем, что за несомыми процессами в процессах сопряжения стоят фрагменты интегрального органического потенциала, которые перевернуты относительно физических потенциалов. В итоге биосистема также стремится

к равновесию, но это равновесие не совпадает с физическим равновесием и выражается своим органическим потенциалом.

Итак, на интегральном информационном уровне система строит интегральную траекторию, координируя ее с органическим потенциалом, затем эта интегральная траектория раскладывается на все более частные фрагменты, пока они не дойдут до мельчайших участков, способных реализоваться в несомых процессах процессов сопряжения.

Факторы, идущие со стороны акцептора результата действия и интегральных схем деятельности биосистемы, как раз могли бы послужить теми ускорителями и канализаторами хаотически-броуновской среды случайных встреч и комбинаций отдельных молекул и клеток, которые происходят в иммунных процессах. Например, встреча Т-хелпера и В-лимфоцита, активированных одним эпитопом, могла бы происходить за реальные 10 дней, если бы эти клетки были некоторым специальным образом выделены в информационном плане иммунной системы, они могли бы некоторым образом опознаваться, и их движение могло бы получить элементы направленности, преодолевающих хаос бесконечных случайных комбинаций.

На этой основе можно предполагать дальнейшее развитие теории функциональных систем, и, как нам представляется, было бы очень плодотворным построение нового образа иммунной системы.

## Список литературы / References

1. Анохин П.К. Узловые вопросы теории функциональной системы. – М.: Наука, 1980. [Anokhin P.K. Nodal questions of the theory of functional system]. Moscow: Nauka, 1980.
2. Анохин П.К. Психическая форма отражения действительности. Ленинская теория отражения и современность / Под ред. Т. Павлова. София: Наука и искусство, 1969. [Anokhin P.K. Mental form of reflection of reality. Lenin's theory of reflection and modernity / edited by T. Pavlov]. Sofia: Science and Art, 1969.
3. Бауэр Э. Теоретическая биология. Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», 2001. [Bauer E. Theoretical Biology]. Izhevsk: SIC «Regular and Chaotic Dynamics», 2001.
4. Волькенштейн М.В. Общая биофизика. М.: Наука, 1978. [Volkenstein M.V. General Biophysics]. Moscow: Nauka, 1978.
5. Моисеев В.И. В направлении к гуманитарной биомедицине: минимальная холистическая модель // Credo New, 2015. № 3 (83). С. 170-189. [Moiseev V.I. In the direction to humanitarian biomedicine: minimal holistic model. Credo New = Credo New, 2015, no. 3 (83), pp. 170-189. (In Russ.)]



6. Черешнев В.А., Шмагель К.В. Иммунитет как единое целое. Иммунология: учебник для вузов / РАН, УрО, Ин-т иммунологии и физиологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов. 4-е изд., перераб. и доп. М.: Центр стратегического партнерства, 2014. С. 421-444. [Chereshnev V.A., Shmagel K.V. Immunity as a whole / Immunology: textbook for universities / Russian Academy of Sciences, Ural Branch, Institute of Immunology and Physiology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms. – 4<sup>th</sup> edition, revision and additions]. Moscow: Center for Strategic Partnership, 2014, pp. 421-444.

---

**Авторы:**

**Моисеев В.И.** — д.филос.н., профессор, заведующий кафедрой философии, биомедицинской этики и гуманитарных наук ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Мочалов К.С.** — к.б.н., д.филос.н., доцент кафедры философии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Уфа, Республика Башкортостан, Россия

**Головизнин М.В.** — к.м.н., доцент ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Authors:**

**Moiseev V.I.**, PhD, MD (Philosophy), Professor, Head, Department of Philosophy, Bioethics and Humanities, Russian University of Medicine, Moscow, Russian Federation

**Mochalov K.S.**, PhD (Biology), PhD, MD (Philosophy), Associate Professor, Philosophy Department, Bashkir State Medical University, Ufa, Republic of Bashkortostan, Russian Federation

**Goloviznin M.V.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Russian University of Medicine, Moscow, Russian Federation

---

Поступила 29.03.2024  
Отправлена на доработку 31.03.2024  
Принята к печати 24.04.2024

---

Received 29.03.2024  
Revision received 31.03.2024  
Accepted 24.04.2024

## РЕАКЦИЯ ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНОВ НА ИММУНИЗАЦИЮ Fc-ФРАГМЕНТАМИ IgG, НЕСУЩИМИ ЭПИТОПЫ, СПЕЦИФИЧНЫЕ К РЕГУЛЯТОРНОМУ РЕВМАТОИДНОМУ ФАКТОРУ

Бедулева Л.В.<sup>1,2</sup>, Сидоров А.Ю.<sup>1,2</sup>, Терентьев А.С.<sup>1,2</sup>, Фомина К.В.<sup>1,2</sup>,  
Меньшиков И.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет», г. Ижевск, Россия

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

**Резюме.** Ранее нами был выявлен новый фактор иммунорегуляции, получивший название регуляторный ревматоидный фактор (регРФ). В экспериментальных моделях аутоиммунных заболеваний продукция регРФ ассоциирована с устойчивостью животных к развитию аутоиммунного заболевания, а у животных, оказавшихся чувствительными к болезни, с ремиссией. Действие регуляторного ревматоидного фактора основано на киллинге активированных CD4T-лимфоцитов, экспрессирующих PD-1, что позволяет сдерживать экспансию лимфоцитов, в том числе аутореактивных. Эпитопы, специфичные к регРФ (регРФ эпитопы), могут быть индуцированы на Fc-фрагментах IgG. Иммунизация крыс гомологичными Fc-фрагментами IgG, несущими регРФ эпитопы, подавляет симптомы, лимфоцитарную инфильтрацию и ослабляет повреждение тканей-мишеней в нескольких экспериментальных моделях аутоиммунных заболеваний. Исследование механизмов активации регРФ-продуцирующих лимфоцитов Fc-фрагментами IgG, несущими регРФ эпитопы, выполненное *in vitro*, показало, что Fc-фрагменты IgG, несущие регРФ эпитопы, являются T-независимыми антигенами 2-го типа. Реакции иммунной системы, в частности лимфоидных органов, на T-независимые антигены 2-го типа, особенно белковой природы, плохо изучены. Целью настоящей работы было изучение реакций селезенки и лимфоузлов крыс на иммунизацию Fc-фрагментами IgG, несущими регРФ эпитопы. Крыс Wistar иммунизировали гомологичными Fc-фрагментами IgG, несущими регРФ эпитопы, подкожно в дозе 500 мкг. Контрольные животные получили инъекцию забуференного физиологического раствора. Иммунизация Fc-фрагментами IgG, несущими регРФ эпитопы, вызвала транзиторное увеличение регуляторного ревматоидного фактора в крови крыс с максимумом на 7-й день после иммунизации. Обнаружено, что иммунизация Fc-фрагментами IgG, несущими регРФ эпитопы, не вызывает реакцию регионарных и дистальных лимфоузлов крыс, но индуцирует образо-

### Адрес для переписки:

Бедулева Любовь Викторовна  
ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный  
университет»  
426034, Россия, г. Ижевск, ул. Университетская, 1.  
Тел./факс: 8 (3412) 91-64-26.  
E-mail: blv76@mail.ru

### Address for correspondence:

Liubov V. Beduleva  
Udmurt State University  
1 Universitetskaya St  
Izhevsk  
426034 Russian Federation  
Phone/fax: +7 (3412) 91-64-26.  
E-mail: blv76@mail.ru

### Образец цитирования:

Л.В. Бедулева, А.Ю. Сидоров, А.С. Терентьев,  
К.В. Фомина, И.В. Меньшиков «Реакция лимфоидных  
органов на иммунизацию Fc-фрагментами IgG,  
несущими эпитопы, специфичные к регуляторному  
ревматоидному фактору» // Российский  
иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 763-768.  
doi: 10.46235/1028-7221-16653-ROL

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

### For citation:

L.V. Beduleva, A.Yu. Sidorov, A.S. Terentiev, K.V. Fomina,  
I.V. Menshikov "Response of lymphoid organs to immunization  
with Fc fragments of IgG carrying epitopes specific to regulatory  
rheumatoid factor", Russian Journal of Immunology/  
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4,  
pp. 763-768.  
doi: 10.46235/1028-7221-16653-ROL

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16653-ROL

вание вторичных фолликулов селезенки, сохраняющихся не менее 28 дней. На 49-й день количество фолликулов с зародышевыми центрами в селезенке крыс, иммунизированных Fc-фрагментами IgG, несущими регРФ эпитопы, ниже, чем у контрольных крыс. Следовательно, реакция фолликулов селезенки на иммунизацию Fc-фрагментами IgG, несущими регРФ эпитопы, является транзиторной. Изменений в Т-клеточной зоне селезенки – периартериальных лимфоидных муфтах – у крыс, иммунизированных Fc-фрагментами IgG, несущими регРФ эпитопы, не выявлено. Таким образом, Fc-фрагменты IgG, несущие регРФ эпитопы, являясь Т-независимым антигеном 2-го типа, не вызывают реакцию лимфоузлов, но индуцируют образование зародышевых центров в селезенке, сохраняющихся несколько недель.

*Ключевые слова:* Fc-фрагменты IgG, регуляторный ревматоидный фактор, зародышевые центры, эпитопы, селезенка, Т-независимый антиген 2-го типа

## RESPONSE OF LYMPHOID ORGANS TO IMMUNIZATION WITH Fc FRAGMENTS OF IgG CARRYING EPITOPES SPECIFIC TO REGULATORY RHEUMATOID FACTOR

Beduleva L.V.<sup>a, b</sup>, Sidorov A.Yu.<sup>a, b</sup>, Terentiev A.S.<sup>a, b</sup>, Fomina K.V.<sup>a, b</sup>, Menshikov I.V.<sup>a, b</sup>

<sup>a</sup> Udmurt State University, Izhevsk, Russian Federation

<sup>b</sup> Udmurt Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Izhevsk, Russian Federation

**Abstract.** Previously, we identified a new factor of autoimmunity downregulation, called regulatory rheumatoid factor (regRF). The production of regRF was associated with the resistance of animals to the experimental autoimmune diseases or with the remission in animals that are sensitive to the autoimmune diseases. The action of regulatory rheumatoid factor is based on the killing of activated CD4 T lymphocytes expressing PD-1, which makes it possible to restrain the expansion of lymphocytes, including autoreactive ones. RegRF-specific epitopes (regRF epitopes) can be induced on IgG Fc fragments. Immunization of rats with homologous IgG Fc fragments bearing regRF epitopes suppresses symptoms, lymphocytic infiltration and target tissue damage in several experimental models of autoimmune diseases. An *in vitro* study of the mechanisms of regRF-producing lymphocytes activation by IgG Fc fragments carrying regRF epitopes showed that IgG Fc fragments carrying regRF epitopes are T cell-independent antigens type 2. The reactions of the immune system, in particular in lymphoid organs, to T cell-independent antigens type 2, especially having a protein nature, are poorly studied. The purpose of this work is to study the reactions of the spleen and lymph nodes of rats to immunization with IgG Fc fragments carrying regRF epitopes. Wistar rats were immunized subcutaneously with 500 µg of homologous IgG Fc fragments carrying regRF epitopes. Control animals received an injection of phosphate-buffered saline. Immunization with IgG Fc fragments carrying regRF epitopes caused a transient increase of regulatory rheumatoid factor blood level with a maximum on day 7 after immunization. It was found that immunization with IgG Fc fragments carrying regRF epitopes does not cause a reaction in the regional and distal lymph nodes of rats, but induces the development of secondary follicles in spleen that exist for at least 28 days. On day 49, the number of follicles with germinal centers in the spleen of rats immunized with IgG Fc fragments carrying regRF epitopes was lower than in control rats. Consequently, the reaction of splenic follicles in rats immunized with IgG Fc fragments carrying regRF epitopes is transient. No changes were detected in the periarteriolar lymphoid sheaths (splenic T cell zone) in rats immunized with IgG Fc fragments carrying regRF epitopes. Thus, IgG Fc fragments carrying regRF epitopes, being a T cell-independent antigens type 2, do not cause a reaction in the lymph nodes, but induce the development of germinal centers in the spleen that exist for several weeks.

*Keywords:* IgG Fc fragments, regulatory rheumatoid factor, germinal centers, spleen, epitope, T cell-independent antigens type 2

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

## Введение

Ранее нами был выявлен новый фактор иммунорегуляции, получивший название регуляторный ревматоидный фактор (регРФ) [2, 11]. В экспериментальных моделях аутоиммунных заболеваний продукция регРФ ассоциирована с устойчивостью животных к развитию аутоиммунного заболевания, а у животных, оказавшихся чувствительными к болезни, с ремиссией [2]. Действие регуляторного ревматоидного фактора основано на киллинге активированных CD4 T-лимфоцитов, экспрессирующих PD-1, что позволяет сдерживать экспансию лимфоцитов, в том числе аутореактивных [7]. Эпитопы специфичные к регРФ (регРФ эпитопы) могут быть индуцированы на Fc-фрагментах IgG. Иммунизация крыс гомологичными Fc-фрагментами IgG несущими регРФ эпитопы подавляет симптомы, лимфоцитарную инфильтрацию и ослабляет повреждение тканей-мишеней в нескольких экспериментальных моделях аутоиммунных заболеваний [1, 3, 4, 11]. Исследование механизмов активации регРФ-продуцирующих лимфоцитов Fc-фрагментами IgG, несущими регРФ эпитопы, выполненное *in vitro*, показало, что Fc-фрагменты IgG, несущие регРФ эпитопы, являются T-независимыми антигенами 2-го типа [12]. Реакции иммунной системы, в частности лимфоидных органов, на T-независимые антигены 2-го типа, особенно белковой природы, плохо изучены. Целью настоящей работы было изучение реакций селезенки и лимфоузлов на подкожную иммунизацию Fc-фрагментами IgG, несущими регРФ эпитопы.

## Материалы и методы

Крысы Wistar (n = 15) (питомник лабораторных животных «Рапполово», Россия) были иммунизированы Fc-фрагментами IgG, несущими регРФ эпитопы, в терапевтически эффективной дозе – 500 мкг однократно подкожно в заднюю часть спины. Контрольная группа крыс (n = 14) получила подкожную инъекцию ЗФР. У крыс еженедельно определяли уровень регРФ в крови. Через 28 и 49 дней после введения Fc-фрагментов IgG, несущих регРФ эпитопы, или инъекции ЗФР крыс подвергали эвтаназии, извлекали селезенку, проксимальные и дистальные дренирующие лимфоузлы (паховый и каудальный подмышечный). Готовили парафиновые срезы, которые окраши-

вали гематоксилином-эозином. На поперечных срезах селезенки и лимфоузлов подсчитывали количество вторичных фолликулов (фолликулы с зародышевыми центрами). Срезы селезенки были окрашены также FITC мечеными антителами к CD3 (Elabscience, Китай) и DAPI (Abcam, Великобритания) для изучения T-клеточных зон селезенки. Микроскоп Olympus B 53 (Япония) был предоставлен ЦКПП УдмФИЦ УрО РАН. Статистический анализ проводили с помощью GraphPad Prism 8.4.3. Достоверность различий оценивали с помощью t-теста. Отличия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Иммунизация Fc-фрагментами IgG вызвала транзиторное увеличение регРФ в крови крыс с максимумом на 7-й день после иммунизации. При исследовании регионарных (проксимальных) и дистальных лимфоузлов не было выявлено различий в количестве фолликулов с зародышевыми центрами (вторичных фолликулов) между крысами, иммунизированными Fc-фрагментами IgG, несущими регРФ-эпитопы, и контрольными крысами как на 28-й, так и на 49-й день после иммунизации (табл. 1).

Анализ количества вторичных фолликулов в селезенке выявил, что на 28-й день у крыс, иммунизированных Fc-фрагментами IgG, несущими регРФ эпитопы, количество вторичных фолликулов значимо больше количества вторичных фолликулов у крыс, получивших инъекцию ЗФР (табл. 1). Как известно, вторичные фолликулы (фолликулы с зародышевыми центрами) представляют собой антигензависимые структуры – скопления пролиферирующих в ответ на антиген В-лимфоцитов. Следовательно, иммунизация Fc-фрагментами IgG, несущими регРФ эпитопы, вызывает пролиферацию фолликулярных В-лимфоцитов селезенки. Goud и соавт., изучая ответ селезенки и регионарных лимфоузлов на T-независимые антигены, показали, что подкожная иммунизация T-независимым антигеном 2-го типа TNP-Ficoll, как в растворе, так и эмульсии с адьювантом Фрейнда, не вызывала ответа В-лимфоцитов регионарных лимфатических узлов, в то время как в селезенке найден хороший ответ бляшкообразующих клеток [6]. Следовательно, обнаруженное нами увеличение количества вторичных фолликулов селезенки крыс в отсутствие реакции лимфоцитов лимфоузлов в ответ на подкожную иммунизацию Fc-фрагментами IgG, несущими регРФ-эпитопы, согласуется с данными других исследователей о

**ТАБЛИЦА 1. КОЛИЧЕСТВО Фолликулов с зародышевыми центрами в лимфоузлах и селезенке крыс, иммунизированных Fc-фрагментами IgG, несущих regRF-эпитопы, и контрольных крыс, среднее±SD**

**TABLE 1. NUMBER OF FOLLICLES WITH GERMINAL CENTERS IN THE LYMPH NODES AND SPLEEN OF RATS IMMUNIZED WITH IgG Fc FRAGMENTS BEARING regRF EPITOPES AND CONTROL RATS, MEAN±SD**

	Лимфоузлы Lymph nodes				Селезенка Spleen	
	28-й день day 28		49-й день day 49		28-й день day 28	49-й день day 49
	(n = 9)		(n = 5)		(n = 9)	(n = 5)
	паховый inguinal	подмышечный axillary	паховый inguinal	подмышечный axillary		
<b>Крысы, иммунизированные Fc-фрагментами IgG несущими regRF эпитопы</b> Rats immunized with IgG Fc fragments bearing regRF epitopes	1,76±0,92	0,73±0,50	1,32±0,54	1,16±0,68	<sup>1)</sup> 7,33±3,17*	<sup>2)</sup> 2,18±0,40*
	(n = 10)		(n = 5)		(n = 10)	(n = 5)
<b>Контрольная группа (инъекция ЗФР)</b> Control group (PBS injection)	2,74±1,32	1,34±1,05	1,08±0,48	0,60±0,55	4,63±2,03	4,27±1,71

Примечание: <sup>1)</sup> \* t test, p = 0,039 (относительно контроля); <sup>2)</sup> \* t test, p = 0,029 (относительно контроля). ЗФР – забуференный физиологический раствор.

Note. <sup>1)</sup> \* t test, p = 0.039 (relative to the control group); <sup>2)</sup> \* t test, p = 0.029 (relative to the control group). PBS – phosphate buffered saline.

реакции лимфоидных органов на Т-независимые антигены 2-го типа.

Данные литературы о локализации в селезенке В-лимфоцитов, отвечающих на Т-независимые антигены 2-го типа, противоречивы. Nutt и соавт. показали, что Т-независимые антигены 2-го типа в селезенке вызывают внефолликулярную пролиферацию В-лимфоцитов, стихающую в течение нескольких дней [10]. Другие исследователи обнаружили, что некоторые полисахаридные антигены, являющиеся Т-независимыми антигенами, могут стимулировать образование зародышевых центров, но также существуют всего несколько дней [5, 8]. Xin Liu и соавт. показали, что Т-независимые антигены 2-го типа NP30-Ficolл и декстран могут индуцировать временное образование зародышевых центров в селезенке мышей с формированием плазматических клеток и долгоживущих В-клеток памяти [9]. Fc-фрагменты IgG, несущие regRF эпитопы, являясь Т-независимым антигеном 2-го типа, вызывают образование зародышевых центров,

что предполагает возможность формирования клеток памяти. Кроме того, вторичные фолликулы, индуцированные Fc-фрагментами IgG, несущими regRF эпитопы, обнаруживаются спустя 28 дней после иммунизации, то есть сохраняются относительно долго.

Мы так же исследовали срезы селезенки спустя 49 дней после иммунизации Fc-фрагментами IgG, несущими regRF-эпитопы. На 49-й день количество фолликулов с зародышевыми центрами у крыс, иммунизированных Fc-фрагментами IgG, несущими regRF-эпитопы, ниже, чем у контрольных крыс, получивших инъекцию ЗФР (табл. 1). Следовательно, реакция селезенки на Fc-фрагменты IgG, несущие regRF-эпитопы, является транзиторной.

Чтобы выяснить, вызывает ли иммунизация Fc-фрагментами IgG, несущими regRF-эпитопы, изменения в Т-клеточной зоне селезенки – периартериальных лимфоидных муфтах, был проведен иммуногистохимический анализ селезенки. Т-лимфоциты периартериальной лимфоидной



муфты селезенки крыс характеризуются слабой экспрессией CD3. Особенностей периартериальной лимфоидной муфты крыс, иммунизированных Fc-фрагментами IgG, несущими регРФ эпитопы, отличающих ее от периартериальной лимфоидной муфты крыс, получивших инъекцию ЗФР, не найдено.

## Заключение

Таким образом, Fc-фрагменты IgG, несущие регРФ-эпитопы, являясь Т-независимым антигеном 2-го типа, не вызывают реакцию лимфоузлов, но индуцируют образование зародышевых центров в селезенке, сохраняющихся несколько недель.

## Список литературы / References

1. Beduleva L., Khramova T., Sidorov A., Terentiev A., Abisheva N., Menshikova D., Ivanov P., Fomina K., Gorbushina A., Shklyayeva N., Menshikov I. Suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis by IgG Fc fragments bearing regRF epitopes. *Int. Immunopharmacol.*, 2021, Vol. 101, 108309. doi: 10.1016/j.intimp.2021.108309.
2. Beduleva L., Menshikov I., Stolyarova E., Fomina K., Lobanova O., Ivanov P., Terentiev A. Rheumatoid factor in idiotypic regulation of autoimmunity. *Int. J. Rheum. Dis.*, 2015, Vol. 18, no. 4, pp. 408-420.
3. Beduleva L., Sidorov A., Terentiev A., Varaksin V., Fomina K., Menshikov I. Reduction in experimental autoimmune thyroiditis by IgG Fc fragments bearing regRF epitopes. *Immunol. Res.*, 2023, Vol. 71, no. 1, pp. 83-91.
4. Beduleva L., Sidorov A., Terentiev A., Ivanov P., Menshikov I. Treatment with IgG Fc fragments bearing regRF epitopes prevents destruction of the gastric mucosa in experimental autoimmune gastritis model. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2023, Vol. 252, 126444. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.126444.
5. de Vinuesa C.G., Cook M.C., Ball J., Drew M., Sunners Y., Cascalho M., Wabl M., Klaus G.G., MacLennan I.C. Germinal centers without T cells. *J. Exp. Med.*, 2000, Vol. 191, no. 3, pp. 485-494.
6. Goud S.N., Muthusamy N., Subbarao B. Differential responses of B cells from the spleen and lymph node to TNP-Ficoll. *J. Immunol.*, 1988, Vol. 140, no. 9, pp. 2925-2530.
7. Khramova T., Beduleva L., Sidorov A., Terentiev A., Menshikov I. Regulatory rheumatoid factor is specific to PD-1 and uses PD-1 pathway to control CD4 T lymphocytes. *Immunol. Invest.*, 2023, Vol. 52, no. 7, pp. 897-908.
8. Lentz V.M., Manser T. Cutting edge: germinal centers can be induced in the absence of T cells. *J. Immunol.*, 2001, Vol. 167, no. 1, pp. 15-20.
9. Liu X., Zhao Y., Qi H. T-independent antigen induces humoral memory through germinal centers. *J. Exp. Med.*, 2022, Vol. 219, no. 3, e20210527.
10. Nutt S.L., Hodgkin P.D., Tarlinton D.M., Corcoran L.M. The generation of antibody-secreting plasma cells. *Nat. Rev. Immunol.*, 2015, Vol. 15, no. 3, pp. 160-171.
11. Sidorov A., Beduleva L., Menshikov I., Terentiev A., Stolyarova E., Abisheva N. Fc fragments of immunoglobulin G are an inducer of regulatory rheumatoid factor and a promising therapeutic agent for rheumatic diseases. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2017, Vol. 95, pp. 938-945.
12. Stolyarova E., Beduleva L., Menshikov I., Sidorov A., Khramova T. T lymphocyte dependence of the immune response to immunosuppressive neoantigen-exposing Fc fragments of IgG. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.*, 2019, Vol. 33, no. 3, pp. 869-876.

### Авторы:

**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

**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:

**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

**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

**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

**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

**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

**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

**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

**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

---

Поступила 27.03.2024  
Принята к печати 30.03.2024

---

Received 27.03.2024  
Accepted 30.03.2024

## МЕЛАТОНИН КАК ИНДУКТОР ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ КЛЕТОК Th17: НОВЫЕ МЕХАНИЗМЫ

Куклина Е.М.<sup>1</sup>, Сурсякова Н.В.<sup>2</sup>, Данченко И.Ю.<sup>3</sup>,  
Глебездина Н.С.<sup>1</sup>, Байдина Т.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> ГАУЗ «Пермский краевой госпиталь ветеранов войн», г. Пермь, Россия

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения РФ, г. Пермь, Россия

**Резюме.** Клетки иммунной системы чувствительны к действию мелатонина, и наиболее очевидной мишенью действия гормона является Т-хелперная субпопуляция Th17: помимо двух высокоаффинных мембранных рецепторов для мелатонина, MT1 и MT2, эти клетки экспрессируют ядерный рецептор, ROR $\alpha$ . В ряду вторичных мессенджеров, участвующих в передаче сигналов от мелатониновых рецепторов, особый интерес в настоящее время вызывают белки семейства сиртуинов. Известно, что в неопухолевых клетках сиртуин 1 (SIRT1) не только усиливает экспрессию в ответ на действие мелатонина, но и участвует в реализации мелатониновых эффектов, на что указывают данные ингибиторного анализа с использованием специфического блокатора SIRT1 или соответствующих siRNA/shRNA. Это относится к регуляции циркадных осцилляторов, а также к противовоспалительным, антиоксидантным и антиапоптотическим эффектам мелатонина. Дальнейшие механизмы активности SIRT1 в клетке включают транскрипционную и посттранскрипционную регуляцию экспрессии генов за счет деацетилирования гистонов и негистоновых белков, и очевидной мишенью SIRT1 является транскрипционный фактор ROR $\alpha$  – именно этот фактор опосредует классический мелатонин/SIRT1-зависимый контроль транскрипции ключевых циркадных регуляторов, гены которых имеют в промоторе ROR-связывающие последовательности. Эти данные поднимают вопрос о функциях SIRT1 в других клетках, экспрессирующих ROR $\alpha$ , в частности в Т-хелперах Th17, для которых он является одним из двух ключевых дифференцировочных факторов, наряду с ROR $\gamma$ t. И если для ROR $\alpha$  такая связь пока остается гипотетической, для ROR $\gamma$ t она убедительно продемонстрирована.

### Адрес для переписки:

Куклина Елена Михайловна  
Институт экологии и генетики микроорганизмов  
Уральского отделения Российской академии наук  
Россия, 614081, г. Пермь, ул. Голева, 13.  
Тел.: 8 (342) 280-84-31.  
E-mail: [ibis\\_07@mail.ru](mailto:ibis_07@mail.ru)

### Address for correspondence:

Elena M. Kuklina  
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms,  
Ural Branch, Russian Academy of Sciences  
13 Golev St  
Perm  
614081 Russian Federation  
Phone: +7 (342) 280-84-31.  
E-mail: [ibis\\_07@mail.ru](mailto:ibis_07@mail.ru)

### Образец цитирования:

Е.М. Куклина, Н.В. Сурсякова, И.Ю. Данченко,  
Н.С. Глебездина, Т.В. Байдина «Мелатонин как  
индуктор дифференцировки клеток Th17: новые  
механизмы» // Российский иммунологический журнал,  
2024. Т. 27, № 4. С. 769–774.  
doi: 10.46235/1028-7221-16851-MAA

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

### For citation:

E.M. Kuklina, N.V. Sursyakova, I.Yu. Danchenko,  
N.S. Glebezina, T.V. Baidina “Melatonin as an inducer  
of Th17 cell differentiation: new mechanisms”, *Russian Journal  
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal*, 2024,  
Vol. 27, no. 4, pp. 769–774.  
doi: 10.46235/1028-7221-16851-MAA

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16851-MAA

на в исследованиях как *in vivo*, так и *in vitro*: показано, что SIRT1 напрямую связывается с ROR $\gamma$ t и стимулирует развитие клеток Th17, а блокада сиртуина подавляет дифференцировку этих клеток в норме и препятствует развитию Th17-ассоциированной патологии у мышей. Суммируя эти данные, можно с уверенностью прогнозировать существование нового механизма регуляции Т-хелперной популяции Th17 мелатонином, через активацию сиртуина SIRT1, и этот механизм необходимо учитывать при интерпретации данных по иммунорегуляторной активности мелатонина.

**Ключевые слова:** мелатонин, ROR $\alpha$ , ROR $\gamma$ t, Т-хелперы, Th17, Treg, сиртуины

## MELATONIN AS AN INDUCER OF Th17 CELL DIFFERENTIATION: NEW MECHANISMS

Kuklina E.M.<sup>a</sup>, Sursyakova N.V.<sup>b</sup>, Danchenko I.Yu.<sup>c</sup>, Glebezdina N.S.<sup>a</sup>, Baidina T.V.<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

<sup>b</sup> Perm Regional Hospital for War Veterans, Perm, Russian Federation

<sup>c</sup> E. Wagner Perm State Medical University, Perm, Russian Federation

**Abstract.** Cells of the immune system are sensitive to the action of melatonin, and the most obvious target of the hormone is the Th17 T helper subset: in addition to two high-affinity membrane receptors for melatonin, MT1 and MT2, these cells express a nuclear receptor, ROR $\alpha$ . Among the secondary messengers involved in the transmission of signals from melatonin receptors, proteins of the sirtuin family are currently of particular interest. It is known that in non-tumor cells, sirtuin 1 (SIRT1) not only increases its expression in response to melatonin, but is also involved in the implementation of melatonin effects, as indicated by inhibitory assays using a specific SIRT1 blocker or corresponding siRNA/shRNA. This relates to the regulation of circadian oscillators, as well as the anti-inflammatory, antioxidant and anti-apoptotic effects of melatonin. Further mechanisms of SIRT1 activity in the cell include transcriptional and posttranscriptional regulation of gene expression through deacetylation of histones and non-histone proteins, and the apparent target of SIRT1 is the transcription factor ROR $\alpha$ . It is this factor that mediates classical melatonin/SIRT1-dependent transcriptional control of key circadian regulators, the genes of which have ROR-binding sequences in their promoters. These data raise questions about the functions of SIRT1 in other cells expressing ROR $\alpha$ , in particular in Th17 T helper cells, for which it is one of two key differentiation factors, along with ROR $\gamma$ t. And if for ROR $\alpha$  such a connection still remains hypothetical, for ROR $\gamma$ t it has been convincingly demonstrated in studies both *in vivo* and *in vitro*: it has been shown that SIRT1 directly binds to ROR $\gamma$ t and stimulates the development of Th17 cells, and blockade of sirtuin suppresses the differentiation of these cells in normal and prevents the development of Th17-associated pathology in mice. Summarizing these data, we can confidently predict the existence of a new mechanism for the regulation of the T helper Th17 population by melatonin, through the activation of sirtuin SIRT1, and this mechanism must be taken into account when interpreting data on the immunoregulatory activity of melatonin.

**Keywords:** melatonin, ROR $\alpha$ , ROR $\gamma$ t, T-helpers, Th17, Tregs, sirtuins

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 24-25-00331.

### Введение

Мелатонин – это гормон, секретируемый преимущественно эпифизом и регулирующий ши-

рокий спектр биологических реакций организма, в том числе иммунных. Клетки иммунной системы чувствительны к действию мелатонина, и наиболее очевидной мишенью действия гормона является Т-хелперная субпопуляция Th17: помимо двух высокоаффинных мембранных мела-



тониновых рецепторов, MT1 и MT2, эти клетки экспрессируют ядерный рецептор для мелатонина, ROR $\alpha$  [4, 10], который одновременно служит одним из двух основных факторов дифференцировки Th17 [11]. Вторичные мессенджеры, участвующие в передаче сигналов от мелатониновых рецепторов, активно изучаются, и особый интерес в исследованиях мелатонина в настоящее время вызывают белки семейства сиртуинов, получившие название от аббревиатуры SIR (Silent Information Regulator) и вовлеченные в регуляцию метаболических и ростовых путей организма. Прежде всего это относится к первому члену семейства, SIRT1.

## Материалы и методы

Поиск литературы о SIRT1-зависимых эффектах мелатонина в Т-лимфоцитах и нелимфоидных клетках проводился в базе данных PubMed с использованием соответствующих ключевых слов, без ограничения по языку и дате публикации.

## Результаты и обсуждение

SIRT1 представляет собой NAD<sup>+</sup>-зависимую протеиндеацетилазу, которая играет решающую роль в циркадной регуляции, клеточном цикле, репликативном старении, воспалении и многих других процессах. В целом ряде работ показано, что мелатонин участвует в синтезе SIRT1 в норме и при патологии, а при экзогенном введении усиливает его экспрессию в нейронах гиппокампа [3] и клетках микроглии [9], в пораженных тканях легких [8], почек [1], в кардиомиоцитах [13]. Более того, SIRT1 участвует в реализации мелатониновых эффектов, на что указывают данные ингибиторного анализа с использованием специфического блокатора SIRT1 или соответствующих siRNA/shRNA. Прежде всего это относится к мелатонин-зависимой регуляции циркадных осцилляторов — как центральных, так и в периферических [3]. Наряду с этим, есть многочисленные свидетельства участия SIRT1 в эффектах мелатонина, не связанных с циркадной регуляцией, в частности противовоспалительных. Так, у животных с хронической обструктивной болезнью легких, индуцированной ЛПС, мелатонин подавлял воспаление в дыхательных путях за счет SIRT1-зависимого ингибирования экспрессии инфламмосомы NLRP3 в тканях легких и уровня IL-1 $\beta$  в бронхоальвеолярном лаваже, что под-

тверждалось частичной отменой мелатониновых эффектов специфическим ингибитором сиртуина EX527 [8]. Тот же ингибитор блокировал мелатонин-зависимое снижение уровня TNF $\alpha$  и IL-1 $\beta$  в модели острого повреждения почек вследствие тяжелых ожогов у крыс [1], кардиопротективное действие мелатонина, включая его антиоксидантные и антиапоптотические эффекты в кардиомиоцитах, при сердечной ишемии/реперфузии у крыс [13] или в ЛПС-стимулированных клетках микроглии [9].

Механизмы мелатонин/сиртуин-зависимой сигнализации только начинают изучаться. Известно, что SIRT1 участвует в транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии генов посредством деацетилирования гистонов и негистоновых белков. В частности, его мишенями являются такие факторы, как p53, FoxO и NF- $\kappa$ B [1,14]. Еще одной очевидной мишенью SIRT1 является транскрипционный фактор ROR $\alpha$  — ядерный орфанный рецептор, родственный рецепторам ретиноевой кислоты, член суперсемейства стероид/тиреоидных рецепторов. Он имеет тесную связь с циркадной системой: с одной стороны, ROR $\alpha$  сам подвержен циркадной регуляции через E-box; с другой стороны, он контролирует транскрипцию ключевых циркадных регуляторов Bmal1 и Clock, гены которых имеют в промоторе ROR-связывающие последовательности (RORE). Механизм заключается в деацетилировании PGC-1 $\alpha$  (коактиватор поли-ADP-рибозополимеразы- $\gamma$ -1 $\alpha$ ) сиртуином SIRT1. Деацетилированная форма PGC-1 $\alpha$  связывается с ROR $\alpha$ , промотируя активацию последовательностей RORE в контрольных областях генов Bmal1 и Clock [2, 6]. В связи с этим возникает вопрос о функциях SIRT1 в других клетках, экспрессирующих ROR $\alpha$ , в частности в Т-хелперах Th17, для которых ROR $\alpha$  является одним из двух ключевых дифференцировочных факторов, наряду с ROR $\gamma$ t. И если для ROR $\alpha$  эта связь пока гипотетическая, то для ROR $\gamma$ t она убедительно продемонстрирована в исследованиях как *in vivo*, так и *in vitro*. Показано, в частности, что у животных с SIRT1<sup>-/-</sup> CD4Т-лимфоцитами дифференцировка клеток Th17 снижена, при неизменной экспрессии ROR $\gamma$ t, как и у интактных животных на фоне специфического ингибитора сиртуина Ex-527, что свидетельствует об участии SIRT1 в промотировании такой дифференцировки [5]. Продемонстрировано прямое связывание SIRT1 с С-терминальным районом ROR $\gamma$ t (aa 304-495) и



деацетилирование трех остатков лизина в ДНК-связывающем домене ROR $\gamma$ t – как в тимоцитах, так и в клетках Th17. Более того, подтверждена роль деацетилирования в ROR $\gamma$ t-зависимой транскрипции. Известно, что ROR $\gamma$ t оказывает противоположные транскрипционные эффекты на два ключевых гена в клетках Th17: он активирует промотор IL-17 и подавляет промотор IL-2, причем оба эффекта ROR $\gamma$ t имеют решающее значение для клеток Th17, поскольку IL-2 является негативным регулятором дифференцировки клеток Th17. Авторами показано, что деацетилированный ROR $\gamma$ t является наиболее эффективной формой как для стимулирования транскрипции IL-17, так и для подавления транскрипции IL-2 [5]. И наконец, продемонстрировано участие SIRT1 в Th17-ассоциированной патологии – экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите (ЕАЕ), мышинной модели рассеянного склероза, который развивается в ответ на иммунизацию пептидом миелин-олигодендроцитарного гликопротеина: лимфоцитарная инфильтрация ЦНС и демиелинизация были существенно ниже у Sirt1<sup>-/-</sup> мышей, а также у нативных животных на фоне ингибитора сиртуина Ex-527 [5]. В то же время есть целый ряд работ, демонстрирующих негативную роль SIRT1 в дифференцировке регуляторных Т-лимфоцитов (Treg) – клеток, которые развиваются из общего с Th17 предшественника и обладают противоположными, противовоспалительными свойствами [7, 12]. Таким образом, SIRT1 регулирует баланс Th17/Treg, что должно вносить вклад в

развитие Th17-ассоциированных заболеваний, в первую очередь, аутоиммунных.

Таким образом, SIRT1 регулирует баланс Th17/Treg, что должно вносить вклад в развитие Th17-ассоциированных заболеваний, в первую очередь, аутоиммунных.

## Заключение

Подведем итоги. С одной стороны, на сегодняшний день имеется немало данных, подтверждающих мелатонин-зависимую активацию экспрессии сиртуина SIRT1 в разных типах клеток за пределами иммунной системы, а также участие транскрипционного фактора ROR $\alpha$  в опосредовании мелатонин/SIRT1-сигнала в регуляции циркадных осцилляторов. С другой стороны, убедительно показана экспрессия SIRT1 в иммунных клетках, в том числе в клетках Th17, и его участие в активации транскрипционной активности ROR $\gamma$ t – ключевого дифференцировочного фактора Th17. Суммируя эти данные, можно с уверенностью прогнозировать существование нового механизма регуляции Т-хелперной популяции Th17 мелатонином, через активацию сиртуина SIRT1 – возможно, сиртуин участвует в передаче сигнала от мембранных мелатониновых рецепторов (MT1/MT2) ядерному (ROR $\alpha$ ), в дополнение к прямому связыванию, и этот механизм необходимо учитывать при интерпретации данных по иммунорегуляторной активности мелатонина.

## Список литературы / References

1. Bai X.Z., He T., Gao J.X., Liu Y., Liu J.Q., Han S.C., Li Y., Shi J.H., Han J.T., Tao K., Xie S.T., Wang H.T., Hu D.H. Melatonin prevents acute kidney injury in severely burned rats via the activation of SIRT1. *Sci. Rep.*, 2016, Vol. 6, 32199. doi: 10.1038/srep32199.
2. Chang H.C., Guarente L. SIRT1 mediates central circadian control in the SCN by a mechanism that decays with aging. *Cell*, 2013, Vol. 153, pp. 1448-1460.
3. Chang H.M., Wu U.I., Lan C.T. Melatonin preserves longevity protein (sirtuin 1) expression in the hippocampus of total sleep-deprived rats. *J. Pineal. Res.*, 2009, Vol. 47, no. 3, pp. 211-220.
4. Lardone P.J., Guerrero J.M., Fernández-Santos J.M., Rubio A., Martin-Lacave I., Carrillo-Vico A. Melatonin synthesized by T lymphocytes as a ligand of the retinoic acid-related orphan receptor. *J. Pineal. Res.*, 2011, Vol. 51, no. 4, pp. 454-462.
5. Lim H.W., Kang S.G., Ryu J.K., Schilling B., Fei M., Lee I.S., Kehasse A., Shirakawa K., Yokoyama M., Schnölzer M., Kasler H.G., Kwon H.S., Gibson B.W., Sato H., Akassoglou K., Xiao C., Littman D.R., Ott M., Verdin E. SIRT1 deacetylates ROR $\gamma$ t and enhances Th17 cell generation. *J. Exp. Med.*, 2015, Vol. 212, no. 5, pp. 607-617.
6. Liu C., Li S., Liu T., Borjigin J., Lin J.D. Transcriptional coactivator PGC-1 $\alpha$  integrates the mammalian clock and energy metabolism. *Nature*, 2007, Vol. 447, no. 7143, pp. 477-481.

7. van Loosdregt J., Vercoulen Y., Guichelaar T., Gent Y.Y., Beekman J.M., van Beekum O., Brenkman A.B., Hijnen D.J., Mutis T., Kalkhoven E., Prakken B.J., Coffers P.J. Regulation of Treg functionality by acetylation-mediated Foxp3 protein stabilization. *Blood*, 2010, Vol. 115, no. 5, pp. 965-974.
8. Peng Z., Zhang W., Qiao J., He B. Melatonin attenuates airway inflammation via SIRT1 dependent inhibition of NLRP3 inflammasome and IL-1 $\beta$  in rats with COPD. *Int. Immunopharmacol.*, 2018, Vol. 62, pp. 23-28.
9. Shah S.A., Khan M., Jo M.H., Jo M.G., Amin F.U., Kim M.O. Melatonin stimulates the SIRT1/Nrf2 signaling pathway counteracting lipopolysaccharide (LPS)-induced oxidative stress to rescue postnatal rat brain. *CNS Neurosci. Ther.*, 2017, Vol. 23, no. 1, pp. 33-44.
10. Wiesenberg I., Missbach M., Kahlen J.P., Schröder M., Carlberg C. Transcriptional activation of the nuclear receptor RZR alpha by the pineal gland hormone melatonin and identification of CGP 52608 as a synthetic ligand. *Nucleic Acids Res.*, 1995, Vol. 23, pp. 327-333.
11. Yang X.O., Pappu B.P., Nurieva R., Akimzhanov A., Kang H.S., Chung Y., Ma L., Shah B., Panopoulos A.D., Schluns K.S., Watowich S.S., Tian Q., Jetten A.M., Dong C. T helper 17 lineage differentiation is programmed by orphan nuclear receptors ROR alpha and ROR gamma. *Immunity*, 2008, Vol. 28, pp. 29-39.
12. Yang X., Lun Y., Jiang H., Liu X., Duan Z., Xin S., Zhang J. SIRT1-regulated abnormal acetylation of FOXP3 induces regulatory T-cell function defect in Hashimoto's Thyroiditis. *Thyroid*, 2018, Vol. 28, no. 2, pp. 246-256.
13. Yu L., Sun Y., Cheng L., Jin Z., Yang Y., Zhai M., Pei H., Wang X., Zhang H., Meng Q., Zhang Y., Yu S., Duan W. Melatonin receptor-mediated protection against myocardial ischemia/reperfusion injury: Role of SIRT1. *J. Pineal. Res.*, 2014, Vol. 57, no. 2, pp. 228-238.
14. Zhao L., An R., Yang Y., Yang X., Liu H., Yue L., Li X., Lin Y., Reiter R.J., Qu Y. Melatonin alleviates brain injury in mice subjected to cecal ligation and puncture via attenuating inflammation, apoptosis, and oxidative stress: The role of SIRT1 signaling. *J. Pineal. Res.*, 2015, Vol. 59, no. 2, pp. 230-239.

---

**Авторы:**

**Куклина Е.М.** — д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции, «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» — филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь, Россия

**Сурякова Н.В.** — к.м.н., врач-невролог ГАУЗ «Пермский краевой госпиталь ветеранов войн», г. Пермь, Россия

**Данченко И.Ю.** — к.м.н., ассистент кафедры неврологии и медицинской генетики ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения РФ, г. Пермь, Россия

**Authors:**

**Kuklina E.M.**, PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Immunoregulation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

**Suryakova N.V.**, PhD (Medicine), Neurologist, Perm Regional Hospital for War Veterans, Perm, Russian Federation

**Danchenko I.Yu.**, PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Neurology and Medical Genetics, E. Wagner Perm State Medical University, Perm, Russian Federation

**Глебездина Н.С.** — к.б.н., младший научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции, «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» — филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь, Россия

**Байдина Т.В.** — д.м.н., профессор кафедры неврологии и медицинской генетики ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения РФ, г. Пермь, Россия

**Glebezina N.S.**, PhD (Biology), Junior Research Associate, Laboratory of Immunoregulation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

**Baidina T.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Neurology and Medical Genetics, E. Wagner Perm State Medical University, Perm, Russian Federation

---

Поступила 01.04.2024  
Отправлена на доработку 03.04.2024  
Принята к печати 25.04.2024

---

Received 01.04.2024  
Revision received 03.04.2024  
Accepted 25.04.2024

## ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ АПОПТОЗА У БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ

Ревякина В.А.<sup>1,2</sup>, Мухортых В.А.<sup>1,3</sup>, Тармаева Н.А.<sup>1</sup>,  
Ларькова И.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», Москва, Россия

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

<sup>3</sup> ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детей и подростков Федерального медико-биологического агентства России», Москва, Россия

**Резюме.** Исследование нацелено на изучение изменений в процессах апоптоза у пациентов, страдающих atopическим дерматитом (АтД). В ходе работы была проанализирована группа из 88 пациентов в возрастном диапазоне от одного года до трех лет, у которых наблюдались разнообразные степени тяжести данного заболевания. Показатели SCORAD, отражающие степень тяжести АтД, демонстрировали следующие значения:  $68,14 \pm 2,63$  при тяжелой форме,  $32,03 \pm 1,43$  при средней и  $12,12 \pm 1,43$  при легкой. В рамках исследования для определения уровней маркеров апоптоза в крови (включая Caspase 8, Caspase 9, sCD153, sFas-L, Annexin 5) использовался иммуноферментный анализ (ELISA) с применением наборов от Bender MedSystems® (Австрия). Анализ показал значительное уменьшение концентрации Annexin 5 в сыворотке крови у пациентов с АтД в двадцать раз по сравнению с контрольными значениями, что говорит о заметном нарушении процессов апоптоза ( $p < 0,05$ ). Кроме того, было обнаружено статистически значимое снижение уровней Caspase 8 и Caspase 9, где концентрация Caspase 8 уменьшилась втрое, а Caspase 9 – в восемь раз по сравнению с нормативными показателями. При этом уровни sFas-L также продемонстрировали существенное снижение. В отличие от этих показателей, содержание sCD153 в сыворотке крови оказалось значительно выше (в пять раз) нормы, что не характерно для здорового состояния. Особенно ярко выраженные отклонения в процессах апоптоза наблюдались у пациентов с тяжелыми формами atopического дерматита, подчеркивая тесную связь между уровнем нарушений апоптоза и тяжестью клинических проявлений заболевания. Это исследование подтверждает необходимость более глубокого анализа механизмов апоптоза в контексте АтД, указывая на комплексные изменения в сигнальных путях активации и нарушения элиминации альтерированных иммунных клеток, способствующих усилению и хронизации воспалительного процесса в коже.

*Ключевые слова:* atopический дерматит, дети, апоптоз, Annexin 5, Caspase 8, Caspase 9, sCD153, sFas-L

### Адрес для переписки:

Ревякина Вера Афанасьевна  
ФГБУН «Федеральный исследовательский  
центр питания, биотехнологии и безопасности пищи»  
115446, Россия, Москва, Каширское шоссе, 21.  
Тел.: 8 (499) 794-36-12.  
E-mail: 5356797@mail.ru

### Address for correspondence:

Vera A Revyakina  
Federal Research Centre of Nutrition,  
Biotechnology and Food Safety  
21 Kashirskoe Highway  
Moscow  
115446 Russian Federation  
Phone: +7 (499) 794-36-12.  
E-mail: 5356797@mail.ru

### Образец цитирования:

В.А. Ревякина, В.А. Мухортых, Н.А. Тармаева,  
И.А. Ларькова «Оценка показателей апоптоза у  
больных atopическим дерматитом» // Российский  
иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 775–780.  
doi: 10.46235/1028-7221-16943-EOA

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

### For citation:

V.A. Revyakina, V.A. Mukhortykh, N.A. Tarmaeva,  
I.A. Larkova "Evaluation of apoptosis markers in patients with  
atopic dermatitis", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy  
Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 775–780.  
doi: 10.46235/1028-7221-16943-EOA

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16943-EOA

## EVALUATION OF APOPTOSIS MARKERS IN PATIENTS WITH ATOPIC DERMATITIS

Revyakina V.A.<sup>a, b</sup>, Mukhortykh V.A.<sup>a, c</sup>, Tarmaeva N.A.<sup>a</sup>, Larkova I.A.<sup>a, b</sup>

<sup>a</sup> Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russian Federation

<sup>b</sup> National Medical Research Center for Children's Health of the Ministry of Health of the Russian Federation, Department of Allergy, Moscow, Russian Federation

<sup>c</sup> Federal Scientific and Clinical Center for Children and Adolescents, Federal Medical and Biological Agency, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** The purpose of the study was to analyze indicators of apoptosis in patients with atopic dermatitis (AD). Patients (N = 88) aged from 12 months to 3 years with varying degrees of disease severity were involved into trial. SCORAD indices were:  $68.14 \pm 2.63$  – in patients with severe AD;  $32.03 \pm 1.43$  – with moderate; and  $12.12 \pm 1.43$  – with mild AD, respectively. Determination of apoptosis markers (Caspase 8, Caspase 9, sCD153, sFas-L, Annexin 5) in blood serum was performed using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using commercial kits from Bender MedSystems® (Austria). A study of apoptosis markers in the blood serum of children with AD revealed a significant decrease ( $p < 0.05$ ) in the concentration of Annexin 5 compared to standard values (by 20 times). A statistically significant decrease ( $p < 0.05$ ) in the concentration levels of Caspase 8 and Caspase 9 in the serum of AD patients was revealed. Thus, the concentrations of Caspase 8 were reduced on by 3 times, and Caspase 9 by 8 times compared to the norm. Also In addition, when determining sFas-L indicators, a statistically significant ( $p < 0.05$ ) decrease in concentration was noted compared to standard indicators. The content of sCD153 in the blood serum in AD patients was significantly higher ( $p < 0.05$ ) than the normative values by 5 times (not detected normally). The most pronounced disturbances in apoptosis indicators were observed in patients with severe atopic dermatitis, ( $p < 0.05$ ), highlighting the importance of studying apoptosis in the context of AD and the possible link between disruptions in this process and the severity of clinical manifestations in patients. The study demonstrates the peculiarities of apoptosis processes in children with AD. On the one hand, these patients have significantly increased activation of signaling systems, on the other hand, the elimination of altered immunocompetent cells does not occur properly, which contributes to the progression and chronicity of immune inflammation in the skin.

*Keywords:* atopic dermatitis, children, apoptosis, Annexin 5, Caspase 8, Caspase 9, sCD153, sFas-L

### Введение

Атопический дерматит (АтД), являясь одним из самых распространенных заболеваний у детей, оказывает значительное влияние на качество жизни больных и членов их семей. В последние годы отмечается стойкая тенденция к увеличению частоты тяжелых, непрерывно-рецидивирующих форм заболевания, резистентных к стандартной терапии [1, 2].

Несмотря на существенный прогресс в изучении механизмов развития АтД, многие патофизиологические аспекты заболевания остаются до конца неизученными. Определенный интерес вызывают исследования показателей апоптоза [4, 5, 11, 12], так как нарушение процессов его регуляции и/или недостаточность индукции способно поддерживать воспалительный процесс в коже. Более глубокое понимание механизмов запрограммированной клеточной гибели в различных типах клеток может быть использовано в

терапевтических целях для регуляции этого процесса.

Апоптоз – физиологический процесс генетически запрограммированной гибели клетки, что является важным механизмом регуляции иммунного ответа [9]. В запуске апоптоза участвуют различные структуры, прежде всего, плазматическая мембрана и митохондрии. Индукция апоптоза и активация проапоптотических белков ведут к активации каспаз (цистеиновых протеаз). Различают инициаторные и эффекторные каспазы, функционирующие как протеолитические каскады. Каспазы находятся в клетках в неактивном состоянии (прокаспазы), активация которых происходит путем их протеолитического расщепления в местах расположения аспарагиновых оснований. Так, Caspase 9 активирует каспазы 3 и 7, что приводит к фрагментации ДНК и апоптозу. Апоптоз, индуцируемый CD95 и TNF $\alpha$  активирует Caspase 8, которая обеспечивает прямую связь



между рецепторами клеточной гибели и каспазами.

В результате действия эффекторных каспаз и активированных ими других ферментов (эндонуклеаз, гельзолина и т. д.) разрушаются такие компоненты клетки, как внутриядерная ламина, нарушается целостность ДНК, происходит специфическая компактизация хроматина, наблюдается распад элементов цитоскелета, митохондрий, аппарата Гольджи, эндоплазматического ретикулума и т. д.

Классические специфические рецепторы для индукции апоптоза относятся к суперсемейству рецепторов для TNF $\alpha$ . Одним из таких рецепторов является FasL, который содержится в цитоплазматическом участке «домен смерти» (death domain), обеспечивающий активацию каскада каспаз. FasL экспрессируется в значительной степени на активированных Т-лимфоцитах и, взаимодействуя (в виде мембраноассоциированного или растворимого белка) с Fas/CD95, становится основным механизмом апоптотической гибели клеток-мишеней. Считается, что взаимодействие Fas с FasL формирует апоптоиндуцирующий сигнал на поверхности активированных Т-лимфоцитов, но оказывает антиапоптотическое действие на покоящиеся Т-клетки [7].

Как было показано в недавних исследованиях, одним из наиболее перспективных с точки зрения использования в качестве маркера терминальных апоптотических стадий представляется Annexin 5 [3, 6, 8]. Показано, что в процессе апоптоза происходит усиление экспрессии фосфатидилсерина на наружной мембране клетки [13]. Annexin 5 способен связывать экспрессированный фосфатидилсерин и, таким образом, уменьшать провоспалительную активность гибнущей клетки. Таким образом, нахождение Annexin 5 в экстрацеллюлярном матриксе представляет иммунопатогенетическую значимость в процессах регуляции апоптоза.

## Материалы и методы

Обследовано 88 детей с АтД в возрасте от 12 месяцев до 3 лет, среди них 39 (44,3%) мальчиков и 49 (55,7%) девочек. Оценка тяжести АтД проводилась по шкале SCORAD, предложенной Европейской группой Экспертов [10]. Распределение детей по тяжести АтД было следующим: 44 (50,0%) больных с тяжелым течением, 29 (32,95%) – со среднетяжелым и 15 (17,05%) с легким течением болезни. Индексы SCORAD составили  $68,14 \pm 2,63$ ;  $32,03 \pm 1,43$ ;  $12,12 \pm 1,43$  баллов соответственно.

Материалом исследования служила венозная кровь обследованных лиц, взятая утром натощак из локтевой вены. Определение маркеров апоптоза (Annexin 5, sCD153, sFas-L, Caspase 8, Caspase 9) в сыворотке крови проводили с помощью иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием коммерческих наборов Bender MedSystems® (Австрия).

В работе применяли методы параметрической (критерий Стьюдента) и непараметрической (критерий Манна–Уитни) статистики. Результаты представлены в виде средних величин и их стандартной ошибки ( $M \pm m$ ). Уровень значимости считали достоверным при  $p < 0,05$ .

Больные находились на стационарном лечении в Клинике лечебного питания ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» и получали наружную терапию согласно клиническим рекомендациям. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом при Клинике лечебного питания ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» и проведено в соответствии с этическими и нормативными документами Российской Федерации.

## Результаты и обсуждение

Показатели апоптоза у больных с АтД представлены на рисунке 1.

У детей с АтД было выявлено статистически достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение концентрации Annexin 5 по сравнению с нормативными показателями (снижен в 20 раз). Функция Annexin 5 заключается в ингибировании провоспалительной активности клетки. Таким образом, можно предположить, что при его снижении возможно усиление аллергического воспаления.

При определении показателя sFas-L отмечалось статистически достоверное ( $p < 0,05$ ) уменьшение концентрации по сравнению с нормативными показателями. Fas-лиганд индуцирует гибель клетки за счет связывания с Fas-рецептором.

Показатель sCD153 при АтД достоверно превышает ( $p < 0,05$ ) нормативные показатели в 5 раз (в норме не обнаруживается). sCD153 отвечает за прием сигнала клеткой и экспрессируется на активированных Т- и В-клетках и моноцитах.

Концентрации Caspase 8 и Caspase 9 у обследованных детей были достоверно ниже ( $p < 0,05$ ) по сравнению с нормативными показателями. Так, Caspase 8 снижена в 3 раза, а Caspase 9 снижена в 8 раз (по сравнению с нормой). Минимальные значения этих показателей были зарегистрированы у пациентов с тяжелым течением АтД.

Референсные значения маркеров апоптоза представлены в таблице 1.

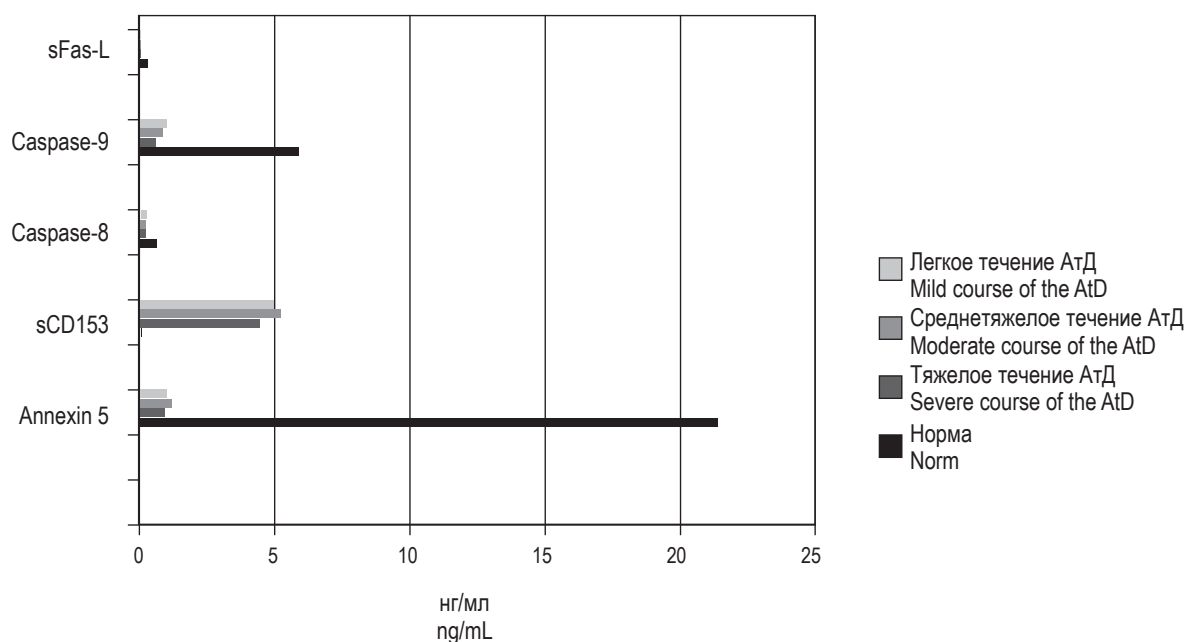


Рисунок 1. Концентрация маркеров апоптоза (нг/мл) в сыворотке крови у детей с АтД

Figure 1. Concentration of apoptosis markers (ng/mL) in serum of children with AtD

ТАБЛИЦА 1. РЕФЕРЕНСНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ МАРКЕРОВ АПОПТОЗА, М±m

TABLE 1. REFERENCE VALUES OF APOPTOSIS MARKERS, M±m

Показатель Indicator	Норма, нг/мл Normal range, ng/mL
Annexin 5	21,3±0,2
sCD153	У здоровых не обнаруживается Not detected in healthy individuals
Caspase 8	0,60±0,05
Caspase 9	5,9±0,4
sFas-L	0,21±0,01

## Заключение

Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод о том, что процессы апоптоза при АтД имеют свои особенности. С одной стороны, активация сигнальных систем значительно повы-

шена, с другой – не происходит в должной мере элиминации измененных иммунокомпетентных клеток, что способствует прогрессированию и хронизации аллергического воспалительного процесса.

## Список литературы / References

1. Глухова Е.А., Мухортых В.А., Тамразова О.В., Таганов А.В., Ревякина В.А. Предикторы тяжелого течения атопического дерматита // Вопросы питания, 2022. Т 91, № 1. С. 76-85. [Glukhova E.A., Mukhortykh V.A., Tamrazova O.V., Taganov A.V., Revyakina V.A. Predictors of severe course of atopic dermatitis. *Voprosy Pitaniya = Nutrition Issues*, 2022, Vol. 91, no. 1, pp. 76-85. (In Russ.)]

2. Ларькова И.А., Глухова Е.А., Ревякина В.А. Эффективность и безопасность иммунобиологической терапии атопического дерматита у детей // Российский педиатрический журнал, 2022. Т. 25, № 1. С. 46-51. [Larkova I.A., Glukhova E.A., Revyakina V.A. Effectiveness and safety of immunobiological therapy for atopic dermatitis in children. *Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal = Russian Pediatric Journal*, 2022, Vol. 25, no. 1, pp. 46-51. (In Russ.)]
3. Alshiraihi I., Kato T.A. Apoptosis Detection Assays. *Methods Mol. Biol.*, 2023, Vol. 2519, pp. 53-63.
4. Alyoussef A. Attenuation of experimentally induced atopic dermatitis in mice by sulforaphane: effect on inflammation and apoptosis. *Toxicol. Mech. Methods*, 2022, Vol. 32, no. 3, pp. 224-232.
5. James B.N., Oyeniran C., Sturgill J.L., Newton J., Martin R.K., Bieberich E., Spiegel, S. Ceramide in apoptosis and oxidative stress in allergic inflammation and asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2021, Vol. 147, no. 5, pp. 1936-1948.
6. Jing J. The Relevance, Predictability, and Utility of Annexin A5 for Human Physiopathology. *Int. J. Mol. Sci.*, 2024, Vol. 25, no. 5, 2865. doi: 10.3390/ijms25052865.
7. Mao M.G., Xu J., Liu R.T., Ye L., Wang R., Jiang J.L. Fas/FasL of pacific cod mediated apoptosis. *Dev. Comp. Immunol.*, 2021, Vol. 119, 104022. doi: 10.1016/j.dci.2021.104022.
8. Niles A.L., Kupcho K.R. A Nondestructive, Real-Time Annexin V Apoptosis Assay. *Methods Mol. Biol.*, 2022, Vol. 2543, pp. 1-11.
9. Obeng E. Apoptosis (programmed cell death) and its signals – A review. *Braz. J. Biol.*, 2021, Vol. 81, no. 4, pp. 1133-1143.
10. Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. *Dermatology*, 1993, Vol. 186, no. 1, pp. 23-31.
11. Sroka-Tomaszewska J., Trzeciak, M. Molecular Mechanisms of Atopic Dermatitis Pathogenesis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, Vol. 22, 4130. doi: 10.3390/ijms22084130.
12. Szymański U., Cios A., Ciepielak M., Stankiewicz W. Cytokines and apoptosis in atopic dermatitis. *Postepy Dermatol. Alergol.*, 2021, Vol. 38, no. 2, pp. 1-13.
13. Trautmann A, Akdis M, Klunker S, Blaser K, Akdis CA. Role of apoptosis in atopic dermatitis. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2001, Vol. 124, no. 1-3, pp. 230-232.

---

**Авторы:**

**Ревякина В.А.** — д.м.н., профессор, заведующая отделением ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи»; ведущий научный сотрудник ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Мухортык В.А.** — к.м.н., научный сотрудник ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи»; врач — аллерголог-иммунолог ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детей и подростков Федерального медико-биологического агентства России», Москва, Россия

**Authors:**

**Revyakina V.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department, Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology, and Food Safety; Leading Research Associate, Department of Allergy, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

**Mukhortykh V.A.**, PhD (Medicine), Research Associate, Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology, and Food Safety; Allergist-immunologist, Department of Allergy, Federal Scientific and Clinical Center for Children and Adolescents, Federal Medical and Biological Agency Moscow, Russian Federation

**Тармаева Н.А.** — младший научный сотрудник ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», Москва, Россия

**Tarmaeva N.A.**, Junior Research Associate, Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology, and Food Safety, Moscow, Russian Federation

**Ларькова И.А.** — к.м.н., старший научный сотрудник ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи»; старший научный сотрудник ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Larkova I.A.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology, and Food Safety; Senior Research Associate, Department of Allergy, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

---

Поступила 05.04.2024

Отправлена на доработку 06.04.2024

Принята к печати 25.04.2024

Received 05.04.2024

Revision received 06.04.2024

Accepted 25.04.2024

## ИММУНО-РКК ДЛЯ ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ ДЕТЕКЦИИ КОМПЛЕКСА «АНТИГЕН-АНТИТЕЛО» НА МОДЕЛИ АНТИГЕНОВ ГРУППЫ КРОВИ

Рязанцев Д.Ю., Габриелян Н.Г., Полякова С.М., Завриев С.К.

ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова»  
Российской академии наук, Москва, Россия

**Резюме.** Проблему детекции малых количеств аналитов иммунохимическими методами пытаются решить давно. Одним из подходов является использование методов амплификации нуклеиновых кислот для усиления сигнала от единичного акта взаимодействия антиген-антитело. Методом амплификации, подходящим для использования на микрочипах, является реакция амплификации катящимся кольцом.

Принцип метода заключается в использовании конъюгата детектирующего антитела с праймером и последующей изотермической амплификации. После добавления к иммобилизованному праймеру кольцевых олигонуклеотидов, которые служат матрицей для амплификации (либо олигонуклеотидов, которые могут гибридизоваться с праймером и быть лигированы в кольцевую матрицу) и полимеразы фага phi29 с необходимыми для начала амплификации компонентами, начинается образование протяженного (до сотен тысяч нуклеотидов) одноцепочечного продукта реакции. Продукт представляет собой повторы нуклеотидной последовательности, комплементарной кольцевой матрице. Флуоресцентный ДНК-зонд может гибридизоваться с каждым повтором на молекуле продукта, таким образом уровень флуоресценции становится значительно выше, чем при использовании систем проявки с применением флуоресцентно-меченных антител или стрептавидина. Кроме того, продукт реакции остается иммобилизованным на поверхности, что позволяет использовать данный подход при детекции взаимодействий антиген-антитело в других твердофазных системах анализа, таких как микрочипы. Общей проблемой таких подходов является неспецифическая сорбция компонентов иммунохимической реакции либо реакции амплификации, приводящая к высокому фону. Очевидно, что каким бы высокочувствительным анализ ни был в теории, высокий фон сведет весь потенциал метода на нет.

В настоящей работе мы разработали метод, позволяющий детектировать малые количества антител к гликанам в сыворотке крови и в смывах с опухолевых клеток в формате микрочипа на модели антигенов группы крови. Удалось получить 30–70 кратный прирост флуоресценции от специфического взаимодействия по сравнению с использованием флуоресцентно-меченного стрептавидина. Разрабатываемый нами метод является перспективным, так как позволяет значительно увеличить сигнал

### Адрес для переписки:

Рязанцев Дмитрий Юрьевич  
ФГБУН «Институт биоорганической химии  
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова»  
Российской академии наук  
117997, Россия, Москва, ГСП-7,  
ул. Миклухо-Маклая, 16/10.  
Тел.: 8 (906) 726-99-29.  
E-mail: d.yu.ryazantsev@gmail.com

### Address for correspondence:

Dmitriy Yu. Ryazantsev  
Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry,  
Russian Academy of Sciences  
16/10 Miklouho-Maclay St, GSP-7  
Moscow  
17997 Russian Federation  
Phone: +7 (906) 726-99-29.  
E-mail: d.yu.ryazantsev@gmail.com

### Образец цитирования:

Д.Ю. Рязанцев, Н.Г. Габриелян, С.М. Полякова,  
С.К. Завриев «Иммуно-РКК для высокочувствительной  
детекции комплекса "антиген-антитело" на  
модели антигенов группы крови» // Российский  
иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 781–786.  
doi: 10.46235/1028-7221-16921-IRF

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

### For citation:

D. Yu. Ryazantsev, N.G. Gabrielyan, S.M. Polyakova,  
S.K. Zavriev "Immuno-RCA for highly sensitive detection  
of the antigen-antibody complex in the blood group antigen  
model", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy  
Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 781–786.  
doi: 10.46235/1028-7221-16921-IRF

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16921-IRF



от специфического взаимодействия антиген-антитело в формате гликочипа, что позволит детектировать антитела к гликанам в образцах с очень небольшой концентрацией антител, например, в смывах с опухолевых клеток.

*Ключевые слова:* иммуно-РКК, амплификация катящимся кольцом, высокочувствительная детекция, микрочип, антигены группы крови, антитела к гликанам, гликочип

## IMMUNO-RCA FOR HIGHLY SENSITIVE DETECTION OF THE ANTIGEN-ANTIBODY COMPLEX IN THE BLOOD GROUP ANTIGEN MODEL

Ryazantsev D.Yu., Gabrielyan N.G., Polyakova S.M., Zavriev S.K.

*Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

**Abstract.** The problem of detecting tiny quantities of analytes by immunochemical methods has been tried for a long time. One approach is to use nucleic acid amplification methods to amplify the signal from a single antigen-antibody interaction. An amplification method suitable for microarrays is the rolling circle amplification reaction. The principle of the method is usage of a conjugate of a detecting antibody with a primer and subsequent isothermal amplification. The generation of a huge single-stranded reaction product starts after adding the necessary components for amplification reaction: circular oligonucleotides, which serves as a template for amplification and phage phi29 polymerase with the other components. This reaction product consists of a lot of repeats of a nucleotide sequence, that is complementary to the circular template. The fluorescent DNA probe can hybridize to each repeat on the product molecule, resulting in a significantly higher level of fluorescence than with fluorescently labeled antibody or streptavidin development systems. In addition, the reaction product remains immobilized on the surface, allowing usage of this approach for the detection of antigen-antibody interactions in other solid-phase analysis systems, such as microarrays. A common problem with such approaches is the nonspecific sorption of components of the immunochemical reaction or amplification reaction, leading to a high background. It is obvious that no matter how highly sensitive the analysis is in theory, a high background will reduce the entire potential of the method to nothing. Herein, we have developed a method that makes it possible to detect small amounts of antibodies to glycans in blood serum and in swabs from tumor cells in a microarray format using a model of blood group antigens. It was possible to obtain a 30 to 70-fold increase of fluorescence level from a specific interaction compared to the use of fluorescently labeled streptavidin. The method we are developing is promising, as it allows us to significantly increase the signal from the specific antigen/antibody interaction in the glycochip format, which will make it possible to detect antibodies to glycans in samples with a very low concentrations of antibodies, for example, in washes from tumor cells.

*Keywords:* immuno-RCA, rolling circle amplification, high-sensitivity detection, microarray, blood group antigens, anti-glycan antibodies, glycoarray

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-00396.

### Введение

Проблему детекции малых количеств аналитов иммунохимическими методами пытаются решить давно. Одним из подходов является использование методов амплификации нуклеиновых кислот для усиления сигнала от единичного акта взаимодействия антиген-антитело, так как, например, метод ПЦР позволяет детектировать десятки молекул ДНК в реакционной пробирке.

Первый подход (иммуно-ПЦР) и был разработан в 1992 году Sano T. с соавт. [6] и основывался на использовании полимеразной цепной реакции для детекции ДНК, каким-либо образом связанной с детектирующим антителом. Метод получил развитие в формате иммуно-ПЦР в реальном времени на 96-луночных планшетах [2], однако он не подходит для использования в других твердофазных системах анализа, например, на микрочипах, так как амплифицируемая ДНК не иммобилизована и амплификацию от отдельных сайтов связывания невозможно иден-

тифицировать. Этого недостатка лишен подход на основе реакции катящегося кольца (РКК), впервые описанный в работе [7], поскольку при его использовании амплифицируемая ДНК остается иммобилизованной. Принцип метода заключается в использовании конъюгата детектирующего антитела с праймером и последующей изотермической амплификации. После добавления к иммобилизованному праймеру кольцевых олигонуклеотидов, которые служат матрицей для амплификации (либо олигонуклеотидов, которые могут гибридизоваться с праймером и быть лигированы в кольцевую матрицу), полимеразы фага phi29 с необходимыми для начала амплификации компонентами начинается образование протяженного (до сотен тысяч нуклеотидов) одноцепочечного продукта реакции, представляющего собой повторы нуклеотидной последовательности, комплементарной кольцевой матрице. На следующем этапе добавляют флуоресцентный ДНК-зонд, который связывается с каждым повтором на молекуле продукта, таким образом уровень флуоресценции становится значительно выше, чем при использовании систем проявления с применением флуоресцентно-меченных антител или стрептавидина. Кроме того, продукт реакции остается иммобилизованным на поверхности, что позволяет использовать данный подход при детекции взаимодействий антиген-антитело в других твердофазных системах анализа, таких как микрочипы.

Общей проблемой таких подходов является неспецифическая сорбция компонентов иммунохимической реакции либо реакции амплификации, приводящая к высокому фону. Очевидно, что каким бы высокочувствительным анализ ни был в теории, высокий фон сведет весь потенциал метода на нет [5].

В настоящей работе мы разработали метод, позволяющий детектировать малые количества антител к гликанам в сыворотке крови и в смывах с опухолевых клеток в формате микрочипа (гликочип, эррей из гликановых лигандов, иммобилизованный на подложке). В работе использовали гликочип, несущий тетрасахариды А тип 2 и В тип 2 (GalNAc $\alpha$ 1-3(Fuc $\alpha$ 1-2) Gal $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$  и Gal $\alpha$ 1-3(Fuc $\alpha$ 1-2) Gal $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$ ) – антигены А и В группы крови системы АВ0 соответственно.

## Материалы и методы

### Антитела

В исследовании была использована плазма крови донора группы крови А (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ).

Донором было подписано информированное согласие.

Мышиное моноклональное антитело, узнающее IgG человека клон XG36 (Хема), биотинилировали следующим образом: 0.5 мг/мл раствор антитела переводили в 0,1 М гидрокарбонатный буфер pH 8,3 гелем-фильтрацией на колонке NAP-5 (GE Healthcare). После спектрофотометического контроля содержания (SmartSpec Plus Bio-Rad,  $\lambda = 280$  нм) белка к раствору антитела прибавляли 5-кратный мольный избыток biotin-X-NHS (Lumiprobe) в DMSO, инкубировали 1 час при комнатной температуре, после чего очищали биотинилированное антитело на колонке NAP-10.

### Олигонуклеотиды

В работе были использованы следующие олигонуклеотиды производства Люмипроб:

beacWoC3 [Cy3]CCGGGTATCTATTCACCTA  
TTTATTCACCCGG[BHQ2];

Reg58WoCt [p]CATTTATCTATTCACCTATTT  
ATTCACCCACTTACTTACACCCACTCACTTAT  
TTACC;

pr25WoCtBio  
[biotin]TTTTTTTTTTTTTTTTTTTGATAAAT  
GGGTAAATAAGTGAGTGG;

lockWoC GATAAATGGGTAAATA [Alkyne].

### Ферменты

Рекомбинантную полимеразу фага phi29 получали в клетках *E. coli*. Плазмидой pQE60, несущей ген, кодирующий полимеразу фага phi29 с введенным на N-конец участком, кодирующим 6xHis таг, трансформировали клетки *E. coli* штамма M15. Индукцию экспрессии проводили по стандартному протоколу, полимеразу выделяли согласно руководству Qiagen Expression-ist на Ni-NTA агарозе. После проводили гелем-фильтрацию на колонке Superde 10/300 Increase (GE Healthcare) в буфере 100 mM Tris-HCl, pH 7,2, 100 mM KCl, 0,2% Tween-20, добавляли DTT до концентрации 0,5 mM.

Для анализа эффективности реакции РКК анализировали кинетику накопления флуоресценции в ходе реакции в сравнении с полимеразой фага phi29 от Thermo Fisher Scientific. Анализируя линейный участок роста флуоресценции, по тангенсу угла наклона прямой, мы сравнивали скорость прохождения реакции при изменении состава смеси. Кольцевые матрицы получали лигированием, как описано в статье [1], с использованием линейных «заготовок» кольцевых матриц и олигонуклеотида lockWoC. После удаления остатков линейных олигонуклеотидов с помощью экзонуклеазы III *E. coli* (Сибэнзим) и пересаживания, концентрацию кольцевых матриц определяли с использованием набора QuDye ssDNA Assay Kit (Lumiprobe, Россия).

### Флуоресцентно-меченные белки

Стрептавидин (МЕВЕР Bio Science, Китай) и BSA (НПП «ПанЭко», Россия) метили следующим образом: белок растворяли в 0,1 М гидрокарбонатном буфере pH 8,3 до концентрации 5 мг/мл, добавляли 5-кратный мольный избыток sulfo-Cy3-NHS (Lumiprobe, Россия) и инкубировали 1 час при комнатной температуре. После чего очищали меченый белок на колонке NAP-10.

### Гликочипы

Лиганды А тип 2 и В тип 2 наносили бесконтактным способом (SciFlexArrayer S5, Scienion, Германия) на эпокси-активированный слайд СемиглассЭпокси (ООО «Семиотик», Россия) как описано в [4] в виде 8 блоков, в которых каждый лиганд был напечатан в диапазоне концентраций 25-200 мкМ. Для контроля неспецифического связывания в каждом блоке были напечатаны буфер для печати без лигандов и буфер для печати, содержащий 25 мМ этаноламин. Количество повторов в одном блоке для каждого лиганда в различных концентрации – 2. Для контроля системы детекции – флуоресцентно-меченные Cy3 стрептавидин и BSA в диапазоне концентраций 0,025-0,5 мкг/мл.

### Эксперимент на гликочипе

Схема эксперимента представлена на рисунке 1 (см. 3-ю стр. обложки).

После блокировки оставшихся активированных групп, на гликочип наносили плазму крови здорового донора разбавленную в 15 раз в буфере TBS (50 мМ Tris-HCl буфере pH 7,5, содержащем 150 мМ хлорид натрия) с добавлением 0,05% Tween20 (Sigma-Aldrich, США) 1% BSA (TBSTB) и инкубировали при повышенной влажности и небольшом перемешивании в течение 1 ч при 30 °С. Затем гликочипы промывали TBST (буфер TBS с добавлением 0,05% Tween 20) и наносили раствор биотинилированных антител мыши, узнающих IgG человека, в концентрации 0,1-10 мкг/мл в TBSTB, инкубировали, как описано выше, и промывали. Для стандартного выявления (контроль) связавшихся антител гликочипы инкубировали с раствором Cy3-меченного стрептавидина (0,1-10 мкг/мл в TBSTB), после чего промывали как описано выше, включая дополнительную стадию ополаскивания водой и высушивания с помощью центрифугирования на центрифуге для микрочипов Galaxy MiniArray (VWR, США).

Для контрольных блоков процесс на этом заканчивается, а в блоки с иммуно-РКК добавляли биотинилированный праймер в буфере TBS с добавлением 10 мкг/мл дрожжевой РНК (Sigma) (TBSTY) и после промывки проводили гибридизацию кольцевых матриц с одновременным лигированием. Далее в этих блоках проводили РКК

с добавлением флуоресцентного ДНК-зонда типа «молекулярный маячок» [3]. Особенностью данных зондов является вторичная структура – зонд, не сгибризовавшийся с целевой ДНК, имеет шпильчатую конформацию, при которой 5' и 3' концы зонда сближены и тушитель эффективно гасит флуоресценцию. При появлении в растворе целевой ДНК зонд гибридизуется с ней, при этом 5' и 3' концы зонда расходятся и зонд ярко флуоресцирует.

### Детальная методика

1. Блокировка незанятых сайтов связывания 50 мМ этаноламином в боратном буфере pH 8,5 в течение ночи при +4 °С.
  2. Промывка TBST (TBS, 0,05% Tween 20) 150 мкл 1 раз.
  3. Нанесение 100 мкл плазмы PRh в буфере TBSTB (TBS pH 7,5, 0,05% Tween 20, 1% BSA), в разведении 1/15, инкубация 1 час при комнатной температуре.
  4. Промывка 5 раз по 150 мкл TBST (стандартная промывка).
  5. Нанесение 100 мкл XG36-biotin 1 мкг/мл в буфере TBSTB (при отработке условий концентрации варьировали от 0,2 до 10 мкг/мл), инкубация 1 час при комнатной температуре.
  6. Стандартная промывка.
  7. Нанесение 100 мкл 1 мкг/мл стрептавидина или стрептавидина-Cy3 (концентрации варьировали 0,2-5 мкг/мл) в буфере TBSTB, инкубация 1 час при комнатной температуре.
  8. Стандартная промывка.
  9. В лунки со стрептавидином (где в последствии будет проходить RCA) добавляли: праймер pg25WoCtBioT 0,1 мкМ в буфере TBSTY (TBS pH 7,5, 0,05% Tween 20, дрожжевая РНК 10 мкг/мл), инкубировали 40 мин при комнатной температуре.
  10. Стандартная промывка.
  11. Лигирование: в лунки добавляли олигонуклеотид reg58WoCt 0,3 мкМ; 1x буфер для лигазы T4 (Thermo Fisher, США); ДНК-лигазу T4 0,5 ед. (Thermo Fisher, США) Инкубировали 1 час при комнатной температуре.
  12. Стандартная промывка.
  13. Проведение реакции РКК:  
На 1 реакцию:  
Буфер для полимеразы фага phi29 10 (Thermo Fisher, США) – 10 мкл, dNTPs 3,3 мМ – 21 мкл, полимеразы фага phi29 (10 ед/мкл) – 4 мкл, зонд beacWoC2, 100мкМ – 3 мкл, вода mQ – до 100 мкл. Инкубация 3 ч при 30 °С.
  14. Стандартная промывка.
- После проведения анализа гликочип сканировали на сканере InnoScan 1100 (Innopsys, Франция) с разрешением 10 мкм, полученные изо-

бражения анализировали в программе ScanArray Express (Perkin Elmer, США) с последующей обработкой в Microsoft Excel. Интенсивность взаимодействия оценивали по величине относительных единиц флуоресценции (RFU).

## Результаты и обсуждение

Так как в нашем случае над поверхностью гликоципа будет проходить амплификация ДНК с образованием большого количества продукта (одноцепочечной ДНК), потенциально способного неспецифически связаться с поверхностью, было решено протестировать различные блокирующие агенты с целью выявить тот, при котором фоновая флуоресценция будет минимальной. Кроме того, в ранних экспериментах с иммуно-РКК мы наблюдали неспецифическое связывание компонентов с некоторыми сайтами, где были напечатаны либо антиген А, либо буферы для печати и блокировки даже при относительно низких концентрациях антител. Очевидно, что, если неспецифика наблюдается только при РКК, за ее появление отвечают какие-то компоненты амплификационной смеси. С целью уменьшить неспецифическое связывание

компонентов, был протестирован ряд реагентов для блокировки чипа (25 мМ этаноламин, глицин, аргинин, ОН-PEG3-NH<sub>2</sub>, аспарагин, BSA, таурин, см. табл. 1), а также протестировано влияние олигонуклеотида d(T)<sub>40</sub> и дрожжевой РНК (10 мкг/мл) на сорбцию праймера или кольцевой матрицы на стадии инкубации с праймером, кольцевой матрицей и РКК. В результате экспериментов было показано, что лучшим блокирующим агентом является этаноламин, который аминокислотной группой связывается с эпокси группой на поверхности гликоципа, а для этапов инкубации с нуклеиновыми кислотами лучшим блоком является дрожжевая РНК.

В подобранных условиях было проведено сравнение стандартной проявки комплекса «гликан-антитело» плазмы крови и использования иммуно-РКК. Полученные результаты приведены на рисунке 2 (см. 3-ю стр. обложки). Антитела плазмы ожидаемо узнавали антиген В группы крови, наблюдается усиление сигнала в 30-70 раз (для 200 мкМ концентрации) несмотря на несколько большую флуоресценцию сайтов, где был напечатан антиген А (с 400 RFU до 500-700 RFU). В настоящий момент методи-

ТАБЛИЦА 1. ЗНАЧЕНИЯ ФОНОВОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ДЛЯ РАЗНЫХ ПЕРВИЧНЫХ БЛОКИРУЮЩИХ АГЕНТОВ

TABLE 1. BACKGROUND FLUORESCENCE VALUES FOR DIFFERENT PRIMARY BLOCKING AGENTS

Блокирующий агент Blocking agents	Флуоресценция RFU (иммуно-РКК) Fluorescence, RFU (immuno-RCA)		Флуоресценция RFU (стрептавидин-Су3) Fluorescence, RFU (streptavidin-Cy3)	
	Фоновая флуоресценция Background fluorescence	Неспецифическое связывание (+ – есть, – – нет) Nonspecific interaction (+, yes; -, no)	Фоновая флуоресценция Background fluorescence	Неспецифическое связывание (+ – есть, – – нет) Nonspecific interaction (+, yes; -, no)
Этаноламин Ethanolamine	533±123	+	390±76	–
BSA	976±69	–	358±45	–
Глицин Glycine	815±130	+	388±37	–
Аспарагиновая кислота Aspartic acid	998±221	–	390±46	–
Таурин Taurine	654±69	+	394±96	–
NH <sub>2</sub> -PEG3-COOH	837±360	–	531±37	–
NH <sub>2</sub> -PEG3-OH	1638±130	+	635±119	–

Примечание. Фоновая флуоресценция – это сигналы от поверхности, не содержащие лиганды, неспецифическим взаимодействием считали отсутствие дифференцировки в сигналах от лигандов в разной концентрации.

Note. Background fluorescence is fluorescence from the surface that do not contain ligands; the nonspecific interaction was considered the lack of differentiation in signals from ligands at different concentrations.



ка недостаточно обработана, есть значительный разброс значений флуоресценции по дублям для образцов с иммуно-РКК, а также нелинейность уровня сигнала в зависимости от концентрации раствора антигена, взятого для печати. Оба этих фактора будут затруднять количественный анализ уровня антител и задают направление дальнейшей оптимизации метода. Кроме того, длина продукта амплификации может достигать до сотен тысяч нуклеотидов [1], с продуктом такой длины теоретически могут связаться более 1000 молекул флуоресцентно меченного зонда, что может позволить еще больше повысить прирост сигнала от единичных событий взаимодействия антиген-антитело. Еще одним недостатком при-

веденного метода является его длительность, мы планируем снизить время анализа путем использования пресобранных и очищенных заранее комплексов детектирующее антитело/праймер/кольцевая матрица.

## Заключение

Таким образом, разрабатываемый нами метод является перспективным, так как позволяет значительно увеличить сигнал от специфического взаимодействия антиген-антитело в формате гликочипа, что позволит детектировать антитела к гликанам в образцах с очень небольшой концентрацией антител, например, в смывах с опухлевых клеток.

## Список литературы / References

1. Goryunova M.S., Arzhanik V.K., Zavriev S.K., Ryazantsev D.Y. Rolling circle amplification with fluorescently labeled dUTP-balancing the yield and degree of labeling. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2021, Vol. 413, no. 14, pp. 3737-3748.
2. Niemeyer C., Adler M., Wacker R. Detecting antigens by quantitative immuno-PCR. *Nat. Protoc.*, 2007, Vol. 2, pp. 1918-1930.
3. Nilsson M., Gullberg M., Dahl F., Szuhai K., Raap A.K. Real-time monitoring of rolling-circle amplification using a modified molecular beacon design. *Nucleic Acids Res.*, 2002, Vol. 15, no. 30, e66. doi: 10.1093/nar/gnf065.
4. Obukhova P.S., Ziganshina M.M., Shilova N.V., Chinarev A.A., Pazynina G.V., Nokel A.Y., Terenteva A.V., Khasbiullina N.R., Sukhikh G.T., Ragimov A.A., Salimov E.L., Butvilovskaya V.I., Polyakova S.M., Saha J., Bovin N.V. Antibodies against unusual forms of sialylated glycans. *Acta Naturae*, 2022, Vol. 14, no. 2, pp. 85-92.
5. Ryazantsev D.Y., Voronina D.V., Zavriev S.K. Immuno-PCR: Achievements and Perspectives. *Biochemistry (Mosc.)*, 2016, Vol. 81, no. 13, pp. 1754-1770.
6. Sano T., Smith C.L., Cantor C.R. Immuno-PCR: very sensitive antigen detection by means of specific antibody-DNA conjugates. *Science*, 1992, Vol. 258, no. 5079, pp. 120-122.
7. Schweitzer B., Wiltshire S., Lambert J., O'Malley S., Kukanskis K., Zhu Z., Kingsmore S.F., Lizardi P.M., Ward D.C. Immunoassays with rolling circle DNA amplification: a versatile platform for ultrasensitive antigen detection. *PNAS*, 2000, Vol. 97, no. 18, pp. 10113-10119.

### Авторы:

**Рязанцев Д. Ю.** — к.х.н., старший научный сотрудник ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

**Габриелян Н. Г.** — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

**Полякова С. М.** — к.х.н., младший научный сотрудник лаборатории углеводов ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

**Завриев С. К.** — д.б.н., член-корр. РАН, заведующий лабораторией молекулярной диагностики ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

### Authors:

**Ryazantsev D. Yu.**, PhD (Chemistry), Senior Research Associate, Laboratory of Molecular Diagnostics, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

**Gabrielyan N.G.**, Junior Research Associate, Laboratory of Molecular Diagnostics, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

**Polyakova S.M.**, PhD (Chemistry), Junior Research Associate, Laboratory of Carbohydrates, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

**Zavriev S.K.**, PhD, MD (Biology), Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Molecular Diagnostics, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, 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



# ДИНАМИКА КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ РЕТИНАЛЬНОГО ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ КОМБИНИРОВАННОЙ ИММУНОСУПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИИ В МОДЕЛИ ДЕГЕНЕРАЦИИ СЕТЧАТКИ НА КРОЛИКАХ

Нероева Н.В.<sup>1</sup>, Балацкая Н.В.<sup>1</sup>, Нероев В.В.<sup>1</sup>, Бриллиантова А.Г.<sup>1</sup>, Катаргина Л.А.<sup>1</sup>, Лагарькова М.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства», Москва, Россия

**Резюме.** Прогрессирующее поражение ретинального пигментного эпителия (РПЭ) лежит в основе патогенеза дегенеративных заболеваний сетчатки, таких как: возрастная макулярная дегенерация (ВМД), болезнь Штаргардта, пигментный ретинит, болезнь Беста и прочее. Данная группа заболеваний во главе с ВМД неуклонно приводят к необратимой потере зрительных функций, слепоте и инвалидности. Возможности терапии поздних стадий ВМД крайне ограничены. Наиболее перспективным подходом для замены поврежденного пигментного эпителия сетчатки представляется трансплантация клеток РПЭ производных от индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК-РПЭ) в субретинальное пространство (СРП). Несмотря на иммунную привилегию в СРП, трансплантация ксеногенного клеточного материала вызывает тяжелое воспаление в заднем отрезке глаза и приводит к отторжению трансплантата в эксперименте *in vivo* в отсутствие иммуносупрессии. Решением проблемы тканевой несовместимости в данном случае может быть применение комбинированной иммуносупрессивной терапии (КИТ), направленной, с одной стороны, на подавление локального воспаления (в глазу), а с другой – системного трансплантационного иммунного ответа. Цель исследования: клиничко-иммунологический анализ результатов трансплантации суспензии ИПСК-РПЭ на фоне КИТ, включающей однократное интравитреальное интраоперационное введение кеналого и дальнейшее системное применение микофенолата мофетил (ММФ), в модели атрофии РПЭ на

## Адрес для переписки:

Бриллиантова Ангелина Грантовна  
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский  
центр глазных болезней имени Гельмгольца»  
Министерства здравоохранения РФ  
105062, Россия, Москва,  
ул. Садовая-Черногрозская, 14/19.  
Тел.: 8 (926) 565-22-07.  
E-mail: angelinabrilliantova@gmail.com

## Address for correspondence:

Angelina G. Brilliantova  
Helmholtz National Medical Research Eye Diseases Center  
14/19 Sadovaya-Chernogryazskaya St  
Moscow  
105062 Russian Federation.  
Phone: +7 (926) 565-22-07.  
E-mail: angelinabrilliantova@gmail.com

## Образец цитирования:

Н.В. Нероева, Н.В. Балацкая, В.В. Нероев,  
А.Г. Бриллиантова, Л.А. Катаргина, М.А. Лагарькова  
«Динамика клиничко-иммунологических показателей  
при трансплантации ретинального пигментного  
эпителия на фоне применения комбинированной  
иммуносупрессивной терапии в модели  
дегенерации сетчатки на кроликах» // Российский  
иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 787-794.  
doi: 10.46235/1028-7221-16700-DOC

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

## For citation:

N.V. Neroeva, N.V. Balatskaya, V.V. Neroev,  
A.G. Brilliantova, L.A. Katargina, M.A. Lagarkova “Dynamics  
of clinical and immunological parameters in retinal pigment  
epithelium transplantation in the context of combined  
immunosuppressive therapy in the rabbit model of retinal  
degeneration”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy  
Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 787-794.  
doi: 10.46235/1028-7221-16700-DOC

© Neroeva N.V. et al., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License  
DOI: 10.46235/1028-7221-16700-DOC

кроликах. На ранних и отдаленных сроках после вмешательства проводилось стандартное и специализированное офтальмологическое обследование с целью клинической оценки посттрансплантационного процесса. Для анализа иммунного статуса был произведен забор стекловидного тела (СТ) и сыворотки крови (СК) кроликов опытных групп. С помощью твердофазного иммуноферментного анализа в биоматериале определяли концентрацию TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, IL-2. По результатам исследования субретинальная трансплантация ИПСК-РПЭ, проводимая на фоне комбинации однократного интравитреального интраоперационного введения кеналога и системного применения ММФ, является безопасным методом, обеспечивающим сохранность сетчатки и других прилежащих структур глаза и позволяет предотвратить отторжение ксеногенного материала при его трансплантации как в здоровый глаз, так и с предварительно сформированной атрофией РПЭ, что открывает перспективы для полноценного тестирования биологических эффектов, реализуемых ИПСК-РПЭ.

*Ключевые слова:* дегенерация сетчатки, ретинальный пигментный эпителий, атрофия, трансплантация, иммуносупрессия, толерантность, цитокины

## DYNAMICS OF CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN RETINAL PIGMENT EPITHELIUM TRANSPLANTATION IN THE CONTEXT OF COMBINED IMMUNOSUPPRESSIVE THERAPY IN THE RABBIT MODEL OF RETINAL DEGENERATION

Neroeva N.V.<sup>a</sup>, Balatskaya N.V.<sup>a</sup>, Neroev V.V.<sup>a</sup>, Brilliantova A.G.<sup>a</sup>,  
Katargina L.A.<sup>a</sup>, Lagarkova M.A.<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Helmholtz National Medical Research Eye Diseases Center, Moscow, Russian Federation

<sup>b</sup> Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine, Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** Progressive damage of the retinal pigment epithelium (RPE) underlies the pathogenesis of degenerative retinal diseases such as: age-related macular degeneration (AMD), Stargardt's disease, retinitis pigmentosa, Best's disease and others. This group of diseases led by AMD leads to irreversible loss of visual functions, blindness and disability. The possibilities of therapy of late stages of AMD are extremely limited. The most promising approach to replace the damaged retinal pigment epithelium appears to be transplantation of RPE cells derived from induced pluripotent stem cells (iPSC-RPE) into the subretinal space (SRS). Despite immune privilege in the SRS, transplantation of xenogeneic cellular material causes severe inflammation in the posterior segment of the eye and leads to graft rejection in an *in vivo* experiment in the absence of immunosuppression. The solution to the problem of tissue incompatibility in this case can be the use of combined immunosuppressive therapy (CIT), aimed, on the one hand, at suppression of local inflammation (in the eye) and, on the other hand, at suppression of the systemic transplantation immune response. The aim of the study: clinical and immunological analysis of the results of transplantation of iPSC-RPE suspension on the background of CIT, including single intravitreal intraoperative administration of kenalog and further systemic application of mycophenolate mofetil (MMF), in the model of RPE atrophy in rabbits. Standard and specialized ophthalmological examination was performed at early and distant terms after the intervention in order to clinically assess the posttransplantation process. To analyze the immune status, vitreous humor (VH) and blood serum (BS) of rabbits of the experimental groups were collected. The concentrations of TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, and IL-2 were determined in the biomaterial using solid-phase enzyme immunoassay. According to the results of the study, subretinal transplantation of iPSC-RPE, performed against the background of combination of single intravitreal intraoperative administration of kenalog and systemic application of MMF, is a safe method, which provides preservation of the retina and other adjacent structures of the eye and allows to prevent rejection of xenogenic material during its transplantation both in a healthy eye and with pre-formed RPE atrophy, which opens perspectives for full testing of biological effects realized by iPSC-RPE.

*Keywords:* retinal degeneration, retinal pigment epithelium, atrophy, transplantation, immunosuppression, tolerance, cytokines

## Введение

Дегенеративные заболевания сетчатки, связанные с прогрессирующим поражением ретинального пигментного эпителия (РПЭ), такие как: возрастная макулярная дегенерация (ВМД), болезнь Штаргардта, пигментный ретинит, болезнь Беста и пр. – приводят к значительному снижению зрительных функций, слепоте и инвалидности [9].

ВМД является одной из главных причин необратимой потери центрального зрения у пациентов старшей возрастной группы; по данным Wong W.L., вследствие увеличения продолжительности жизни количество пациентов с данной патологией будет неуклонно расти [15]. Лечение на поздних стадиях ВМД имеет ограничения и представлено антиангиогенными препаратами для борьбы с неоваскуляризацией при «влажной» форме заболевания, терапии «сухой» формы – географической атрофии (ГА) не разработано в связи с неспособностью РПЭ к регенерации [7].

Развитие клеточных технологий с возможностью получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) (по свойствам подобных эмбриональным СК) с дальнейшей их дифференцировкой в заданные клеточные типы, совершенствование микрохирургической техники инициировали разработку новых способов лечения поздней ВМД, направленных на восстановление РПЭ. Наиболее перспективным подходом для замены поврежденных элементов сетчатки представляется субретинальная трансплантация клеток РПЭ производных от ИПСК (ИПСК-РПЭ) [14].

Известно, что глаз, как и мозг, волосяные фолликулы и репродуктивные органы, обладает иммунной привилегией (ИП), что создает, по мнению ряда исследователей, относительно безопасную среду для клеточной трансплантации в субретинальном пространстве (СРП) [16].

Противовоспалительные свойства ИПСК-РПЭ также могут способствовать повышению их выживаемости в среде реципиента [14].

Несмотря на уникальные условия, формируемые ИП, субретинальная трансплантация ксеногенных СК вызывает тяжелое воспаление в заднем отрезке глаза и приводит к отторжению трансплантата в эксперименте *in vivo* в отсутствие иммуносупрессии [13]. По данным Rajendran Nair D.S. и соавт., при трансплантации в СРП отторгается от 30% до 50% материала ИПСК-РПЭ [12].

Наиболее часто при заместительной клеточной терапии РПЭ в эксперименте используются кортикостероиды (КС) и циклоспорин А (ЦсА) [10, 11]. Как показывает анализ данных литературы, применение указанных средств в ре-

жиме монотерапии в подавляющем большинстве случаев не способствует увеличению выживаемости клеточного материала даже при трансплантации в здоровый глаз и приводит, особенно при длительных курсах КС, к развитию и прогрессированию катаракты, повышению внутриглазного давления [10, 11].

Необходимо отметить, что воспалительный процесс в СРП при дегенерации сетчатки снижает иммуносупрессивную активность РПЭ, что ведет к срыву глазной ИП и ослаблению системной иммунологической толерантности [1, 4].

Решением проблемы тканевой несовместимости в данном случае является комбинированная иммуносупрессивная терапия (КИТ), направленная, с одной стороны, на подавление локального воспаления (в СРП), а с другой – системного трансплантационного иммунного ответа. Доказательства безопасности субретинальной трансплантации ИПСК-РПЭ, длительного выживания ксеногенного трансплантата в СРП кроликов с моделью дегенерации сетчатки на фоне КИТ, включающей КС и ЦсА, были представлены в нашей работе, а также в исследовании, проведенном Fujii S. и соавт. на приматах [2, 8].

Однако применение ЦсА – традиционного средства профилактики болезни трансплантата, связано с развитием широкого спектра неблагоприятных реакций у пожилых пациентов, включая повышенные риски образования опухолей.

Вместе с тем имеются данные, указывающие на перспективы использования микофенолата мофетил (ММФ) – иммунодепрессанта метаболического типа с менее выраженным побочным действием, который уже показал свою эффективность как в общей трансплантологии, при пересадках солидных органов, так и при трансплантации роговицы [6].

ММФ – предшественник активной субстанции микофеноловой кислоты; как и ЦсА, селективно подавляет пролиферацию Т-лимфоцитов, но в отличие от последнего обладает более широкой иммуносупрессивной активностью, демонстрирует антипролиферативные эффекты.

Сообщения о положительных результатах применения ММФ при лечении таких воспалительных заболеваний глаз, как: увеиты, склериты, – приводятся Zierhut M. и соавт. [17].

Показано, что частота прозрачного приживления трансплантата после кератопластики высокого риска с применением системно вводимого ММФ была значительно выше по сравнению с группой, где проводилась пересадка на фоне ЦсА [5].

**Цель работы** – клинико-иммунологический анализ результатов трансплантации ИПСК-РПЭ

на фоне КИТ, включающей ММФ, в модели атрофии РПЭ на кроликах

## Материалы и методы

Субретинальная трансплантация ИПСК-РПЭ выполнена 24 кроликам породы новозеландский альбинос (возраст 2,5-3,0 мес., вес 2,0-2,5 кг), из которых I группу составили 12 животных-реципиентов со здоровыми глазами, животным II группы ( $n = 12$ ) введение клеток проводилось в глаз с предварительно смоделированной атрофией РПЭ по ранее разработанной методике [3].

Клетки РПЭ для трансплантации были получены путем направленной дифференцировки ИПСК здорового донора в лаборатории клеточной биологии ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России. Предоперационная подготовка животных заключалась во введении обезболивающих препаратов; перед хирургическим вмешательством вводили 0,3 мл 0,4%-ного раствора Дексаметазона, 0,5 мл Этамзилата для снижения риска развития экссудативно-геморрагических осложнений. Введение ИПСК-РПЭ осуществлялось в правый глаз доступом *pars plana* с установкой портов 23 Ga с помощью ретинотомии на расстоянии 0,5 rd книзу от диска зрительного нерва в количестве 50 000 клеток, суспендированных в 0,05 мл фосфатно-солевого буферного раствора (НПП «ПанЭко», Россия). Все животные-реципиенты ИПСК-РПЭ получали КИТ, включающую: 1. Однократное интравитреальное введение 0,2-0,3 мл кеналога (40 мг/мл) по завершении трансплантации; 2. Пероральное получение ММФ в пищевой смеси, в дозе 50 мг/сутки на протяжении всего срока наблюдения с первого дня после трансплантации до окончания эксперимента. Группа контроля включала 6 здоровых кроликов (12 глаз) без офтальмохирургических манипуляций.

На 14-е, 28-е и 60-е сутки после вмешательства проводилось стандартное и специализированное офтальмологическое обследование (биомикроскопия, оптическая когерентная томография (ОКТ), снимки на аутофлуоресценцию (АФ), фоторегистрация глазного дна (Heidelberg Spectralis™ SD-OCT), производился забор крови (из ушной вены с помощью стерильных вакуумных систем). Животные выводились из эксперимента методом воздушной эмболии после введения в наркоз, далее выполнялись энуклеация и забор стекловидного тела (СТ). Образцы СТ хорошо перемешивали, разделяли на аликвоты в объеме не менее 100 мкл, помещали в пробирки Eppendorf и хранили при температуре  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  до проведения исследований. Иммунологические исследования выполнены в 24 образцах СТ и 24 пробах сыворотки крови (СК) кроликов опытных

и контрольной групп. С помощью твердофазного иммуоферментного анализа в биоматериале определяли концентрацию TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, IL-2 тест-системами Cloud-Clone Corp. (США), Blue Gene (КНР) согласно инструкциям производителей. Учет результатов реакции вели на фотометре Cytation 5 (BioTek, США) при длине волны 450 нм. Статистическая обработка выполнялась с использованием стандартных пакетов прикладных программ MS Excel, StatSoft12. Количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ ). При сравнении групп применен U-критерий Манна-Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался как  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Результаты анализа содержания основных факторов иммунологического гомеостаза в СК и СТ до и после трансплантации ИПСК-РПЭ представлены в таблице 1. Отсутствие TGF- $\beta$ 1 в тест-пробах СТ у животных основных групп (табл. 1) согласуется с данными Hirsch L. и соавт., которые показали, что основной изоформой, конститутивно секретируемой культурой клеток РПЭ, является TGF- $\beta$ 2, но не TGF- $\beta$ 1.

TGF- $\beta$ 2, продуцируемый резидентными клетками во всех отделах глаза, обнаруживался в СТ обеих групп: в I группе до трансплантации медиана его локальной продукции составила 1060,9 пг/мл, тогда как во II (с атрофией РПЭ) уровень цитокина был значимо выше ( $p < 0,05$ ). Не исключено, что усиление локального синтеза TGF- $\beta$ 2, выполняющего ключевую роль в контроле внутриглазного воспаления, носило компенсаторный характер и было вызвано атрофическими изменениями РПЭ. Через месяц после трансплантации уровень TGF- $\beta$ 2 в СТ животных-реципиентов II группы снизился и достиг диапазона нормы – начальных предоперационных значений в группе без офтальмопатологии (табл. 1). В СК у кроликов с атрофией РПЭ до трансплантации выявлено значительное достоверное снижение (практически в 4 раза) уровня TGF- $\beta$ 1 по сравнению с таковым в I группе ( $p < 0,05$ ), что свидетельствовало об ослаблении системной иммунологической толерантности при дегенеративном изменении сетчатки. На сроках наблюдения 28 суток и выше после введения ИПСК-РПЭ в обеих группах наблюдалось снижение системной продукции указанного цитокина (табл. 1).

IL-2, играющий ключевую роль в адаптивном иммунитете, был обнаружен в подавляющем большинстве проб СТ животных обеих групп (табл. 1).



**ТАБЛИЦА 1. ДИНАМИКА КОНЦЕНТРАЦИЙ TGF-β1, TGF-β2, IL-2 В СТ И СК ЖИВОТНЫХ-РЕЦИПИЕНТОВ ДО И ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ИПСК-РПЭ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

TABLE 1. DYNAMICS OF CONCENTRATIONS OF TGF-β1, TGF-β2, IL-2 IN THE VITREOUS HUMOUR AND BLOOD SERUM OF RECIPIENT ANIMALS BEFORE AND AFTER IPSCS-RPE TRANSPLANTATION IN THE EXPERIMENT

Показатель Indicators	Группы животных Me (Q <sub>0,25</sub> -Q <sub>0,75</sub> ) Groups of recipient animals Me (Q <sub>0,25</sub> -Q <sub>0,75</sub> )			
	I Здоровый глаз Intact RPE (n=12)		II Атрофия РПЭ RPE atrophy (n=12)	
	Период наблюдения (сутки) Observation period (day)			
	0	от 28 сут. ≥ 28 days	0	от 28 сут. ≥ 28 days
<b>Содержание цитокинов в стекловидном теле (СТ) (пг/мл)</b> Observation period (day)				
TGF-β1	0,0	0,0 (0,00-182,68)	0,0	0,0 (0,0-203,5)
TGF-β2	1060,9 (467,3-2123,1)	1574,6* (707,04-2377,20)	2195,2# (1580,9-2809,5)	1587,3** (720,0-2568,5)
IL-2	1,2 (0,0-12,1)	91,5* (4,9-152,8)	13,7# (6,9-19,3)	7,6** (0,0-67,6)
<b>Содержание цитокинов в сыворотке крови (СК) (пг/мл)</b> The content of cytokines in the blood serum (pg/ml)				
TGF-β1	469,0 (402,0-584,0)	42,65* (0,00-182,68)	145,9# (125,3-166,5)	97,70** (0,00-157,46)
TGF-β2	1041,0 (427,0-1143,0)	1126,1 (491,6-1600,0)	1242,5# (1126,1-1358,0)	544,17 ** † (0,718-1169,810)
IL-2	0,0	0,0	0,0	0,0

Примечание. n – количество глаз в группе; \* – достоверность отличия значений показателей при сравнении до и после трансплантации в I группе (p < 0,05); \*\* – достоверность отличия значений показателей при сравнении до и после трансплантации во II группе (p < 0,05); # – достоверность отличия значений показателей I и II групп до проведения вмешательства (p < 0,05); † – достоверность отличия значений показателей I и II групп через 28 и более суток после проведения трансплантации (p < 0,05).

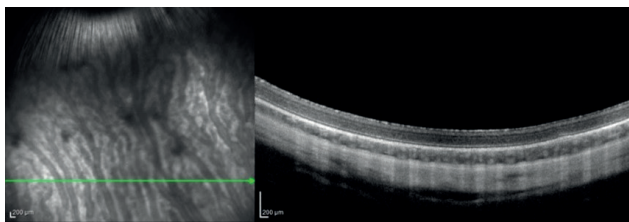
Note. n, number of eyes in the group; \*, reliability of the difference of indicators in comparison with the meanings before and after transplantation in the first group (p < 0,05); \*\*, reliability of difference of indicators in comparison with the meanings before and transplantation in the second group (p < 0,05); #, reliability of difference of indicators in the first and second group before transplantation (p < 0,05); †, reliability of difference between the values of parameters of groups I and II in 28 and more days after transplantation (p < 0,05).

Известно, что основными продуцентами IL-2 являются Т-клетки, в основном активированные Т-хелперы 1-го типа (Th1), в меньшей степени цитотоксические Т-лимфоциты и кратковременно антигенпрезентирующие клетки.

Парадоксальное на первый взгляд присутствие IL-2 в среде СТ здоровых глаз (I группе до трансплантации), практически не содержащей иммунокомпетентных клеток, согласуется с данными работ Girard S. и соавт., 2008; Serrano-Pérez M.C. и соавт., 2011 в которых пред-

ставлены убедительные доказательства синтеза этого цитокина астроглией без участия Т-лимфоцитов. Статистически значимое повышение интраокулярного уровня IL-2, наблюдаемое до трансплантации у животных II группы, по сравнению с таковым у кроликов без офтальмопатологии (табл. 1), позволяет думать о формировании активированного фенотипа микроглии, реализующей локальную защитную реакцию, направленную на предотвращение повреждения сетчатки. Действительно, подобный ответ с про-

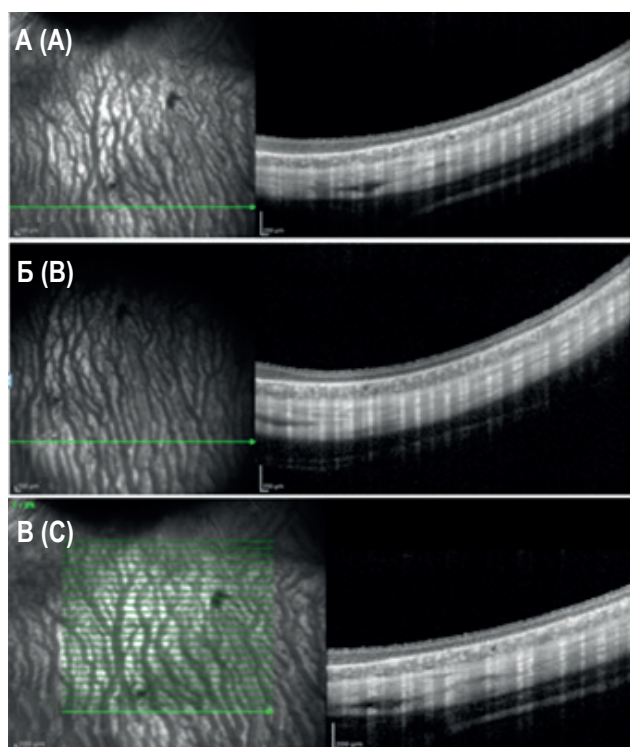




**Рисунок 1.** ОКТ-снимок здоровой сетчатки кролика, горизонтальный срез

Примечание. Объяснение в тексте статьи.

Figure 1. OCT image of a healthy rabbit retina, horizontal slice  
Note. Explanation in the text of the article.



**Рисунок 2.** ОКТ-снимки, выполненные в сроки до и в разные сроки наблюдения при проведении субретинальной трансплантации ИПСК-РПЭ животным в глаз атрофией РПЭ (II группа), горизонтальный срез: А – до операции; Б – на 14-е сутки; В – на 28-е сутки и более

Примечание. Объяснение в тексте статьи.

Figure 2. OCT images performed at pre- and at different follow-up times during subretinal transplantation of iPSCs – RPE animals into the eye with RPE atrophy (group II), horizontal slice: A, preoperatively; B, on the 14<sup>th</sup> day; C, on 28 days and more

Note. Explanation in the text of the article.

дукцией этого цитокина клетками микроглии при ишемии и травме нервной ткани описан в исследовании Girard S. и соавт. (табл. 1). Через месяц после трансплантации ИПСК-РПЭ у кроликов I группы отмечался достоверный рост

интраокулярной продукции IL-2, что, вероятно, также может быть вызвано реакцией микроглии на введенные клетки в сетчатку и нуждается в дальнейшем исследовании. В эти же сроки наблюдения, в отличие от группы животных-реципиентов без глазной патологии, в СТ моделей с атрофией РПЭ наблюдалось ослабление синтеза данного цитокина, вызванное, скорее всего действием проникающего через поврежденный ГРБ ММФ, обладающего ингибирующим действием на микроглию.

На всех сроках наблюдения после трансплантации ИПСК-РПЭ концентрация IL-2 в СК составляла 0,0 пг/мл, что свидетельствовало о достижении системного иммуносупрессивного эффекта от ММФ.

На ОКТ-снимке представлен горизонтальный срез здоровой сетчатки кролика до проведения трансплантации (рис. 1). При анализе снимков ОКТ у кроликов с интактным РПЭ (I группа) на 14-е сутки профиль сетчатки не был изменен, все слои дифференцировались, под нейросенсорной сетчаткой визуализировалась зона умеренной гиперрефлексивности, соответствующая локализации трансплантированных клеток.

К 28-м суткам наблюдения и более отмечалось снижение выраженности гиперрефлексивности монослоя под нейросенсорной сетчаткой, что скорее всего свидетельствует о распределении клеточного материала, профиль и структура сетчатки оставались неизменными.

Во II группе с атрофией РПЭ до трансплантации, по данным ОКТ, обнаруживалась область повышенного проникновения сканирующего луча в подлежащие ткани, соответствующая области атрофии РПЭ (рис. 2А).

На 14-е сутки после введения суспензии ИПСК-РПЭ в субретинальное пространство профиль сетчатки оставался сохранным, слои сетчатки дифференцировались, на срезах не выявлено ОКТ-признаков воспалительных и других патологических изменений сетчатки (рис. 2Б).

В позднем периоде наблюдения (28-60-е сутки) отмечается частичное уменьшение прохождения сканирующего луча под сетчатку, что может указывать на частичное восстановление клеток РПЭ. Осложнений и отрицательной динамики не было выявлено, слои сетчатки дифференцированы (рис. 2В).

Во время динамического контроля за животными на всех сроках наблюдения после оперативного вмешательства не было выявлено клинических и ОКТ-признаков воспаления и других патологических изменений сетчатки.

## Выводы

1. Таким образом, результаты исследования свидетельствуют, что развитие дегенератив-

ных изменений сетчатки ассоциируется с активацией локального иммунологического ответа, опосредуемого повышением интраокулярной продукции IL-2 и сопровождается ослаблением системной толерантности (на уровне организма) – снижением содержания TGF- $\beta$ 1 в СК лабораторных животных.

2. Субретинальная трансплантация ИПСК-РПЭ, проводимая на фоне комбинированной иммуносупрессивной терапии, является безо-

пасным методом, обеспечивающим сохранность сетчатки и других прилежащих структур глаза. Системное применение ММФ в составе КИТ позволяет предотвратить отторжение ксеногенного материала при его трансплантации как в здоровый глаз, так и с предварительно индуцированной атрофией РПЭ, что открывает перспективы для полноценного тестирования биологических эффектов, реализуемых ИПСК-РПЭ.

## Список литературы / References

1. Нероев В.В., Балацкая Н.В., Светлова Е.В., Нероева Н.В., Рябина М.В., Кармокова А.Г., Лосанова О.А., Черноморец И.Ю., Илюхин П.А. Особенности локальной экспрессии мРНК, IL-1 $\beta$ , IL-18, CCL2/MCP-1 при моделировании атрофии пигментного эпителия и дегенерации сетчатки в эксперименте на кроликах // Молекулярная медицина, 2021. Т. 19, № 2. С. 54-62. [Neroev V.V., Balatskaya N.V., Svetlova E.V., Neroeva N.V., Ryabina M.V., Karmokova A.G., Losanova O.A., Chernomorets I.Yu., Ilyukhin P.A. Features of local expression of MRNA, IL-1 $\beta$ , IL-18, CCL2/MCP-1 in modeling pigment epithelium atrophy and retinal degeneration in the experiment on rabbits. *Molekulyarnaya meditsina = Molecular Medicine*, 2021, Vol. 19, no. 2, pp. 54-62. (In Russ.)]
2. Нероева Н.В., Балацкая Н.В., Бриллиантова А.Г., Катаргина Л.А., Харитонов А.Е., Лагарькова М.А., Богомазова А.Н. Клинико-иммунологический анализ трансплантации ретинального пигментного эпителия, полученного из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, в условиях фармакологической иммуносупрессии у кроликов // Офтальмология, 2024. Т. 21, № 1. С. 193-204. [Neroeva N.V., Balatskaya N.V., Brilliantova A.G., Katargina L.A., Kharitonov A.E., Lagarkova M.A., Bogomazova A.N. Clinical and immunological analysis of retinal pigment epithelium transplantation derived from induced pluripotent stem cells under pharmacological immunosuppression in rabbits. *Oftalmologiya = Ophthalmology*, 2024, Vol. 21, no. 1, pp. 193-204. (In Russ.)]
3. Нероева Н.В., Нероев В.В., Илюхин П.А., Кармокова А.Г., Лосанова О.А., Рябина М.В., Майбогин А.М. Моделирование атрофии ретинального пигментного эпителия // Российский офтальмологический журнал, 2020. Т. 13, № 4. С. 58-63. [Neroeva N.V., Neroev V.V., Ilyukhin P.A., Karmokova A.G., Losanova O.A., Ryabina M.V., Maybogin A.M. Modeling the atrophy of retinal pigment epithelium. *Rossiyskiy oftalmologicheskii zhurnal = Russian Ophthalmological Journal*, 2020, Vol. 13, no. 4, pp. 58-63. (In Russ.)]
4. Нероева Н.В., Свитич О.А., Нероев В.В., Кинкулькина А.Р., Балацкая Н.В., Сорожкина Е.С. Изучение локальной экспрессии генов инфламмосомного комплекса при моделировании дегенерации сетчатки *in vivo* // Медицинская иммунология, 2023. Т. 25, № 3. С. 631-636. [Neroeva N.V., Svitich O.A., Neroev V.V., Kinkulkina A.R., Balatskaya N.V., Sorozhkina E.S. Investigation of local expression of NLRP3 inflammasome complex genes in modeling retinal degeneration *in vivo*. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2023, Vol. 25, no. 3, pp. 631-636. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-IOL-2780.
5. Birnbaum F., Böhringer D., Sokolovska Y., Sundmacher R., Reinhard T. Immunosuppression with cyclosporine A and mycophenolate mofetil after penetrating high-risk keratoplasty: a retrospective study. *Transplantation*, 2005, Vol. 79, no. 8, pp. 964-968.
6. Birnbaum F., Mayweg S., Reis A., Böhringer D., Seitz B., Engelmann K., Messmer E.M., Reinhard T. Mycophenolate mofetil (MMF) following penetrating high-risk keratoplasty: long-term results of a prospective, randomised, multicentre study. *Eye (Lond.)*, 2009, Vol. 23, no. 11, pp. 2063-2070.
7. Fleckenstein M., Mitchell P., Freund K.B., Sadda S., Holz F.G., Brittain C., Henry E.C., Ferrara D. The progression of geographic atrophy secondary to age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, 2018, Vol. 12, no. 3, pp. 369-390.
8. Fujii S., Sugita S., Futatsugi Y., Ishida M., Edo A., Makabe K., Kamao H., Iwasaki Y., Sakaguchi H., Hiram Y., Kurimoto Y., Takahashi M. A strategy for personalized treatment of iPS-retinal immune rejections assessed in cynomolgus monkey models. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, Vol. 21, no. 9, 3077. doi: 10.3390/ijms21093077.
9. Georgiou M., Fujinami K., Michaelides M. Inherited retinal diseases: therapeutics, clinical trials and end points-a review. *Clin. Exp. Ophthalmol.*, 2021, Vol. 49, pp. 270-288.
10. Ilmarinen T., Hiidenmaa H., Kööbi P., Nymark S., Sorkio A., Wang J.H., Stanzel B.V., Thielges F., Alajuuma P., Oksala O., Kataja M., Uusitalo H., Skottman H. Ultrathin polyimide membrane as cell carrier for subretinal transplantation of human embryonic stem cell derived retinal pigment epithelium. *PLoS One*, 2015, Vol. 10, no. 11, e0143669. doi: 10.1371/journal.pone.0143669.
11. Kiddee W., Trope G.E., Sheng L., Beltran-Agullo L., Smith M., Strungaru M.H., Baath J., Buys Y.M. Intraocular pressure monitoring post intravitreal steroids: a systematic review. *Surv. Ophthalmol.*, 2013, Vol. 58, no. 4, pp. 291-310.

12. Rajendran Nair D.S., Zhu D., Sharma R., Martinez Camarillo J.C., Bharti K., Hinton D.R., Humayun M.S., Thomas B.B. Long-term transplant effects of iPSC-RPE monolayer in immunodeficient RCS Rats. *Cells*, 2021, Vol. 10, no. 11, pp. 29-51.
13. Rezaei K.A., Farrokh-Siar L., Godowski K., Patel S.C., Ernest J.T. A model for xenogenic immune response. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 2000, Vol. 238, no. 4, pp. 352-358.
14. Sugita S., Futatsugi Y., Ishida M., Edo A., Takahashi M. Retinal Pigment epithelial cells derived from induced pluripotent stem (iPS) cells suppress or activate T cells via costimulatory signals. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, Vol. 21, no. 18, 6507. doi: 10.3390/ijms21186507.
15. Wong W.L., Su X., Li X., Cheung C.M.G., Klein R., Cheng C.-Y., Wong T.Y. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob. Health*, 2014, Vol. 2, no.2, pp. e106-e116.
16. Zhou R., Caspi R. R. Ocular immune privilege. *Biol. Rep.*, 2010, Vol. 2, 3. doi: 10.3410/B2-3.
17. Zierhut M., Stübiger N., Siepmann K., Deuter C.M. MMF and eye disease. *Lupus.*, 2005, Vol. 14, Suppl. 1, pp. 50-54.

**Авторы:**

**Нероева Н.В.** — к.м.н., врач отделения патологии сетчатки и зрительного нерва ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Балацкая Н.В.** — к.б.н., ведущий научный сотрудник, начальник отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Нероев В.В.** — д.м.н., академик РАН, профессор, директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Бриллиантова А.Г.** — аспирант отдела патологии сетчатки и зрительного нерва ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Катаргина Л.А.** — д.м.н., профессор, начальник отдела патологии глаз у детей, заместитель директора по научной работе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Лагарькова М.А.** — д.б.н., член-корр. РАН, генеральный директор ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства», Москва, Россия

**Authors:**

**Neroeva N.V.**, PhD (Medicine), Ophthalmologist, Department of Retinal and Optic Nerve Pathology, Helmholtz National Medical Research Eye Diseases Center, Moscow, Russian Federation

**Balatskaya N.V.**, PhD (Biology), Leading Research Associate, Head, Department of the Immunology and Virology, Helmholtz National Medical Research Eye Diseases Center, Moscow, Russian Federation

**Neroev V.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Science, Director, Helmholtz National Medical Research Eye Diseases Center, Moscow, Russian Federation

**Brilliantova A.G.**, Postgraduate Student, Department of Retinal and Optic Nerve Pathology, Helmholtz National Medical Research Eye Diseases Center, Moscow, Russian Federation

**Katargina L.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Eye Pathology in Children Department, Deputy Director, Helmholtz National Medical Research Eye Diseases Center, Moscow, Russian Federation

**Lagarkova M.A.**, PhD, MD (Biology), Corresponding Member, Russian Academy of Science, Director, Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine, Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russian Federation

Поступила 28.03.2024  
Отправлена на доработку 31.03.2024  
Принята к печати 02.05.2024

Received 28.03.2024  
Revision received 31.03.2024  
Accepted 02.05.2024



## **ВЛИЯНИЕ ИММУНОСУПРЕССОРА FTY-720 НА КОАГУЛЯЦИОННУЮ, НИТРОКСИДЕРГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ И ВОДНЫЙ БАЛАНС ЛЕГКИХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АНТИФОСФОЛИПИДНОМ СИНДРОМЕ**

**Уракова М.А., Капустин И.В., Плеханова Е.С., Пахмутова П.А.,  
Шайхуллин А.А., Шараев Д.В., Брындина И.Г.**

ФГБОУ «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, г. Ижевск,  
Россия

**Резюме.** Антифосфолипидный синдром (АФС) является системной приобретенной аутоиммунной тромбофилией, приводящей к нарушению нереспираторных функций легких вследствие циркуляции антифосфолипидных антител, смещающих баланс между коагуляционным звеном гемостаза и противосвертывающей системой в сторону гиперкоагуляции. В приведенном исследовании рассматривается модулирующее действие препарата FTY-720 на водный баланс, коагуляционную и нитроксидагическую активность легких в условиях экспериментального АФС. Функциональная активность FTY-720 во многом обусловлена его способностью связываться с S1P-рецепторами и блокировать сигнальные пути, опосредованные взаимодействием медиатора сфингозин-1-фосфата с ними. Основным эффектом FTY-720 является иммуносупрессия, которая развивается в результате рецепторного взаимодействия препарата преимущественно с S1P1-рецепторами, что приводит к задержке аутореактивных лимфоцитов в лимфатических узлах и препятствует дальнейшему распространению воспаления и повреждения. Опыты проводились на 85 крысах-самцах, разделенных на группы следующим образом: 1-й группе животных (n = 30) для моделирования АФС вводился кардиолипиновый антиген через день в течение трех недель; крысам 2-й группы (n = 25), которые послужили контролем, аналогичным образом вводили 0,9%-ный раствор NaCl; оставшимся животным (n = 30) сочетали моделирование АФС и введение FTY-720. Спустя 3 недели осуществлялся забор артериальной (арт) и венозной (вен) крови, в которой с помощью гемокоагулометра CGL 2110 Solar определяли АЧТВ

### **Адрес для переписки:**

Уракова Мария Анатольевна  
ФГБОУ «Ижевская государственная медицинская  
академия»  
426056, Россия, г. Ижевск ул. Коммунаров, 281.  
Тел.: 8 (951) 210-22-07.  
E-mail: urakova-mariya@yandex.ru

### **Address for correspondence:**

Maria A. Urakova  
Izhevsk State Medical Academy  
281 Kommunarov St  
Izhevsk  
426056 Russian Federation  
Phone: +7 (951) 210-22-07.  
E-mail: urakova-mariya@yandex.ru

### **Образец цитирования:**

М.А. Уракова, И.В. Капустин, Е.С. Плеханова,  
П.А. Пахмутова, А.А. Шайхуллин, Д.В. Шараев,  
И.Г. Брындина «Влияние иммуносупрессора FTY-720  
на коагуляционную, нитроксидагическую активность  
и водный баланс легких при экспериментальном  
антифосфолипидном синдроме» // Российский  
иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 795-800.  
doi: 10.46235/1028-7221-16771-TEO

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

### **For citation:**

M.A. Urakova, I.V. Kapustin, E.S. Plekhanova,  
P.A. Pakhmutova, A.A. Shaykhullin, D.V. Sharaev,  
I.G. Bryndina "The effect of immunosuppressive agent  
FTY-720 on coagulation, nitroxidergic lung activity and  
water balance in experimental antiphospholipid syndrome",  
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii  
Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 795-800.  
doi: 10.46235/1028-7221-16771-TEO

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16771-TEO

и ПВ, рассчитывали соответствующие коэффициенты АЧТВ вен/арт, ПВ вен/арт. Оценка нитрокси-дергической активности производилась по содержанию плазменного NO и NO бронхоальвеолярных смывов, полученных путем лаважа после извлечения бронхолегочного комплекса у наркотизированных животных («Золетил», 0,5 мг/кг). Для изучения водного баланса легких измерялась масса влажных и высушенных легких, определялась общая, экстра- и интраваскулярная жидкость легких. При АФС наблюдалось увеличение АЧТВ и ПВ артериальной и венозной крови, возрастание уровня NO в бронхоальвеолярных смывах на фоне ухудшения нитрокси-дергической активности легких – снижался коэффициент NO вен/арт. Наблюдалось положительное влияние FTY-720 на восстановление нереспираторных функций легких при АФС.

*Ключевые слова: антифосфолипидный синдром, водный баланс легких, иммуносупрессор FTY-720, коагуляционный гемостаз, оксид азота, нереспираторные функции легких*

## THE EFFECT OF IMMUNOSUPPRESSIVE AGENT FTY-720 ON COAGULATION, NITROXIDERGIC LUNG ACTIVITY AND WATER BALANCE IN EXPERIMENTAL ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME

Urakova M.A., Kapustin I.V., Plekhanova E.S., Pakhmutova P.A., Shaykhullin A.A., Sharaev D.V., Bryndina I.G.

*Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russian Federation*

**Abstract.** Antiphospholipid syndrome (APS) is a systemic acquired autoimmune thrombophilia that leads to impaired non-respiratory lung functions due to the circulation of antiphospholipid antibodies, shifting the balance between the coagulation link of hemostasis and the anti-coagulation system towards hypercoagulation. The research examines the modulating effect of FTY-720 on the water balance, coagulation and NO-activity of the lungs under conditions of experimental APS. The functional activity of FTY-720 is largely due to its ability to bind to S1P1 receptors and block signaling pathways mediated by the interaction of the mediator sphingosine-1-phosphate with them. The main effect of FTY-720 is immunosuppression, which develops as a result of the drug's receptor interaction predominantly with S1P1 receptors, resulting in the retention of autoreactive lymphocytes in lymph nodes, and prevents further spread of inflammation and damage. The experiments were conducted on 85 male rats, divided into groups as follows: The first group of animals (n = 30) was injected with cardiolipin antigen every other day for three weeks for APS modeling; the rats of the second group (n = 25), which served as a control group, were similarly injected with 0.9% NaCl; APS modeling and FTY-720 injection were combined on the remaining animals (n = 30). Three weeks later, arterial (art) and venous (ven) blood was taken, in which APTT and PT were determined using a hemocoagulometer CGL 2110 "Solar" and the corresponding coefficients of APPT of ven/art, PT of ven/art were calculated. NO-activity was assessed by the content of plasma NO and NO bronchoalveolar lavage obtained by washing the extraction of the bronchopulmonary complex in anesthetized animals. To study the water balance of the lungs, the mass of moist and dried lungs was measured, were determined the total, extra- and intravascular fluid of the lungs. In APS, an increase in APTT and PT of arterial and venous blood was observed, an increase in the level of NO in bronchoalveolar lavages against the background of worsening nitroxidergic activity of the lungs – the NO index of ven/art decreased. There was a positive effect of FTY-720 on the restoration of non-respiratory lung functions in APS.

*Keywords: antiphospholipid syndrome, lung water balance, immunosuppressive agent FTY-720, coagulation hemostasis, nitric oxide, non-respiratory lung functions*



## Введение

Антифосфолипидный синдром (АФС) – это системное иммунопатологическое состояние, основу которого составляет взаимодействие аутоантител с анионными фосфолипидами и ассоциированными с ними гликопротеинами, обуславливающее возникновение гиперкоагуляции и невоспалительной тромботической васкулопатии.

Особое внимание уделяется нарушениям в легочной системе, возникающим в условиях АФС: несмотря на то, что наиболее частым проявлением данного синдрома является тромбоэмболия легочной артерии [2], спектр морфофункциональных изменений очень вариабелен и может затрагивать не только респираторные, но и нереспираторные функции легких. Изучение последних представляется крайне важным, поскольку через метаболизм биологически активных веществ легкие принимают непосредственное участие в регуляции системы гемостаза – снижают коагуляционный потенциал крови. Так, показано нарушение метаболической активности легких при ряде аутоиммунных патологий, в том числе АФС [3, 4, 5]. Полиэтиологичность, сложность верификации и системный характер заболевания диктуют необходимость дальнейшего более детального изучения патогенетических механизмов возникновения АФС, а также разработки новых методов этиотропной и патогенетической терапии.

Научный интерес со стороны исследователей вызывает иммуносупрессор FTY-720 – вещество лизофосфолипидной природы, являющееся антагонистом сфингозин-1-фосфатных рецепторов. Имеются литературные данные об оказании FTY-720 модулирующего действия на нереспираторные функции легких при моделировании рассеянного склероза [4]. Тем не менее действия FTY-720 на легкие при АФС до конца не изучены.

**Целью исследования** стало изучение влияния иммуносупрессора FTY-720 на коагуляционную, нитроксидергическую активность и водный обмен легких при моделировании АФС в эксперименте.

## Материалы и методы

Для проведения экспериментальной работы были отобраны половозрелые самцы белых крыс массой 180–250 г, в количестве 85 особей. Практические исследования на крысах проводились в соответствии с требованиями Европейской конвенции (Страсбург, 1986) по содержанию, кормлению и уходу за подопытными животными, ис-

пользуемыми в научных целях, а также выводу их из эксперимента с последующей утилизацией.

В рамках эксперимента подопытные крысы были разделены на три группы. Моделирование АФС у первой группы животных ( $n = 30$ ) осуществлялось путем внутривенного введения кардиолипидного антигена в дозировке 0,2–0,4 мг на крысу через день в течение трех недель [14]. В качестве контроля использовали животных ( $n = 25$ ), которым вводился изотонический раствор хлорида натрия (0,9% NaCl) по аналогичной схеме. Остальным крысам ( $n = 30$ ) после трехнедельного формирования АФС однократно инъецировали FTY-720, дозировкой 1 мг/кг массы тела [13].

У наркотизированных животных («Золетил», 0,5 мг/кг) забирали бронхоальвеолярные смывы, в которых исследовали содержание NO БАС с помощью реактива Грисса [7]. Также для определения показателей АЧТВ, ПВ и для расчета соответствующих коэффициентов у крыс забиралась кровь из полостей правого и левого желудочка, из которой впоследствии была получена плазма артериальной и венозной крови. Исследования проводились с помощью гемокоагулометра CGL 2110 Solar. Процедуру забора крови из желудочков также проводили и с целью оценки нитроксидергической активности легких. В крови определяли содержание NO, также впоследствии производили расчет коэффициента NO арт/вен [7, 10]. Водный баланс легких оценивали по массе влажных и высушенных легких, уровню гемоглобина крови и легочной ткани: рассчитывалось кровенаполнение легких, количество общей, экстра- и интраваскулярной жидкости [6].

Обработка статистических данных выполнена на основе пакета прикладных компьютерных программ Microsoft Excel 2010 и SPSS 22.

## Результаты и обсуждение

Достоверно известно, что легкие играют немаловажную роль в поддержании жидкого состояния крови посредством метаболизма БАВ (простагландинов, тромбоксана А2 и др.), синтеза факторов противосвертывающей и фибринолитической систем [1]. Кроме того, имеются сведения об участии легких в регуляции активности калликреин-кининовой системы. Именно поэтому легкие стоит рассматривать как своеобразный коагулолитический фильтр, при прохождении через который снижается тромбогенность крови [1].

Данная закономерность в условиях нашего эксперимента подтверждалась превалированием коагуляционных показателей крови (до легких) над соответствующими параметрами (после

легких) в контрольной группе животных. Так, у контрольных животных коагуляционный показатель внутреннего механизма гемостаза венозной крови составил  $26,81 \pm 0,84$  с, что было достоверно ниже аналогичного параметра артериальной крови —  $34,9 \pm 0,9$  с ( $p < 0,001$ ). В это же время наблюдалось удлинение времени коагуляционного показателя внешнего механизма свертывания артериальной крови до  $20,98 \pm 0,89$  с по сравнению с таковым в венозной крови —  $14,97 \pm 0,85$  с ( $p < 0,001$ ).

При проведении экспериментального исследования было отмечено, что АФС вызывал повышение показателей коагуляционного гемостаза по сравнению с контролем: значительно возрастали значения АЧТВ арт до  $158,80 \pm 4,53$  с ( $p < 0,001$ ), АЧТВ вен — до  $175,34 \pm 5,82$  с ( $p < 0,001$ ), ПВ арт — до  $83,92 \pm 2,17$  с ( $p < 0,001$ ) и ПВ вен — до  $77,84 \pm 2,19$  с ( $p < 0,001$ ).

Установленное нами увеличение показателей АЧТВ и ПВ при АФС носит парадоксальный характер: несмотря на то, что доминирующим клиническим проявлением синдрома являются множественные тромбозы, время фосфолипид-зависимых коагуляционных тестов значительно удлиняется. Например, при изучении внутренних механизмов коагуляционного гемостаза данное явление объясняется ингибированием антифосфолипидными антителами кефалина, который является активатором процессов свертывания при определении АЧТВ.

Исследование коагуляционной легочной активности обнаруживало, что коэффициент АЧТВ вен/арт при экспериментальном АФС увеличивался до  $1,1 \pm 0,05$  усл. ед. вместо  $0,77 \pm 0,07$  в контроле ( $p < 0,01$ ). Аналогичные тенденции прослеживались при определении ПВ вен/арт — наблюдалось возрастание коэффициента с  $0,71 \pm 0,06$  усл. ед. у контрольных животных до  $0,93 \pm 0,04$  усл. ед. при аутоиммунном синдроме ( $p < 0,01$ ).

Введение ФТУ-720 оказывало корректирующее влияние на показатели коагуляционного гемостаза, измененные при аутоиммунной патологии. Так, АЧТВ вен укорачивалось до  $102 \pm 6,31$  с, АЧТВ арт — до  $109,3 \pm 5,1$  с, ПВ вен — до  $46,5 \pm 3,1$  с и ПВ арт до  $57,7 \pm 3,2$  с при сочетании АФС с иммуносупрессором ( $p < 0,001$ ). Наряду с этим, снижение коэффициентов АЧТВ вен/арт до  $0,93 \pm 0,05$  усл. ед. и ПВ вен/арт до  $0,8 \pm 0,07$  усл. ед. ( $p < 0,05$ ) характеризовало компенсацию нарушения гемостазрегулирующей функции легких.

Изучение содержания NO в бронхоальвеолярных смывах выявило прирост NO до  $5,95 \pm 0,18$  мкмоль/л против  $3,04 \pm 0,14$  в контроле.

Содержание NO артериальной и венозной крови при АФС возрастало с  $47,00 \pm 1,55$  до  $77,43 \pm 1,48$  и с  $33,21 \pm 0,92$  до  $68,07 \pm 0,95$  мкмоль/л соответственно ( $p < 0,001$ ). Коэффициент NO вен/арт аналогичным образом повышался с  $1,43 \pm 0,04$  до  $1,14 \pm 0,01$  усл. ед. ( $p < 0,001$ ), что свидетельствовало о нарушении нитроксидагической активности легких.

Введение ФТУ-720 при моделировании АФС восстанавливало показатели нитроксидагической активности легких в сравнении с данными, полученными без его участия: концентрация NO в венозном секторе крови уменьшалась до 37,4, а в артериальном секторе — до 52,3 мкмоль/л. Коэффициент NO вен/арт также снижался и был равен 0,71 усл. ед.

В ходе исследования водного баланса легких при экспериментальном АФС отмечалось увеличение общей, экстра- и интраваскулярной жидкости легких с  $111,02 \pm 3,14$  до  $141,46 \pm 2,21$ , с  $101,5 \pm 2,99$  до  $126,87 \pm 2,24$  и с  $10,47 \pm 0,89$  до  $14,93 \pm 0,86\%$  к м сердца соответственно ( $p < 0,001$ ). Кровенаполнение органа у животных с патологией в свою очередь возрастало до  $17,99 \pm 1,04$  против  $12,77 \pm 1,55\%$  к м сердца в контроле ( $p < 0,05$ ). Введение ФТУ-720 уменьшало кровенаполнение легких до контрольных величин —  $14,27 \pm 1,41$  и восстанавливало содержание общей жидкости до  $117,87 \pm 4,79$ , экстраваскулярной — до  $105,49 \pm 4,52$ , а интраваскулярной — до  $11,85 \pm 0,97$  ( $p > 0,05$ ).

ФТУ-720 представляет собой иммуносупрессор лизофосфолипидной природы, являющийся лигандом сфингозин-1-фосфатных рецепторов иммунокомпетентных клеток. Иммуносупрессивное действие ФТУ-720 заключается в том, что он индуцирует интернализацию и деградацию сфингозин-1-фосфатных рецепторов, а следовательно, ограничивает выход лимфоцитов из лимфатических узлов по градиенту концентрации сфингозин-1-фосфата [8, 13]. Более того, имеются данные о стимулирующем влиянии рассматриваемого препарата на синтез В-лимфоцитами противовоспалительного IL-10 [8].

Можно предполагать, что ограничение степени нарушения нереспираторных функций во многом обусловлено именно иммуносупрессивным влиянием ФТУ-720, поскольку АФС представляет собой системное аутоиммунное заболевание, в основе которого лежат нарушения иммунного гомеостаза.

В научной литературе также описано взаимодействие ФТУ-720 с сфингозин-1-фосфатными рецепторами 1-го и 3-го типов, ответственное за тонус периферических сосудов и за регуляцию

функций эндотелиального барьера путем ремоделирования цитоскелета и оказания модулирующего воздействия на межклеточные контакты [9, 11]. Это предполагает, что препарат может оказывать прямое влияние на сосудистую проницаемость и, снижая ее, приводить к нормализации показателей водного баланса в легких, полученные при моделировании АФС.

## Заключение

Таким образом, при АФС значительно снижается нитроксидергическая активность легких, возрастают показатели коагуляционной активности и нарушается водный баланс легких. Введение FTY-720 нормализует данные нереспираторные функции легких в условиях моделирования этой аутоиммунной патологии.

## Список литературы / References

1. Лысенков С.П., Тель Л.З. Нереспираторные функции легких: монография. Майкоп – Ижевск: Пермяков С.А., 2014. 130 с. [Lysenkov S.P., Tel L.Z. Non-respiratory functions of the lungs: monograph]. Майкоп – Izhevsk: Permyakov S.A., 2014. 130 p.
2. Насонов Е.Л. Антифосфолипидный синдром. М.: Литтерра, 2004. 424 с. [Nasonov E.L. Antiphospholipid syndrome]. Moscow: Litterra, 2004. 424 p.
3. Уракова М.А., Брындина И.Г. Влияние финголимода на сурфактант и гемостаз-регулирующую активность легких при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите // Патогенез, 2020. Т. 18, № 4. С. 43-48. [Urakova M.A., Bryndina I.G. The influence of fingolimod on surfactant and hemostasis-regulating activity of the lung in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Patogenez = Pathogenesis*, 2020, Vol. 18, no. 4, pp. 43-48. (In Russ.)]
4. Уракова М.А., Брындина И.Г. Метаболическая активность и водный баланс легких при моделировании аутоиммунной патологии у крыс // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Биология и экология, 2013. № 29. С. 272-276. [Urakova M.A., Bryndina I.G. Metabolic activity and water balance of lungs in modeling of autoimmune pathology in rats. *Vestnik Tverskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Biologiya i ekologiya = Bulletin of Tver State University. Series: Biology and Ecology*, 2013, no. 29, pp. 272-276. (In Russ.)]
5. Уракова М.А. Метаболические функции и водный баланс легких при экспериментальном антифосфолипидном синдроме // Вестник Уральской медицинской академической науки, 2012. Т. 39, № 2. С. 66. [Urakova M.A. Metabolic activity and water balance of lung in experimental antiphospholipid syndrome. *Vestnik Uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki = Journal of Ural Medical Academic*, 2012, Vol. 39, no. 2, p. 66. (In Russ.)]
6. Уракова М.А. Негазообменные функции легких при экспериментальном алкоголизме и его сочетании с черепно-мозговой травмой // Бюллетень физиологии и патологии дыхания, 2020. № 78. С. 104-109. [Urakova M.A. Negazo-exchange functions of the lungs in experimental alcoholism and its combination with craniocerebral trauma. *Vyulleten fiziologii i patologii dykhaniya = Bulletin of Physiology and Pathology of Respiration*, 2020, no. 78, pp. 104-109. (In Russ.)]
7. Чеботарева А.А., Комаревцева И.А., Юсуф Р.М.С., Черных Ю.А., Вишницкая И.А., Комаревцева Е.В., Постернак Д.Г., Серегина Н.М., Журба А.А., Морару-Бурлеску Р.П., Чередниченко Р.В., Тертычная-Телюк С.В., Яковлева Т.П., Кравцова Ю.В., Симиненко К.А. Метаболиты оксида азота в тканях, сыворотке крови, мононуклеарных и мезенхимальных стволовых клетках // Человек и его здоровье, 2016. № 2. С. 90-95. [Chebotareva A.A., Komarevtseva I.A., Yusuf R.M.S., Chernykh Yu.A., Vishnitskaya I.A., Komarevtseva E.V., Posternak D.G., Seregina N.M., Zhurba A.A., Moraru-Burlescu R.P., Cherednichenko R.V., Tertychnaya-Telyuk S.V., Yakovleva T.P., Kravtsova Yu.V., Siminenko K.A. Metabolites of nitric oxide in tissues, blood serum, mononuclear and mesenchymal stem cells. *Chelovek i ego zdorovye = Man and His Health*, 2016, no. 2, pp. 90-95. (In Russ.)]
8. Шмырев В.И., Крыжановский С.М., Данилычева И.В. Сфингозин-1-фосфат сигнальная система и инновационный механизм действия финголимода в терапии рассеянного склероза: обзор зарубежной литературы // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски, 2012. Т. 112, № 2. С. 9397. [Shmyrev V.I., Kryzhanovski S.M., Danilycheva I.V. Sphingosine-1-phosphate signaling system and the innovative mechanism of action of fingolimod in treatment of multiple sclerosis: review of foreign literature. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova. Spetsvypuski = S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*, 2012, Vol. 112, no. 2, pp. 9397. (In Russ.)]
9. Camm J., Hla T., Bakshi R.. Cardiacandvascular effects of fingolimod: Mechanistic basis and clinical implications. *Am. Heart J.*, 2014, Vol. 168, no. 5, pp. 632-644.
10. Ehrhart I.C., Zou L., Theodorakis M.J. Effect of nitrite on endothelial function in isolated lung. *Gen Pharmacol.*, 2000, Vol. 34, no. 6, pp. 401-408.
11. Fu Y., Zhang N., Ren L. Impact of an immune modulator fingolimod on acute ischemic stroke. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2014, Vol. 111, no. 51, pp. 18315-18320.

12. Kitamura Y., Nomura M., Shima H. Acute lung injury associated with systemic inflammatory response syndrome following subarachnoid. *Neurol. Med. Chir.*, 2010, Vol. 50, pp. 456-460.
13. Mao-Draayer Y., Sarazin J., Fox D. The sphingosine-1-phosphate receptor: A novel therapeutic target for multiple sclerosis and other autoimmune diseases. *Clin Immunol.*, 2017, Vol. 175, pp. 10-15.
14. Nomura H., Hirashima Y., Endo S. Anticardiolipin antibody aggravates cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage in rabbits. *Stroke*, 1998, Vol. 29, no. 5, pp. 1014-1018.

---

**Авторы:**

**Уракова М.А.** — д.м.н., доцент кафедры патологической физиологии и иммунологии ФГБОУ «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, г. Ижевск, Россия

**Капустин И.В.** — студент 3-го курса лечебного факультета ФГБОУ «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, г. Ижевск, Россия

**Плеханова Е.С.** — студентка 3-го курса лечебного факультета ФГБОУ «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, г. Ижевск, Россия

**Пахмутова П.А.** — студентка 3-го курса лечебного факультета ФГБОУ «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, г. Ижевск, Россия

**Шайхуллин А.А.** — студент 3-го курса лечебного факультета ФГБОУ «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, г. Ижевск, Россия

**Шараев Д.В.** — студент 3-го курса лечебного факультета ФГБОУ «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, г. Ижевск, Россия

**Брындина И.Г.** — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой патологической физиологии и иммунологии ФГБОУ «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, г. Ижевск, Россия

**Authors:**

**Urakova M.A.**, PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Pathology and Immunology Department, Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russian Federation

**Kapustin I.V.**, 3<sup>rd</sup> year Student, Faculty of General Medicine, Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russian Federation

**Plekhanova E.S.**, 3<sup>rd</sup> year Student, Faculty of General Medicine, Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russian Federation

**Pakhmutova P.A.**, 3<sup>rd</sup> year Student, Faculty of General Medicine, Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russian Federation

**Shaykhullin A.A.**, 3<sup>rd</sup> year Student, Faculty of General Medicine, Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russian Federation

**Sharaev D.V.**, 3<sup>rd</sup> year Student, Faculty of General Medicine, Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russian Federation

**Bryndina I.G.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Pathological Physiology and Immunology, Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russian Federation

---

Поступила 30.03.2024

Отправлена на доработку 01.04.2024

Принята к печати 26.04.2024

---

Received 30.03.2024

Revision received 01.04.2024

Accepted 26.04.2024



# ДИСФУНКЦИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ПЕРСОНАЛА ОБЪЕКТОВ ХИМИЧЕСКОЙ ОПАСНОСТИ: НАЗНАЧЕНИЕ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ИММУНОТЕРАПИИ

Козлов В.К., Петленко С.В.

ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства России», Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** Клинические признаки наличия иммунной дисфункции/недостаточности, выявленные путем анкетирования работников полигона по хранению и уничтожению промышленных токсичных отходов, являлись основанием для выполнения скринингового исследования иммунного статуса, что включало клинический анализ крови с определением лейкоцитарной формулы, оценку фенотипического статуса лимфоцитов по основным субпопуляциям, определение концентрации в сыворотке иммуноглобулинов различных классов, оценку миграционной активности лейкоцитов, оценку микробицидности нейтрофилов и их способности к фагоцитозу. При выявлении у обследованных сотрудников более чем на 20% измененных значений нормативного диапазона параметров иммунного статуса и наличия сочетанных нарушений в разных звеньях иммунореактивности, в частности комбинированных нарушений в клеточном звене иммунной системы, было основанием для проведения углубленного этапа иммуноэпидемиологического обследования, что включало определение функциональной активности клеточных элементов адаптивной составляющей иммунитета, оценку выраженности аутосенсibilизации, оценку выраженности и специфичности атопической гиперсенсibilизации, оценку цитокинового статуса в норме и в ответ на митоген. При оценке фенотипического статуса клеток иммунореактивности оказалось, что у сотрудников полигона в периферической крови было достоверно снижено абсолютное количество Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup> фенотип), Т-лимфоцитов хелперов (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> фенотип) и Т-лимфоцитов киллеров (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> фенотип) ( $p \leq 0,05$ , в сравнении с аналогичными показателями группы контроля). Напротив, содержание НК-клеток (CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup> фенотип) имело тенденцию к увеличению (как абсолютного количества, так и доли среди других популяций лимфоцитов). Дисфункция клеточного компонента гуморальной иммунореактивности (достоверное уменьшение абсолютного количества в периферической крови лимфоцитов с фенотипом CD3<sup>-</sup>CD20<sup>+</sup> [В-лимфоциты]), а также достоверное увеличение концентрации сывороточного иммуноглобулина IgA-класса и выраженная дисиммуноглобулинемия в сыворотке обследованных лиц (в сравнении с лицами контрольной группы) свидетельствовали о преимущественно ингаляционном

## Адрес для переписки:

Козлов Виктор Константинович  
ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии  
имени академика С.Н. Голикова Федерального  
медико-биологического агентства России»  
192019, Россия, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1.  
Тел.: 8 (911) 775-98-39.  
E-mail: kvk52@mail.ru

## Address for correspondence:

Viktor K. Kozlov  
S. Golikov Scientific and Clinical Center of Toxicology, Federal  
Medical and Biological Agency of Russia  
1 Bekhterev St  
St. Petersburg  
192019 Russian Federation  
Phone: +7 (911) 775-98-39.  
E-mail: kvk52@mail.ru

## Образец цитирования:

В.К. Козлов, С.В. Петленко «Дисфункция иммунной системы у персонала объектов химической опасности: назначение и эффективность лекарственных средств иммунотерапии» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 801-810.  
doi: 10.46235/1028-7221-16948-ISD

© Козлов В.К., Петленко С.В., 2024  
Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

## For citation:

V.K. Kozlov, S.V. Petlenko "Immune system dysfunction in personnel of chemical hazard facilities: purpose and effectiveness of immunotherapeutic drugs", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 801-810.  
doi: 10.46235/1028-7221-16948-ISD

© Kozlov V.K., Petlenko S.V., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16948-ISD



способе воздействия на иммунную систему обладающих иммунотоксичностью промышленных токсикантов полигона. Патогенетически направленную иммуноориентированную терапию персоналу работников полигона проводили лекарственными средствами, обладающими активностью тимомиметиков (цитовир-3, тимоген), и являющимся средством заместительной иммунокоррекции цитокиновым препаратом (генноинженерный рекомбинантный дрожжевой ИЛ-2 [ронколейкин]). Установленная эффективность проведенной иммунотерапии, в частности снижение уровня заболеваемости у получивших иммунотерапию сотрудников полигона различными нозологическими формами иммунообусловленной патологии и наличие иммунокорригирующего эффекта у использованных для целей терапии иммуноактивных лекарственных препаратов, свидетельствуют о целесообразности проведения у профессионально подверженных ксенобиотическим воздействиям лиц превентивных медицинских мероприятий как компонента совершенствования медицинского обеспечения.

*Ключевые слова:* объект химической опасности, промышленные токсические отходы, иммунотоксические соединения объекта, персонал объекта химической опасности, иммуноэпидемиологическое обследование, дисфункция иммунной системы, патогенетическая структура иммунных расстройств, клинические проявления, совершенствование медицинского обеспечения, лекарственные средства иммунотерапии, клиническая эффективность, иммунокорригирующий эффект

## IMMUNE SYSTEM DYSFUNCTION IN PERSONNEL OF CHEMICAL HAZARD FACILITIES: PURPOSE AND EFFECTIVENESS OF IMMUNOTHERAPEUTIC DRUGS

Kozlov V.K., Petlenko S.V.

*<sup>a</sup> S. Golikov Scientific and Clinical Center of Toxicology, Federal Medical and Biological Agency of Russia, St. Petersburg, Russian Federation*

**Abstract.** Clinical signs of the presence of immune dysfunction/insufficiency, identified by questioning workers at the landfill for the storage and destruction of industrial toxic waste, were the basis for performing a screening study of immune status. This included a clinical blood test with determination of the leukocyte formula, assessment of the phenotypic status of lymphocytes for the main subpopulations, determination of the concentration in serum immunoglobulins of various classes, assessment of the migration activity of leukocytes, assessment of the microbicidal capacity of neutrophils and their ability to phagocytosis. When the examined employees were found to have more than 20% changes in the normative range of immune status parameters and the presence of combined disorders in different parts of immunoreactivity, in particular combined disorders in the cellular part of the immune system, it was the basis for conducting an in-depth stage of immunoepidemiological examination. This included determination of functional activity cellular elements of the adaptive component of immunity, assessment of the severity of autosensitization, assessment of the severity and specificity of atopic hypersensitization, assessment of cytokine status in normal conditions and in response to mitogen. When assessing the phenotypic status of immunoreactivity cells, it turned out that the absolute number of T lymphocytes (CD3<sup>+</sup> phenotype), helper T lymphocytes (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> phenotype) and killer T lymphocytes (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> phenotype) was significantly reduced in the peripheral blood of test site employees ( $p \leq 0.05$ , compared with similar indicators in the control group). On the contrary, the content of NK cells (CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup> phenotype) tended to increase (both the absolute number and the proportion among other lymphocyte populations). Dysfunction of the cellular component of humoral immunoreactivity (a significant decrease in the absolute number of lymphocytes with the CD3<sup>-</sup>CD20<sup>+</sup> phenotype [B lymphocytes] in the peripheral blood), as well as a significant increase in the concentration of serum IgA-class immunoglobulin and pronounced disimmunoglobulinemia in the serum of the examined individuals (compared to individuals in the control group) indicated a predominantly inhalation method of exposure to immunotoxic industrial toxicants from the landfill on the immune system. Pathogenetically targeted immune-oriented therapy for the personnel of the test site was carried out with drugs that have thymomimetic activity (cytovir-3, thymogen) and are a means of replacement immunocorrection with a cytokine drug (genetically engineered recombinant yeast IL-2 [roncoleukin]). The established effectiveness of the immunotherapy, in particular the reduction in

the incidence rate of various nosological forms of immune-related pathology among the site employees who received immunotherapy and the presence of an immunocorrective effect in the immunocorrective drugs used for therapy, indicate the advisability of carrying out preventive medical measures in persons professionally exposed to xenobiotic influences as a component of improving medical provision.

*Keywords: chemical hazard object, industrial toxic waste, immunotoxic compounds of the object, personnel of a chemical hazard object, immunoepidemiological examination, dysfunction of immune system, pathogenetic structure of immune disorders, clinical manifestations, improvement of medical care, immunotherapy drugs, clinical effectiveness, immunocorrective effect*

## Введение

Высокая чувствительность иммунной системы к воздействию химических веществ хорошо известна, а анализ специальной литературы и многолетний собственный опыт иммуноэпидемиологических исследований свидетельствуют о том, что изменение состояния иммунной системы может выступать в качестве объективного критерия воздействия неблагоприятных экологических факторов, включая факторы химической природы [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13]. При этом рядом авторов продемонстрирована зависимость выраженности нарушений в функционировании иммунной системы от дозы и спектра активности воздействующих на человека химических соединений. По результатам выполненных широкомасштабных научных исследований было предложено использовать иммунологические показатели для установления предельно допустимых концентраций химических веществ и критериев экологической опасности химических соединений [4, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16].

Актуальными аспектами научных исследований по проблеме хранения и утилизации высокоактивных токсикантов и промышленных токсичных отходов, прежде всего, являются вопросы оптимизации и совершенствования существующей системы лечебно-профилактического обеспечения объектов высокой химической опасности, в частности продолжение разработки прикладных аспектов медицинского обеспечения персонала подобных объектов с использованием современных технологий проведения иммунологического мониторинга и иммунокорректирующей терапии технического персоналу подобных объектов с выбором наиболее эффективных иммуноактивных лекарственных средств.

## Материалы и методы

В комплексном исследовании с использованием современных методов оценки структурно-морфологических и функциональных параметров иммунного статуса было изучено в динамике состояние иммунореактивности сотрудников объекта высокой химической опасно-

сти – специализированного предприятия по хранению и уничтожению промышленных отходов Государственного унитарного природоохранного предприятия «полигон Красный Бор» расположенного на территории Тосненского района Ленинградской области. В основе методологии оценки иммунных расстройств у лиц, подвергшихся воздействию ксенобиотических факторов, лежит трехэтапная схема иммуноэпидемиологического обследования, показавшая свою эффективность при проведении массовых обследований лиц, пострадавших в очагах техногенных аварий и катастрофах, в результате стихийных бедствий и проживавших на экологически неблагоприятных территориях [1, 10].

Первый этап – проведение анкетного опроса с целью предварительной оценки состояния иммунной системы и ее роли в возникновении клинических признаков иммунной дисфункции/недостаточности и иммунозависимой патологии (наличие проявлений инфекционного, аллергического, аутоиммунного, иммунопролиферативного синдромов и дополнительных синдромов иммунопатологии [синдром хронической усталости, дисрегуляторный синдром]), а также наличием сопутствующих хронических заболеваний. На втором и третьем этапах при иммуноэпидемиологическом обследовании обычно проводятся скрининговые и углубленные лабораторные исследования состояния иммунной системы лиц, отнесенных к той или иной группе риска, в частности для выявления у лиц, подверженных неблагоприятным ксенобиотическим воздействиям, иммунных расстройств.

Клинические признаки наличия иммунной дисфункции/недостаточности являлись основанием для выполнения скринингового исследования иммунного статуса на втором этапе иммуноэпидемиологического обследования. Скрининговое исследование иммунного статуса включало: 1) клинический анализ крови с определением лейкоцитарной формулы; 2) оценку фенотипического статуса лимфоцитов по основным субпопуляциям [CD3, CD4, CD8, CD19 или CD20, CD16 или CD56 маркеры]; 3) определение концентрации в сыворотке иммуноглобулинов

IgM-, IgG- IgA-классов; 4) оценку миграционной активности лейкоцитов [РТМЛ с КонА]; 5) оценку микробицидности нейтрофилов [НСТ-тест] и их способности к фагоцитозу. Нарушение у обследованных лиц миграционной функции иммуноцитов на стандартный митоген или же изменение их фенотипического статуса являлось основанием для оценки в РТМЛ индивидуальной чувствительности и сенсибилизации этих лиц к веществам из группы приоритетных загрязнителей полигона.

При выявлении значимых иммунных расстройств, а именно: 1) изменения более чем на 20% значения нормативного диапазона параметра иммунного статуса; 2) наличия сочетанных нарушений в разных звеньях иммунореактивности; 3) наличия комбинированных структурно морфологических и функциональных нарушений в клеточном звене иммунореактивности являлось основанием для проведения на третьем этапе углубленного иммунологического обследования. С использованием современных методов лабораторной диагностики углубленное иммунологическое обследование включало: 1) определение функциональной активности адаптивной составляющей иммунитета (расширенный фенотипический статус лимфоцитов по основным и функционально активным субпопуляциям (CD25, CD95), определение пролиферативной активности мононуклеарных клеток (преимущественно лимфоцитов) в реакции бластной трансформации мононуклеаров в условиях *in vitro*; 2) оценку выраженности аутоенсибилизации (определение спектра и количества циркулирующих актуальных аутоантител, РТМЛ с аутоантигенами и гаптенами); 3) оценку выраженности и специфичности атопической гиперсенсибилизации (общий уровень в циркуляции иммуноглобулинов IgE-класса, определение специфических к актуальным аллергенам IgE иммуноглобулинов, тест дегрануляции базофилов); 4) оценку профиля цитокиновой регуляции крови и способности мононуклеарных клеток крови продуцировать цитокины, включая продукцию цитокинов в ответ на митоген.

Оценка функциональной активности системы полиморфноядерных нейтрофильных гранулоцитов осуществлялась путем определения их кислородзависимой и кислороднезависимой микробицидности. Функциональную активность кислородзависимого механизма микробицидности системы полиморфноядерных нейтрофилов определяли, используя цитохимический вариант НСТ-теста без стимуляции (спонтанная активность) и со стимуляцией зимозаном (стимулированная активность). Рассчитывали также резервную метаболическую емкость системы по-

лиморфноядерных нейтрофилов как отношение стимулированной активности нейтрофилов к спонтанной активности в НСТ-тесте. Функциональную активность кислороднезависимого механизма микробицидности системы полиморфноядерных нейтрофилов определяли, оценивая активность катионных белков нейтрофилов в лизосомально-катионном тесте. Дополнительно оценивали также функциональную активность полиморфноядерных нейтрофилов и моноцитов по способности этих клеток осуществлять фагоцитоз.

Совокупность перечисленных подходов оценки структурно-морфологического (фенотипического) статуса клеток иммунореактивности и их функциональных характеристик позволила объективно и наиболее полно охарактеризовать состояние клеточного иммунитета обследованных лиц.

Оценка гуморального звена иммунной системы включала исследования количественных и функциональных параметров. Для этого применяли комплекс методик, включавший определение содержания в крови зрелых форм В-лимфоцитов (CD3-CD20<sup>+</sup>) и концентрации в сыворотке крови иммуноглобулинов классов М, G и А. Профиль цитокиновой регуляции оценивался по содержанию цитокинов разных функциональных групп в сыворотке крови обследуемых лиц. Кроме того, содержание цитокинов определяли в супернатантах лейкоцитов при инкубации исследуемых образцов в присутствии соединений, используемых для реакции торможения миграции лейкоцитов.

Иммунологическое обследование различных групп сотрудников полигона по ряду особенностей их работы в условиях повышенной ксенобиотической нагрузки промышленными токсическими отходами (ПТО), содержащими обладающие иммунотоксичностью химические соединения: токсичные металлы (медь, кадмий, хром, никель, марганец, свинец, цинк, кобальт, литий, бериллий, мышьяк, ртуть), формальдегид, циклоалканы, продукты переработки нефти, ароматические углеводороды (бензол и его производные), полициклические ароматические углеводороды (бенз(а)пирен и дибензоантрацены), полигалогенированные, в частности полихлорированные бифенилы и бензофураны, углеводороды выявило типовые особенности развивавшейся дисфункции иммунной системы у различных контингентов работников полигона «Красный Бор».

## Результаты и обсуждение

По характеру труда сотрудники полигона подразделялись: на сотрудников администрации

(I профессиональная группа [n = 77]); на водителей спецавтотранспорта (II профессиональная группа [n = 69]), доставлявшие токсичные отходы с предприятий города и области на полигон, имевшие контакт с ПТО во время погрузочно-разгрузочных операций продолжительностью 1,5-2 часа/в день; на бульдозеристов и экскаваторщиков (III профессиональная группа [n = 47]), выполнявших работы по обработке и перемещению доставляемых на полигон отходов, включая соединения, обладающие гемо- и миелотоксичностью (бензол и его производные, фенолы, крезолы); на операторов установок термического обезвреживания ПТО с высоким содержанием органических соединений (IV профессиональная группа [n = 56]). Контрольную группу составляли 137 работников автопредприятий Санкт-Петербурга, не имевших в анамнезе продолжительного контакта с токсичными соединениями, включая значимое употребление алкоголя.

Для выяснения характера влияния комплекса ксенобиотических факторов полигона на миелоидный росток кроветворения и иммунный статус у работающих на полигоне лиц из числа разных профессиональных групп работников (n = 249) и работников других предприятий Санкт-Петербурга, по характеру труда не связанных с воздействием химических соединений (n = 137, контрольная группа), определяли показатели клеточного иммунитета. При этом в периферической крови обследуемых лиц определяли: абсолютное количество лейкоцитов, абсолютное и относительное количество лимфоидных клеток, абсолютное и относительное количество основных субпопуляций лимфоцитов (В-лимфоциты, Т-лимфоциты, Т-лимфоциты-хелперы, Т-лимфоциты-киллеры [специфические цитотоксические лимфоциты (CTL-клетки)], естественные киллеры [NK-клетки]). Для характеристики сбалансированности клеточных субпопуляций вычисляли также иммунорегуляторный индекс по отношению  $CD3^+CD4^+/CD3^+CD8^+$ , а для оценки функциональной активности лейкоцитов ставили реакцию торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) в ответ на митоген – конканавалин А (КонА). Представленные в таблице 1 данные иллюстрируют полученные результаты.

Из данных, представленных в таблице 1, следует, что у сотрудников полигона по сравнению с аналогичными показателями группы контроля в периферической крови достоверно ( $p \leq 0,05$ ) снижено абсолютное количество Т-лимфоцитов ( $CD3^+$  фенотип), Т-лимфоцитов-хелперов ( $CD3^+CD4^+$  фенотип) и Т-лимфоцитов-киллеров ( $CD3^+CD8^+$  фенотип). Напротив, содержание

NK-клеток ( $CD3^-CD56^+$  фенотип) имеет тенденцию к увеличению, как абсолютного количества, так и доли среди других популяций лимфоцитов. Очевидно, что наличие у сотрудников полигона фенотипического дисбаланса со статистически достоверной абсолютной субпопуляционной лимфопенией по Т-лимфоцитам, Т-лимфоцитам-хелперам и Т-лимфоцитам-киллерам является следствием выявленных при клиническом анализе крови у этой категории обследованных лиц тенденций уменьшения абсолютного количества лейкоцитов и снижения среди лейкоцитов доли лимфоцитов. Наличие фенотипического дисбаланса отмеченного выше типа было подтверждено и при исследовании структурности клеточных популяций у сотрудников ГУПП «Полигон «Красный Бор», которые имели разный стаж работы на полигоне. Была обнаружена зависимость выраженности фенотипического дисбаланса субпопуляций лимфоцитов периферической крови от продолжительности ксенобиотического воздействия факторов полигона на его сотрудников. При увеличении стажа работы в условиях воздействия иммунотоксикантов ПТО компоненты выявленного варианта дисфункции иммунной системы однозначно становились более выраженными, что свидетельствует о наличии иммунотоксического эффекта приоритетных токсикантов полигона.

Анализ совокупности полученных результатов обследования сотрудников полигона показал, что основной закономерностью изменения количественных параметров адаптивного клеточного иммунитета у этого контингента обследованных лиц в условиях воздействия комплекса факторов химической опасности является развитие фенотипического дисбаланса лимфоцитарной составляющей адаптивного иммунитета с формированием субпопуляционной абсолютной лимфопении Т-лимфоцитов и увеличением содержания в периферической крови обследованных лиц доли NK-клеток. Эта тенденция оказалась характерной для всех групп обследованных сотрудников полигона и практически не зависела от стажа работы сотрудников на предприятии. Тем не менее очевидно, что развитие и углубление подобных иммунных нарушений способствует дегармонизации и функциональной неполноценности иммунной системы. Данный механизм лежит в основе иммунопатогенеза ряда заболеваний и патологических состояний, в развитии которых важное значение имеет неблагоприятное воздействие на иммунную систему химических факторов окружающей среды [2, 4, 14, 15, 16].

Индивидуальный анализ результатов иммунологического обследования персонала полигона показал, что более 40% всех включенных в исследова-



**ТАБЛИЦА 1. СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУННОЙ СИСТЕМЫ СОТРУДНИКОВ ПОЛИГОНА «КРАСНЫЙ БОР» В СРАВНЕНИИ С ЛИЦАМИ, НЕ ИМЕВШИМИ ДЛИТЕЛЬНОГО КОНТАКТА С ТОКСИЧНЫМИ ХИМИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ (КОНТРОЛЬ)**

TABLE 1. THE STATE OF IMMUNE SYSTEM CELLULAR PART EMPLOYEES OF THE KRASNY BOR LANDFILL IN COMPARISON WITH PERSONS WHO DID NOT HAVE PROLONGED CONTACT WITH TOXIC CHEMICAL COMPOUNDS (CONTROL)

Показатели Parameters	Группы обследованных лиц Groups of surveyed persons	
	сотрудники полигона landfill employees (n = 249)	контрольная группа control group (n = 137)
Лей. ( $\times 10^9/\text{л}$ ) Leu. ( $\times 10^9/\text{L}$ )	7,92 $\pm$ 1,60	8,83 $\pm$ 1,71
Лим. (%) Лим. ( $\times 10^9/\text{л}$ ) Lym. ( $\times 10^9/\text{L}$ )	32,56 $\pm$ 6,48 2,58 $\pm$ 0,47	37,85 $\pm$ 7,52 3,34 $\pm$ 0,62
CD3 <sup>+</sup> CD20 <sup>+</sup> (%; абс. [ $\times 10^9/\text{л}$ ]) (В-лимфоциты) CD3 <sup>+</sup> CD20 <sup>+</sup> (%; abs. [ $\times 10^9/\text{L}$ ]) (B lymphocytes)	25,30 $\pm$ 5,20 0,65 $\pm$ 0,10	22,80 $\pm$ 4,30 0,76 $\pm$ 0,20
CD3 <sup>+</sup> (%; абс.) (Т-лимфоциты) CD3 <sup>+</sup> (%; abs.) (T lymphocytes)	51,17 $\pm$ 10,23 1,32 $\pm$ 0,25 *	68,14 $\pm$ 13,57 2,28 $\pm$ 0,38
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> (%; абс.) (Т-хелперы) CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> (%; abs.) (T helpers)	28,58 $\pm$ 5,71 0,74 $\pm$ 0,12 *	40,21 $\pm$ 8,02 1,34 $\pm$ 0,23
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> (%; абс.) (CTL-клетки) CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> (%; abs.) (CTL cells)	18,99 $\pm$ 3,69 0,49 $\pm$ 0,09 *	22,16 $\pm$ 4,38 0,74 $\pm$ 0,12
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> / CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> (иммунорегуляторный индекс) CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> / CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> (immunoregulatory index)	1,51 $\pm$ 0,31	1,81 $\pm$ 0,37
CD3 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> (%; абс.) (NK-клетки) CD3 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> (%; abs.) (NK cells)	14,36 $\pm$ 2,85 0,37 $\pm$ 0,07	9,36 $\pm$ 1,82 0,31 $\pm$ 0,04
РТМЛ с Кона (%) RTML with ConA (%)	68,57 $\pm$ 13,67	53,24 $\pm$ 10,48

Примечание. \* – статистически значимые различия с аналогичным показателем у лиц контрольной группы ( $p \leq 0,05$ ).

Note. \*, statistically significant differences with the same indicator in individuals in the control group ( $p \leq 0.05$ ).

дование сотрудников полигона, подвергавшихся пролонгированному воздействию комплекса приоритетных токсикантов, имели достоверное, в сравнении с контролем, снижение абсолютного и относительного количества лимфоцитов в периферической крови. Повышение иммунорегуляторного индекса (отношение CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>) было выявлено у 6% обследованных лиц, а снижение этого индекса отмечалось у 18%

обследованных. Вариации относительного содержания NK-клеток отмечались примерно с одинаковой частотой, как в сторону увеличения (6% обследованных), так и в сторону уменьшения (10% обследованных) этого параметра иммунного статуса.

Достоверные различия в параметрах гуморального иммунитета между обследованными сотрудниками полигона и лицами контрольной группы



оказались характерны только для содержания сывороточной фракции иммуноглобулина IgA-класса. Уровень иммуноглобулина IgA-класса в сыворотке крови сотрудников полигона превышал значение данного показателя у лиц контрольной группы более чем в два раза ( $p \leq 0,05$ ). Концентрация иммуноглобулина IgG-класса у обследованных сотрудников полигона превышала этот же показатель у лиц контрольной группы только на 40%. При более детальном анализе полученных данных оказалось, что у сотрудников полигона распределение сывороточных иммуноглобулинов на классы (при сравнении концентраций иммуноглобулинов разных классов в сыворотке крови) принципиально отличалось от распределения сывороточных иммуноглобулинов у лиц контрольной группы. Существенно, что увеличение уровня сывороточной фракции IgA одновременно сопровождалось уменьшением отношения IgM/IgA (1/4 – у сотрудников полигона против 1/2 – у лиц контрольной группы), что также является косвенным свидетельством наличия у сотрудников полигона хронических заболеваний бронхо-легочной системы. Выявление дисиммуноглобулинемии подобного типа [17] подтверждает иммуноопосредованный генез установленной высокой заболеваемости сотрудников полигона (особенно бульдозеристов, экскаваторщиков и операторов установок термического обезвреживания токсичных отходов) хроническими инфекционно-воспалительными заболеваниями респираторного тракта и бронхо-легочной системы. Иммуноглобулины IgA-класса выступают как эффективный компонент противоинфекционной иммунной защиты на региональном уровне [18, 19], что объясняет факт достоверного увеличения их содержания в сыворотке крови обследованных сотрудников полигона.

Основным проявлением неблагоприятного воздействия комплекса ксенобиотических факторов специализированного предприятия по захоронению и уничтожению промышленных токсичных отходов «Полигон «Красный Бор» на гуморальный компонент иммунной системы также являлось формирование у представителей всех профессиональных групп работников полигона незначительно выраженной дисфункции клеточного компонента гуморального звена иммунореактивности. Дисфункция этого типа проявлялась увеличением доли в периферической крови В-лимфоцитов с CD3<sup>+</sup>CD20<sup>+</sup> фенотипическим маркером и незначительным уменьшением абсолютного количества этих клеток. У сотрудников полигона, максимально подверженных воздействию приоритетных токсикантов полигона (бульдозеристы и экскаваторщики, которые по

роду деятельности на полигоне заняты обслуживанием открытых карт захоронения токсичных отходов) со стажем работы на полигоне в этом качестве более 10 лет, абсолютное количество в периферической крови лимфоцитов с фенотипом CD3<sup>+</sup>CD20<sup>+</sup> (В-лимфоциты) достоверно снижено в сравнении с лицами контрольной группы. Весьма вероятно, что при воздействии комплекса ксенобиотических факторов полигона на иммунную систему ведущее значение в формировании и углублении нарушений гуморальной иммунореактивности играет ранее отмеченная недостаточность Т-лимфоцитарного звена клеточного иммунитета, прежде всего Т-лимфоцитов хелперов, носителей CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> фенотипа.

Дисфункция клеточного компонента гуморальной иммунореактивности, достоверное увеличение концентрации сывороточного иммуноглобулина IgA-класса и выраженная дисиммуноглобулинемия в сыворотке обследованных лиц подтверждают ранее высказанное предположение о преимущественно ингаляционном способе воздействия приоритетных промышленных токсикантов полигона на иммунную систему. Эти нарушения гуморального звена иммунореактивности свидетельствуют также о иммунотоксичности приоритетных экотоксикантов полигона.

При исследовании кислородзависимой микробицидности нейтрофилов в НСТ-тесте установили, что спонтанная микробицидная активность нейтрофилов периферической крови у сотрудников полигона превышала аналогичный показатель в контрольной группе в 4 раза, что по общепринятым критериям оценки влияния различных факторов на состояние здоровья обследуемых контингентов следует расценивать как доказательство наличия неблагоприятного воздействия факторов полигона на его сотрудников. При этом стимулированная кислородзависимая бактерицидность нейтрофилов периферической крови работников полигона находилась в пределах нормальных значений, а рассчитанный на основании этих значений названных показателей критерий – резервная метаболическая ёмкость кислородзависимой микробицидности нейтрофилов составлял не более 25% от значения этого показателя у лиц контрольной группы. По результатам определения микробицидности нейтрофилов периферической крови в НСТ-тесте можно рекомендовать включение этого показателя в систему мониторинга состояния здоровья обслуживающего полигон персонала.

Так как в период проведения обследования у сотрудников полигона не было выявлено каких-либо инфекционно-воспалительных заболеваний, которые могли бы способствовать развитию подобных нарушений, то увеличение спонтанной

активности системы полиморфно-ядерных нейтрофилов периферической крови обследованных сотрудников может быть только следствием экзогенных воздействий, прежде всего вследствие ксенобиотического прессинга. Тенденции изменения активности системы полиморфноядерных нейтрофилов периферической крови сотрудников полигона, выявленные при исследовании кислородзависимой микробицидности, были однотипными у всех сотрудников полигона, и не зависели от характера трудовой деятельности сотрудников на полигоне. У обследованных сотрудников всех профессиональных групп резервная метаболическая емкость кислородзависимой системы микробицидности статистически была достоверно ( $p \leq 0,05$ ) ниже, чем у лиц контрольной группы, прежде всего за счет высоких значений спонтанной кислородзависимой бактерицидности в НСТ-тесте. Максимальная выраженность изменений активности системы полиморфно-ядерных нейтрофилов периферической крови среди сотрудников разных профессиональных групп работников полигона была зафиксирована у экскаваторщиков и бульдозеристов (III группа обследованных).

Комплексный характер обнаруженной дисфункции иммунной системы у персонала работников объекта накопления и утилизации ПТО явился основанием для проведения сотрудникам полигона «Красный Бор» патогенетически направленной иммуноориентированной терапии. Из множества известных в настоящее время лекарственных препаратов были выбраны лекарственные средства, обладающие активностью тимомиметиков (цитовир-3, тимоген), и являющийся средством заместительной иммунокоррекции цитокиновый препарат (генно-инженерный рекомбинантный дрожжевой IL-2 [ронколейкин]).

Препарат цитовир-3 назначали по схеме, рекомендованной производителем: ежедневный 3-разовый пероральный прием по 1 капсуле препарата в течение 4 дней. Повторный курс иммунотерапии препаратом проводили по аналогичной схеме через 14 дней после окончания первого курса. Помимо иммунокорректирующего эффекта цитовира-3 (коррекция фенотипического дисбаланса Т-лимфоцитов) была отмечена клиническая эффективность иммунотерапии препаратом. Так, у лиц, получавших препарат, нормализация структурно-функциональных параметров компартментов иммунной системы сопровождалась снижением уровня инфекционно-воспалительной патологии верхних отделов респираторного тракта в 1,94 раза.

Для удобства назначения тимогена в амбулаторных условиях медицинской части ГУПП

«Полигон «Красный Бор» был выбран дозированный назальный спрей. Препарат использовали в суточной дозе 100 мкг в один прием. Продолжительность курса иммунотерапии составила 10 дней. В качестве интегрального клинического показателя эффективности проведенной иммунокорректирующей терапии тимогеном следует отметить увеличение резистентности лиц, получивших иммуноактивный препарат тимоген, к инфекционным возбудителям. Заболеваемость в группе сотрудников полигона, получивших тимоген, снизилась как по графам ОРВИ и другим инфекционным заболеваниям бронхолегочной системы, так и по графе заболеваний органов желудочно-кишечного тракта. Так, в группе сотрудников полигона, получавших в качестве средства иммунокоррекции тимоген, заболеваемость ОРВИ снизилась на 37,3%, а бронхолегочной патологией — на 25,0% от ранее зафиксированного уровня.

Наличие выраженных структурно-функциональных нарушений в клеточном компартменте иммунитета лиц, имевших достаточно продолжительный контакт с иммунотоксикантами ПТО, обусловило выбор в качестве основного средства иммунотерапии для этой категории сотрудников полигона иммунокорректирующего препарата заместительного типа действия — ронколейкина. Для удобства использования в амбулаторной практике производителями предложен энтеральный способ введения препарата в организм. При проведении иммунокорректирующей терапии сотрудникам полигона «Красный Бор» ронколейкин назначали по 0,25 мг (250 000 МЕ) сублингвально 1 раз в 3 дня, по 5 приемов препарата на курс иммунотерапии. Помимо очевидного иммунокорректирующего эффекта иммунотерапии ронколейкином было отмечено также снижение заболеваемости у сотрудников, которым назначали препарат: существенно снизилась частота ОРВИ и практически двухкратно — частота заболеваний желудочно-кишечного тракта, что так же, как и при использовании пептидных тимомиметиков, свидетельствует о наличии клинической эффективности иммунотерапии ронколейкином. Во время проведения курса иммунотерапии у находившихся под врачебным наблюдением лиц побочных эффектов применения данного иммунокорректирующего препарата, а также случаев непереносимости или же развития аллергических реакций в ответ на сублингвальное использование ронколейкина не выявили.

## Заключение

Таким образом, полученные научные данные об эффективности иммунотерапии, в частности наличие иммунокорректирующего эффекта у

использованных для целей терапии иммуноактивных лекарственных препаратов и снижение уровня заболеваемости у получивших иммунотерапию сотрудников полигона «Красный Бор» различными нозологическими формами иммунообусловленной патологии, свидетельствуют о целесообразности проведения у профессионально подверженных ксенобиотическим воздействиям лиц превентивных медицинских мероприятий как компонента медицинского обеспечения персонала объектов высокой химической опасности.

Обязательными составляющими адекватного медицинского обеспечения подобных объектов являются: 1) необходимость раннего выявления иммунных расстройств посредством использо-

вания в системе медицинского обеспечения иммунодиагностических технологий лабораторного анализа иммунного статуса у сотрудников объектов; 2) включение в систему профилактических и лечебных мероприятий медицинского обеспечения персонала объектов алгоритмов патогенетической иммуноориентированной терапии современными иммуноактивными лекарственными препаратами; 3) организационные мероприятия, минимизирующие негативные воздействия комплекса ксенобиотических факторов объектов химической опасности на ранних этапах работы сотрудников на предприятиях по захоронению и уничтожению промышленных токсичных отходов.

## Список литературы / References

1. Забродский П.Ф., Мандыч В.Г. Иммунотоксикология ксенобиотиков: Монография. СВИБХБ, 2007. 420 с. [Zabrodsky P.F., Mandych V.G. Immunotoxicology of xenobiotics: Monograph]. SVIBKhB, 2007. 420 p.
2. Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 800 с. [Kishkun A.A. Guide to laboratory diagnostic methods]. Moscow: GEOTAR-Media, 2009. 800 p.
3. Козлов В.К., Петленко С.В. Объекты высокой химической опасности как модель длительного воздействия на человека комплекса ксенобиотических факторов. Экологическая опасность и экологические риски. Иммунотоксиканты объектов химической опасности // В кн.: Козлов В.К. [и др.]. Основы иммунотоксикологии. Том 2. Частная иммунотоксикология. Объекты химической опасности: иммунотоксикологические аспекты / под ред. В.К. Козлова. М.: Комментарий, 2019. С. 9-106. [Kozlov V.K., Petlenko S.V. Objects of high chemical danger as a model of long-term exposure to a complex of xenobiotic factors on humans. Environmental hazards and environmental risks. Immunotoxicants of chemically hazardous objects. In the book: Kozlov V.K. [and etc.]. Fundamentals of immunotoxicology. Volume 2. Private immunotoxicology. Objects of chemical hazard: immunotoxicological aspects / ed. V.C. Kozlov]. Moscow: Kommentariy, 2019, pp. 9-106.
4. Мамонтова Е.А., Мамонтов А.А., Тарасов Е.Н. Суточная доза и оценка риска здоровью населения при воздействии стойких органических загрязнителей (СОЗ), содержащихся в почвах байкальского региона // Окружающая среда и здоровье человека: Материалы II Санкт-Петербургского международного экологического форума. СПб., 2008. С. 71-72. [Mamontova E.A., Mamontov A.A., Tarasov E.N. Daily dose and assessment of the risk to public health when exposed to persistent organic pollutants (POPs) contained in the soils of the Baikal region. Environment and human health: Mat. II St. Petersburg int. environmental forum]. St. Petersburg, 2008, pp. 71-72.
5. Мартынов А.И. Особенности клинико-иммунологической характеристики работников, подвергающихся воздействию химического фактора, по результатам 3-летнего мониторинга // Иммунология, 2012. Т. 33. № 3. С. 148-152. [Martynov A.I. Features of the clinical and immunological characteristics of workers exposed to chemical factors, based on the results 3-year monitoring. *Immunologiya = Immunologiya*, 2012, Vol. 33, no. 3, pp. 148-152. (In Russ.)]
6. Орадовская И.В., Радзивил Т.Т., Воробьев В.А., Хаитов Р.М. Распространенность клинических проявлений иммунной дисфункции и изменения показателей иммунного статуса персонала сибирского химического комбината в зависимости от продолжительности работы в условиях контакта с факторами профвредности // Физиология и патология иммунной системы, 2016. Т. 20, № 9. С. 3-34. [Oradovskaya I.V., Radzivil T.T., Vorobyov V.A., Khaitov R.M. Prevalence of clinical manifestations of immune dysfunction and changes in indicators of the immune status of personnel at a Siberian chemical plant, depending on the duration of work in conditions of contact with occupational hazard factors. *Fiziologiya i patologiya immunnoy sistemy = Physiology and Pathology of the Immune System*, 2016, Vol. 20, no. 9, pp. 3-34. (In Russ.)]
7. Орадовская И.В., Радзивил Т.Т., Воробьев В.А., Хаитов Р.М. Алгоритмы изменения иммунного статуса персонала сибирского химического комбината при основных иммунопатологических синдромах и иммунозависимых заболеваниях // Физиология и патология иммунной системы, 2017. Т. 21, № 1. С. 3-32. [Oradovskaya I.V., Radzivil T.T., Vorobyov V.A., Khaitov R.M. Algorithms for changing the immune status of the personnel of the Siberian chemical plant with the main immunopathological syndromes and immune-related diseases. *Fiziologiya i patologiya immunnoy sistemy = Physiology and Pathology of the Immune System*, 2017, Vol. 21, no. 1, pp. 3-32. (In Russ.)]

8. Петров Р.В., Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Оценка иммунного статуса человека при массовых обследованиях // Иммунология, 1992. № 6. С. 51-62. [Petrov R.V., Khaitov R.M., Pinegin B.V. Assessment of human immune status during mass examinations. *Immunologiya = Immunology*, 1992, no. 6, pp. 51-62. (In Russ.)]
9. Пульмонология. Национальное руководство. Краткое издание / под ред. А.Г. Чучалина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. 800 с. [Pulmonology. National leadership. Brief edition / ed. A.G. Chuchalina]. Moscow: GEOTAR-Media, 2018. 800 p.
10. Хаитов М.Р., Ильина Н.И., Лусс Л.В., Бабахин А.А. Мукозальный иммунитет респираторного тракта и его роль при профессиональных патологиях // Медицина экстремальных ситуаций, 2017. Т. 3 (61). С. 8-24. [Khaitov M.R., Ilyina N.I., Luss L.V., Babakhin A.A. Mucosal immunity of the respiratory tract and its role in occupational pathologies. *Meditsina ekstremalnykh situatsiy = Medicine of Extreme Situations*, 2017, Vol. 3 (61), pp. 8-24. (In Russ.)]
11. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Экологическая иммунология. М.: Изд-во ВНИРО, 1995. 219 с. [Khaitov R.M., Pinegin B.V., Istamov Kh.I. Ecological immunology]. M.: Publishing House VNIRO, 1995. 219 p.
12. Шубик В.М. Проблемы экологической иммунологии. Л.: Медицина, 1976. 240 с. [Shubik V.M. Problems of environmental immunology]. Leningrad: Meditsina, 1976. 240 p.
13. Шубик В.М., Петленко С.В., Смирнов В.С. Иммунная система человека в экстремальных климатоэкологических условиях // В кн.: Иммунодефицитные состояния. СПб: Фолиант, 2000. С. 237-292. [Shubik V.M., Petlenko S.V., Smirnov V.S. The human immune system in extreme climatic and environmental conditions. In the book: Immunodeficiency states]. St. Petersburg: Foliant, 2000, pp. 237-292.
14. Dean J.H., House R.V., Luster M. Immunotoxicology: effects of and response to drugs and chemicals. In: A.W. Hayes (ed.), Principles and Methods of Toxicology. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Taylor & Francis, 2007, pp. 1755-1796.
15. Faustini A., Settini L., Pacifici R. Immunological changes among farmers exposed to phenoxy herbicides: Preliminary observations. *Occup. Environ. Med.*, 1996, Vol. 53, no. 9, pp. 583-585.
16. Holsapple M.P. Developmental immunotoxicology and risk assessment: A workshop summary. *Hum. Exper. Toxicol.*, 2002, Vol. 21, no. 9/10, pp. 473-478.
17. Lacour M., Zunder T., Schmidtke K., Chemical Sensitivity Syndrome (MSC) – suggestions for an extension of the US MSC – case definition. *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 2005, no. 3, pp.141-151.
18. Lipson J., Doiron N. Environmental issues and work: Women with multiple chemical sensitivities. *Health Care Women Int.*, 2006, Vol. 27, no. 7, pp. 571-584.
19. Tarkowski M., Lutz W., Birindelli S. The lymphocytic cholinergic system and its modulation by organophosphorus pesticides. *Intern. J. Occup. Med. Environ. Health*, 2004, Vol. 17, no. 3, pp. 325-337.

---

**Авторы:**

**Козлов В.К.** — д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимической токсикологии и фармакологии ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства России», Санкт-Петербург, Россия

**Петленко С.В.** — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории биохимической токсикологии и фармакологии ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства России», Санкт-Петербург, Россия

**Authors:**

**Kozlov V.K.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Leading Research Associate, Laboratory of Biochemical Toxicology and Pharmacology, S. Golikov Scientific and Clinical Center of Toxicology, Federal Medical and Biological Agency of Russia, St. Petersburg, Russian Federation

**Petlenko S.V.**, PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Biochemical Toxicology and Pharmacology, S. Golikov Scientific and Clinical Center of Toxicology, Federal Medical and Biological Agency of Russia, St. Petersburg, Russian Federation

---

Поступила 09.04.2024

Отправлена на доработку 09.04.2024

Принята к печати 11.04.2024

---

Received 09.04.2024

Revision received 09.04.2024

Accepted 11.04.2024



## СОСТОЯНИЕ ПСИХОЛОГИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СТУДЕНТОВ ВЫПУСКНОГО КУРСА МЕДИЦИНСКОГО ВУЗА

Андреева И.И., Уразмамбетов Р.Т., Чеботов С.А.

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,  
г. Ростов-на-Дону, Россия

**Резюме.** Подготовка будущих врачей к профессиональной деятельности предполагает осознание и принятие высокой ответственности, которую сопровождает специальность, что приводит к значимому психоэмоциональному напряжению к моменту выпуска из учебного заведения. С целью выявления взаимосвязи между показателями гомеостатических систем была проведена сопоставительная (в зависимости от программы обучения) характеристика иммунологических и психологических параметров студентов выпускного курса медицинского вуза. Обследованы студенты-шестикурсники лечебно-профилактического факультета (29 человек) и военного учебного центра (34 человека) ФГБОУ ВО «Ростовского государственного медицинского университета». Критериями исключения для всех участников стали наличие хронических заболеваний, инфекционный процесс любого генеза в течение трех месяцев, предшествовавших исследованию. Группы были сопоставимы по возрасту (соответственно,  $23,8 \pm 1,82$  и  $23,9 \pm 2,2$  лет), полу (все – мужчины) и соответствовали I группе здоровья. Психологическое тестирование проводили с применением шкалы Спилбергера–Ханина с целью оценки степени личностной и ситуативной тревожности. Оценку иммунного статуса осуществляли в НИИ клинической иммунологии с использованием стандартных методологических подходов. Для характеристики состояния здоровья в течение года использованы регистрационные карты анализа иммуноопосредованной патологии. Изучение полученных данных психологического анкетирования выявило, что студенты ЛПФ в сравнении с шестикурсниками ЛПФ демонстрируют большую степень ситуативной и, в особенности, личностной тревожности. Отличия в системе иммунного реагирования между сравниваемыми группами выявлены в отношении параметров, характеризующих как адаптивный, так и врожденный иммунитет. Эти отличия проявлялись в более значимом количестве циркулирующих Т-регуляторных лимфоцитов, менее выраженном литическом потенциале Т-эффекторов, большим количеством TLR9<sup>+</sup> моноцитов при снижении доли клеток моноцитарного ряда, несущих HLA-DR у студентов-лечебников в сравнении с их сокурсниками, обучающимися по программе офицеров медицинской службы. Таким образом, период психологической подготовки в медицинском вузе к старту профессиональной деятельности имеет отличия в зависимости от особен-

### Адрес для переписки:

Чеботов Сергей Алексеевич  
ФГБОУ ВО «Ростовский государственный  
медицинский университет» Министерства  
здравоохранения РФ  
344022, Россия, г. Ростов-на-Дону,  
пер. Нахичеванский, 29.  
Тел.: 8 (863) 201-44-26; 8 (988) 897-47-95.  
E-mail: chebotovsergey@mail.ru

### Address for correspondence:

Sergey A. Chebotov  
Rostov State Medical University  
29 Nakhichevansky Lane  
Rostov-on-Don  
344022 Russian Federation  
Phone: +7 (863) 201-44-26; +7 (988) 897-47-95.  
E-mail: chebotovsergey@mail.ru

### Образец цитирования:

И.И. Андреева, Р.Т. Уразмамбетов, С.А. Чеботов  
«Состояние психологических и иммунологических  
показателей студентов выпускного курса  
медицинского вуза» // Российский иммунологический  
журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 811-818.  
doi: 10.46235/1028-7221-16831-TSO

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

### For citation:

I.I. Andreeva, R.T. Urazmambetov, S.A. Chebotov  
“The state of psychological and immunological indicators in  
graduate students of a medical university”, Russian Journal  
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024,  
Vol. 27, no. 4, pp. 811-818.  
doi: 10.46235/1028-7221-16831-TSO

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16831-TSO

ностей учебного процесса и более успешен для шестикурсников ВУЦ. У студентов ЛПФ в сравнении с военными студентами-медиками в большей степени выражено психоэмоциональное напряжение, что находит свое отражение в формировании признаков дисрегуляции иммунной системы. Необходимо разработка мероприятий для своевременного выявления изменений адаптационного потенциала как психологического, так и иммунологического порядка.

*Ключевые слова:* адаптация, иммунный гомеостаз, психологический стресс, студенты

## THE STATE OF PSYCHOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL INDICATORS IN GRADUATE STUDENTS OF A MEDICAL UNIVERSITY

Andreeva I.I., Urazmambetov R.T., Chebotov S.A.

*Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation*

**Abstract.** Training future doctors for professional practice usually entails building awareness and embracing the significant responsibility inherent in the field. This, in turn, leads to significant psycho-emotional stress by the time of graduation from academic institution. With the aim of identifying the correlation between homeostatic system indicators, a comparative analysis was conducted to characterize the immunological and psychological parameters of final-year medical university students, contingent upon their respective training programs. The study involved sixth-year students of the Therapeutic and Preventive Faculty [TPF] (29 individuals) and the Military Training Center [MTC] (34 individuals) of Rostov State Medical University, a Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education. The exclusion criteria for all participants included the presence of chronic diseases and any infectious process of any origin within three months prior to the study. The groups were similar in terms of age ( $23.8 \pm 1.82$  and  $23.9 \pm 2.2$  years, respectively), gender (all male), and corresponded to health group I. Psychological evaluation was conducted employing the Spielberger–Hanin Scale to gauge levels of personal and situational anxiety. The assessment of immunological status was carried out at the Scientific Research Institute of Clinical Immunology using standard methodological approaches. Registration cards for immunopathology analysis were used to characterize health status over the year. Analysis of the obtained data from psychological questionnaires revealed that students of the Therapeutic and Preventive Faculty, compared to their counterparts from the Military Training Center, demonstrated a higher degree of situational and, particularly, personal anxiety. Differences in the immune response system between the compared groups were identified with regards to indicators that characterize both adaptive and innate immunity. These differences were expressed in a more significant number of circulating regulatory T lymphocytes, a less pronounced lytic potential of effector cells, a greater number of TLR9<sup>+</sup> monocytes with a decrease in the proportion of cells of the monocyte series carrying HLA-DR in medical students compared to their counterparts studying in the medical service officers' program. Thus, the period of psychological preparation in a medical university for the commencement of professional activity varies based on the characteristics of the educational process and proves to be more effective for sixth-year students of MTC. Students from the TPF exhibit more pronounced psycho-emotional stress compared to their counterparts in military medical training, leading to evident signs of immune system dysregulation. It is imperative to develop strategies for timely detection of changes in both psychological and immunological adaptive capacities.

*Keywords:* adaptation, immune homeostasis, psychological stress, students

### Введение

Подготовка будущих врачей к их профессиональной деятельности помимо овладения теоретическими знаниями и практическими навыками предполагает осознание и принятие ответственности, которую сопровождает специальность [4,

6]. Очевидно, что в максимальной степени психоэмоциональное напряжение в этой связи формируется к моменту выпуска из учебного заведения [2, 3]. Логично предположить различную степень выраженности психологической нагрузки у будущих офицеров-медиков и выпускников стандартной лечебного образования. Учитывая

факт единства функционирования гомеостатических систем, также логично полагать возможные изменения и в состоянии иммунологической реактивности выпускников-медиков, опосредованной чрезмерной активацией нервной системы. Такие изменения могут стать причиной развития доклинических и даже клинических нарушений здоровья. Своевременное выявление возможных изменений как психологического, так и иммунологического порядка, могут иметь свои позитивные эффекты в качестве профилактики процессов нейроиммунной дисрегуляции [1, 12, 15].

**Цель настоящего исследования** – сопоставительная (в зависимости от программы обучения) характеристика иммунологических и психологических параметров студентов выпускного курса медицинского вуза.

## Материалы и методы

Под наблюдением находились 63 студента шестого курса ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России. Обследуемые были разделены на две группы. В первую вошли 34 шестикурсника военного учебного центра (ВУЦ), во вторую – 29 студентов шестого курса лечебно-профилактического факультета (ЛПФ). Критерием исключения для всех участников стали наличие хронических заболеваний, инфекционный процесс любого генеза в течение трех месяцев, предшествовавших исследованию. Группы были сопоставимы по возрасту (соответственно, лет:  $23,8 \pm 1,82$  и  $23,9 \pm 2,2$ ), полу (мужчины) и соответствовали I группе здоровья.

Все участники исследования подписали информированное согласие в соответствии с протоколом, одобренным Локальным Независимым Этическим Комитетом ФГБОУ ВО РостГМУ. Исследование проводили в конце осеннего семестра. В работе использованы регистрационные карты анализа иммуноопосредованной патологии, отражающие заболеваемость в течение года с позиции оценки работы иммунной системы по основным синдромам: инфекционному, аллергологическому, аутоиммунному, лимфопролиферативному (Сизякина Л.П., 2013). Психологическое тестирование для определения степени выраженности ситуативной и личностной тревожности осуществляли по методике Спилберга–Ханина.

## Результаты и обсуждение

Суммируя баллы, отмеченные при заполнении соответствующих анкет, делали выводы об уровне тревожности испытуемых: до 30 баллов – низкий уровень (отсутствие) тревожности, от 31 до 44 – умеренный, свыше 45 – высокий [10]. Параметры

врожденного и адаптивного звеньев иммунной системы оценивали, опираясь на стандартную методологию [14], в НИИ клинической иммунологии ФГБОУ ВО РостГМУ. Статистический анализ выполняли в программе StatTech v. 1.2.0 и Statistica SPSS v. 26. Сравнение количественных показателей двух независимых групп проводили с помощью U-критерия Манна–Уитни.

Данные анализа анкет иммуноопосредованной патологии, в которых учитываются любые отклонения от состояния практического здоровья в течение года, предшествовавшего проведению обследования, показали, что инфекционная манифестация в виде острых респираторных вирусных инфекций регистрировалась у 30% участников наблюдения при средней частоте  $1,8 \pm 1,2$  раз в год у студентов ВУЦ и  $1,0 \pm 1,9$  – у студентов ЛПФ. При этом на долю не болевших в течение года среди студентов военных медиков приходится 41%, а среди юношей-шестикурсников ЛПФ – лишь 14%. Медиана длительности ОРВИ составила 5,0 (3,3–7,0) дней у студентов ВУЦ, а в группе ЛПФ – 6,5 (5–7) дней. Отличия клинического статуса между двумя сравниваемыми группами проявились в частоте развития осложнений, потребовавших применения антибиотиков: в 10% случаев – у студентов ВУЦ, в 26% – у студентов ЛПФ. Характеристика основных иммунологических показателей представлена в таблице 1, где при сопоставлении можно увидеть наличие особенностей в зависимости от факультета обучения. При этом отличия затрагивают параметры и адаптивного, и врожденного иммунного ответа. В частности, у студентов лечебного факультета в циркуляции статистически значимо меньше по отношению к студентам ВУЦ относительное количество зрелых Т-лимфоцитов за счет субпопуляции цитотоксических Т-клеток. При этом регистрируется меньшее, чем у студентов ВУЦ, количество потенциально активных Т-эффекторов, содержащих литические гранулы гранзима В. Также у студентов ЛПФ в сравнении с показателями студентов ВУЦ большее относительное число Т-регуляторных клеток, ответственных за формирование процессов иммуносупрессии. В параметрах врожденного иммунного ответа различия в показателях носят неоднозначный характер. Так, у студентов лечебного факультета в сравнении с военными студентами-медиками в меньшей степени сохранены адаптивные ресурсы кислородзависимого метаболизма нейтрофилов, однако повышено число и литический потенциал лимфоцитов натуральных киллеров. Также отличительные признаки касаются и параметров моноцитарного звена в виде увеличении у

**ТАБЛИЦА 1. СОПОСТАВИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ СТУДЕНТОВ ШЕСТОГО КУРСА РАЗЛИЧНЫХ ПРОГРАММ ОБУЧЕНИЯ, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

TABLE 1. COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE IMMUNE SYSTEM INDICATORS OF SIXTH-YEAR STUDENTS OF VARIOUS TRAINING PROGRAMS, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Показатель Indicator	ВУЦ МТС (n = 34)	ЛПФ MPF (n = 29)
<b>Т-лимфоциты, CD3<sup>+</sup> (%)</b> T lymphocytes, CD3 <sup>+</sup> (%)	76 (72-78)	68 (64-74)*
<b>Т-лимфоциты-хелперы, CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> (%)</b> T lymphocytes-helpers, CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> (%)	44 (42-50)	42 (37-48)
<b>Т-лимфоциты-цитотоксические, CD3<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> (%)</b> Cytotoxic T lymphocytes, CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> (%)	31 (24-35)	24 (21-31)*
<b>Т-лимфоциты-регуляторные, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> (%)</b> T lymphocytes are regulatory, CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> FoxP3 <sup>+</sup> (%)	1,5 (1,1-1,7)	2,0 (1,4-2,4)*
<b>Т-лимфоциты цитотоксические с литическим потенциалом, CD3<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup>Gr<sup>+</sup> (%)</b> Cytotoxic T lymphocytes with lytic potential, CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> Gr <sup>+</sup> (%)	15 (12-17)	12 (8-15)*
<b>В-лимфоциты, CD19<sup>+</sup> (%)</b> B lymphocytes , CD19 <sup>+</sup> (%)	9 (8-12)	10 (7-12)
<b>Иммуноглобулины сыворотки крови IgA (г/л)</b> Serum immunoglobulins IgA (g/L)	2,0 (1,6-2,3)	2,1 (2,0-2,2)
<b>IgM (г/л)</b> IgM (g/L)	1,1 (1,0-1,2)	1,2 (1,1-1,3)
<b>IgG (г/л)</b> IgG (g/L)	11,3, (10,0-13,0)	11,4 (10,9-12,0)
<b>Кислородзависимый метаболизм нейтрофилов, НСТспонтанный (у. е.)</b> Oxygen-dependent metabolism of neutrophils, NBT is spontaneous (с. u.)	89 (82-98)	90 (84-101)
<b>Коэффициент стимуляции НСТ</b> Coefficient of stimulation of the NBT	1,7 (1,6-1,8)	1,6 (1,4-1,7)*
<b>Натуральные киллеры, CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> (%)</b> Natural killers, CD3 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> (%)	14 (12-16)	17 (14-25)
<b>Натуральные киллеры с литическим потенциалом, CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>Gr<sup>+</sup> (%)</b> Natural killers with lytic potential, CD3 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> Gr <sup>+</sup> (%)	8 (4-10)	12 (8-15)*
<b>Моноциты, экспрессирующие TLR2, CD14<sup>+</sup> CD282<sup>+</sup> (%)</b> Monocytes, expressing TLR2, CD14 <sup>+</sup> CD282 <sup>+</sup> (%)	76 (75-78)	74 (67-82)
<b>Моноциты, экспрессирующие TLR4, CD14<sup>+</sup> CD284<sup>+</sup> (%)</b> Monocytes, expressing TLR4, CD14 <sup>+</sup> CD284 <sup>+</sup> (%)	15 (12-19)	16 (12-19)
<b>Моноциты, содержащие TLR9, CD14<sup>+</sup> CD289<sup>+</sup> (%)</b> Monocytes, containing TLR9, CD14 <sup>+</sup> CD289 <sup>+</sup> (%)	3,0 (1,8-7,5)	5,0 (3,8-9,0)*
<b>Моноциты, экспрессирующие антигены HLA II класса, CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> (%)</b> Monocytes, expressing antigens HLA II class, CD14 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> (%)	79 (71-82)	70 (64-73)*

Примечание. \* – различия статистически значимы при  $p < 0,05$ , данные представлены в виде Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>).

Note. \*, the differences are statistically significant at  $p < 0.05$ , the data are presented in the form of Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>).

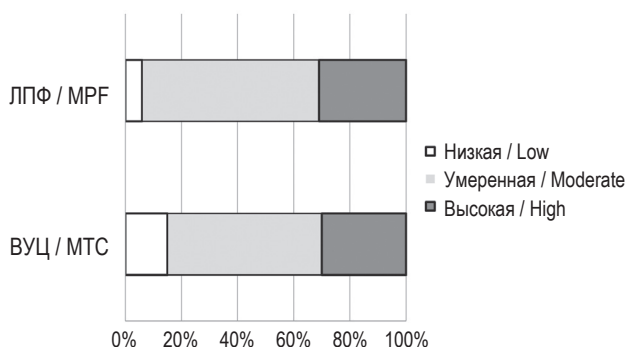


студентов ЛПФ в сравнении со студентами ВУЦ доли моноцитов, экспрессирующих внутриклеточный TLR9 при снижении относительного числа HLA-DR<sup>+</sup> моноцитов.

Психологический статус обследуемых, охарактеризованный с позиции выраженности тревожности как психологического состояния, связанного с конкретной внешней ситуацией (ситуативная) и свойством личности (личностная), выявил отсутствие ситуативной тревожности лишь у 10%, а личностной – у 18% студентов выпускного курса. В обоих случаях доминирующим стало состояние умеренной тревожности: 59% – ситуативной и 53% – личностной. В то же время при анализе показателей психологического состояния в зависимости от факультета обучения, были выявлены различия. Как следует из представленных данных, отсутствие волнений, связанных с конкретной ситуацией, характеризует большую часть будущих офицеров медицинской службы, нежели гражданских врачей, для которых доминирующим стало состояние умеренной тревожности, тогда как высокий уровень ситуативного напряжения практически одинаков и характерен для трети представителей каждой группы (рис. 1).

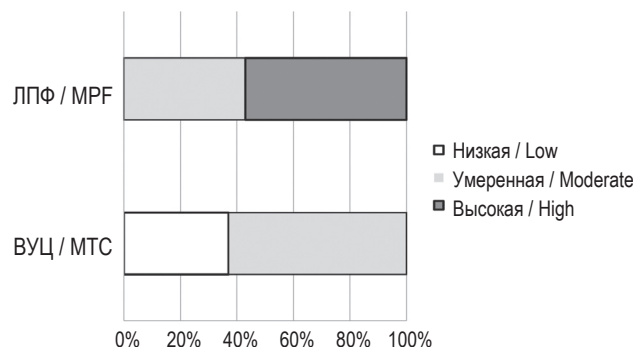
Между тем, психологическое состояние, отражающее качество личности, диаметрально различно: если у студентов ВУЦ тревожности нет либо проявляется умеренно при полном отсутствии высокой степени тревоги, то среди студентов ЛПФ не было представителей с отсутствием тревоги при доминировании высокого уровня личностной тревожности (рис. 2).

Представленные результаты исследования согласуются с опубликованными данными о наличии тревожных состояний у студентов-выпускников медицинских вузов, что определяется осознанием предстоящей ответственности самостоятельной трудовой деятельности [5, 8]. Полученные нами данные отчетливо демонстрируют большую степень тревожности у студентов лечебного факультета в сравнении выпускниками ВУЦ, что, очевидно, связано с большей мотивированностью и более четком представлении о характере будущей работы у будущих военных медиков. Полученные нами результаты характеристики параметров иммунного статуса обследуемых убедительно доказывают имеющиеся представления о связи психоэмоционального состояния с функциональными особенностями иммунной системы [7, 11]. Так, в сравнении с выпускниками ВУЦ, для которых характерно отсутствие существенных психологических изменений, у студентов ЛПФ с выраженным психоэмоциональным напряжением отмечаются отчетливые признаки дисрегуляции в иммунных показателях. Доказательством высказанного предположения служит снижение эффекторного потенциала Т-звена при усилении функциональных резервов натуральных киллеров на фоне повышения иммуносупрессивного воздействия регуляторных Т-лимфоцитов. Обращает на себя внимание и факт повышения доли HLA-DR<sup>-</sup> моноцитов периферической крови, для которых характерна функция супрессии иммунного ответа. При этом растет число моноцитов с определяемой экспрессией TLR9 – внутриклеточного рецептора первичного распознавания немети-



**Рисунок 1. Результаты анкетирования студентов 6 курса ВУЦ и ЛПФ по методике Спилберга–Ханина для определения степени ситуативной тревожности**

Figure 1. The results of a survey of 6<sup>th</sup> year students of the University and LPF using the Spielberger–Khanin method to determine the degree of situational anxiety



**Рисунок 2. Результаты анкетирования студентов 6 курса ВУЦ и ЛПФ по методике Спилберга–Ханина для определения степени личностной тревожности**

Figure 2. The results of a survey of students of the 6<sup>th</sup> year of the University and LPF using the Spielberger–Khanin method to determine the degree of personal anxiety

лированной CpG-последовательности ДНК. Известно, что TLR9 распознает не только бактерии и вирусы, но и служит важнейшим рецептором для ответа на молекулярные фрагменты, ассоциированные с повреждениями собственных структур, что позволяет полагать его участие в генезе аутоиммунного воспаления [13]. Выявленные дисрегуляторные проявления иммунной системы у студентов лечебного факультета в сравнении с выпускниками ВУЦ согласуются и с характеристикой их клинического статуса. Так, несмотря на то, что инфекционные проявления в виде острых респираторных инфекций регистрировались в равной степени в обеих группах наблюдения и не выходили за пределы среднестатистического уровня практически здоровых [9], у трети студентов лечебного факультета развились осложнения, потребовавшие применения антибиотиков, тогда как подобные состояния выявлены лишь у троих из 34 студентов ВУЦ.

## Заключение

Таким образом, период психологической подготовки к старту профессиональной деятельности в медицинском вузе имеет отличия в зависимости от особенностей учебного процесса и более успешен для шестикурсников ВУЦ. У студентов ЛПФ в сравнении с военными студентами-медиками в большей степени выражено психоэмоциональное напряжение, что находит свое отражение в формировании признаков дисрегуляции иммунной системы. Необходима разработка мероприятий для своевременного выявления доклинических изменений адаптационного потенциала как психологического, так и иммунологического порядка.

Исследование не имело спонсорской поддержки.

## Список литературы / References

1. Андреевская М.В., Лаба Д.В., Ходулин В.В. Физиологические и психофизиологические аспекты деятельности студентов медицинского вуза // Профилактическая медицина – 2019: сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Санкт-Петербург, 14-15 ноября 2019 года. Часть 1. СПб.: Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, 2019. С. 29-33. [Andreevskaya M.V., Laba D.V., Khodulin V.V. Physiological and psychophysiological aspects of the activities of medical university students. Preventive medicine – 2019 : collection of scientific papers of the All-Russian scientific and practical conference with international participation]. St. Petersburg, November 14-15, 2019. Part 1]. St. Petersburg: I.I. Mechnikov Northwestern State Medical University, 2019, pp. 29-33.
2. Бергис Т.А., Екимова Ю.Н. Особенности стрессоустойчивости студентов медицинского колледжа г. Тольятти // Балканское научное обозрение, 2019. Т. 3, № 2 (4). С. 83- 85. [Bergis T.A., Ekimova Yu.N. Features of stress resistance of students of the Tolyatti Medical College. *Balkanskoe nauchnoe obozrenie = Balkan Scientific Review*, 2019, Vol. 3, no. 2 (4), pp. 83-85. (In Russ.)]
3. Бухарина Т.Л., Аверин В.А. Психолого-педагогические аспекты медицинского образования. Екатеринбург: Научно-издательский совет Уральского отделения Российской академии наук, 2002. 405 с. [Bukharina T.L., Averin V.A. Psychological and pedagogical aspects of medical education ]. Yekaterinburg: Scientific and Publishing Council of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 2002. 405 p.
4. Величковская С.Б. Психологические трудности студентов в учебном процессе и возможности их преодоления // Вестник Московского государственного лингвистического университета. Образование и педагогические науки, 2018. № 2 (796). С. 212-224. [Velichkovskaya S.B. Psychological difficulties of students in the educational process and the possibilities of overcoming them. *Vestnik Moskovskogo gosudarstvennogo lingvisticheskogo universiteta. Obrazovanie i pedagogicheskie nauki = Bulletin of the Moscow State Linguistic University. Education and pedagogical sciences*, 2018, no. 2 (796), pp. 212- 224. (In Russ.)]
5. Городецкая И.В., Коновалова Н.Ю., Захаревич В.Г. Исследование ситуативной и личностной тревожности студентов // Вестник ВГМУ, 2019. Т. 18, № 5. С. 120-127. [Gorodetskaya I.V., Konovalova N.Yu., Zakharevich V.G. The study of situational and personal anxiety of students. *Vestnik VGMU = Bulletin of VSMU*, 2019, Vol. 18, no. 5, pp. 120-127. (In Russ.)]
6. Заболотная Г. К вопросу об успешности адаптации студентов медицинского вуза// Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, 2012. Т. XIX, № 4. С. 17-20. [Zabolotnaya G. On the issue of successful

adaptation of medical university students. *Uchenye zapiski SPbGMU im. akad. I. P. Pavlova = Scientific notes of St. Petersburg State I. Pavlov Medical University*, 2012, Vol. XIX, no. 4, pp. 17-20. (In Russ.)]

7. Зайцева Н.С., Сизякина Л.П. Роль факторов врожденного иммунитета в формировании адаптационных реакций при стрессе // *Иммунология*, 2021. Т.42, № 3. С. 270-276. [Zaitseva N.S., Sizyakina L.P. The role of factors of innate immunity in the formation of adaptive reactions under stress. *Immunologiya = Immunologiya*, 2021, Vol. 42, no. 3, pp. 270-276. (In Russ.)]

8. Зуйкова Е.Г., Бушма Т.В., Липовка А.Ю. Изучение стрессоустойчивости студентов в учебной деятельности // *Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения*, 2019. Т. 14, № 2. С. 759-765. [Zuikova E.G., Bushma T.V., Lipovka A.Yu. Studying the stress resistance of students in educational activities. *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. 2, pp. 759-765. (In Russ.)]

9. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2020 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2021. [On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2020: State report]. М.: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, 2021.

10. Практикум по психологии состояний; учеб пособие / под ред. проф. О.А. Прохорова. СПб.: Речь, 2004. 480 с. [Workshop on the psychology of states; textbook / ed. Prof. O.A. Prokhorova]. St. Petersburg: Rech, 2004. 480 p.

11. Прохоренко И.О., Германова В.Н., Сергеев О.С. Стресс и состояние иммунной системы в норме и патологии // *Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»*, 2017. № 1. С. 82-90. [Prokhorenko I.O., Germanova V.N., Sergeev O.S. Stress and the state of the immune system in norm and pathology. *Vestnik meditsinskogo instituta "REAVIZ" = Bulletin of the Medical Institute "REAVIZ"*, 2017, no. 1, pp. 82-90. (In Russ.)]

12. Тананакина Т.П., Лысенко Е.А., Паринов Р.А. Оценка адаптационных возможностей юношей студентов медицинского вуза, обучающихся в разных социально-экономических условиях // *Биология и интегративная медицина*, 2021. Т. 6, № 53. С. 341-349. [Tananakina T.P., Lysenko E.A., Parinov R.A. Assessment of the adaptive capabilities of young medical university students studying in different socio-economic conditions. *Biologiya i integrativnaya meditsina = Biology and Integrative Medicine*, 2021, Vol. 6, no. 53, pp. 341-349. (In Russ.)]

13. Торшин И.Ю., Громова О.А., Лила А.М. Толл-подобные рецепторы как компонент патофизиологии остеоартрита: противовоспалительное, анальгетическое и нейропротекторное действие // *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*, 2021. Т. 13, № 4. С. 123-129. [Torshin I.Yu., Gromova O.A., Lila A.M. Toll-like receptors as a part of osteoarthritis pathophysiology: anti-inflammatory, analgesic and neuroprotective effects. *Nevrologiya, neyropsikhiatriya, psikhosomatika = Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*, 2021, Vol. 13, no. 4, pp. 123-129. (In Russ.)]

14. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Ярилин А.А. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы: руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. [Khaitov R.M., Pinegin B.V., Yarilin A.A. Guide to clinical immunology. diagnosis of immune system disorders: a guide for physicians]. Moscow: GEOTAR-Media, 2009.

15. Dhabhar F.S. Effects of stress on immune function: the good, the bad, and the beautiful. *Immunol. Res.*, 2014, Vol. 58, pp. 193-210.

---

**Авторы:**

**Андреева И.И.** – д.м.н., доцент, профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

**Authors:**

**Andreeva I.I.**, PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Professor of the Department of Clinical Immunology and Allergology, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

**Уразмамбетов Р.Т.** — аспирант кафедры клинической иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

**Urazmambetov R.T.**, Postgraduate Student, Department of Clinical Immunology and Allergology, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

**Чеботов С.А.** — аспирант кафедры клинической иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

**Chebotov S.A.**, Postgraduate Student, Department of Clinical Immunology and Allergology, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

---

Поступила 31.03.2024  
Отправлена на доработку 03.04.2024  
Принята к печати 25.04.2024

Received 31.03.2024  
Revision received 03.04.2024  
Accepted 25.04.2024



## ПРИЗНАКИ ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ У ДЕТЕЙ С РАССТРОЙСТВАМИ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА

Чудакова Ю.М.<sup>1</sup>, Никитина С.Г.<sup>2</sup>, Балакирева Е.Е.<sup>2</sup>,  
Шмарин В.В.<sup>1,3</sup>, Салимова Т.А.<sup>1,4</sup>, Мартынов А.В.<sup>1</sup>, Шмарина Г.В.<sup>1,5</sup>,  
Костюк С.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия

<sup>3</sup> ФГАОУ «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова»  
Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

<sup>4</sup> ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет», Москва, Россия

<sup>5</sup> ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва, Россия

**Резюме.** Расстройства аутистического спектра (РАС) – это гетерогенная группа нарушений развития психики и нервной системы. Пациенты с РАС характеризуются нарушениями коммуникативной, когнитивной сфер и навязчивым поведением. Патогенез и этиология РАС до сих пор не ясны. Согласно литературным данным, пациенты, страдающие РАС, имеют не только психические, но и соматические нарушения, в том числе и изменения иммунной системы.

Целью настоящей работы было исследование концентраций цитокинов в плазме крови детей с РАС и оценка уровня экспрессии провоспалительных генов в мононуклеарах периферической крови.

В клиническую группу вошел 71 ребенок в возрасте 4–12 лет с диагнозом «РАС» (F84.02). Пациенты набрали более 36 баллов по шкале оценки детского аутизма (CARS). В контрольную выборку вошли 27 условно здоровых детей того же возраста.

В данном исследовании использовались следующие методы: выделение мононуклеаров из гепаринизированной периферической крови центрифугированием в градиенте плотности фиколла-верографина, оценка концентрации цитокинов с использованием коммерчески доступных иммуноферментных наборов, выделение тотальной РНК, обратная транскрипция с использованием случайных гексапраймеров, полимеразная цепная реакция в реальном времени с использованием интеркалирующего красителя SYBR Green.

Концентрация провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-17A в плазме периферической крови детей с РАС была статистически значимо повышена в сравнении с контрольной выборкой. При этом концентрация противовоспалительного цитокина IL-10 у пациентов с РАС была в 3,6 раза ниже в сравнении с контрольной выборкой ( $p < 0,001$ ).

### Адрес для переписки:

Чудакова Юлия Михайловна  
ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени  
академика Н.П. Бочкова»  
115478, Россия, Москва, ул. Москворечье, 1.  
Тел.: 8 (915) 472-17-78.  
E-mail: julia.chudakova@yandex.ru

### Address for correspondence:

Chudakova Yulia M.  
Research Centre For Medical Genetics  
1 Moskvorechye St  
Moscow  
115478 Russian Federation  
Phone: +7 (915) 472-17-78.  
E-mail: julia.chudakova@yandex.ru

### Образец цитирования:

Ю.М. Чудакова, С.Г. Никитина, Е.Е. Балакирева,  
В.В. Шмарин, Т.А. Салимова, А.В. Мартынов,  
Г.В. Шмарина, С.В. Костюк «Признаки иммунных  
нарушений у детей с расстройствами аутистического  
спектра» // Российский иммунологический журнал,  
2024. Т. 27, № 4. С. 819–824.  
doi: 10.46235/1028-7221-16837-IAI

© Чудакова Ю.М. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

### For citation:

Yu. M. Chudakova, S. G. Nikitina, E. E. Balakireva,  
V. V. Shmarin, T. A. Salimova, A. V. Martynov, G. V. Shmarina,  
S. V. Kostyuk “Immune alterations in children with autism  
spectrum disorders”, Russian Journal of Immunology/  
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4,  
pp. 819–824.  
doi: 10.46235/1028-7221-16837-IAI

© Chudakova Yu. M. et al., 2024

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16837-IAI

Уровень экспрессии генов NF-κB1, IL1β, IL8 и TNFα на уровне РНК в мононуклеарах периферической крови был значимо повышен в 2,8, 2,5, 4,8 и 4,2 раза у пациентов с РАС в сравнении с контрольной выборкой (все  $p < 0,01$ ).

Полученные результаты свидетельствуют о значимом повышении концентраций провоспалительных цитокинов (IL-1β, IL-8, IL-17A) в плазме крови и понижении концентраций противовоспалительных цитокинов (IL-10) у больных РАС по сравнению с контрольной группой.

*Ключевые слова:* цитокины, мононуклеары, экспрессия, расстройства аутистического спектра, дети, иммунная дисфункция, NF-κB1

## IMMUNE ALTERATIONS IN CHILDREN WITH AUTISM SPECTRUM DISORDERS

Chudakova Yu.M.<sup>a</sup>, Nikitina S.G.<sup>b</sup>, Balakireva E.E.<sup>b</sup>, Shmarin V.V.<sup>a,c</sup>,  
Salimova T.A.<sup>a,d</sup>, Martynov A.V.<sup>a</sup>, Shmarina G.V.<sup>a,e</sup>, Kostyuk S.V.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Research Centre For Medical Genetics, Moscow, Russian Federation

<sup>b</sup> Mental Health Research Center, Moscow, Russian Federation

<sup>c</sup> I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

<sup>d</sup> MIREA – Russian Technological University, Moscow, Russian Federation

<sup>e</sup> P. Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** Autism spectrum disorders (ASD) are a heterogeneous group of mental and nervous system disorders. Patients with ASD are characterized by communication and cognitive impairments and obsessive behavior. The pathogenesis and etiology of ASD are still unclear. According to the literature, patients suffering from ASD have not only mental, but also somatic disorders, including changes in the immune system. The aim of this work was to study the concentration of cytokines in the blood plasma of children with ASD and the level of expression of proinflammatory genes in peripheral blood mononuclear cells. The clinical group included 71 children aged 4-12 years with a diagnosis of ASD (F84.02). Patients scored more than 36 on the Childhood Autism Rating Scale (CARS). The control sample included 27 apparently healthy children of the same age. The following methods were used in this study: isolation of mononuclear cells from heparinized peripheral blood, Ficoll-Vero-grafin density gradient centrifugation, evaluation of cytokine blocks using commercially available enzyme immunoassay kits, isolation of random total RNA, reverse transcription using hexaprimers, and real-time polymerase chain reaction using intercalating dye SYBR Green. The concentration of proinflammatory cytokines IL-1β, IL-8, and IL-17A in the peripheral blood plasma of children with ASD was statistically significantly increased compared to the control sample. Moreover, the concentration of the anti-inflammatory cytokine IL-10 in patients with ASD was 3.6 times lower compared to the control sample ( $p < 0.001$ ). The level of expression of the NF-κB1, IL1β, IL8 and TNFα genes at the RNA level in peripheral blood mononuclear cells was increased by 2.8, 2.5, 4.8 and 4.2 times in patients with ASD compared to the control sample (all  $p < 0.01$ ). The results obtained indicate an increase in the concentration of proinflammatory cytokines (IL-1β, IL-8, IL-17A) in the blood plasma and a decrease in the concentration of anti-inflammatory cytokines (IL-10) in patients with ASD compared to the control sequence.

*Keywords:* cytokines, mononuclear cells, expression, autism spectrum disorders, children, immune dysfunction, NF-κB1

## Введение

Расстройство аутистического спектра (РАС) – это группа нарушений нервно-психического развития, характеризующаяся трудностями в социальном общении и взаимодействии, а также повторяющимися моделями поведения и интересов. Распространенность заболевания в мире

на 2020 оценивалась как 1 пациент с РАС на 59 человек [5].

Этиология и механизмы патогенеза РАС до сих пор до конца не ясны, так как исследования в этой области осложняются гетерогенностью заболевания. Этиопатогенез РАС связывают с дисфункцией иммунной системы, нарушением активности митохондрий и окислительным

стрессом [6]. Посмертные исследования тканей мозга пациентов с РАС выявили признаки нейровоспаления: активация микроглии, повышение экспрессии генов провоспалительных факторов [7, 14]. Кроме того, в плазме и сыворотке пациентов с РАС было обнаружено повышение концентрации провоспалительных цитокинов, положительно коррелировавшее с выраженностью поведенческих нарушений [8, 12]. Современные исследования показали повышенную частоту встречаемости аллергических и аутоиммунных заболеваний у пациентов с РАС [13, 15].

Характерной особенностью РАС является истощение антиоксидантных систем и развитие хронического оксидативного стресса [1, 6]. На клеточном уровне избыточная продукция свободных радикалов может приводить к активации транскрипционного фактора NF-κB1 и повышению экспрессии провоспалительных цитокинов [10].

Целью данной работы явилось исследование уровня экспрессии провоспалительных цитокинов и транскрипционного фактора NF- B1 в мононуклеарах периферической крови пациентов с тяжелым течением РАС.

## Материалы и методы

Пациенты. В исследовании принимали участия пациенты (n = 71) с диагнозом «РАС» (F84.02) в возрасте 4-12 лет, наблюдавшиеся в стационаре ФГБНУ «Научный центр психического здоровья».

Все пациенты были охарактеризованы с использованием международных шкал AMSE (Исследование психического статуса при аутизме) [2], CARS (шкала оценки детского аутизма) [11], SCQ (анкета общения [9]). Для участия в исследовании отбирались пациенты с тяжелым течением РАС, набравшие по шкале CARS более 36 баллов, без нарушений нервной системы известной этиологии (синдром Ретта, туберозный склероз, синдром Мартина—Белл). Контрольная

группа включала 27 условно здоровых детей соответствующего возраста, прошедших физический осмотр, ЭЭГ и анализ крови. Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБНУ МГНЦ.

Выделение мононуклеаров периферической крови. Забор венозной крови в количестве 4 мл осуществлялся с использованием пробирок с антикоагулянтом (Li-Нeparin).

Мононуклеары периферической крови (МПК) выделяли по стандартной методике, центрифугированием в градиенте плотности фикола-верографина (1,077 г/см<sup>3</sup>) (НПП «ПанЭко», Россия).

Исследование концентрации цитокинов. Забор венозной крови в количестве 4 мл осуществлялся с использованием пробирок с антикоагулянтом (K<sub>3</sub>-ЭДТА). В образцах плазмы определяли содержание цитокинов (IL-1β, TNFα, IL-8, IL-17A, IL-10 и IFNγ) с использованием коммерчески доступных иммуноферментных наборов (ООО «Цитокин», Россия).

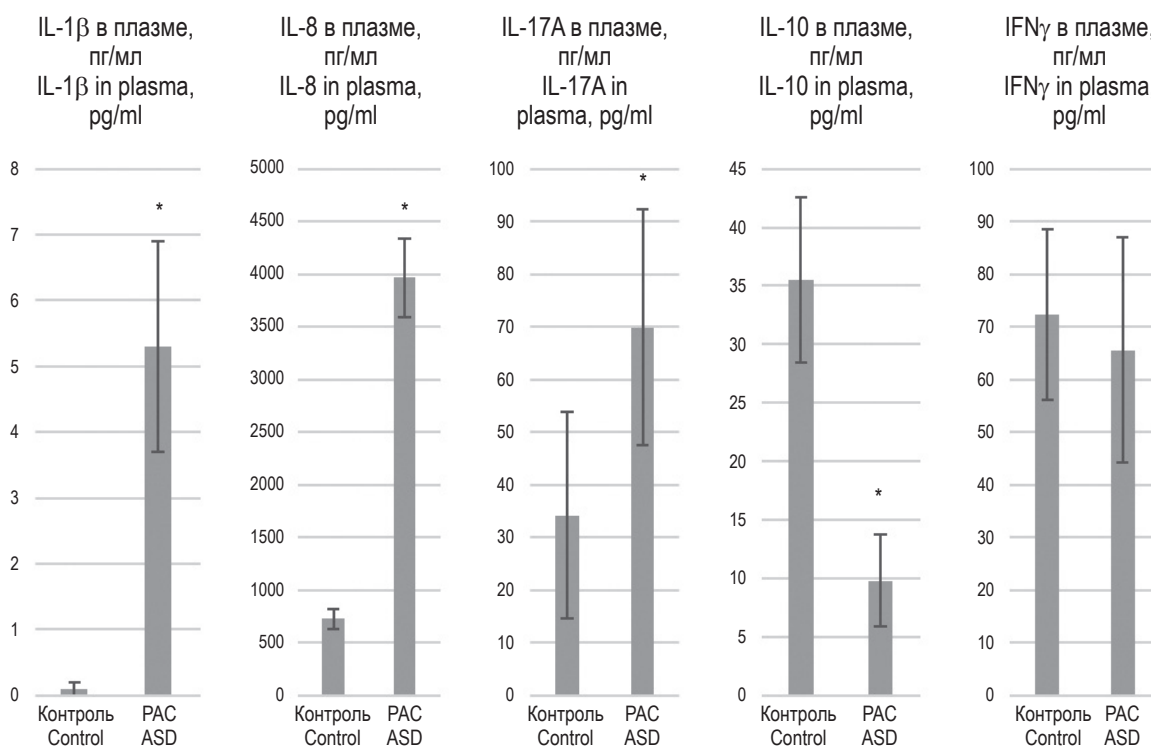
Оценка уровня экспрессии генов транскрипционных факторов и провоспалительных цитокинов в МПК. Тотальная РНК выделялась с использованием набора RNeasy Mini kit Qiagen (Германия) по стандартной методике. Реакцию обратной транскрипции проводили в амплификаторе «Терцик» (ООО «ДНК-Технология», Россия) с использованием случайных гексапраймеров. ПЦР в реальном времени проводили в трех повторах в амплификаторе Quant Studio 5 (Applied Biosystems, США) с использованием интеркалирующего красителя SYBR Green. В качестве референсного гена был выбран ген *TBP*. Анализ результатов проводили с использованием калибровочной кривой. Использованные в исследовании праймеры представлены в таблице 1.

Статистический анализ данных проводился с использованием MS Excel, Statistica 6.0 и StatGraph с помощью U-критерия Манна—Уитни. Различия считались статистически значимыми при p < 0,05.

ТАБЛИЦА 1. ПРАЙМЕРЫ, ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ В ИССЛЕДОВАНИИ

TABLE 1. PRIMERS USED IN THE STUDY

Ген Gene	Праймеры Primers	
	F	R
<i>IL1β</i>	TTCGACACATGGGATAACGAGG	TTTTTGCTGTGAGTCCCGGAG
<i>IL8</i>	GCACCGACTTTGGAGTTGG	GGACCCCTCAAACGACTGT
<i>TNFα</i>	CAGCCTCTTCTCCTTCCTGAT	GCCAGAGGGCTGATTAGAGA
<i>NF-κB1</i>	CAGATGGCCCATACCTTCAAAT	CGGAAACGAAATCCTCTCTGTT
<i>TBP</i>	GCCCGAAACGCCGAATAT	CCGTGGTTTCGTGGCTCTCT

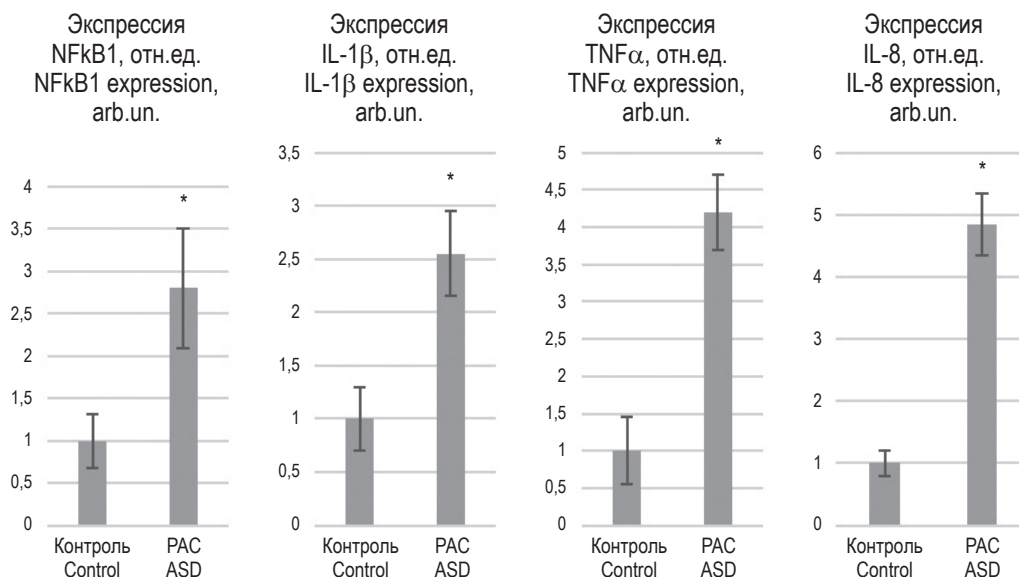


**Рисунок 1. Концентрации цитокинов в плазме здорового контроля и пациентов с PAC**

Примечание. \* –  $p < 0,005$  согласно критерию Манна–Уитни. Данные представлены в виде среднего значения  $\pm$  стандартное отклонение.

Figure 1. Cytokine concentrations in plasma of healthy controls and ASD patients

Note. \*,  $p < 0.005$  according to the Mann–Whitney test. Data are presented as mean  $\pm$  standard deviation.



**Рисунок 2. Экспрессия NF-κB1 и провоспалительных цитокинов IL-1β, IL-8 и TNFα в МПК здорового контроля и детей с PAC**

Примечание. \* –  $p < 0,01$  согласно критерию Манна–Уитни. Данные представлены в виде среднего значения  $\pm$  стандартное отклонение.

Figure 2. Expression of NF-κB1 and pro-inflammatory cytokines IL-1β, IL-8 and TNFα in peripheral blood mononuclear cells of healthy controls and children with ASD

Note. \*,  $p < 0.01$  according to the Mann–Whitney test. Data are presented as mean  $\pm$  standard deviation.



## Результаты и обсуждение

На рисунке 1 представлены результаты исследования концентрации цитокинов в образцах плазмы пациентов с РАС и условно здорового контроля. У детей с РАС уровни провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-17A были статистически значимо выше соответствующих показателей в контрольной группе. В то же время концентрация противовоспалительного цитокина IL-10 в группе с РАС была в 3,6 раза ниже, чем у детей из контрольной группы ( $p < 0,001$ ).

Группы детей с РАС и здорового контроля не отличались между собой по уровню IFN $\gamma$ . Концентрация TNF $\alpha$  в образцах плазмы большинства участников исследования были ниже порога чувствительности метода. Корреляционный анализ не выявил зависимости между значениями показателей тяжести заболевания CARS и уровнем цитокинов.

На рисунке 2 представлены результаты исследования уровней экспрессии транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B1 и генов провоспалительных

цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-8 и TNF $\alpha$  в МПК пациентов РАС и здорового контроля. Как видно на рисунке, уровень РНК-транскриптов NF- $\kappa$ B1 у детей с РАС был в 2,8 раза выше соответствующего показателя в контрольной группе ( $p < 0,01$ ). Сходным образом в группе детей с РАС содержание РНК-транскриптов провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-8 и TNF $\alpha$  в 2,5, 4,8 и 4,2 раза превышало соответствующие параметры в группе контроля (все  $p < 0,01$ ).

## Заключение

Полученные нами результаты подтверждают гипотезу о роли иммунной системы в патогенезе РАС. Недавние исследования выявили признаки нарушения целостности гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) у пациентов с РАС [4]. Таким образом, есть все основания полагать, что провоспалительные цитокины и МПК с высокой экспрессией провоспалительных факторов могут проникать в ЦНС из системного кровотока и усиливать нейровоспаление за счет активации клеток микроглии [3].

## Список литературы / References

1. Никитина С.Г., Ершова Е.С., Чудакова Ю.М., Шмарина Г.В., Вейко Н.Н., Мартынов А.В., Костюк С.Э., Модестов А.А., Рожнова Н.М., Ижевская В.Л., Костюк С.В., Симашкова Н.В. Окислительные повреждения ДНК клеток периферической крови и внеклеточной ДНК плазмы крови как показатель тяжести окислительного стресса при расстройствах аутистического спектра и шизофрении у детей // Психиатрия, 2021. Т. 19. С. 15-25. [Nikitina S.G., Ershova E.S., Chudakova J.M., Shmarina G.V., Veiko N.N., Martynov A.V., Kostuk S.E., Modestov A.A., Rozhnova T.M., Izhevskaya V.L., Kostuk S.V., Simashkova N.V. Oxidative DNA damage of peripheral blood cells and blood plasma cell-free DNA as an indicator of the oxidative stress level in children with autism spectrum disorders and schizophrenia. *Psikhiatriya = Psychiatry*, 2021, Vol. 19, no. 4, pp. 15-25. (In Russ.)]
2. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5), Fifth Edition. *Amer. Psychiatric Pub. Inc.*, 2022. 50 p. Available at: <https://www.psychiatry.org/psychiatrists/practice/dsm>.
3. Arenella M., Matuleviciute R., Tamouza R., Leboyer M., McAlonan G., Bralten J., Murphy D. Immunogenetics of autism spectrum disorder: A systematic literature review. *Brain. Behav. Immun.*, 2023, Vol. 114, pp. 488-499.
4. Cheng Y., Desse S., Martinez A., Worthen R.J., Jope R.S., Beurel E. TNF $\alpha$  disrupts blood brain barrier integrity to maintain prolonged depressive-like behavior in mice. *Brain. Behav. Immun.*, 2018, Vol. 69, pp. 556-567.
5. Chiarotti F., Venerosi A. Epidemiology of autism spectrum disorders: a review of worldwide prevalence estimates since 2014. *Brain Sci.*, 2020, Vol. 10, 274. doi: 10.3390/brainsci10050274.
6. Hallmayer J., Cleveland S., Torres A., Phillips J., Cohen B., Torigoe T., Miller J., Fedele A., Collins J., Smith K., Lotspeich L., Croen L.A., Ozonoff S., Lajonchere C., Grether J.K., Risch N. Genetic heritability and shared environmental factors among twin pairs with autism. *Arch. Gen. Psychiatry*, 2011, Vol. 68, pp. 1095-102.
7. Lee A.S., Azmitia E.C., Whitaker-Azmitia P.M. Developmental microglial priming in postmortem autism spectrum disorder temporal cortex. *Brain. Behav. Immun.*, 2017, Vol. 62, pp. 193-202.
8. Masi A., Glozier N., Dale R., Guastella A.J. The immune system, cytokines, and biomarkers in autism spectrum disorder. *Neurosci. Bull.*, 2017, Vol. 33, pp. 194-204.
9. Moody E.J., Reyes N., Ledbetter C., Wiggins L., DiGuiseppi C., Alexander A., Jackson S., Lee L.-C., Levy S.E., Rosenberg S.A. Screening for Autism with the SRS and SCQ: Variations across Demographic, Developmental and Behavioral Factors in Preschool Children. *J. Autism Dev. Disord.*, 2017, Vol. 47, pp. 3550-3561.
10. Mulero M.C., Huxford T., Ghosh G. NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B, and IKK: Integral Components of Immune System Signaling. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2019, Vol. 1172, pp. 207-226.
11. Scholper E., van Bourgondien M.E., Wellman G.J., Love S.R. (CARS-2) Childhood Autism Rating Scale. *Pro Ed*, 2010.
12. Siniscalco D., Schultz S., Brigida A.L., Antonucci N. Inflammation and neuro-immune dysregulations in autism spectrum disorders. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2018, Vol. 11, pp. 1-14.

13. Takada R., Toritsuka M., Yamauchi T., Ishida R., Kayashima Y., Nishi Y., Ishikawa M., Yamamuro K., Ikehara M., Komori T., Noriyama Y., Kamikawa K., Saito Y., Okano H., Makinodan M. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor-induced macrophages of individuals with autism spectrum disorder adversely affect neuronal dendrites through the secretion of pro-inflammatory cytokines. *Mol. Autism*, 2024, Vol. 15, 10. doi: 10.1186/s13229-024-00589-2.

14. Velmeshev D., Schirmer L., Jung D., Haeussler M., Perez Y., Mayer S., Bhaduri A., Goyal N., Rowitch D.H., Kriegstein A.R. Single-cell genomics identifies cell type-specific molecular changes in autism. *Science*, 2019, Vol. 364, pp. 685-689.

15. Xu G., Snetselaar L.G., Jing J., Liu B., Strathearn L., Bao W. Association of food allergy and other allergic conditions with autism spectrum disorder in children. *JAMA Netw. Open*, 2018, Vol. 1, pp. e180279. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2018.0279.

---

**Авторы:**

**Чудакова Ю.М.** — к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Москва, Россия

**Никитина С.Г.** — к.м.н., старший научный сотрудник отдела детской психиатрии ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия

**Балакирева Е.Е.** — к.м.н., и.о. руководителя отдела, ведущий научный сотрудник отдела детской психиатрии ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия

**Шмарин В.В.** — лаборант-исследователь лаборатории молекулярной биологии ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»; студент 5-го курса ФГАОУ «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

**Салимова Т.А.** — лаборант-исследователь лаборатории молекулярной биологии ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»; студентка ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет», Москва, Россия

**Мартынов А.В.** — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Москва, Россия

**Шмарина Г.В.** — к.м.н., доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»; доцент кафедры биологии медицинского факультета ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва, Россия

**Костюк С.В.** — д.б.н., доцент, заведующий лабораторией молекулярной биологии ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Москва, Россия

---

**Authors:**

**Chudakova Yu.M.**, PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Molecular Biology, Research Centre For Medical Genetics, Moscow, Russian Federation

**Nikitina S.G.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Department of Child Psychiatry, Mental Health Research Center, Moscow, Russian Federation

**Balakiyeva E.E.**, PhD (Medicine), Acting Head of Department, Leading Research Associate, Department of Child Psychiatry, Mental Health Research Center, Moscow, Russian Federation

**Shmarin V.V.**, Research Assistant, Laboratory of Molecular Biology, Research Centre For Medical Genetics; 5<sup>th</sup> year Student, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

**Salimova T.A.**, Research Assistant, Laboratory of Molecular Biology, Research Centre For Medical Genetics; Student, MIREA – Russian Technological University, Moscow, Russian Federation

**Martynov A.V.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Molecular Biology, Research Centre For Medical Genetics, Moscow, Russian Federation

**Shmarina G.V.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Leading Research Associate, Laboratory of Molecular Biology, Research Centre For Medical Genetics; Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Medicine, P. Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

**Kostyuk S.V.**, PhD, MD (Biology), Associate Professor, Head, Laboratory of Molecular Biology, Research Centre For Medical Genetics, Moscow, Russian Federation

---

Поступила 31.03.2024

Отправлена на доработку 03.04.2024

Принята к печати 25.04.2024

---

Received 31.03.2024

Revision received 03.04.2024

Accepted 25.04.2024

# ЭКСПРЕССИЯ КЛЮЧЕВЫХ МОЛЕКУЛ КЛАССИЧЕСКОГО ПУТИ АКТИВАЦИИ ВОСПАЛЕНИЯ В ЛЕЙКОЦИТАХ КРОВИ ДЕТЕЙ С АУТИЗМОМ

Алексеева А.С., Филиппова Ю.Ю., Бурмистрова А.Л.

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

**Резюме.** Расстройства аутистического спектра (РАС) — это сложные нарушения развития нервной системы, причины которых пока до конца не изучены. Исследования показывают, что воспалительные процессы и изменение иммунных функций могут играть важную роль в развитии аутизма. Повышение уровней провоспалительных цитокинов в мозге детей с РАС приводит к негативной регуляции синаптической пластичности, а также к нарушению пролиферации и дифференцировки нейронов через активацию сигнального пути ядерного фактора-каппа-В (NF-κB). Цель работы — анализ уровней мРНК: TLR2, TLR4, MyD88, IκBα, NF-κBp50, NF-κBp65 в лейкоцитах периферической крови детей в сопоставлении со степенью тяжести расстройств аутистического спектра. Обследовано 126 детей в возрасте от 3 до 13 лет, соотношение по полу мальчики : девочки — 4:1, среди которых 45 детей имели типичное нейроразвитие, 81 ребенок — клинически подтвержденный диагноз РАС. По шкале оценки детского аутизма 51 ребенок демонстрировал легкую или умеренную степень тяжести РАС (CARS 29–36 баллов) и 30 детей имели тяжелую степень аутизма (CARS 36–60 баллов). Экспрессию молекул путей передачи воспалительного сигнала определяли в лейкоцитах периферической крови с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени с SYBRGreen. Для сравнения выборок применяли однофакторный дисперсионный анализ с попарными сравнениями по Фриману–Тьюки. Установлено, что в лейкоцитах детей с тяжелым течением РАС значимо снижена экспрессия MyD88 и субъединицы p65 ядерного фактора транскрипции NF-κB, и значимо повышена экспрессия ингибитора NF-κB — IκBα, по сравнению с контрольной группой. В лейкоцитах детей с легким течением РАС обнаружено снижение экспрессии NF-κB p65 на уровне тенденции. При сравнении групп детей с разной степенью тяжести симптомов аутизма (легкий/тяжелый) значимых различий в уровнях мРНК ключевых сигнальных молекул классического пути активации воспаления в лейкоцитах крови не выявлено. Таким образом, в лейкоцитах крови детей с тяжелым течением РАС наблюдается ингибирование экспрессии ключевых молекул классического пути активации воспаления (NF-κB), что приводит к снижению экспрессии провоспалительных цитокинов: IL-1β, IL-18 и IL-2, на фоне повышенной экспрессии ключевого цитокина Th1 — IFNγ.

*Ключевые слова:* ядерный фактор-каппа-В, воспаление, лейкоциты, экспрессия, расстройства аутистического спектра, дети

## Адрес для переписки:

Алексеева Анна Сергеевна  
ФГБОУ ВО «Челябинский государственный  
университет», г. Челябинск, Россия  
454001, Россия, г. Челябинск,  
ул. Братьев Кашириных, 129.  
Телефон: 8 (912) 790-01-70.  
E-mail: 96\_anya@mail.ru

## Address for correspondence:

Anna S. Alekseeva  
Chelyabinsk State University  
129 Bratiev Kashirinykh St  
Chelyabinsk  
454001 Russian Federation  
Phone: +7 (912) 790-01-70.  
E-mail: 96\_anya@mail.ru

## Образец цитирования:

А.С. Алексеева, Ю.Ю. Филиппова, А.Л. Бурмистрова  
«Экспрессия ключевых молекул классического пути  
активации воспаления в лейкоцитах крови детей с  
аутизмом» // Российский иммунологический журнал,  
2024. Т. 27, № 4. С. 825–830.  
doi: 10.46235/1028-7221-16783-EOK

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

## For citation:

A.S. Alekseeva, Yu. Yu. Filippova, A.L. Burmistrova  
“Expression of key molecules of the classical inflammation  
activation pathway in blood leukocytes of autistic children”,  
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskiy  
Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 825–830.  
doi: 10.46235/1028-7221-16783-EOK

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16783-EOK

## EXPRESSION OF KEY MOLECULES OF THE CLASSICAL INFLAMMATION ACTIVATION PATHWAY IN BLOOD LEUKOCYTES OF AUTISTIC CHILDREN

Alekseeva A.S., Filippova Yu.Yu., Burmistrova A.L.

Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

**Abstract.** Autism spectrum disorders (ASD) are complex neurodevelopmental disorders, whose causes are currently not fully understood. Research suggests that inflammation and changes in immune functions may play an important role in the development of autism. Increased levels of proinflammatory cytokines in the brains of autistic children lead to negative regulation of synaptic plasticity, as well as impaired proliferation and differentiation of neurons through activation of the nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) signaling pathway. The purpose of the work is to analyze the levels of mRNA: TLR2, TLR4, MyD88, I $\kappa$ B $\alpha$ , NF- $\kappa$ B p50, NF- $\kappa$ B p65 in peripheral blood leukocytes of children in comparison with the severity of autism spectrum disorders. The study included 126 children aged from 3 to 13 years (the ratio of boys to girls was 4:1): 45 children with typical neurodevelopment, and 81 children with a clinically confirmed diagnosis of autism. According to the Childhood Autism Rating Scale, 51 children had mild to moderate ASD (CARS score: 29-36), and 30 children had severe autism (CARS score: 36-60). The expression of inflammatory signal transduction pathway molecules was determined in peripheral blood leukocytes using real-time polymerase chain reaction with SYBRGreen. To compare the samples, one-way ANOVA and Tukey's test were used. It was found that in leukocytes of children with severe ASD, the expression of the adapter protein MyD88 and the p65 subunit of the nuclear transcription factor NF- $\kappa$ B was significantly reduced, and the expression of the NF- $\kappa$ B inhibitor, I $\kappa$ B $\alpha$ , was significantly increased, compared to the control group. In leukocytes of children with mild ASD, a decrease in NF- $\kappa$ B p65 expression was found at a trend level. When comparing groups of children with different severity of autism symptoms (mild/severe), no significant differences were found in the levels of mRNA of key signaling molecules of the classical inflammation activation pathway in blood leukocytes. Thus, in the blood leukocytes of children with severe ASD, suppression of the expression of key molecules of the classical inflammation activation pathway (NF- $\kappa$ B) is observed, which leads to a decrease in the expression of pro-inflammatory cytokines: IL-1 $\beta$ , IL-18 and IL-2, against the background of increased expression of key cytokine of Th1 cells – IFN $\gamma$ .

*Keywords:* nuclear factor kappa B, inflammation, leukocytes, expression, autism spectrum disorders, children

### Введение

Согласно современным представлениям, адаптацию организма к изменениям окружающей среды и поддержание гомеостаза обеспечивают сложные двунаправленные взаимодействия между иммунной и нервной системами [13]. Эти системы связаны между собой в единое целое посредством множества молекул, таких как нейротрансмиттеры, цитокины, гормоны, их рецепторы и т. д. [14]. Изменения в кооперации иммунной и нервной систем могут играть ключевую роль в патогенезе многих заболеваний, включая психические расстройства, такие как аутизм [3].

Авторами показано, что при расстройствах аутистического спектра (РАС) воспалительное окружение на раннем этапе жизни, включая активацию материнского иммунитета во время беременности, перинатальное системное воспаление и детскую инфекцию, может влиять на нормальное развитие нервной системы. Повы-

шение уровней провоспалительных цитокинов в мозге (прежде всего IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$ ) приводит к негативной регуляции синаптической пластичности и обрезки синапсов клетками микроглии, а также к нарушению пролиферации и дифференцировки нейронов через активацию сигнального пути ядерного фактора-каппа-В (NF- $\kappa$ B) [14].

Наиболее важная и эволюционно консервативная роль NF- $\kappa$ B состоит в регуляции иммунного и воспалительного ответа. У млекопитающих семейство NF- $\kappa$ B включает пять членов: белки p50, p52, p65 (Rel-A), c-Rel и Rel-B, которые образуют гомо- или гетеродимеры и в покоящихся клетках остаются в виде неактивного комплекса с ингибирующими молекулами – белками I $\kappa$ B [5]. Описаны два различных пути передачи сигналов NF- $\kappa$ B: классический путь, активируемый патогенами и медиаторами воспаления через толл-подобные рецепторы (TLRs) и рецепторы



«цитокинов тревоги» – IL-1 и TNF $\alpha$ ; и альтернативный путь, триггером которого, в основном, выступают сигналы развития. Наиболее распространенной формой NF- $\kappa$ B, запускаемой патологическими стимулами по классическому пути, является гетеродимер NF- $\kappa$ B p65:p50. Непропорциональное увеличение экспрессии субъединицы NF- $\kappa$ B p65 может приводить к последующей индукции генов провоспалительных цитокинов, хемокинов, молекул адгезии и выраженной воспалительной реакции [5].

Результаты оценки нарушений в экспрессии сигнальных молекул классического пути активации NF- $\kappa$ B, как в мозге, так и в клетках периферической иммунной системы у лиц с РАС носят дискуссионный характер [7, 8, 9] и требуют дальнейшего изучения.

**Цель работы** – анализ уровней мРНК: TLR2, TLR4, MyD88, NF- $\kappa$ B p50, NF- $\kappa$ B p65, I $\kappa$ B $\alpha$  в лейкоцитах периферической крови детей в сопоставлении со степенью тяжести расстройств аутистического спектра.

## Материалы и методы

Материалом для исследования служили образцы периферической крови 126 детей дошкольного и школьного возраста (от 3 до 13 лет), с преобладанием мальчиков (соотношение по полу мальчики : девочки – 4:1), среди которых 45 детей имели типичное нейроразвитие (ТРД), а 81 ребенок – клинически подтвержденные диагнозы по МКБ-10: F84.0 ранний детский аутизм, F84.1 атипичный аутизм и F83.1 задержка психоречевого развития с аутистически подобным поведением. У всех детей с РАС, перед взятием биологического материала, психотерапевтами были определены клинико-динамические характеристики тяжести состояния с использованием шкал оценки детского аутизма (Childhood Autism Rating Scale, CARS), и высоко функционального детского аутизма (Childhood Autism Rating Scale High Functional, CARS-HF). В результате оценки 51 ребенок демонстрировали легкую или умеренную степень РАС (CARS от 29 до 36 баллов) и 30 детей имели тяжелую степень аутизма (CARS от 36 до 60 баллов). Набор в исследование осуществлялся после подписания родителями или законными представителями детей информированного согласия.

В работе проведена оценка уровней мРНК: TLR2, TLR4, гена первичного ответа миелоидной дифференцировки 88 (MyD88), NF- $\kappa$ Bp50, NF- $\kappa$ Bp65, I $\kappa$ B $\alpha$  в лейкоцитах периферической крови детей с РАС и ТРД. На первом этапе из образцов периферической венозной крови путем центрифугирования и последующего лизиса эритроцитов выделяли лейкоциты, из которых

на втором этапе методом фенол-хлороформной экстракции получали суммарную РНК. Оценку качества выделенной РНК, проведение реакции обратной транскрипции мРНК в кДНК и полимеразной цепной реакции в реальном времени с SYBRGreen осуществляли согласно инструкциям производителей, как описано ранее [1]. Первичные нуклеотидные последовательности праймеров, используемых в работе, были взяты из статей: Malvandi A.M. с соавт. (2011), Huang S. и соавт. (2023), Dominska K. и соавт. (2017) [4, 6, 10]. Экспрессию генов-мишеней нормализовали по «гену домашнего хозяйства» – гену глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (GAPDH). Нуклеотидные последовательности праймеров для GAPDH, а также параметры программ обратной транскрипции и амплификации взяты из статьи Plotnikova M.A. и соавт. (2016) [12]. Уровень мРНК рассчитывали в относительных единицах по методу 2 ( $-\Delta\Delta CT$ ) с учетом эффективности реакции.

Статистическую обработку результатов исследования проводили в пакете PAST (v. 3.15). Для приведения значений к нормальному распределению данные преобразовывали с помощью трансформации Бокса–Кокса. После этого для всех показателей проводили наивную ретрансформацию и рассчитывали средние значения и 95% доверительный интервал (ДИ). Для сравнения выборок применяли однофакторный дисперсионный анализ с апостериорными парными сравнениями по Фриману–Тьюки. Во всех случаях эффекты считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ . При уровне значимости  $0,05 < p \leq 0,10$  результаты рассматривали как тенденции.

## Результаты и обсуждение

В работе проведена оценка относительных уровней мРНК ключевых сигнальных молекул классического пути активации воспаления (NF- $\kappa$ B), в лейкоцитах детей в зависимости от наличия/отсутствия РАС и степени его тяжести. Данные представлены в таблице 1 и на рисунке 1.

Полученные нами результаты свидетельствуют, что в лейкоцитах детей с РАС нарушена экспрессия некоторых сигнальных молекул классического пути активации воспаления с участием фактора транскрипции NF- $\kappa$ B. Выраженность изменений уровней мРНК ассоциирована с тяжестью симптомов аутизма.

Так, в периферических иммунных клетках детей с легкой степенью РАС, на фоне неизменной экспрессии ключевых TLRs – TLR2 и TLR4, принимающих сигнал активации от различных молекулярных образцов (включая микроорганизмы и молекулы клеточного повреждения тка-

ТАБЛИЦА. УРОВНИ мРНК (у. е.) TLR2, TLR4, MYD88, IκBα И NF-κB (СУБЪЕДИНИЦ P50 И P65) В ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ДЕТЕЙ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ АУТИЗМА, СРЕДНЕЕ (95% ДИ)

TABLE. mRNA LEVELS (c. u.) OF TLR2, TLR4, MYD88, IκBα AND NF-κB (P50 AND P65 SUBUNITS) IN PERIPHERAL BLOOD LEUKOCYTES OF CHILDREN WITH DIFFERENT SEVERITY OF AUTISM, M (95% CI)

Показатель Indicator	Нормотипичное развитие Normal development (n = 45)	Легкий аутизм Mild autism (n = 51)	Тяжелый аутизм Severe autism (n = 30)	one-way ANOVA	
				F (df <sub>1</sub> -df <sub>2</sub> )	p
	1	2	3		
TLR2	160,05 (139,18-182,12)	147,91 (127,89-169,52)	155,89 (127,21-188,75)	0,277 (2-123)	0,759
TLR4	85,61 (73,34-98,09)	86,79 (76,49-97,05)	84,73 (70,51-100,44)	0,0813 (2-123)	0,922
MyD88	25,73 (22,31-29,33)	19,42 (16,13-23,22)	19,01 (14,41-24,26) p <sub>3-1</sub> = 0,034	3,488 (2-123)	0,034
IκBα	51,54 (44,38-59,48)	60,92 (51,26-72,02)	86,71 (70,67-102,98) p <sub>3-1</sub> = 0,006	4,902 (2-123)	0,009
NF-κB p50	79,94 (71,95-90,25)	77,67 (68,97-88,56)	78,19 (66,45-91,73)	0,835 (2-123)	0,436
NF-κB p65	232,20 (182,57-292,96)	145,27 (118,55-180,89) p <sub>2-1</sub> = 0,082	129,21 (101,12-167,34) p <sub>3-1</sub> = 0,013	4,584 (2-123)	0,012

Примечание. у. е. – условные единицы; ДИ – доверительный интервал. p<sub>2-1</sub> – различия на уровне тенденции между детьми с легким аутизмом и детьми с типичным нейроразвитием (0,05 < p ≤ 0,10); p<sub>3-1</sub> – значимые различия между детьми с тяжелым аутизмом и детьми с типичным нейроразвитием.

Note. c. u., conventional units; CI, confidence interval. p<sub>2-1</sub>, differences at the trend level between the indicators of children with mild autism and children with typical neurodevelopment (0.05 < p ≤ 0.10); p<sub>3-1</sub>, significant differences between the indicators of children with severe autism and children with typical neurodevelopment (p ≤ 0.05).

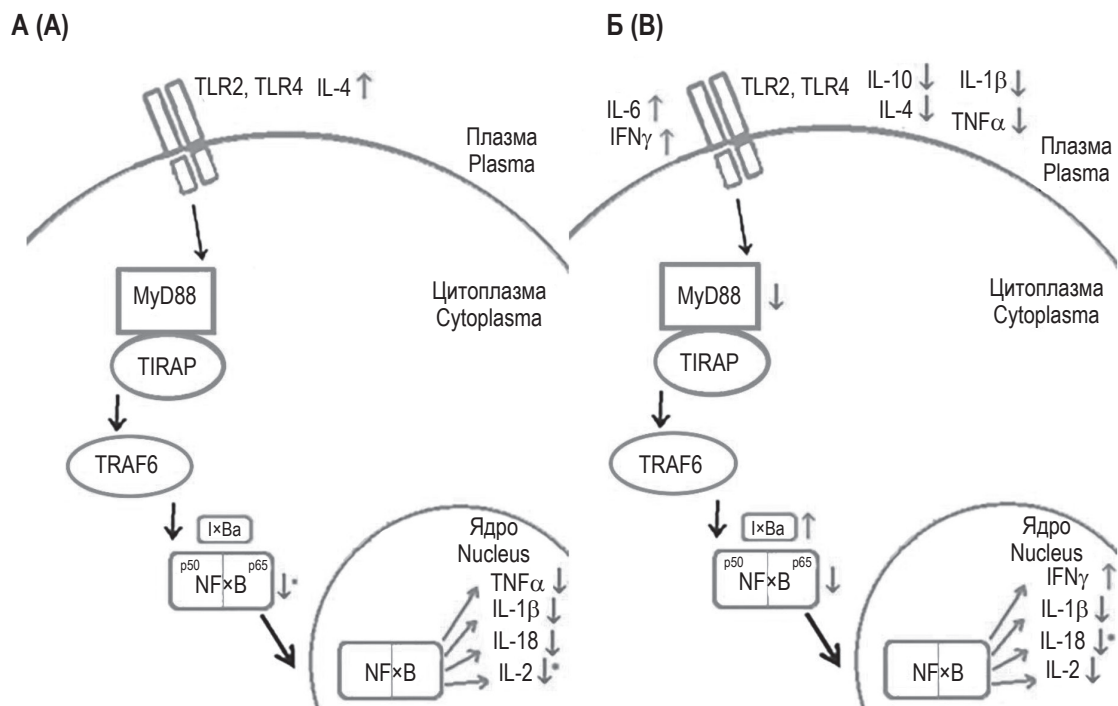
ни организма), на уровне тенденции показаны низкие уровни мРНК субъединицы p65 фактора транскрипции NF-κB, по сравнению с аналогичными показателями ТРД (табл. 1). Как нами было установлено ранее, такое снижение основного белка-активатора воспаления находят отражение в значимом снижении уровней экспрессии провоспалительных цитокинов: TNFα, IL-1β, IL-18 и IL-2, в лейкоцитах детей с легкой формой РАС [2]. Схематичное изображение наблюдаемых нами изменений представлено на рисунке 1А.

В лейкоцитах периферической крови детей с тяжелой степенью РАС изменения уровней мРНК затрагивают 3 из 6 изученных показателей, которые свидетельствуют о подавлении классического пути активации воспаления (NF-κB), по сравнению ТРД. При этом значимо низкая экспрессия основного адаптерного белка TLRs – MyD88 и субъединицы p65 фактора транскрипции NF-κB усилена высокими уровнями мРНК главного ингибитора фактора транскрипции NF-κB – IκBα (табл. 1, рис. 1Б). Это приводит к низкой экспрессии провоспалительных цитоки-

нов: IL-1β, IL-18 и IL-2, в лейкоцитах детей с тяжелой формой РАС [2].

При сравнении групп детей с РАС с разной степенью тяжести симптомов аутизма (легкая/тяжелая) значимых различий в уровнях мРНК ключевых сигнальных молекул классического пути активации воспаления в лейкоцитах крови не обнаружено (табл. 1).

Таким образом, у детей с РАС, особенно при тяжелом течении болезни, в периферических иммунных клетках продемонстрировано снижение провоспалительного цитокинового потенциала, которое обусловлено дисрегуляцией экспрессии ключевых молекул классического пути активации воспаления. Сопоставление полученных нами результатов с данными других исследований представляется затруднительным, т. к. оценка уровней экспрессии NF-κB проводилась авторами работ на мышинных моделях, в посмертных образцах мозга (в них значимых изменений не выявлено) [9], на культуре моноцитов при стимуляции ЛПС *in vitro* (показано повышение экспрессии NF-κB1) [7], но не в пуле лейкоци-



**Рисунок 1. Схематичное изображение изменений уровней экспрессии ключевых сигнальных молекул классического пути активации воспаления и цитокинов в лейкоцитах детей с легким (А) и тяжелым (Б) аутизмом на фоне системного цитокинового поля**

**Примечание.** Стрелками показаны значимые различия в уровнях цитокинов плазмы и мРНК в лейкоцитах у детей с аутизмом по сравнению с детьми с типичным нейроразвитием. Направление стрелки вниз или вверх обозначает снижение и повышение показателя соответственно. Звездочкой обозначены различия на уровне тенденции.

Figure 1. Schematic representation of changes in the expression levels of inflammation activation classical pathway key molecules and cytokines in leukocytes of children with mild (A) and severe (B) autism against the background of a systemic cytokine field

Note. The arrows indicate significant differences in the levels of plasma cytokines and mRNA in leukocytes of children with autism compared to children with typical neurodevelopment. The direction of the arrow down or up indicates a decrease and increase of the indicator, respectively. The asterisk indicates differences at the trend level.

тов периферической крови без стимуляции. Мы считаем, что исследование цитокиновой активности всех иммунных клеток на периферии, а не отдельных субпопуляций, помогает выявить клеточную коммуникацию, совокупные нарушения иммунных функций и обосновать взаимосвязь с уровнями цитокинов в плазме крови (рис. 1).

Интересно отметить, что у детей с тяжелой степенью РАС, экспрессия провоспалительного цитокина  $IFN\gamma$  в лейкоцитах крови (уровни которой значимо повышены, рис. 1Б), по-видимому, регулируется путями, отличными от классического пути активации NF- $\kappa$ B. Индукция экспрессии  $IFN\gamma$  может проходить через специфический рецептор к  $IFN\gamma$  либо, возможно, через альтернативный путь активации NF- $\kappa$ B.

## Заключение

Таким образом, нами показано, что в лейкоцитах крови детей с тяжелым течением РАС наблюдается подавление экспрессии ключевых

молекул классического пути активации воспаления (NF- $\kappa$ B), и это событие приводит к снижению экспрессии провоспалительных цитокинов: IL-1 $\beta$ , IL-18 и IL-2, на фоне повышенной экспрессии ключевого цитокина Th1 –  $IFN\gamma$ . Сдвиг гомеостатического баланса про-/противовоспалительных цитокинов Th1/Th2 в сторону Th1 (прежде всего, повышение уровней  $IFN\gamma$ ), на фоне продолжительного действия стрессовых факторов, может приводить к развитию системного хронического воспаления низкой степени [11]. Вероятно, снижение экспрессии молекул классического сигнального пути активации воспаления в лейкоцитах периферической крови детей с тяжелой степенью РАС может отражать переключение системного воспаления с острого на хроническое.

## Благодарности

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

## Список литературы / References

1. Бурмистрова А.Л., Алексеева А.С., Казо М.Е., Филиппова Ю.Ю. Лейкоцитарная сигнатура микроРНК в контексте хронического системного воспаления при сосудистой деменции // Российский иммунологический журнал, 2022. Т. 25, № 4. С. 399-404. [Burmistrova A.L., Alekseeva A.S., Cazaux M.E., Filippova Yu.Yu. MicroRNA signature of leukocytes in the context of chronic systemic inflammation in vascular dementia. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2022, Vol. 25, no. 4, pp. 399-404. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-1187-MSO.
2. Филиппова Ю.Ю., Алексеева А.С., Бурмистрова А.Л. Экспрессия цитокинов лейкоцитами в ассоциации с тяжестью аутизма у детей // Российский иммунологический журнал, 2023. Т.26, № 4. С. 593-598. [Filippova Yu.Yu., Alekseeva A.S., Burmistrova A.L. Leukocyte cytokine expression is associated with severity of autism in children. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2023, Vol. 26, no. 4, pp. 593-598. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-13911-LCE.
3. Dantzer R. Neuroimmune interactions: from the brain to the immune system and vice versa. *Physiol. Rev.*, 2018, Vol. 98, no. 1, pp. 477-504.
4. Domińska K., Kowalska K., Matysiak Z.E., Płuciennik E., Ochędalski T., Piastowska-Ciesielska A.W. Regulation of mRNA gene expression of members of the NF-κB transcription factor gene family by angiotensin II and relaxin 2 in normal and cancer prostate cell lines. *Mol. Med. Rep.*, 2017, Vol. 15, no. 6, pp. 4352-4359.
5. Giridharan S., Srinivasan M. Mechanisms of NF-κB p65 and strategies for therapeutic manipulation. *J. Inflamm. Res.*, 2018, Vol. 11, pp. 407-419.
6. Huang S., Lin S., Zhou S., Huang Z., Li Y., Liu S., Liu R., Luo X., Li J., Yang J., Yuan Z. Soluble thrombomodulin alleviates Diquat-induced acute kidney injury by inhibiting the HMGB1/IκBα/NF-κB signalling pathway. *Food Chem. Toxicol.*, 2023, Vol. 178, 113871. doi: 10.1016/j.fct.2023.113871.
7. Hughes H.K., Rowland M.E., Onore C.E., Rogers S., Ciernia A.V., Ashwood P. Dysregulated gene expression associated with inflammatory and translation pathways in activated monocytes from children with autism spectrum disorder. *Transl. Psychiatry*, 2022, Vol. 12, no. 1, 39. doi: 10.1038/s41398-021-01766-0.
8. Liao X., Li Y. Nuclear Factor Kappa B in Autism Spectrum Disorder: A Systematic Review. *Pharmacol. Res.*, 2020, Vol. 159, 104918. doi: 10.1016/j.phrs.2020.104918.
9. Malik M., Tauqeer Z., Sheikh A.M., Wen G., Nagori A., Yang K., Brown W.T., Li X. NF-κB signaling in the brain of autistic subjects. *Mediators Inflamm.*, 2011, Vol. 2011, 785265. doi: 10.1155/2011/785265.
10. Malvandi A.M., Mehrzad J., Moghaddam M.S. Gene expression quantification of Toll like receptors 2, 4 and co-molecules in human glioblastoma cell line (U87-MG): Toward a new in vitro model of inflammation. *Iran. J. Basic Med. Sci.*, 2011, Vol. 14, no. 5, pp. 428-435.
11. Oxenkrug G. Interferon-gamma – Inducible inflammation: contribution to aging and aging-associated psychiatric disorders. *Aging Dis.*, 2011, Vol. 2, no. 6, pp. 474-486.
12. Plotnikova M.A., Klotchenko S.A., Vasin A.V. Development of a multiplex quantitative PCR assay for the analysis of human cytokine gene expression in influenza A virus-infected cells. *J. Immunol. Methods*, 2016, Vol. 430, pp. 51-55.
13. Veiga-Fernandes H., Pachnis V. Neuroimmune regulation during intestinal development and homeostasis. *Nat. Immunol.*, 2017, Vol. 18, no. 2, pp. 116-122.
14. Zhu Y., Duan S., Wang M., Deng Z., Li J. Neuroimmune interaction: a widespread mutual regulation and the weapons for barrier organs. *Front. Cell. Dev. Biol.*, 2022, Vol. 10, 906755. doi: 10.3389/fcell.2022.906755.

---

### Авторы:

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

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

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

### Authors:

**Alekseeva A.S.**, Assistant Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

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

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

---

Поступила 31.03.2024

Отправлена на доработку 01.04.2024

Принята к печати 02.04.2024

---

Received 31.03.2024

Revision received 01.04.2024

Accepted 02.04.2024



## ВЛИЯНИЕ МОДУЛЯЦИИ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ НА КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И УРОВЕНЬ ОКСИТОЦИНА У ДЕТЕЙ С РАССТРОЙСТВАМИ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА

Черевко Н.А.<sup>1,2</sup>, Новиков П.С.<sup>1,2</sup>, Худякова М.И.<sup>1</sup>, Архипов А.М.<sup>2</sup>,  
Логинова Е.А.<sup>1</sup>, Вековцев А.А.<sup>3</sup>, Былин П.Г.<sup>3</sup>

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

<sup>2</sup> Медицинское объединение «Центр семейной медицины», г. Томск, Россия

<sup>3</sup> Научно-производственное объединение «АртЛайф», г. Томск, Россия

**Резюме.** Расстройства аутистического спектра связаны с дисбалансом иммунных и неврологических нарушений, стартующих, по статистике, после двухлетнего возраста. Современные исследования подчеркивают значимую роль кишечной микробиоты, приобретающей стабильный статус к данному возрасту и влияющей совместно с окситоцином (нейропептидом социальности) на процессы прунинга в нейронной сети ЦНС и активность глиальных клеток. Настоящее исследование посвящено изучению роли специализированных штаммов бактерий *Lactobacillus reuteri*, опосредующих эндогенный синтез окситоцина у человека и влияющих на показатели иммунного воспаления. Бактерии данного штамма находились в составе биологической активной добавки «Панбиолакт Ментал», разработанной и представленной НПО «АртЛайф» (г. Томск). Целью работы являлась оценка потенциального влияния специализированных штаммов бактерий *Lactobacillus reuteri* на изменение состава кишечной микробиоты, уровень окситоцина, иммунные показатели и качество жизни детей с РАС. В исследование были включены 43 ребенка с расстройствами аутистического спектра, которые в течение 90 дней принимали «Панбиолакт Ментал». Материалом исследования служили образцы венозной крови и фекальные образцы. В сыворотке крови определяли концентрации цитокинов (IL-4, IL-10, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ), иммуноглобулинов (IgE, IgG, IgA, IgM) и нейропептида окситоцина. Фекальные образцы использовались для оценки качественного и количественного состава микробиоты толстого кишечника. Клинические симптомы заболевания, связанные с качеством жизни, оценивали по стандартной шкале теста АТЕС (Autism Treatment Evaluation Checklist), выраженные в баллах соответствия тяжести клинико-неврологических параметров заболевания и его динамики. Анализ полученных данных выявил изменение разнообразия состава микробиоты кишечника, уменьшение проявлений

### Адрес для переписки:

Новиков Павел Сергеевич  
Медицинское объединение «Центр семейной медицины»  
634061, Россия, г. Томск, ул. Герцена, 44, кв. 16.  
Тел.: 8 (913) 106-88-77.  
E-mail: Pavel.N1234@yandex.ru

### Address for correspondence:

Pavel S. Novikov  
Medical Association "Center for Family Medicine"  
44 Herzen St, Apt 16  
Tomsk  
634061 Russian Federation  
Phone: +7 (913) 106-88-77.  
E-mail: Pavel.N1234@yandex.ru

### Образец цитирования:

Н.А. Черевко, П.С. Новиков, М.И. Худякова,  
А.М. Архипов, Е.А. Логинова, А.А. Вековцев, П.Г. Былин  
«Влияние модуляции кишечной микробиоты на клинико-  
иммунологические показатели и уровень окситоцина  
у детей с расстройствами аутистического спектра»  
// Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27,  
№ 4. С. 831-838.  
doi: 10.46235/1028-7221-16873-TIO

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

### For citation:

N.A. Cherevko, P.S. Novikov, M.I. Khudyakova,  
A.M. Arkhipov, E.A. Loginova, A.A. Vekovtsev, P.G. Bylin  
"The influence of modulation of intestinal microbiota on  
clinical and immunological parameters and oxytocin levels in  
children with autism spectrum disorders", *Russian Journal  
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal*, 2024,  
Vol. 27, no. 4, pp. 831-838.  
doi: 10.46235/1028-7221-16873-TIO

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16873-TIO

желудочно-кишечных расстройств и снижение выраженности клинических проявлений по набранным баллам в тестах АТЕС, иммунных параметров воспаления. У детей с расстройствами аутистического спектра после 90 дней регулярного приема «Панбиолокт Ментал» снизилась количества бактерий родов *Acinetobacter*, увеличилось количество *Bacteroides species pluralis*, *Akkermansia muciniphila*, *Eubacterium rectale*, *Prevotella species pluralis* и *Methanobrevibacter smithii*. Зарегистрированы повышения концентрации окситоцина, протолерогенного коэффициента IL-10/TNF $\alpha$ , снижение концентраций TNF $\alpha$  и IL-10. Результаты исследования подтверждают гипотезу о значительной роли разнообразия микробиоты кишечника в нейро-иммунном патогенезе расстройств аутистического спектра. Представляют «Панбиолокт Ментал» как потенциально эффективное средство для комплексного подхода в коррекции РАС у детей. Эти данные могут лечь в основу для дальнейших исследований в области пробиотической терапии, а также для разработки новых стратегий на основе модуляции кишечной микробиоты.

*Ключевые слова:* расстройства аутистического спектра, микробиота, окситоцин, воспаление, цитокины, иммунологическая дисрегуляция

## THE INFLUENCE OF MODULATION OF INTESTINAL MICROBIOTA ON CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL PARAMETERS AND OXYTOCIN LEVELS IN CHILDREN WITH AUTISM SPECTRUM DISORDERS

Cherevko N.A.<sup>a, b</sup>, Novikov P.S.<sup>a, b</sup>, Khudyakova M.I.<sup>a</sup>, Arkhipov A.M.<sup>b</sup>, Loginova E.A.<sup>a</sup>, Vekovtsev A.A.<sup>c</sup>, Bylin P.G.<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

<sup>b</sup> Medical Association "Center for Family Medicine", Tomsk, Russian Federation

<sup>c</sup> Scientific and Production Association "ArtLife", Tomsk, Russian Federation

**Abstract.** Autism spectrum disorders are associated with an imbalance of immune and neurological disorders, starting after the age of two. The study is devoted to studying the role of specialized strains of bacteria *Lactobacillus reuteri*, which mediate the synthesis of oxytocin in humans and influence inflammation indicators. Bacteria of this strain were part of the biologically active additive "Panbiolact Mental", developed and presented by NPO ArtLife (Tomsk). The purpose of the work was to assess the effect of specialized strains of bacteria *Lactobacillus reuteri* on changes in the composition of the intestinal microbiota, oxytocin levels, and immune parameters of children with ASD. The study included 43 children with autism spectrum disorders who took Panbiolact Mental for 90 days. The study materials included venous blood samples and fecal samples. The concentrations of cytokines (IL-4, IL-10, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ), immunoglobulins (IgE, IgG, IgA, IgM) and the neuropeptide oxytocin were determined in the blood serum. Fecal samples were used to assess the qualitative and quantitative composition of the colon microbiota. Clinical symptoms of the disease associated with quality of life were assessed using the standard ATEC test scale (Autism Treatment Evaluation Checklist), expressed in scores corresponding to the severity of clinical and neurological parameters of the disease. In children with autism spectrum disorders, after 90 days of regular use of Panbiolact Mental, the number of bacteria of the genera *Acinetobacter* decreased, the number of *Bacteroides species pluralis*, *Akkermansia muciniphila*, *Eubacterium rectale*, *Prevotella species pluralis* and *Methanobrevibacter smithii* increased. Increases in the concentration of oxytocin, the protolerogenic coefficient IL-10/TNF $\alpha$ , immunoglobulins M and G, and a decrease in the concentrations of TNF $\alpha$  and IL-10 were recorded. The results of the study support the hypothesis of a significant role of gut microbiota diversity in the neuro-immune pathogenesis of autism spectrum disorders. "Panbiolact Mental" is presented as a potentially effective remedy for an integrated approach to the correction of ASD in children. These data may form the basis for further research in the field of probiotic therapy, as well as for the development of new strategies based on modulation of the intestinal microbiota.

*Keywords:* autism spectrum disorders, microbiota, oxytocin, inflammation, cytokines, immunological dysregulation

## Введение

Расстройства аутистического спектра (РАС) представляют собой группу неврологических состояний, характеризующихся дефицитом в социальном взаимодействии, ограниченными интересами и повторяющимся поведением. Одним из распространенных симптомов у детей с РАС являются желудочно-кишечные расстройства, такие как запоры, диарея, боли в животе [14], сопровождающиеся изменением параметров иммунного воспаления. Проведенные исследования свидетельствуют о том, что состав кишечной микробиоты значительно отличается у детей с РАС по сравнению со здоровыми детьми, микробиота кишечника может играть важную роль в развитии РАС, предполагая взаимосвязь между кишечной микробиотой и центральной нервной системой через ось «мозг-кишечник» [1, 8]. Иммунологическая дисрегуляция, вызванная изменениями в кишечной микробиоте, может привести к усилению воспалительных процессов, что в свою очередь может оказывать воздействие и на социальное поведение.

Микробиота кишечника воздействует на нервную систему через различные механизмы, включая нервные, иммунные, нейроэндокринные и метаболические пути [2, 6]. Ключевыми путями связи между кишечной микробиотой и мозгом являются блуждающий нерв, метаболиты триптофана и короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), пептидогликаны. Микробиота кишечника может влиять на мозг посредством модуляции серотонинергической, норадренергической, дофаминергической, глутаматергической и ГАМК-ергической нейротрансмиссии. К примеру, *Candida*, *Escherichia*, *Enterococcus* и *Streptococcus* участвуют в производстве серотонина, *Bifidobacterium* синтезируют ГАМК, а *Lactobacillus* дополнительно производит ацетилхолин [3]. В частности, отмечен дисбаланс *Bacteroidetes/Firmicutes* увеличение *Bacteroidetes*, *Sutterella*, *Prevotella* выявлено у детей с РАС [14]. Также при РАС наблюдается увеличение *Clostridium* spp. [13], *Lachnospiraceae* и *Ruminococcaceae*, а *Bacteroidetes*, а уровни *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp. снижены [1, 15].

Одним из важных представителей микробиоты является семейство *Lactobacillus reuteri* — гетероферментативные молочнокислые бактерии, которые путем ферментации образуют короткоцепочечные жирные кислоты (уксусную и молочную), синтезируют уникальную молекулу реутерин. Реутерин оказывает прямое

противомикробное действие и способен корректировать состав микробиоты путем ингибирования роста *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* и *H. pylori*, а также оказывает влияние на синтез провоспалительных цитокинов, перепрограммируя активацию регуляторных Т-клеток [4, 7]. В исследованиях на животных обнаружено, что некоторые штаммы *Lactobacillus reuteri* участвуют в синтезе окситоцина или опосредуют его синтез. Предполагается, что дефицит социальных взаимодействий при аутизме может быть опосредован гипоактивностью нейропептида окситоцина или его недостаточной продукцией. Окситоцин, кроме центрального синтеза в гипоталамусе, также синтезируется в периферических зонах, а именно в клетках сердца (желудочках, предсердиях, в стенке дуги аорты), в мышечных клетках по всей длине пищеварительного тракта, в матке, яичниках, плаценте, амнионе, желтом теле, семенниках, придатках яичка, предстательной железе. Рецепторы к окситоцину OXTR-V3, как оказалось, экспрессируются на всех субпопуляциях Т-лимфоцитов и макрофагах, эпителиальных и эндотелиальных, стволовых клетках, в тимусе, поджелудочной железе, адипоцитах. Периферическая поддержка синтеза окситоцина индуцируется бактериями: Лактобациллы *reuteri* и *Lactobacillus plantarum* PS128 [10, 11, 12]. В 2021 году в крупном рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании было продемонстрировано, что одновременный прием интраназального окситоцина и пробиотиков *Lactobacillus plantarum* могут уменьшить основные социально-поведенческие симптомы у людей с РАС [9]. Есть основания предполагать, что создание пробиотиков, содержащих *Lactobacillus reuteri* могут восстанавливать социальный дефицит у людей с РАС путем индукции эндогенного окситоцина. Между тем, обоснованность применения окситоцина, его влияние на показатели молекулярного воспаления при РАС, эффективность приема пробиотиков остаются дискуссионными.

В данном контексте целью нашего исследования являлась оценка потенциального влияния специализированных штаммов бактерий *Lactobacillus reuteri* на изменение состава кишечной микробиоты, уровень окситоцина, иммунные показатели и качество жизни детей с РАС.

## Материалы и методы

В исследовании участвовала группа детей с диагнозом РАС (n = 43), средний возраст участ-

ников составил  $9 \pm 3$  лет. Все участники исследования наблюдались в поликлинике ООО «Центр семейной медицины», город Томск.

Исследование соответствует принципам этики. Все родители детей подписали информированное согласие. Данное исследование является продолжением ранее начавшегося исследования и одобрено этическим комитетом ООО «Центра семейной медицины» (протокол № 7 от 18.03.2019).

Ни один из пациентов не принимал антибиотиков или противогрибковые препараты в течение, по меньшей мере, одного месяца до сбора фекальных образцов.

Для оценки тяжести психоневрологических симптомов РАС использовался тест Autism Treatment Evaluation Scale (АТЕС, «Шкала оценки лечения аутизма»).

В рамках исследования дети принимали пробиотический продукт под названием «Панбиоллакт Ментал». Основой этого продукта были живые клетки бактерий *Lactobacillus reuteri*, включая консорциум специализированных штаммов данного вида (ARTB-195, ARTB-147 и ARTB-213), общее количество живых микроорганизмов данного вида составляло не менее  $1 \times 10^8$  КОЕ/г. Продукт был представлен НПО ООО «АртЛайф» (Томск, Россия). Участники принимали продукт по одной капсуле два раза в день в течение 90 дней. После окончания курса лечения была проведена повторная оценка клинических и лабораторных показателей.

Материалом исследования служили образцы венозной крови и фекальные образцы. В сыворотке крови определяли концентрации цитокинов (IL-4, IL-10, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ), иммуноглобулинов (IgE, IgG, IgA, IgM) и нейропептида окситоцина. Фекальные образцы использовались для оценки качественного и количественного состава микробиоты толстого кишечника.

Для количественного определения состава микробиоты использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с помощью амплификатора DTrime 5 с использованием наборов реагентов «ДНК-технология», Россия) с использованием набора реагентов «КОЛОНОФЛОР-33» («Альфалаб», Россия). Концентрация иммуноглобулинов в сыворотке крови определяли иммунотурбидиметрическим методом с применением соответствующих наборов наборов «Иммуноглобулин G», «Иммуноглобулин A» и «Иммуноглобулин M» (АО «Вектор-Бест», Россия). Определение концентрации окситоцина проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием набора Cloud-Clone Corp.

(США). Концентрация цитокинов в сыворотке крови также определялась методом ИФА с использованием соответствующих наборов реагентов.

Статистическая обработка данных была проведена в программе Microsoft Office Excel 2007 и Statistics 10.0 для Windows. Проверка на нормальность распределения выполнена с помощью критерия Шапиро–Уилка. Данные, соответствующие нормальному распределению, представлены в виде среднего  $\pm$  стандартного отклонения ( $M \pm SD$ ), а данные с ненормальным распределением – в виде медианы и межквартильного интервала ( $Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$ ). Дальнейший анализ различий между выборками проводили при помощи t-критерия Стьюдента для зависимых выборок или T-критерия Вилкоксона. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследования были выявлены значимые изменения у детей с РАС после приема продукта «Панбиоллакт Ментал». В частности, мы наблюдали значительные изменения в составе микробиоты кишечника. Эти изменения включали снижение количества бактерий родов *Lactobacillus*, *Acinetobacter* и *Ruminococcus*, а также увеличение количества *Bacteroides* spp., *Akkermansia muciniphila*, *Eubacterium rectale*, *Prevotella* spp. и *Methanobrevibacter smithii*, что свидетельствует о сдвиге в сторону более разнообразного и потенциально благоприятного состава микробиоты (табл. 1). Разнообразие микробиоты кишечника определяет генетическую вариацию среди индивидуумов, повышая толерантность к негативным факторам окружающей среды и может служить маркером улучшения состояния детей с РАС.

*Bacteroides* spp. и *Prevotella* spp. известны своей ролью в переработке сложных углеводов и производстве КЦЖК (ацетат, пропионат и бутират), которые играют важную роль в поддержании кишечного барьера и иммунной системы [5]. *Akkermansia muciniphila* участвует в поддержании слизистого слоя кишечника, используя муцин в качестве источника питания, что способствует обновлению слизистого слоя и поддержанию его целостности [5]. Сниженное количество этих бактерий у детей с РАС может быть связано с нарушением барьерной функции кишечника. Увеличение количества *Eubacterium rectale* и *Methanobrevibacter smithii* после приема «Панбиоллакт Ментал» также может свидетельствовать о положительном влиянии БАВ на микробиоту



ТАБЛИЦА 1. СОСТАВ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА У ДЕТЕЙ С РАССТРОЙСТВАМИ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА ДО И ПОСЛЕ ПРИЕМА «ПАНБИОЛАКТ МЕНТАЛ»

TABLE 1. COMPOSITION OF THE INTESTINAL MICROBIOTA IN CHILDREN WITH AUTISM SPECTRUM DISORDERS BEFORE AND AFTER TAKING "PANBIOLACT MENTAL"

Показатель Index	До приема «Панбиолакт Ментал» Before use "Panbiolact Mental"	После приема «Панбиолакт Ментал» After consumption "Panbiolact Mental"	T
	Me (Q <sub>0,25</sub> -Q <sub>0,75</sub> )	Me (Q <sub>0,25</sub> -Q <sub>0,75</sub> )	
Общ. бактериальная масса Total bacterial mass	2 × 10 <sup>12</sup> (7 × 10 <sup>11</sup> -4 × 10 <sup>12</sup> )	9 × 10 <sup>11</sup> (4,5 × 10 <sup>11</sup> -2 × 10 <sup>12</sup> )	310,0
<i>Lactobacillus</i> spp.	4 × 10 <sup>5</sup> (1 × 10 <sup>5</sup> -3 × 10 <sup>6</sup> )	2,5 × 10 <sup>5</sup> (1 × 10 <sup>5</sup> -1,5 × 10 <sup>6</sup> )	87,5*
<i>Bifidobacterium</i> spp.	2 × 10 <sup>9</sup> (6 × 10 <sup>8</sup> -1 × 10 <sup>10</sup> )	7 × 10 <sup>9</sup> (1 × 10 <sup>9</sup> -2,5 × 10 <sup>10</sup> )	150,5
<i>Escherichia coli</i>	3 × 10 <sup>6</sup> (2 × 10 <sup>5</sup> -2 × 10 <sup>7</sup> )	3 × 10 <sup>6</sup> (3,5 × 10 <sup>5</sup> -1 × 10 <sup>7</sup> )	221,5
<i>Bacteroides</i> spp.	2 × 10 <sup>12</sup> (6 × 10 <sup>11</sup> -4 × 10 <sup>12</sup> )	4 × 10 <sup>11</sup> (9 × 10 <sup>10</sup> -2 × 10 <sup>12</sup> )	130,0*
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	2 × 10 <sup>10</sup> (6 × 10 <sup>9</sup> -5 × 10 <sup>10</sup> )	5 × 10 <sup>10</sup> (1,5 × 10 <sup>10</sup> -1 × 10 <sup>11</sup> )	134,0
Соотношение <i>Bacteroides</i> spp./ <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> Ratio <i>Bacteroides</i> spp./ <i>Faecalibacterium</i> <i>prausnitzii</i>	75 (30-200)	10 (1,8-55)	122,5*
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	3 × 10 <sup>8</sup> (0-2 × 10 <sup>9</sup> )	9,5 × 10 <sup>7</sup> (0-1,5 × 10 <sup>9</sup> )	117,5
<i>Akkermansia muciniphila</i>	0 (0-1 × 10 <sup>8</sup> )	5 × 10 <sup>6</sup> (0-2 × 10 <sup>9</sup> )	49,0*
<i>Enterobacter</i> spp.	0 (0-1 × 10 <sup>6</sup> )	0 (0-4,5 × 10 <sup>5</sup> )	112,0
<i>Blautia</i> spp.	0 (0-0)	0 (0-2 × 10 <sup>6</sup> )	12,0
<i>Acinetobacter</i> spp.	5 × 10 <sup>6</sup> (2 × 10 <sup>6</sup> -7 × 10 <sup>6</sup> )	1 × 10 <sup>7</sup> (6 × 10 <sup>6</sup> -2 × 10 <sup>7</sup> )	58,5*
<i>Eubacterium rectale</i>	0 (0-4 × 10 <sup>8</sup> )	2 × 10 <sup>9</sup> (8 × 10 <sup>7</sup> -8 × 10 <sup>9</sup> )	55,5*
<i>Roseburia inulinivorans</i>	2 × 10 <sup>8</sup> (8 × 10 <sup>6</sup> -4 × 10 <sup>9</sup> )	2 × 10 <sup>9</sup> (4,5 × 10 <sup>8</sup> -6 × 10 <sup>9</sup> )	155,5
<i>Prevotella</i> spp.	0 (0-0)	4 × 10 <sup>4</sup> (0-2 × 10 <sup>9</sup> )	0*
<i>Methanobrevibacter smithii</i>	0 (0-0)	0 (0-2 × 10 <sup>5</sup> )	8,0*
<i>Ruminococcus</i> spp.	5 × 10 <sup>4</sup> (0-3*10 <sup>7</sup> )	3,8 × 10 <sup>7</sup> (0-6,5*10 <sup>8</sup> )	47,5*

Примечание. \* – уровень значимости p < 0,05.

Note. \*, significance level p < 0.05.

кишечника и увеличении эффективности пищеварения.

Кроме того, в нашем исследовании выявлено повышение концентрации окситоцина, сопровождаемое снижением концентраций IL-10 и TNFα, однако при повышении в 2 раза значений соотношения IL-10/TNFα (табл. 2).

Окситоцин, нейропептид, известный своей ролью в формировании социальных связей и регуляции эмоциональных состояний, рассматривается как важный фактор в поддержании и улучшении социальной адаптации, а также снижении тревожности и агрессивного поведения у детей с РАС. Недавние исследования указывают на су-

**ТАБЛИЦА 2. ПОКАЗАТЕЛИ У ДЕТЕЙ С РАССТРОЙСТВАМИ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА ДО И ПОСЛЕ ПРИЕМА «ПАНБИОЛАКТ МЕНТАЛ»**

TABLE 2. INDICATORS IN CHILDREN WITH AUTISM SPECTRUM DISORDERS BEFORE AND AFTER TAKING "PANBIOLACT MENTAL"

Показатель Index	До приема «Панбиолакт Ментал» Before use "Panbiolact Mental"	После приема «Панбиолакт Ментал» After consumption "Panbiolact Mental"	Наблюдаемое значение критерия Вилкоксона Wilcoxon Signed Ranks Test
	Me (Q <sub>0,25</sub> -Q <sub>0,75</sub> )	Me (Q <sub>0,25</sub> -Q <sub>0,75</sub> )	
<b>IgE (кМЕ/мл)</b> IgE U/mL	89 (19-323)	50 (12-196)	T = 85,0
<b>Окситоцин (пг/мл)</b> Oxytocin (pg/mL)	531 (337-853)	1139 (92-1193)	T = 0*
<b>IL-4 (пг/мл)</b> IL-4 (pg/mL)	2,6 (1,8-3,4)	2,2 (1,7-2,8)	T = 352
<b>IL-10 (пг/мл)</b> IL-10 (pg/mL)	10 (8-14)	9 (6-11)	T = 96,5*
<b>TNFα (пг/мл)</b> TNFα (pg/mL)	2 (0,9-2,5)	1 (0,6-1,6)	T = 73,0*
<b>IFNγ (пг/мл)</b> IFNγ (pg/mL)	1,8 (1,0-3,8)	1,5 (1,2-2,5)	T = 248,0

Примечание. \* – уровень значимости  $p < 0,05$ .

Note. \*, significance level  $p < 0.05$ .

ществование взаимодействия между кишечной микробиотой и окситоцином, предполагая, что микробиота может влиять на уровни окситоцина и наоборот [4, 7].

IL-10 подавляет воспаление и способствует развитию T-регуляторных клеток, которые играют важную роль в поддержании толерантности к собственным антигенам и предотвращении аутоиммунных реакций. Дисбаланс микробиоты

может нарушать нормальное производство IL-10, приводя к усилению воспалительного ответа [12].

Снижение уровня TNFα после приема добавки может свидетельствовать о снижении воспалительной активности в организме детей с РАС. Это может быть связано с регуляторным воздействием составляющих продукта «Панбиолакт Ментал» на микробиоту кишечника и последующим модулированием иммунного ответа. Пода-

**ТАБЛИЦА 3. КОЛИЧЕСТВО БАЛЛОВ ПО ИТОГАМ ТЕСТИРОВАНИЯ АТЕС ПАЦИЕНТОВ ДО И ПОСЛЕ ПРИЕМА ПРОБИОТИКА, СОДЕРЖАЩЕГО ЖИВЫЕ КЛЕТКИ БАКТЕРИЙ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ ШТАММОВ *LACTOBACILLUS REUTERI***

TABLE 3. NUMBER OF POINTS BASED ON THE RESULTS OF ATEC TESTING OF PATIENTS BEFORE AND AFTER TAKING A PROBIOTIC CONTAINING LIVE BACTERIAL CELLS OF SPECIALIZED STRAINS OF *LACTOBACILLUS REUTERI*

Показатель Index	До приема пробиотика Before use "Panbiolact Mental"	После приема пробиотика After consumption "Panbiolact Mental"	Наблюдаемое значение t-критерия Стьюдента Student's t-test
	M; σ	M; σ	
<b>Тестирование АТЕС (баллы)</b> ATEC testing (scores)	64; 14	44; 20	5*

Примечание. \* –  $p < 0,001$ .

Note. \*, significance level  $p < 0.001$ .

вление продукции TNF $\alpha$  может способствовать уменьшению воспаления, что в свою очередь потенциально оказывает положительное влияние на клинические проявления РАС, включая снижение неврологических и поведенческих симптомов. При этом важно учитывать соотношение показателей IL10/TNF $\alpha$  как противо- и провоспалительного баланса цитокинов или как коэффициент протолерогенности.

По окончании 90-дневного курса приема продукта «Панбиолокт Ментал» было зарегистрировано существенное снижение среднего балла АТЕС до 44 ( $\pm 20$ ) (табл. 3) в отличие от 64 ( $\pm 14$ ) до приема пробиотического продукта ( $t = 5$ ,  $p < 0,001$ ), что дает основание полагать, что применение данного продукта способствует уменьшению клинических проявлений РАС и повышению качества жизни как самих пациентов, так и социального благополучия членов семьи.

## Заключение

Итоги нашего исследования свидетельствуют о значительном положительном влиянии бактерий *Lactobacillus reuteri* (консорциума специ-

ализированных штаммов ARTB-195, ARTB-147 и ARTB-213) в составе продукта «Пабиолокт Ментал» на состояние детей с РАС за 90-дневный период приема. Помимо улучшения показателей АТЕС, что указывает на снижение симптомов РАС, мы наблюдали существенные изменения в составе кишечной микробиоты. Значительное снижение уровня TNF $\alpha$ , умеренное снижение IL-10, что может отражать уменьшение хронического воспаления и регуляторные изменения в иммунной системе, которые связаны с патогенезом РАС. Увеличение уровня окситоцина мы связали с влиянием на социальное поведение и эмоциональное состояние детей, их социальной адаптации и улучшению поведенческих реакций, которые также отметили члены семей. Эти результаты открывают новые перспективы для использования пробиотических добавок в комплексном подходе к управлению и лечению РАС, а также стимулируют дальнейшие исследования в этой области, направленные на изучение долгосрочных эффектов и механизмов действия микробиоты на иммунную систему и неврологическое развитие.

## Список литературы / References

1. Coretti L., Paparo L., Riccio M.P., Amato F., Cuomo M., Natale A., Borrelli L., Corrado G., De Caro C., Comegna M., Buommino E., Castaldo G., Bravaccio C., Chiariotti L., Canani R.B., Lembo F. Gut Microbiota Features in Young Children With Autism Spectrum Disorders. *Front. Microbiol.*, 2018, Vol. 9, 3146. doi: 10.3389/fmicb.2018.03146.
2. Dinan T.G., Cryan J.F. Gut-brain axis in 2016: Brain-gut-microbiota axis – mood, metabolism and behaviour. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2017, Vol. 14, no. 2, pp. 69-70.
3. Dinan T.G., Stilling R.M., Stanton C., Cryan J.F. Collective unconscious: how gut microbes shape human behavior. *J. Psychiatr. Res.*, 2015, Vol. 63, pp. 1-9.
4. Erdman S.E. Oxytocin and the microbiome. *Curr. Opin. Endocr. Metab. Res.*, 2021, Vol. 19, pp. 8-14.
5. Flint H.J., Scott K.P., Louis P., Duncan S.H. The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2012, Vol. 9, no. 10, pp. 577-589.
6. Foster J.A., Rinaman L., Cryan J.F. Stress & the gut-brain axis: Regulation by the microbiome. *Neuron*, 2017, Vol. 7, pp. 124-136.
7. Huang M., Liu K., Wei Z., Feng Z., Chen J., Yang J., Zhong Q., Wan G., Kong X.J. Serum oxytocin level correlates with gut microbiome dysbiosis in children with autism spectrum disorder. *J. Neurosci.*, 2021, Vol. 15, pp. 81-90.
8. Kaisar M.M., Pelgrom L.R., van der Ham A.J., Yazdanbakhsh M., Everts B. Butyrate conditions human dendritic cells to prime type 1 regulatory T cells via both histone deacetylase inhibition and G protein-coupled receptor 109A signaling. *Front. Immunol.*, 2017, Vol. 8, 1429. doi: 10.3389/fimmu.2017.01429.
9. Kong X., Probiotic and oxytocin combination therapy in patients with autism spectrum disorder: a randomized, double-blinded, placebo-controlled pilot trial. *Nutrients*, 2021, Vol. 13, no. 5, pp. 1552-1569.
10. Lombardi V.C., De Meirleir K.L., Subramanian K., Nourani S.M., Dagda R.K., Delaney S.L., Palotás A. Nutritional modulation of the intestinal microbiota; future opportunities for the prevention and treatment of neuroimmune and neuroinflammatory disease. *J. Nutr. Biochem.*, 2018, Vol. 61, pp. 1-16.

11. Luna R.A., Oezguen N., Balderas M., Anderson G.M., Savidge T., Williams K.C. Distinct microbiome-neuroimmune signatures correlate with functional abdominal pain in children with autism spectrum disorder. *Cell. Mol. Gastroenterol. Hepatol.*, 2017, Vol. 3, pp. 218-230.
12. Ma B., Liang J., Dai M., Wang J., Luo J., Zhang Z., Jing J. Altered gut microbiota in Chinese children with autism spectrum disorders. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2019, Vol. 9, 40. doi: 10.3389/fcimb.2019.00040.
13. Mangiola F., Ianiro G., Franceschi F., Fagioli S., Gasbarrini G., Gasbarrini A. Gut microbiota in autism and mood disorders. *World J. Gastroenterol.*, 2016, Vol. 22, no. 1, pp. 361-368.
14. Pulikkan J., Maji A., Dhakan D.B., Saxena R., Mohan B., Anto M.M., Agarwal N., Grace T., Sharma V.K. Gut microbial dysbiosis in Indian children with autism spectrum disorders. *Microb. Ecol.*, 2018, Vol. 76, no. 4, pp. 1102-1114.
15. Rinninella E., Raoul P., Cintoni M., Franceschi F., Miggianno G.A.D., Gasbarrini A., Mele M.C. What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. *Microorganisms*, 2019, Vol. 7, no. 1, pp. 14-36.

---

**Авторы:**

**Черевко Н.А.** — д.м.н., профессор кафедры иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; врач — аллерголог-иммунолог, содиректор медицинского объединения «Центр семейной медицины», г. Томск, Россия

**Новиков П.С.** — соискатель кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; заведующий клинико-диагностической лабораторией медицинского объединения «Центр семейной медицины», г. Томск, Россия

**Худякова М.И.** — соискатель кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия;

**Архипов А.М.** — врач клинической лабораторной диагностики медицинского объединения «Центр семейной медицины», г. Томск, Россия

**Логина Е.А.** — студентка 5-го курса лечебного факультета ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

**Векотцев А.А.** — к.м.н., директор по науке и производству, Научно-производственное объединение «АртЛайф», г. Томск, Россия

**Былин П.Г.** — ведущий инженер по внедрению новой техники и технологий, Научно-производственное объединение «АртЛайф», г. Томск, Россия

**Authors:**

**Cherevko N.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Immunology and Allergy Department, Siberian State Medical University; Allergist-Immunologist, Co-director, Medical Association “Center for Family Medicine”, Tomsk, Russian Federation

**Novikov P.S.**, PhD Applicant, Department of Immunology, Siberian State Medical University; Head, Clinical Diagnostic Laboratory, Medical Association “Center for Family Medicine”, Tomsk, Russian Federation

**Khudyakova M.I.**, Applicant, Department of Immunology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

**Arkhipov A.M.**, Clinical Laboratory Diagnostics Doctor, Medical Association “Center for Family Medicine”, Tomsk, Russian Federation

**Loginova E.A.**, 5<sup>th</sup> year Student of the Faculty of Medicine, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

**Vekotsev A.A.**, PhD (Medicine), Director for Science and Production, Scientific and Production Association “ArtLife”, Tomsk, Russian Federation

**Bylin P.G.**, Leading Engineer for the Implementation of New Equipment and Technologies, Scientific and Production Association “ArtLife”, Tomsk, Russian Federation

---

Поступила 02.04.2024

Отправлена на доработку 04.04.2024

Принята к печати 05.04.2024

---

Received 02.04.2024

Revision received 04.04.2024

Accepted 05.04.2024



## ОСОБЕННОСТИ СИНТЕЗА ЦИТОКИНОВ У ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ С ОЛИГОМЕНОРЕЕЙ И ДЕФИЦИТОМ МАССЫ ТЕЛА

Камалов Т.М.<sup>1</sup>, Музафарова С.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

<sup>2</sup> Центр женского здоровья AyolCare, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Резюме.** Статья посвящена изучению цитокинового звена иммунитета у девочек-подростков с олигоменореей с дефицитом массы тела и с нормальной массой тела в сравнении с девочками-подростками с нормальным менструальным циклом и нормальной массой тела, что имеет большое значение для детской гинекологии. Изучение цитокинового профиля при олигоменорее позволит заблаговременно установить развитие множества гинекологических патологий, в числе которых синдром поликистозных яичников, эндометриозные новообразования, а также для понимания патогенеза этих состояний и разработки подходов к их диагностике и лечению, что имеет важное практическое значение. Авторами проведено иммунологическое исследование девочек-подростков с олигоменореей с дефицитом массы тела и с нормальной массой тела в сравнении с девочками-подростками с нормальным менструальным циклом и нормальной массой тела. Цель исследования: изучение уровней провоспалительных интерлейкина-6 (IL-6), интерлейкина-17А (IL-17А), интерлейкина-18 (IL-18) и противовоспалительного интерлейкина-10 (IL-10) в сыворотке периферической крови у девочек-подростков с олигоменореей с дефицитом массы тела. Обследованы 52 девочки-подростка в возрасте от 13 до 17 лет, с установленными нарушениями менструального цикла. Контрольную группу составили 24 практически здоровые девочки аналогичного возраста.

Из проведенного исследования установлено, что у девочек с олигоменореей и дефицитом массы тела наблюдается выраженный повышенный синтез провоспалительных цитокинов IL-6, IL-17А и IL-18. В той же группе девочек выявлено повышение уровня противовоспалительного цитокина IL-10, что может быть попыткой организма компенсировать воспалительные процессы. Однако уровень IL-10 остается повышенным, что может указывать на нарушение иммунного баланса. Обнаруженный дисбаланс в цитокиновом профиле подчеркивает сложность патогенеза олигоменореи у девочек с дефицитом массы тела, а выявленные уровни изученных цитокинов могут служить биомаркерами, которые помогут в диагностике, оценке тяжести и прогнозировании течения болезненного состояния.

**Ключевые слова:** олигоменорея, менструальный цикл, цитокины, масса тела, интерлейкин, сыворотка, дисбаланс, нарушение, здоровье, иммунитет

### Адрес для переписки:

Музафарова Салима Асхадовна  
Центр женского здоровья AyolCare  
Республика Узбекистан,  
г. Ташкент, ул. Махтумкули, 15.  
Тел.: +998 (93) 182-91-19.  
E-mail: salima-m@list.ru

### Address for correspondence:

Salima A. Muzafarova  
AyolCare Women's Health Center  
15 Magtymguly St  
Tashkent  
Republic of Uzbekistan  
Phone: +998 (93) 182-91-19.  
E-mail: salima-m@list.ru

### Образец цитирования:

Т.М. Камалов, С.А. Музафарова «Особенности синтеза цитокинов у девочек-подростков с олигоменореей и дефицитом массы тела» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 839-844. doi: 10.46235/1028-7221-16650-SFO

© Камалов Т.М., Музафарова С.А., 2024  
Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

### For citation:

T.M. Kamalov, S.A. Muzafarova "Specific features of cytokine synthesis in adolescent girls with oligomenorrhea and low body mass index", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 839-844. doi: 10.46235/1028-7221-16650-SFO

© Kamalov T.M., Muzafarova S.A., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16650-SFO

## SPECIFIC FEATURES OF CYTOKINE SYNTHESIS IN ADOLESCENT GIRLS WITH OLIGOMENORRHEA AND LOW BODY MASS INDEX

Kamalov T.M.<sup>a</sup>, Muzafarova S.A.<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Institute of Human Immunology and Genomics of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

<sup>b</sup> AyolCare Women's Health Center, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Abstract.** The article is devoted to the study of the cytokine component of immunity in teenage girls with oligomenorrhea, underweight and with normal body weight in comparison with teenage girls with a normal menstrual cycle and normal body weight, which is of great importance to pediatric gynecology. Studying of the cytokine profile in oligomenorrhea will allow early identification of the development of many gynecological pathologies, including polycystic ovary syndrome, endometrioid neoplasms, as well as for understanding the pathogenesis of these conditions and developing approaches to their diagnosis and treatment, which is of great practical importance. The authors conducted an immunological study of teenage girls with oligomenorrhea with underweight and normal body weight in comparison with teenage girls with a normal menstrual cycle and normal body weight. Purpose of the study: to study the levels of IL-6, IL-17A, IL-18 and IL-10 in adolescent girls with oligomenorrhea and underweight. Teenage girls (N = 52) aged 13 to 17 years with established menstrual irregularities were examined. The control group consisted of 24 practically healthy girls of the same age. From the study, it was established that girls with oligomenorrhea and underweight have a pronounced increased synthesis of proinflammatory cytokines IL-6, IL-17A and IL-18. In the same group of girls, an increase in the level of the anti-inflammatory cytokine IL-10 was detected, which may be an attempt by the body to compensate for inflammatory processes. However, IL-10 levels remain elevated, which may indicate an immune imbalance. The discovered imbalance in the cytokine profile emphasizes the complexity of the pathogenesis of oligomenorrhea in girls with underweight, and the identified levels of the studied cytokines can serve as biomarkers that will help in diagnosis, assessment of severity, and prediction of the course of the disease state.

*Keywords:* oligomenorrhea, menstrual cycle, cytokines, body mass, interleukin, serum, imbalance, disorder, health, immunity

### Введение

Исследования последних лет показывают прогрессивное ухудшение качества здоровья детей и подростков [2]. В гинекологической патологии девушек-подростков частота нарушений менструальной функции (НМФ) составляет от 20% до 30-48%. Среди нарушений менструальной функции ведущее место занимает гипоменструальный синдром и аменорея, что свидетельствует о глубоких отклонениях в репродуктивной системе [1, 3].

В период полового созревания морфологические и физиологические изменения как у девочек, так и у мальчиков протекают в строго определенной последовательности. В частности, у девочек появление первого менструального цикла и его продолжение почти неизменно следует за периодами максимального прироста длины и массы тела. Нарастание массы тела, по-видимому, является более важным фактором для поддержания полового созревания женщины, чем изменение длины тела [5].

Олигоменорея – гетерогенное заболевание. Данный диагноз является в большей степени симптомом какого-либо патологического состояния, а не самостоятельной нозологией, поэтому актуально дальнейшее изучение структуры данной патологии [3, 6]. Олигоменорея может иметь разнообразные причины, от физиологических изменений организма до различных патологических состояний. У подростков она часто рассматривается как физиологическое состояние из-за нестабильности менструального цикла в период полового созревания. Однако, несмотря на это, олигоменорея может также являться ранним признаком развивающихся гинекологических или эндокринных нарушений [4].

Связь между олигоменореей и синтезом цитокинов у подростков-девочек представляет интерес для исследования. Цитокины – это важные медиаторы иммунного ответа, которые могут быть вовлечены в регуляцию различных физиологических и патологических процессов, включая репродуктивную функцию. Имеющиеся

научные данные указывают на то, что олигоменорея может влиять на иммунный статус организма и синтез цитокинов [9]. Исследования последних лет показали, что изменения уровня эстрогенов, характерные для олигоменореи, могут оказывать влияние на иммунный ответ, включая снижение или повышение синтеза цитокинов. Кроме того, некоторые исследования связывают олигоменорею с нарушением функции эндокринной системы, что также может отразиться на синтезе цитокинов [10].

**Целью настоящего исследования** явилось изучение уровней про- и противовоспалительных цитокинов у девочек-подростков с олигоменореей с дефицитом массы тела.

## Материалы и методы

В настоящем исследовании участвовали 52 девочки-подростка в возрасте от 13 до 17 лет ( $15,3 \pm 0,36$ ), с установленными нарушениями менструального цикла, которые были разделены на 2 группы. В 1-ю группу вошли 28 девочек с олигоменореей с дефицитом массы тела (МТ менее 45 кг), а 2-ю группу составили 24 девочки с олигоменореей с нормальной массой тела (МТ более 45 кг), находящиеся под наблюдением в Центре эндокринологии в г. Самарканд. Всем обследованным девочкам осуществлялось комплексное клинико-лабораторное обследование. Контрольную группу составили 24 практически здоровые девочки с нормальным менструальным циклом и с нормальной массой тела аналогичного возраста.

Иммунологические исследования проводились в лаборатории Иммунология репродукции Института иммунологии и геномики человека АН РУз.

Определение сывороточного уровня про- (IL-6, IL-17A и IL-18) и противовоспалительного (IL-10) цитокинов проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем АО «Вектор-Бест» (Россия, Новосибирск) и ООО «Цитокин» (Россия, Санкт-Петербург), в соответствии с рекомендациями производителя. Количественную оценку результатов проводили методом построения калибровочной кривой, отражающей зависимость оптической плотности от концентрации для стандартного антигена и позволяющего сравнение с ним исследуемых образцов.

Статистическая обработка результатов исследований осуществлялась методами вариационной статистики, реализованными стандартным пакетом прикладных программ BioStat LE 7.6.5. Данные были обработаны с использованием обычных подходов, результаты представлены как выборочное среднее (M) и стандартная ошибка

среднего (m). Достоверность различий средних величин (p) сравниваемых показателей оценивали по критерию Стьюдента (t).

## Результаты и обсуждение

Система цитокинов – это универсальная, полиморфная регуляторная сеть медиаторов, обеспечивающих контроль за процессами пролиферации, созревания и функционирования клеток в различных системах организма [7]. Именно поэтому цитокиновая регуляция имеет огромное значение как в норме, так при различных патологических процессах и состояниях [8].

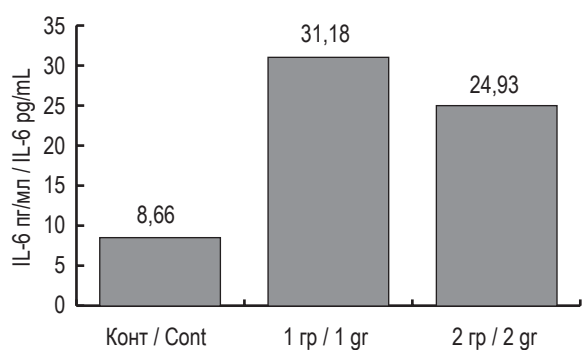
Принято считать, что изменения соотношения про- и противовоспалительных цитокинов создают благоприятные условия для развития различных патологических состояний, включая нарушения в репродуктивной системе. Сбалансированное соотношение этих молекул жизненно важно для нормального функционирования иммунной системы и поддержания здоровья тканей, в том числе репродуктивных органов.

В контексте женской репродуктивной системы дисбаланс между про- и противовоспалительными цитокинами может играть ключевую роль в нарушении менструального цикла [10].

Интерлейкин-6 (IL-6) – плеiotропный цитокин, продуцируемый в ответ на повреждение тканей и инфекции. С продукцией этого цитокина связаны несколько типов клеток, включая фибробласты, кератиноциты, эндотелиальные клетки сосудов, тучные клетки, макрофаги, дендритные клетки и Т- и В-клетки [8]. Механизмы продукции IL-6 связаны как с про-, так и с противовоспалительным эффектом [7], подчеркивая ключевую роль IL-6 в активации и регуляции иммунного ответа. Сравнительный анализ сывороточного содержания IL-6 в группах девочек с олигоменореей и контрольной группы приведен на рисунке 1.

Анализ сывороточной концентрации IL-6, приведенный на рисунке 1, установил, что в 1-й группе девочек с олигоменореей с дефицитом массы тела уровень изученного цитокина был повышен в 3,6 раза со средним значением  $31,18 \pm 1,08$  пг/мл ( $p < 0,001$ ), во 2-й группе девочек с олигоменореей с нормальной массой тела повышен в 2,8 раза и в среднем составил  $24,93 \pm 1,17$  пг/мл ( $p < 0,001$ ), тогда как в группе контроля данный показатель в среднем составил  $8,66 \pm 0,55$  пг/мл.

Интерлейкин-17 (IL-17) относится к провоспалительным цитокинам и участвует во многих этапах иммунного ответа. Он стимулирует продукцию хемокинов и, как следствие, стимулирует миграцию нейтрофилов к месту воспаления. Семейство провоспалительных цитокинов IL-17

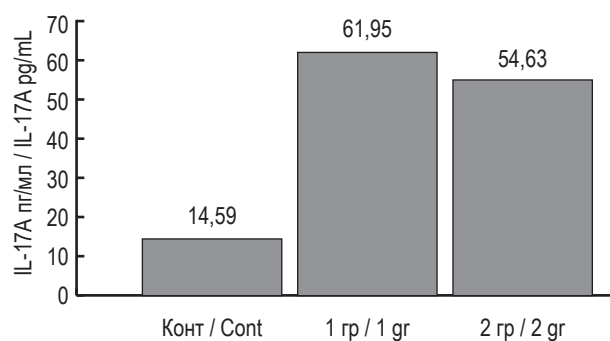


**Рисунок 1. Сывороточное содержание IL-6 в группах девочек с олигоменореей**

Примечание. \* – достоверно по сравнению с данными контрольной группы (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ ).

Figure 1. Serum IL-6 levels in groups of girls with oligomenorrhea

Note. \*, significant compared to the control group data (\*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ ).



**Рисунок 2. Сывороточная концентрация IL-17A в группах обследованных девочек с олигоменореей**

Примечание. См. примечание к рисунку 1.

Figure 2. Serum concentration of IL-17A in groups of examined girls with oligomenorrhea

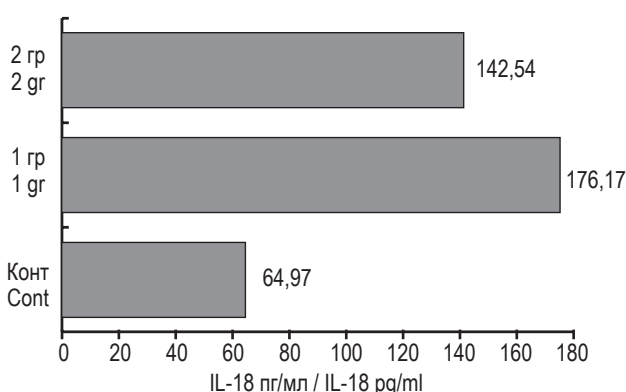
Note. As for Figure 1.

(IL-17A-F) играет многогранную роль в воспалении, аутоиммунитете и защите хозяина [8]. IL-17A, наиболее охарактеризованный из них, может вырабатываться многими клетками, однако наиболее выраженную продукцию обеспечивают Т-хелперы 17-го типа (Th17). IL-17 вызывает провоспалительные реакции, провоцируя экспрессию других цитокинов (IL-6, TNF $\alpha$ ), хемокинов (CXCL1, CXCL2, CCL20), воспалительных эффекторов [7, 8].

Как видно из рисунка 2, оценка сывороточного содержания IL-17A выявила достоверно значимое изменение изученного интерлейкина. Так, в 1-й группе девочек с олигоменореей с

массой тела менее 45 кг уровень изученного цитокина был повышен в 4,2 раза, что в среднем составило  $61,95 \pm 147$  пг/мл ( $p < 0,001$ ), во 2-й группе девочек с олигоменореей с массой тела более 45 кг повышен в 3,7 раза и в среднем составил  $54,63 \pm 1,08$  пг/мл ( $p < 0,001$ ), против значений группы контроля, которые в среднем составили  $14,59 \pm 0,66$  пг/мл.

Интерлейкин-18 (IL-18) – уникальный цитокин, участвующий в активации и дифференцировке различных популяций Т-клеток. Вместе с IL-12 IL-18 участвует в парадигме Th1. Независимо от IFN $\gamma$  или других цитокинов, IL-18 проявляет характеристики других провоспалительных

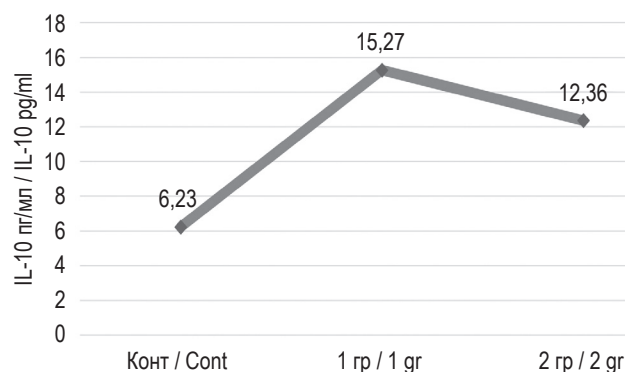


**Рисунок 3. Сывороточный уровень IL-18 в группах девочек с олигоменореей**

Примечание. См. примечание к рисунку 1.

Figure 3. Serum level of IL-18 in groups of girls with oligomenorrhea

Note. As for Figure 1.



**Рисунок 4. Сывороточное содержание IL-10 в группах девочек с олигоменореей**

Примечание. См. примечание к рисунку 1.

Figure 4. Serum IL-10 levels in groups of girls with oligomenorrhea

Note. As for Figure 1.



цитокинов, такие как увеличение молекул клеточной адгезии, синтез оксида азота и продукция хемокинов [8].

Анализ сывороточного содержания ИЛ-18, установил значимое повышение, которое отображено на рисунке 3. Так, было определено, что в 1-й группе девочек с олигоменореей с дефицитом массой тела уровень изученного цитокина был повышен в 2,7 раза со средним значением  $176,17 \pm 7,65$  пг/мл ( $p < 0,001$ ), во 2-й группе девочек с олигоменореей с нормальной массой тела повышен в 2,2 раза и в среднем составил  $142,54 \pm 4,43$  пг/мл ( $p < 0,001$ ), тогда как в группе контроля данный показатель в среднем составил  $64,97 \pm 2,75$  пг/мл.

Интерлейкин-10 (ИЛ-10) представляет собой мощный противовоспалительный цитокин, который играет решающую и часто существенную роль в предотвращении воспалительных и аутоиммунных патологий [8]. Ключевой противовоспалительный фактор, который ингибирует продукцию  $\text{TNF}\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6. Основными источниками ИЛ-10 являются Т-хелперные клетки, моноциты, макрофаги и дендритные клетки [7].

Согласно приведенным данным на рисунке 4, анализ сывороточного содержания ИЛ-10 установил достоверное повышение изученного интерлейкина в группах девочек с олигоменореей. Так, в 1-й группе девочек с олигоменореей с массой тела менее 45 кг уровень изученного противовоспалительного цитокина был повышен в 2,5 раза, что в среднем составил  $15,27 \pm 1,12$  пг/мл ( $p < 0,001$ ), во 2-й группе девочек с олигоменореей с массой тела более 45 кг повышен в 1,9 раза и в среднем составил  $12,36 \pm 0,97$  пг/мл ( $p < 0,001$ ) против нормативных значений контрольной группы, которые в среднем составили  $6,23 \pm 0,38$  пг/мл.

На основании полученных результатов, мы предполагаем, что повышенные уровни изученных медиаторов иммунного ответа свидетельствуют о наличии иммунологических и воспалительных изменений, которые могут быть связаны как с олигоменореей, так и с дефицитом массы

тела у девочек. Вероятно, что дефицит массы тела (недостаточный вес) может приводить к нарушениям в иммунной функции и уровням цитокинов. Организм с недостаточным весом может испытывать хронический стресс и недостаток питательных веществ, что может привести к активации воспалительных процессов и повышению уровней провоспалительных ИЛ-6, ИЛ-17А, ИЛ-18. Олигоменорея, как и рассматриваемое состояние, также может быть связана с дефицитом массы тела. Недостаточный вес может привести к нарушениям гормонального баланса и репродуктивной функции, что может привести к нарушениям менструального цикла. Это может стимулировать воспалительные процессы и, следовательно, повышение уровней ИЛ-6, ИЛ-17А, ИЛ-18. Организм может продуцировать изученные интерлейкины в ответ на различные стрессоры, включая недостаточное питание и изменения в гормональном балансе. Однако повышенные уровни ИЛ-10, вероятно, являются компенсаторной реакцией с целью сдерживания и уменьшения этой воспалительной реакции, а в контексте олигоменореи и дефицита массы тела, возможно, указывает на дисбаланс в иммунной системе. В некоторых случаях олигоменорея может быть ассоциирована с аутоиммунными процессами, а повышенные уровни ИЛ-10 могут быть связаны с попыткой организма контролировать этот аутоиммунный ответ.

## Выводы

1. Установлен повышенный синтез провоспалительных ИЛ-6, ИЛ-17А, ИЛ-18 в 3,6, 4,2 и 2,7 раза в группе девочек с олигоменореей с дефицитом массы тела.
2. Выявлено, что в группе девочек с олигоменореей с дефицитом массы тела сывороточный уровень противовоспалительного ИЛ-10 повышен в 2,55 раза.
3. Определен выраженный дисбаланс в цитокиновом профиле у всех обследованных девочек с олигоменореей.

## Список литературы / References

1. Адамадзе К.Б., Салий М.Г., Налимова И.Ю. Оценка репродуктивных нарушений с учетом психовегетативной регуляции гипоталамической дисфункции в период полового созревания у девочек-подростков // Репродуктивное здоровье детей и подростков, 2013. Т. 4. С. 109-113. [Adamadze K.B., Saliy M.G., Nalimova I.Yu. Evaluation of reproductive disorders, taking into account psycho vegetative regulation of hypothalamic dysfunction at puberty in adolescent girls. *Reproduktivnoe zdorovye detey i podrostkov = Pediatric and Adolescent Reproductive Health*, 2013, Vol. 4, pp. 109-113. (In Russ.)]
2. Андреева В.О., Герасимова И.А., Машталова А.А. Состояние резерва яичников у подростковых девочек с аутоиммунным оофоритом // Репродуктивное здоровье детей и подростков, 2013. Т. 1. С. 35-44. [Andreeva V.O., Gerasimova I.A., Mashtalova A.A. State of ovarian reserve in adolescent girls with autoimmune

oorphoritis. *Reproduktivnoe zdorovye detey i podrostkov = Pediatric and Adolescent Reproductive Health*, 2013, Vol. 1, pp. 35-44. (In Russ.)

3. Андреева В.О., Линде В.А., Левкович М.А., Билим М.В., Машталова А.А., Мирошниченко В.Г. Роль адипоцитокинов в патогенезе нарушений функции яичников при ожирении у подростковых девочек // *Репродуктивное здоровье детей и подростков*, 2014. Т. 3. С. 51-60. [Andreeva V.O., Linde V.A., Levkovich M.A., Bilim M.V., Mashtalova A.A., Miroshnichenko V.G. Role of adipocytokines in the pathogenesis of ovarian dysfunction in obesity among adolescent girls. *Reproduktivnoe zdorovye detey i podrostkov = Pediatric and Adolescent Reproductive Health*, 2014, Vol. 3, pp. 51-60. (In Russ.)]

4. Архипова М.П., Хамошина М.Б., Чотчаева С.М., Пуршаева Э.Ш., Личак Н.В., Зулумян Т.Н. Репродуктивный потенциал России: перспективы, проблемы и возможности улучшения // *Доктор.Ру*, 2013. № 1 (79). С. 70-74. [Arkhipova M.P., Khamoshina M.B., Chotchaeva S.M., Purshaeva E.Sh., Lichak N.V., Zulumyan T.N. The reproductive potential of Russia: Prospects, Problems and prospects of improvement. *Doktor.Ru = Doctor.Ru*, 2013, no. 1 (79), pp. 70-74. (In Russ.)]

5. Козлов А.И., Козлова М.А. Антропология: Учебник и практикум для вузов. М.: ЮРАЙТ, 2018. 319 с. [Kozlov A.I., Kozlova M.A. Anthropology: Textbook and Practical Guide for Universities]. Moscow: YURAIT, 2018. 319 p.

6. Уварова Е.В., Григоренко Ю.П. Опыт применения продолжительного режима (24/4) комбинированных оральных контрацептивов у подростков с синдромом поликистозных яичников // *Репродуктивное здоровье детей и подростков*, 2018. Т. 1. С. 45-52. [Uvarova E.V., Grigorenko Yu.P. Experience with prolonged regimen (24/4) of combined oral contraceptives in adolescents with polycystic ovary syndrome. *Reproduktivnoe zdorovye detey i podrostkov = Pediatric and Adolescent Reproductive Health*, 2018, Vol. 1, pp. 45-52. (In Russ.)]

7. Хаитов Р.М. Иммунология: структура и функции иммунной системы. учебное пособие. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 230 с. [Khaitov R.M. Immunology: Structure and Functions of the Immune System. Textbook]. Moscow: GEOTAR-Media, 2013. 230 p.

8. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 752 с. [Yarilyn A.A. Immunology]. Moscow: GEOTAR-Media, 2010. 752 p.

9. Committee Opinion No. 651. Menstruation in girls and adolescents: using the menstrual cycle as a vital sign. *Obstet. Gynecol.*, 2015, Vol. 126, no. 6, pp. 143-146.

10. Warren M.P., Perlroth N.E. The effects of intense exercise on the female reproductive system. *J. Endocrinol.*, 2001, Vol. 170, no. 1, pp. 3-11.

---

**Авторы:**

**Камалов Т.М.** — самостоятельный соискатель, Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Музафарова С.А.** — д.м.н., ведущий специалист, Центр женского здоровья AyolCare, г. Ташкент, Республика Узбекистан

---

**Authors:**

**Kamalov T.M.**, Independent Researcher, Institute of Human Immunology and Genomics of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Muzafarova S.A.**, PhD, MD (Medicine). Leading Specialist, AyolCare Women's Health Center, Tashkent, Republic of Uzbekistan

---

Поступила 26.03.2024

Отправлена на доработку 03.04.2024

Принята к печати 25.04.2024

---

Received 26.03.2024

Revision received 03.04.2024

Accepted 25.04.2024

## ДИСРЕГУЛЯЦИЯ РОСТОВЫХ ФАКТОРОВ И ПЛАЦЕНТАРНАЯ ДИСФУНКЦИЯ

Азизова З.Ш.<sup>1</sup>, Ешимбетова Г.З.<sup>2</sup>, Жураева Д.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

<sup>2</sup> Центр развития профессиональной квалификации медицинских работников, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Резюме.** Статья посвящена изучению ангиогенных и антиангиогенных факторов роста сосудов при плацентарной дисфункции, что имеет большое значение в акушерстве и перинатологии. Изучение факторов роста как предикторов развития плацентарной дисфункции позволяет заблаговременно установить развитие множества акушерских патологий, в числе которых преэклампсия и задержка роста развития плода, что имеет важное практическое значение для проведения диагностических, терапевтических мероприятий. Авторами проведено иммунологическое исследование беременных женщин с плацентарной дисфункцией и беременных женщин с физиологически протекающей беременностью. Целью исследования стало изучение сывороточных факторов роста у женщин с плацентарной дисфункцией.

В рамках работы обследовано 47 беременных женщин, со сроком гестации 26-40 недель, с установленным диагнозом «плацентарная дисфункция», которые находились под наблюдением в акушерском отделении городского родильного комплекса № 3 города Ташкента, Узбекистан. Контрольную группу в рамках исследования составили 35 женщин с нормальной, физиологически протекающей беременностью.

Всем женщинам было проведено иммунологическое исследование крови: изучены показатели клеточного и гуморального иммунитета, цитокины (VEGF-A, PlGF, sFlt-1, sFlt-1/PlGF). Основываясь на полученных результатах, авторы предполагают, что повышенное содержание растворимой sFlt-1 и одновременное понижение уровней VEGF-A и PlGF в плазме у беременных женщин на сроках гестации от 26 до 40 недель может служить предвестником развития таких осложнений беременности, как преэклампсия и задержка роста плода, увеличить риск преждевременного разрешения родов из-за нарушений плацентарного кровотока и дефицита кислорода для плода, привести к ухудшению в микроциркуляторном русле, а недостаточные уровни VEGF-A и PlGF могут способствовать дисфункции эндотелия сосудов, что также может способствовать развитию гестозов и других ослож-

---

### Адрес для переписки:

Азизова Зухра Шухратовна  
Институт иммунологии и геномики человека  
Академии наук Республики Узбекистан  
100060, Республика Узбекистан, г. Ташкент,  
ул. Яхёё Гулямова, 74.  
Тел.: +998 (93) 585-98-53.  
E-mail: zuhra\_0203@list.ru

### Address for correspondence:

Zuhra Sh. Azizova  
Institute of Immunology and Human Genomics,  
Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan  
74 Yahyo Gulyamov St  
Tashkent  
100060 Republic of Uzbekistan  
Phone: +998 (93) 585-98-53.  
E-mail: zuhra\_0203@list.ru

---

### Образец цитирования:

З.Ш. Азизова, Г.З. Ешимбетова, Д.М. Жураева  
«Дисрегуляция ростовых факторов и плацентарная  
дисфункция» // Российский иммунологический журнал,  
2024. Т. 27, № 4. С. 845-852.  
doi: 10.46235/1028-7221-16649-GFD

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

### For citation:

Z.Sh. Azizova, G.Z. Eshimbetova, D.M. Zhuraeva "Growth  
factor dysregulation and placental dysfunction", Russian  
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii  
Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 845-852.  
doi: 10.46235/1028-7221-16649-GFD

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16649-GFD

нений беременности. Изученные ангиогенные и антиангиогенные факторы роста сосудов являются важными показателями и могут служить маркерами для прогнозирования осложнений беременности для активного медицинского вмешательства в поддержании здоровья как матери, так и ребенка.

*Ключевые слова:* плацентарная дисфункция, цитокины, факторы роста сосудов, ангиогенез, сыворотка, дисбаланс

## GROWTH FACTOR DYSREGULATION AND PLACENTAL DYSFUNCTION

Azizova Z.Sh.<sup>a</sup>, Eshimbetova G.Z.<sup>b</sup>, Zhuraeva D.M.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Institute of Human Immunology and Genomics of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

<sup>b</sup> Center for the Development of Professional Qualifications of Medical Workers, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Abstract.** The article is devoted to the study of angiogenic and antiangiogenic vascular growth factors in placental dysfunction, which is of great importance in obstetrics and perinatology. The study of growth factors as predictors of the development of placental dysfunction makes it possible to determine in advance the development of many obstetric pathologies, including preeclampsia and fetal growth retardation, which is of great practical importance. The authors conducted an immunological study of pregnant women with placental dysfunction and pregnant women with a physiological pregnancy. Purpose of the study: to study serum growth factors in women with placental dysfunction.

We examined 47 pregnant women with a gestation period of 26-40 weeks, with a diagnosis of placental dysfunction, who were under observation in the obstetric department of the city maternity complex No. 3 of the city of Tashkent. The control group consisted of 35 women with a physiological pregnancy. All women underwent an immunological blood test: cellular and humoral immunity, as well as cytokines (VEGF-A, PlGF, sFlt-1, sFlt-1/PlGF) were studied. Based on the results obtained, the authors suggest that an increased level of soluble sFlt-1 and a simultaneous decrease in the levels of VEGF-A and PlGF in pregnant women at 26-40 weeks of gestation may portend the development of pregnancy complications, including preeclampsia and fetal growth restriction, and increase the risk of premature birth. Delivery due to impaired placental blood flow and oxygen deficiency for the fetus, lead to deterioration of microcirculation, and insufficient levels of VEGF-A and PlGF can contribute to vascular endothelial dysfunction, which can also contribute to the development of preeclampsia. The studied angiogenic and antiangiogenic vascular growth factors are important indicators and can serve as markers for predicting pregnancy complications for active medical intervention in maintaining the health of both mother and child.

*Keywords:* placenta dysfunction, cytokines, endothelial growth factors, angiogenesis, blood plasma, imbalance

## Введение

Изучение плацентарной дисфункции не теряет своей актуальности на протяжении многих лет и продолжает оставаться приоритетным направлением в современном акушерстве и перинатологии.

Плацентарная дисфункция (ПД) представляет собой комплексное состояние, характеризующееся изменениями в структуре и функционировании плаценты, а также нарушением ее способности адаптироваться к изменяющимся условиям в организме матери. Эти изменения могут вызы-

вать разнообразные нарушения в плацентарной функции, включая нарушения в транспорте питательных веществ и кислорода, нарушения трофического обеспечения плода, а также дисбаланс эндокринной и метаболической активности, что может оказать отрицательное воздействие на здоровье и развитие плода и новорожденного [1, 5].

ПД имеет многочисленные причины, включая патологии сердечно-сосудистой системы (например пороки сердца, нарушения кровообращения, артериальная гипертензия и гипотензия), заболевания почек, печени, легких и крови, хрониче-



ские инфекции, нарушения нейроэндокринной системы (например, сахарный диабет, нарушения функции щитовидной железы, патология гипоталамуса и надпочечников), а также акушерско-гинекологические проблемы, социальные и бытовые факторы, а также ряд других патологических состояний [2].

Одним из наиболее значимых патогенетических факторов, приводящих к развитию ПД, является недостаточность инвазии цитотрофобласта. Если к окончанию I триместра беременности не полностью реализуется первая волна инвазии, то это приводит к тому, что уже с ранних сроков беременности имеет место сниженный объем притекающей материнской крови к плаценте. При недостаточности второй волны инвазии цитотрофобласта в миометральные сегменты спиральных артерий сосуды сохраняют эндотелий, среднюю оболочку и эластические мембраны. Узкий просвет спиральных артерий, их резистентность и чувствительность к сосудодвигательным раздражителям препятствуют нормальному кровотоку, что не обеспечивает адекватного прироста маточно-плацентарного кровообращения и, в конечном итоге, приводит к уменьшению кровоснабжения плаценты и ишемии ворсин. Нарушение кровотока в спиральных артериях сопровождается также геморагическими нарушениями в межворсинчатом пространстве. Патология спиральных артерий может привести как к преждевременной отслойке плаценты, так и к ее острому геморагическому инфаркту [1, 2].

Нарушение формирования ворсинчатого дерева играет важную роль в развитии ПД, что опосредуется нарушением ангиогенеза в ворсинах. От процессов ангиогенеза и васкулогенеза напрямую зависит нормальное развитие плаценты [6]. Оба процесса имеют решающее значение, потому что от них зависит эффективная транспортировка кислорода, питательных веществ и выведение продуктов обмена веществ [1, 4].

Васкулогенез и ангиогенез – это сложные процессы, которые контролируются различными сигнальными молекулами, такими как цитокины и ростовые факторы, а также через взаимодействие эндотелиальных клеток между собой, элементы экстрацеллюлярного матрикса и клетки окружающей среды, такие как макрофаги, гладкие мышечные клетки, фибробласты и адипоциты [4].

**Целью настоящего исследования** явилось изучение сывороточных факторов роста у женщин с плацентарной дисфункцией.

## Материалы и методы

В рамках настоящего исследования были обследованы 47 беременных женщин, со сроком гестации 26-40 недель, с установленным диагнозом «плацентарная дисфункция», которые находились под наблюдением в акушерском отделении городского родильного комплекса № 3 г. Ташкента. Всем беременным осуществлялось комплексное клиничко-лабораторное обследование. Оценивались возраст, акушерско-гинекологический и соматический анамнез, течение настоящей беременности. Контрольную группу составили 35 женщин с физиологически протекающей беременностью.

Иммунологические исследования проводились в лаборатории Иммунология репродукции Института иммунологии и геномики человека АН РУз.

Определение сывороточного уровня ростовых факторов (VEGF-A и PlGF) и растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 (sFlt-1), проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем АО «Вектор-Бест» (Россия) и ЗАО «БиоХим-Мак» (Россия), в соответствии с рекомендациями производителя. Количественную оценку результатов проводили методом построения калибровочной кривой, отражающей зависимость оптической плотности от концентрации для стандартного антигена и позволяющих сравнение с ним исследуемых образцов.

Статистическая обработка результатов исследований осуществлялась методами вариационной статистики, реализованными стандартным пакетом прикладных программ BioStat LE 7.6.5.

Данные были статистически обработаны с использованием обычных подходов, результаты представлены как выборочное среднее (M) и стандартная ошибка среднего (m); медиана (Me), характеризующая центральную тенденцию, и верхний и нижний квартили, характеризующие разброс значений показателя у 50% респондентов ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ ), где  $Q_{0,25}$  – 25% перцентиль, Me – 50% перцентиль,  $Q_{0,75}$  – 75% перцентиль. Достоверность различий средних величин (p) сравниваемых показателей оценивали по критерию Стьюдента (t).

## Результаты и обсуждение

Как известно, ключевыми факторами, регулирующими ангиогенез гестационного периода, являются VEGF и PlGF [9].

**ТАБЛИЦА 1. СЫВОРОТОЧНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ФАКТОРОВ РОСТА В ГРУППАХ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН С РАЗЛИЧНЫМИ СРОКАМИ ГЕСТАЦИИ**

TABLE 1. SERUM LEVELS OF GROWTH FACTORS IN GROUPS OF PREGNANT WOMEN AT DIFFERENT GESTATIONAL AGES

Показатель Indicator	M±m, пг/мл M±m, pg/mL	Me (Q <sub>0,25</sub> -Q <sub>0,75</sub> )	Min, пг/мл Min, pg/mL	Max, пг/мл Max, pg/mL
<b>Контрольная группа (26-30 недель), n = 17</b> Control group (26-30 weeks), n = 17				
<b>VEGF A</b>	109,22±3,60	102,8 (96,7-132,5)	93,50	132,51
<b>PIGF</b>	622,13±24,34	610,4 (587,3-691,3)	380,14	819,32
<b>Беременные женщины с ПД (26-30 недель), n = 25</b> Pregnant women with PD (26-30 weeks), n = 25				
<b>VEGF A</b>	68,06±3,15***	68,0 (63,1-75,2)	32,36	95,03
<b>PIGF</b>	59,47±2,79***	68,6 (44,8-72,1)	39,80	79,42
<b>Контрольная группа (32-40 недель), n = 18</b> Control group (32-40 weeks), n = 18				
<b>VEGF A</b>	126,56±3,52	128,2 (113,6-132,4)	103,59	162,33
<b>PIGF</b>	362,60±19,00	353,4 (300,0-430,6)	241,21	526,51
<b>Беременные женщины с ПД (32-40 недель), n = 22</b> Pregnant women with PD (32-40 weeks), n = 22				
<b>VEGF A</b>	75,44±3,78***	77,4 (57,4-91,4)	45,60	97,91
<b>PIGF</b>	41,91±2,43***	44,9 (33,6-50,1)	18,77	61,58

Примечание. \* – достоверно по сравнению с данными контрольной группы (\* – p < 0,05, \*\* – p < 0,01, \*\*\* – p < 0,001). Me – медиана, Q<sub>0,25</sub> (перцентиль) – 25%, Q<sub>0,75</sub> (перцентиль) – 75%.

Note. \*, significant compared to the control group (\*, p < 0.05; \*\*, p < 0.01; \*\*\*, p < 0.001). Me, median; Q<sub>0,25</sub> (percentile), 25%; Q<sub>0,75</sub> (percentile), 75%.

Полученные результаты сывороточных уровней факторов роста приведены в таблице 1.

Семейство VEGF включает несколько групп: A, B, C, D, E. VEGF повышает выработку NO и PGI<sub>2</sub> (простациклин), вызывая вазодилатацию, анти-тромботический эффект, снижает адгезию лейкоцитов, обладает противовоспалительными свойствами. Эти данные свидетельствуют о защитных функциях сосудистых факторов роста [1, 7].

VEGF влияет на развитие новых кровеносных сосудов и выживание незрелых сосудов (сосуди-

стая поддержка), связываясь с двумя близкими по строению мембранными тирозинкиназными рецепторами (рецептор-1 VEGF и рецептор-2 VEGF) и активируя их. Эти рецепторы экспрессируются клетками эндотелия стенок кровеносных сосудов. Связывание VEGF с этими рецепторами запускает сигнальный каскад, который в конечном итоге стимулирует рост эндотелиальных клеток сосуда, их выживание и пролиферацию. Эндотелиальные клетки участвуют в таких разнообразных процессах, как вазоконстрикция

и вазодилатация, презентация антигенов, а также служат очень важными элементами всех кровеносных сосудов как капилляров, так и вен или артерий [1, 8].

Согласно результатам, приведенным в таблице 1, анализ сывороточной концентрации VEGF-A в группе беременных женщин с ПД, со сроком гестации 26-30 недель была значительно снижена на 37,6% со средним значением  $68,06 \pm 3,15$  пг/мл, тогда как у беременных женщин с физиологически протекающей беременностью, аналогичным сроком гестации данный показатель составил  $109,2 \pm 3,60$  пг/мл ( $p < 0,001$ ).

Также было выявлено, что в группе беременных женщин с ПД, со сроком гестации 32-40 недель сывороточное содержание VEGF-A было достоверно снижено на 40,4% и в среднем составило  $75,44 \pm 3,78$  пг/мл, а в группе беременных женщин с физиологически протекающей беременностью, аналогичным сроком гестации данный показатель составил  $126,56 \pm 3,52$  пг/мл ( $p < 0,001$ ).

Плацентарный фактор роста (PlGF) осуществляет свое воздействие на эндотелий через специфическое связывание с рецептором VEGF-R1. По данным литературы, PlGF воздействует больше на процессы ангиогенеза, чем васкулогенеза, однако также отмечается, что PlGF влияет на мобилизацию мезенхимальных предшественников эндотелиальных клеток, которые участвуют в васкулогенезе [10].

Оценка содержания сывороточного уровня PlGF установила, что в группе беременных жен-

щин с ПД, со сроком гестации 26-30 недель синтез был значительно снижен в 10,4 раза и в среднем составил  $622,13 \pm 24,34$  пг/мл, тогда как у беременных женщин с физиологически протекающей беременностью, аналогичным сроком гестации данный показатель составил  $622,13 \pm 24,34$  пг/мл ( $p < 0,001$ ) (табл. 1).

Также определено, что в группе беременных женщин с ПД, со сроком гестации 32-40 недель сывороточная концентрация PlGF была достоверно снижена в 8,6 раза, со средним значением  $41,91 \pm 2,43$  пг/мл, против значений группы беременных женщин с физиологически протекающей беременностью, аналогичным сроком гестации, который в среднем составил  $362,60 \pm 19,00$  пг/мл ( $p < 0,001$ ) (табл. 1).

Ангиогенез, или процесс формирования новых сосудов, регулируется не только ангиогенными факторами, но также и антиангиогенными молекулами. Эти последние играют ключевую роль в поддержании баланса между образованием новых сосудов и их регрессией, предотвращая чрезмерное расширение сосудистой сети. Антиангиогенные факторы выражаются на поверхности эндотелиальных клеток и являются основным механизмом контроля за инвазией клеток и ростом новых сосудов [1, 12].

К антиангиогенным факторам относятся VEGF-R1 (Flt-1), также известный как FMS-подобная тирозинкиназа, VEGF-R2 (Flk-1, KDR), VEGF-R3 (Flt-4) и эндоглин. Растворимые формы этих рецепторов способны связы-

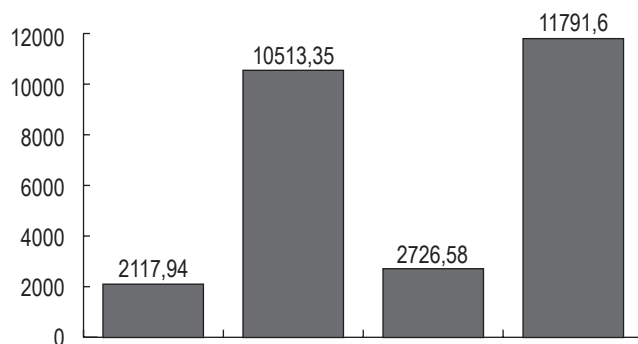
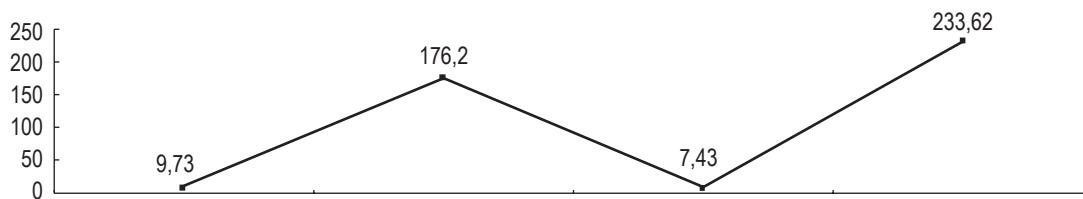


Рисунок 1. Сывороточная концентрация sFlt-1 в группах обследованных беременных женщин с разными сроками гестации (пг/мл)

Примечание. \* – достоверно по сравнению с данными контрольной группы (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ ).

Figure 1. Serum concentration of sFlt-1 in groups of examined pregnant women at different gestational ages (pg/mL)

Note. \*, statistically significant compared to the control group data (\*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ ).



**Рисунок 2. Соотношение содержания sFlt-1/PlGF в группах обследованных беременных женщин с разными сроками гестации (пг/мл)**

Примечание. \* – достоверно по сравнению с данными контрольной группы (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ ).

Figure 2. Ratio of sFlt-1/PlGF levels in groups of examined pregnant women at different gestational ages (pg/mL)

Note. \*, statistically significant compared to the control group data (\*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ ).

вать сосудистые факторы роста в циркуляции, замедляя или блокируя процессы ангиогенеза [1, 12]. sFlt-1 представляет собой растворимую изоформу Flt-1, которая является трансмембранным рецептором VEGF. Хотя sFlt-1 лишен трансмембранного домена, он содержит лигандсвязывающий участок и способен связывать циркулирующие VEGF и PlGF, предотвращая связывание фактора роста с трансмембранным рецептором. Таким образом, sFlt-1 обладает антиангиогенным эффектом [1, 3, 10].

Изучение сывороточного уровня sFlt-1 выявило достоверно максимальные значения в группе беременных женщин с ПД на сроке гестации 32-40 недель. Так, концентрация sFlt-1 в данной группе беременных женщин была повышена в 4,3 раза со средним показателем  $11791,60 \pm 104,90$  пг/мл против значений группы беременных женщин с физиологическим течением беременности, аналогичным сроком гестации, которые в среднем составили  $2726,58 \pm 102,57$  пг/мл ( $p < 0,001$ ) (рис. 1).

Анализ полученных результатов содержания sFlt-1 в сыворотке периферической крови установил, что в группе беременных женщин с ПД на сроке 26-30 недель синтез изученного антиангиогенного фактора роста сосудов был повышен в 4,9 раза со средним значением  $10513,35 \pm 71,16$  пг/мл, тогда как в группе беременных женщин с физиологическим течением беременности аналогичным сроком гестации в среднем составил  $2117,94 \pm 78,57$  пг/мл ( $p < 0,001$ ) (рис. 1).

Соотношение между sFlt-1 и PlGF может служить важным показателем для оценки риска преэклампсии и других осложнений беременности.

Значительное увеличение этого соотношения, особенно при одновременном повышении уровня sFlt-1 и снижении PlGF, может свидетельствовать о повышенном риске преэклампсии. Как правило, уровень sFlt-1 повышается, а PlGF снижается перед началом клинических проявлений преэклампсии, делая это соотношение важным индикатором ранней диагностики и прогнозирования этого осложнения [1, 13].

В настоящем исследовании было изучено соотношение sFlt-1 к PlGF, согласно которым было установлено, что в группе беременных женщин с ПД на сроке 26-30 недель гестации данный показатель составил в среднем до 176,20 раза ( $p < 0,001$ ), а в группе беременных женщин с ПД на сроке гестации 32-40 недель в среднем до 233,62 раза ( $p < 0,001$ ) против показателей контрольных групп женщин с физиологическим течением беременности (26-30 недель –  $9,73 \pm 0,51$  пг/мл и 32-40 недель –  $7,43 \pm 0,39$  пг/мл) (рис. 2).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что повышенное содержание растворимой sFlt-1 и одновременное понижение уровней VEGF-A и PlGF у беременных женщин на сроках гестации 26-40 недель может предвещать развитие осложнений беременности, включая преэклампсию и задержку роста плода, увеличить риск преждевременного родоразрешения из-за нарушений плацентарного кровотока и дефицита кислорода для плода, привести к ухудшению микроциркуляции, а недостаточные уровни VEGF-A и PlGF могут способствовать дисфункции эндотелия сосудов, что также может способствовать развитию гестоза.



Таким образом, изученные ангиогенные и антиангиогенные факторы роста сосудов являются важными показателями и могут служить маркерами для прогнозирования осложнений беременности для активного медицинского вмешательства в поддержании здоровья как матери, так и ребенка.

## Выводы

1. Установлено достоверное снижение сывороточной концентрации VEGF-A в группах бе-

ременных женщин с ПД со сроком гестации 26-40 недель.

2. Выявлено значимое снижение уровня PlGF в сыворотке периферической крови в группах беременных женщин с ПД со сроком гестации 26-40 недель.

3. Определено достоверное повышение синтеза сывороточного sFlt-1 в группах обследованных беременных женщин с ПД со сроком гестации 26-40.

4. Установлен выраженный дисбаланс соотношения sFlt-1 к PlGF в группах беременных женщин с ПД в сыворотке периферической крови.

## Список литературы / References

1. Макаров О.В., Волкова Е.В., Лысюк Е.Ю., Копылова Ю.В. Фетоплацентарный ангиогенез у беременных с плацентарной недостаточностью // Акушерство, гинекология, репродукция, 2013. Т. 7, № 3. С. 13-19. [Makarov O.V., Volkova E.V., Lysyuk E.Yu., Kopylova Yu.V. Fetoplacental angiogenesis in pregnant women with placental insufficiency. *Akusherstvo, ginekologiya, reproduksiya = Obstetrics, Gynecology, and Reproduction*, 2013, Vol. 7, no. 3, pp. 13-19. (In Russ.)]
2. Савельева Г.М., Курцер М.А., Шалина Р.И. Материнская смертность и пути ее снижения // Акушерство и гинекология, 2009. Т. 3. С. 11-15. [Savelieva G.M., Kurzer M.A., Shalina R.I. Maternal mortality and ways to reduce it. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*, 2009, Vol. 3, pp. 11-15. (In Russ.)]
3. Сидельникова В.М. Эндокринология беременности в норме и при патологии. М., 2009. 352 с. [Sidel'nikova V.M. Endocrinology of pregnancy in norm and pathology]. Moscow, 2009. 352 p.
4. Сидорова И.С., Милованов А.П., Боровкова Е.И., Солоницын А.Н. Иммуногистохимическая оценка распределения фактора роста эндотелия сосудов в плаценте, плацентарном ложе матки при нормальной беременности и у женщин с преэклампсией // Архив патологии, 2008. Т. 1. С. 12-15. [Sidorova I.S., Milovanov A.P., Borovkova E.I., Solonitsyn A.N. Immunohistochemical assessment of vascular endothelial growth factor distribution in the placenta, uterine placental bed in normal pregnancy and in women with preeclampsia. *Arkhiv patologii = Archives of Pathology*, 2008, Vol. 1, pp. 12-15. (In Russ.)]
5. Соколов Д.И. Васкулогенез и ангиогенез в развитии плаценты // Журнал акушерства и женских болезней, 2007. Т. 3. С. 129-133. [Sokolov D.I. Vasculogenesis and angiogenesis in placental development. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney = Journal of Obstetrics and Women's Diseases*, 2007, Vol. 3, pp. 129-133. (In Russ.)]
6. Стрижаков А.Н., Тимохина Т.Ф., Баев О.Р., Рыбин М.В. Выбор оптимального метода родоразрешения в снижении перинатальных потерь // Акушерство и гинекология, 2000. Т. 5. С. 8-12. [Strizhakov A.N., Timokhina T.F., Baev O.R., Rybin M.V. Choice of optimal method of obstetric resolution in reducing perinatal losses. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*, 2000, Vol. 5, pp. 8-12. (In Russ.)]
7. Burton G.I., Charnock-Jones D.S., Jauniaux E. Regulation of vascular growth and function in the human placenta. *Reproduction*, 2009, Vol. 138, no. 6, pp. 895-902.
8. Del Rio M., Martinez J.M., Bennasar M., Palacio M., Figueras F., Puerto B. Prenatal diagnosis of a right ventricular diverticulum complicated by pericardial effusion in the first trimester. *Ultrasound. Obstet. Gynecol.*, 2005, Vol. 25, pp. 409-411.
9. Dias S., Shmelkov S.V., Lam G., Rafi S. VEGF(165) promotes survival of leukemic cells by Hsp90-mediated induction of Bcl-2 expression and apoptosis inhibition. *Blood*, 2002, Vol. 99, no. 7, pp. 2532-254.
10. Forbes K., Westwood M. Maternal growth factor regulation of placental development and fetal growth. *J. Endocrinol.*, 2010, Vol. 207, pp. 1-16.
11. Maynard S.E., Min J.Y., Merchan J. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J. Clin. Invest.*, 2003, Vol. 111, pp. 649-658.

12. Plaisier M., Dennert I., Rost E. Decidual vascularization and the expression of angiogenic growth factors and proteases in first trimester spontaneous abortions. *Hum. Reprod.*, 2009, Vol. 24, no. 1, pp. 185-197.
13. Sugimoto H., Hamano Y., Charytan D., Cosgrove D., Kieran M., Sudhakar A., Kalluri R. Neutralization of circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) by anti-VEGF antibodies and soluble VEGF receptor 1 (sFlt-1) induces proteinuria. *J. Biol. Chem.*, 2003, Vol. 278, no. 15, pp. 12605-12608.

---

**Авторы:**

**Азизова З.Ш.** — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории «Иммунология репродукции», Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Ешимбетова Г.З.** — д.м.н., профессор, Центр развития профессиональной квалификации медицинских работников, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Жураева Д.М.** — самостоятельный соискатель, Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

---

**Authors:**

**Azizova Z.Sh.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Immunology of Reproduction, Institute of Human Immunology and Genomics of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Eshimbetova G.Z.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Center for the Development of Professional Qualifications of Medical Workers, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Zhuraeva D.M.**, Independent Applicant, Institute of Human Immunology and Genomics of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

---

Поступила 26.03.2024  
Отправлена на доработку 03.04.2024  
Принята к печати 25.04.2024

---

Received 26.03.2024  
Revision received 03.04.2024  
Accepted 25.04.2024

## СИНТЕЗ ЦИТОКИНОВ ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ ПРОТЕКАЮЩЕЙ БЕРЕМЕННОСТИ

Хамдамов Б.З.<sup>1</sup>, Турдыева Д.О.<sup>1</sup>, Рустамова Н.Б.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Бухарский государственный медицинский университет, г. Бухара, Республика Узбекистан

<sup>2</sup> Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Резюме.** Статья посвящена изучению уровня про- и противовоспалительных цитокинов у женщин с физиологически протекающей беременностью, что имеет большое значение в акушерстве. Изучение синтеза цитокинов позволяет выявить нарушения течения беременности, что имеет важное практическое значение. Авторами проведено исследование уровня цитокинов у женщин с физиологически протекающей беременностью. Цель исследования: изучить сывороточную концентрацию провоспалительных (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ) и противовоспалительных (IL-4, IL-10) цитокинов в динамике физиологически протекающей беременности.

У 94 женщин с физиологически протекающей беременностью, находившихся на учете консультативных поликлиник № 14, № 26 и № 28 г. Бухара, проводили изучение уровня сывороточных цитокинов. Возраст беременных женщин колебался от 21 до 37 лет, составляя в среднем 26,3 $\pm$ 1,5 года. При составлении групп по триместрам беременности было выявлено, что у 35 женщин был I триместр беременности; у 31 – II триместр и у 28 женщин – III триместр беременности. Контрольную группу оставили 30 практически здоровых небеременных женщин, которые были сопоставимы по возрасту. Уровень цитокинов 1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-4, IL-10 определяли в сыворотке периферической крови с помощью набора реагентов производства ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург, Россия) методом ИФА по предложенной производителем инструкции. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью t-критерия Стьюдента, используя стандартный пакет статистических программ Windows 2000.

Было выявлено повышение уровня провоспалительных цитокинов (IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ ) в ранние сроки гестации по сравнению с данными здоровых небеременных женщин, которое сохранялось и во второй половине беременности на фоне повышения противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10). В третьем триместре беременности наблюдалось дальнейшее увеличение в сыворотке крови уровня провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ). Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что на уровне цитокиновой сети существуют механизмы фетопротекции, нарушение которых может быть причиной патологии беременности.

*Ключевые слова:* беременные женщины, физиологическая беременность, кровь, сыворотка, цитокины, дисбаланс

### Адрес для переписки:

Рустамова Назокат Бахтиёровна  
Институт иммунологии и геномики человека  
Академии наук Республики Узбекистан  
100060, Республика Узбекистан, г. Ташкент,  
ул. Яхёё Гулямова, 74.  
Тел.: +998 (93) 588-99-65.  
E-mail: nozam91@mail.ru

### Address for correspondence:

Nazokat B. Rustamova  
Institute of Human Immunology and Genomics,  
Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan  
74 Yahyo Gulyamov St  
Tashkent  
100060 Republic of Uzbekistan  
Phone: +998 (93) 588-99-65.  
E-mail: nozam91@mail.ru

### Образец цитирования:

Б.З. Хамдамов, Д.О. Турдыева, Н.Б. Рустамова  
«Синтез цитокинов при физиологически протекающей  
беременности» // Российский иммунологический  
журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 853-858.  
doi: 10.46235/1028-7221-16954-SOC

© Хамдамов Б.З. и соавт., 2024  
Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

### For citation:

B.Z. Khamdamov, D.O. Turdyeva, N.B. Rustamova “Synthesis  
of cytokines during physiological pregnancy”, *Russian Journal  
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal*, 2024,  
Vol. 27, no. 4, pp. 853-858.  
doi: 10.46235/1028-7221-16954-SOC

© Khamdamov B.Z. et al., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16954-SOC

## SYNTHESIS OF CYTOKINES DURING PHYSIOLOGICAL PREGNANCY

Khamdamov B.Z.<sup>a</sup>, Turdyeva D.O.<sup>a</sup>, Rustamova N.B.<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Bukhara State Medical University, Bukhara, Republic of Uzbekistan

<sup>b</sup> Institute of Human Immunology and Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Abstract.** The article is devoted to the study of the level of pro- and anti-inflammatory cytokines in women with a physiological pregnancy, which is of great importance in obstetrics. Studying the synthesis of cytokines makes it possible to identify disturbances in the course of pregnancy, which is of great practical importance. The authors conducted a study of the level of cytokines in women with physiological pregnancy. Purpose of the study: to study the serum concentration of pro-inflammatory (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ) and anti-inflammatory (IL-4, IL-10) cytokines in the dynamics of physiological pregnancy.

The level of serum cytokines was studied in 94 women with a physiologically progressing pregnancy, who were registered with advisory clinics No. 14, No. 26, and No. 28 in Bukhara. The age of pregnant women ranged from 21 to 37 years, averaging  $26.3 \pm 1.5$  years. When compiling groups by trimester of pregnancy, it was revealed that: 35 women were in the first trimester of pregnancy; in 31 – the second trimester; and in 28 women – the third trimester of pregnancy. The control group consisted of 30 practically healthy non-pregnant women who were comparable in age. The levels of cytokines 1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-4, and IL-10 was determined in peripheral blood serum using a set of reagents produced by Cytokin LLC (St. Petersburg, Russia) using the ELISA method according to the manufacturer's instructions. Statistical processing of the obtained results was carried out using Student's t-test using the standard Windows 2000 statistical software package. An increase in the level of proinflammatory cytokines (IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ ) was detected in the early stages of gestation compared with data from healthy non-pregnant women, which persisted in the second half of pregnancy against the background of an increase in anti-inflammatory cytokines (IL-4, IL-10). In the third trimester of pregnancy, a further increase in the serum level of pro-inflammatory cytokines (IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ) was observed. The results of the studies indicate that at the level of the cytokine network there are mechanisms of fetoprotection, the violation of which can be the cause of pregnancy pathology.

*Keywords:* pregnant women, physiological pregnancy, blood, serum, cytokines, imbalance

### Введение

Беременность – физиологический процесс, во время которого действуют особые механизмы, регулирующие взаимоотношения между аллогенными организмами. Благодаря наличию комплекса иммунологических механизмов, действующих начиная с самых ранних сроков беременности, материнский организм не отторгает эмбрион, который является по сути полуаллогенным трансплантатом, обладающим продуктами отцовских генов – уникальными дифференцировочными антигенами [1, 2, 3]. Специфическая перестройка материнского организма, обеспечивающая нормальное развитие и выживание плода, сопровождается морфологическими и функциональными изменениями в иммунной системе беременной [4, 5]. Одна из важнейших физиологических функций цитокинов в организме – регуляция эмбриогенеза, закладка и развитие органов иммунной системы. Они обеспечивают процесс межклеточной кооперации, способствуя пролиферации, дифференцировке, активации и гибели лимфоидных клеток, а также процессы

гемопоеза, ангиогенеза, нейроиммуноэндокринных взаимоотношений [6, 7, 8].

Среди диагностических показателей представляет интерес оценка цитокинового статуса при физиологически протекающей беременности, поскольку изменения сывороточной концентрации цитокинов, обладающих многочисленными биологическими эффектами, способны быть индикаторами системных иммунных расстройств и патологии беременности [9, 10, 11].

**Целью данного исследования** явилось изучить сывороточную концентрацию провоспалительных (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ) и противовоспалительных (IL-4, IL-10) цитокинов в динамике физиологически протекающей беременности.

### Материалы и методы

У 94 женщин с физиологически протекающей беременностью, находившихся на учете консультативной поликлиники № 26 г. Ташкента, проводили изучение уровня сывороточных цитокинов. Возраст беременных женщин колебался от 21 до 37 лет, составляя в среднем  $26,3 \pm 1,5$  года. При



составлении групп по триместрам беременности было выявлено, что у 35 женщин был I триместр беременности; у 31 – II триместр и у 28 женщин – III триместр беременности. Контрольную группу оставили 30 практически здоровых небеременных женщин, которые были сопоставимы по возрасту.

Уровень цитокинов  $1\beta$ , IL-6,  $TNF\alpha$ ,  $IFN\gamma$ , IL-4, IL-10 определяли в сыворотке периферической крови с помощью набора реагентов производства ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург, Россия) методом ИФА по предложенной производителем инструкции. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью t-критерия Стьюдента, используя стандартный пакет статистических программ Windows 2000.

## Результаты и обсуждение

Результаты проведенных исследований показали, что при физиологически протекающей беременности имеет место однонаправленное изменение концентрации про- и противовоспалительных цитокинов на протяжении всего периода гестации (табл. 1). Максимальное напряжение основных регуляторных систем организма происходит в первом триместре беременности, где выявлено достоверное повышение уровня всех исследованных цитокинов. Уровень IL-1 $\beta$  повышался в первом триместре беременности в 7,8 раза ( $p < 0,01$ ). Вторым и третьим триместром характеризовался дальнейшим повышением этого интерлейкина в периферической крови, уровень которого максимально повышался в 8,6 раза в третьем триместре ( $p < 0,001$ ).

Полученные нами данные свидетельствуют, что в первом триместре беременности продукция противовоспалительного цитокина IL-4 резко возрастает. Так, уровень IL-4 превышал значения контрольной группы в 11 раз –  $230\pm 6,5$  пкг/мл против значений небеременных женщин  $20,9\pm 2,4$  пкг/мл,  $p < 0,001$  (рис. 1).

Во втором триместре беременности уровень IL-1 $\beta$  повысился до  $183\pm 15$  пкг/мл ( $p < 0,001$ ), оставаясь в 8,5 раза выше значений небеременных женщин и в III триместре – до  $185\pm 19,0$  пкг/мл,  $p < 0,001$ . При анализе продукции IL-4 выявлено постепенное снижение уровня без скачка во втором триместре беременности, но также оставаясь повышенным почти в 7 раз по сравнению с группой небеременных женщин:  $190\pm 17,4$  пкг/мл,  $140\pm 18,4$  пкг/мл соответственно против  $20,9\pm 2,4$  пкг/мл,  $p < 0,001$ .

Вполне вероятно, что усиление продукции цитокинов периферическими моноцитами отражает общий характер их активации, но не способствует развитию воспалительного ответа. Возможно, при беременности активированные периферические моноциты развивают реакции, в большей степени направленные на сдерживание воспаления, чему способствует высокий уровень продукции IL-4 и IL-10 ( $42,6\pm 2,9$  пкг/мл,  $38,5\pm 2,5$  пкг/мл и  $39,8\pm 2,8$  пкг/мл в I, II и III триместрах беременности соответственно против  $13,7\pm 0,8$  пкг/мл в группе небеременных,  $p < 0,01$ ). Известно, что IL-4 блокирует синтез IL-1 и участвует в дифференцировке клеток в синергизме с IL-5 и IL-12 [5, 7, 9]. Интерлейкин-4 синтезируется активированными Th2, что свидетельствует о включении иммунных реакций материнского организма, связанных с Th2-зависимым путем. По

ТАБЛИЦА 1. ЦИТОКИНЫ ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ ПРОТЕКАЮЩЕЙ БЕРЕМЕННОСТИ ( $M\pm m$ )

TABLE 1. CYTOKINES DURING PHYSIOLOGICAL PREGNANCY ( $M\pm m$ )

Цитокины Cytokines	Контрольная группа Control group	Сроки гестационного периода Gestational period		
		I триместр I trimester	II триместр II trimester	III триместр III trimester
IL-1 $\beta$	21,5 $\pm$ 2,2	168,0 $\pm$ 8,9*	183 $\pm$ 15*	185,0 $\pm$ 19,0*
IL-4	20,9 $\pm$ 2,4	230,0 $\pm$ 6,5*	190,0 $\pm$ 17,4*	140,0 $\pm$ 18,4* <sup>1,2</sup>
IL-6	22,8 $\pm$ 2,5	41,3 $\pm$ 2,3*	78,2 $\pm$ 3,6* <sup>1</sup>	54,4 $\pm$ 2,9* <sup>1,2</sup>
IL-8	16,3 $\pm$ 1,9	104,0 $\pm$ 3,7*	29,8 $\pm$ 1,7* <sup>1</sup>	19,5 $\pm$ 1,9* <sup>1,2</sup>
IL-10	13,7 $\pm$ 0,8	42,6 $\pm$ 2,9*	38,5 $\pm$ 2,5*	39,8 $\pm$ 2,0*
$TNF\alpha$	25,6 $\pm$ 2,3	36,8 $\pm$ 2,4*	39,4 $\pm$ 2,4*	48,3 $\pm$ 3,1* <sup>2</sup>
$IFN\gamma$	18,7 $\pm$ 2,7	29,1 $\pm$ 2,5*	26,8 $\pm$ 2,5*	31,4 $\pm$ 2,4* <sup>2</sup>

Примечание. \* – значения достоверны по отношению к группе небеременных. \*<sup>1</sup> – значения достоверны по отношению к I триместру беременности. \*<sup>2</sup> – значения достоверны по отношению ко II триместру беременности ( $p < 0,05-0,001$ ).

Note. \*, values are reliable in relation to the non-pregnant group. \*<sup>1</sup>, values are reliable in relation to the first trimester of pregnancy. \*<sup>2</sup>, values are reliable in relation to the second trimester of pregnancy ( $p < 0.05 - 0.001$ ).

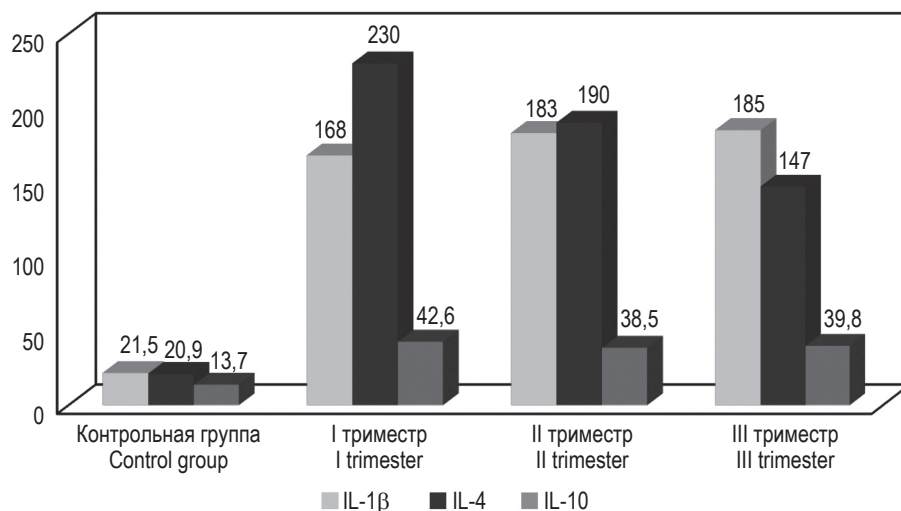


Рисунок 1. Уровень про- и противовоспалительных цитокинов, пг/мл

Figure 1. Level of pro- and anti-inflammatory cytokines, pg/mL

современным представлениям, физиологическое развитие беременности сопровождается смещением системного иммунного ответа в сторону Th2-доминирования, что ослабляет и подавляет неблагоприятные клеточноопосредованные реакции материнского организма в отношении плода [5, 9].

Полученные результаты подтверждают данные других авторов, выявивших повышение уровня IL-4 и IL-10 в первую половину беременности [1, 3].

Как известно, IL-10 является многофункциональным цитокином, регулирующим функцию не только Т-клеток, но и моноцитов/макрофагов и NK [4, 5]. Недавно было показано, что IL-10 продуцируется регуляторными CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> лимфоцитами. Супрессорное воздействие его на клетки реализуется различными путями: непосредственным подавлением выработки провоспалительных цитокинов, угнетением экспрессии антигенпрезентирующих молекул и через индукцию синтеза IL-1ra [7, 8].

Интерес большинства ученых, занимающихся иммунологией репродукции, долгое время был сконцентрирован на проблеме Th1/Th2-шифта при беременности. В настоящее время уже нет сомнений в том, что усиление реакций Th2-типа не является основным механизмом иммунорегуляции во время беременности [9, 10].

Однако большинство исследователей считают момент усиления влияния цитокинов Th2-типа важным фактором в поддержании иммунологического равновесия при беременности [7, 11]. Мы придерживаемся их мнения.

Как видно из рисунка 2, наступление беременности характеризуется практически одинаковым уровнем увеличения IL-6 (в 1,5 раза) и IFN $\gamma$  (в 1,6 раза) в первом триместре беременности: 41,3 $\pm$ 2,3 пкг/мл и 29,1 $\pm$ 2,5 пкг/мл

против значений группы небеременных женщин – 27,9 $\pm$ 2,5 пкг/мл и 18,7 $\pm$ 2,7 пкг/мл соответственно,  $p < 0,01$ .

Но в дальнейшем секреция этих цитокинов в процессе гестации имеет разнонаправленные значения. Так, уровень IL-6 во втором триместре достоверно повышался относительно начального периода гестации – 78,2 $\pm$ 3,6 пкг/мл ( $p < 0,05$ ), а в третьем триместре значительно снизился, оставаясь, однако, повышенным относительно контрольных значений – 22,8 $\pm$ 2,5 пкг/мл, ( $p < 0,05$ ).

А секреция IFN $\gamma$  во втором триместре несколько снизилась – 26,8 $\pm$ 2,5 пкг/мл- относительно первого триместра, а затем повысилась практически до значений первого триместра – 31,4 $\pm$ 2,4 пкг/мл.

IL-8 продуцируется различными типами клеток и играет неоднозначную роль при беременности, являясь с одной стороны провоспалительным, а с другой – защитным цитокином, обеспечивающим ангиогенез и защиту плацентарных оболочек. Наши данные показали резкое увеличение уровня этого цитокина с наступлением беременности – 104,6 $\pm$ 4,7 пкг/мл по сравнению с небеременными – 16,3 $\pm$ 1,9 пкг/мл,  $p < 0,001$ . По-видимому, высокое содержание IL-8 связано не только с иммунокомпетентными клетками, а с другими продуцентами IL-8, такими как эндотелиоциты, фибробласты и др. [9].

С прогрессированием беременности уровень IL-8 в III триместре приблизился к значениям небеременных женщин ( $p < 0,01$ ).

Динамика изменений концентрации TNF $\alpha$ , запускающего каскад провоспалительных цитокинов, обнаруживала следующие особенности. В начале гестационного процесса уровень TNF $\alpha$  повышался в 1,2 раза по сравнению с аналогичным показателем вне беременности ( $p < 0,05$ ). Во втором триместре наблюдалось дальнейшее по-

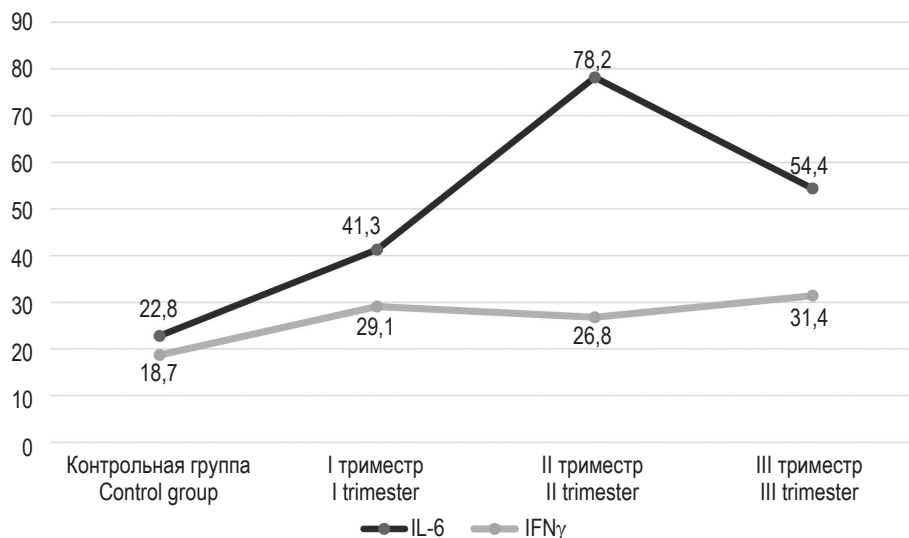


Рисунок 2. Уровень IL-6 и IFN $\gamma$  в динамике физиологической беременности, пг/мл

Figure 2. IL-6 and IFN $\gamma$  levels in the dynamics of physiological pregnancy, pg/mL

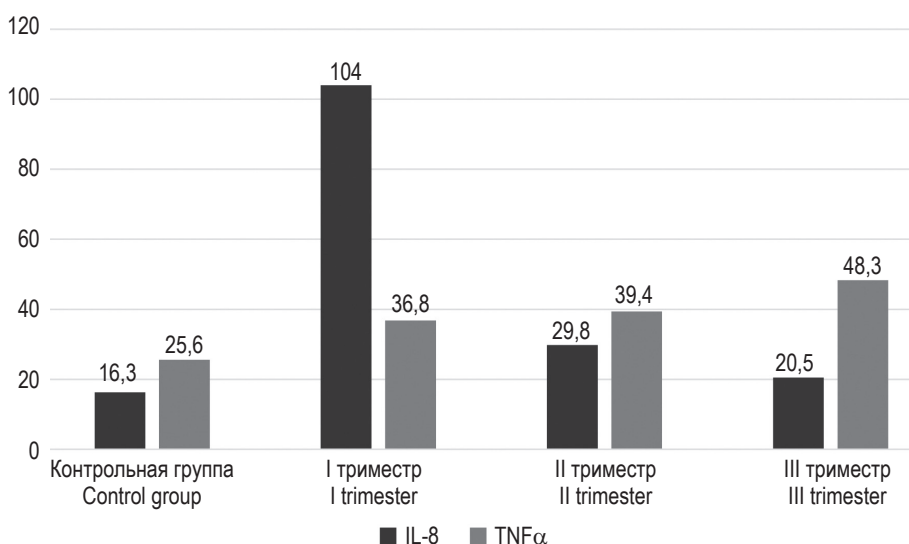


Рисунок 3. Уровень IL-8 и TNF $\alpha$  в динамике физиологической беременности, пг/мл

Figure 3. IL-8 and TNF $\alpha$  levels in the dynamics of physiological pregnancy, pg/mL

вышение уровня TNF $\alpha$  ( $p < 0,05$ ), максимальное значение которого было зафиксировано в третьем триместре ( $p < 0,01$ ). Повышенный уровень TNF $\alpha$ , вероятно, необходим для поддержания выработки других провоспалительных цитокинов, в том числе IL-1 $\beta$ .

## Заключение

Таким образом, содержание классических провоспалительных цитокинов, повышаясь в ранние сроки гестации, либо сохранялось во второй половине беременности на прежнем уровне (IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ ) на фоне повышения провоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10), которые

играют важную роль в реализации противовоспалительных реакций, либо достоверно повышалось, что свидетельствует о формировании своеобразной формы иммунной толерантности периферического типа, направленного на сохранение генетически чужеродного плода. Увеличение в сыворотке крови уровня провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  в третьем триместре позволяет констатировать состояние повышенной активации иммунокомпетентных клеток в первом триместре беременности в ответ на рост антигенной нагрузки со стороны плода. Одновременное повышение в первом триместре уровня IL-4 и IL-10 отражает влияние фак-

тора, ограничивающего системную активацию материнского организма путем ингибирования усиленной продукции провоспалительных цитокинов. Данное состояние постепенно нормализуется во второй половине гестационного процесса, обеспечивая адекватное развитие плода и успешное вынашивание беременности.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что на уровне цитокиновой сети существуют механизмы фетопротекции, нарушение которых может быть причиной невынашивания, особенно в критические периоды развития беременности.

## Список литературы / References

1. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: Фолиант, 2008. 560 с. [Ketlinsky S.A., Simbirtsev A.S. Cytokines]. St. Petersburg: Foliant, 2008. 560 p.
2. Москалев А.В., Рудой А.С., Апчел В.Я. Хемокины, их рецепторы и особенности развития иммунного ответа // Вестник российской Военно-медицинской академии, 2017. № 2 (58). С. 182-187. [Moskalev A.V., Rudoy A.S., Archel V.Ya. Chemokines, their receptors and features of the development of the immune response. *Vestnik rossiyskoy Voenno-meditsinskoy akademii = Bulletin of the Russian Military Medical Academy*, 2017, no 2 (58), pp. 182-187. (In Russ.)]
3. Нефедова Д.Д., Линде В.А., Левкович М.А. Иммунологические аспекты беременности (обзор литературы) // Медицинский вестник Юга России, 2013. № 4. С 16-21. [Nefedova D.D., Linde V.A., Levkovich M.A. Immunologicheskiye aspekty beremennosti (obzor literatury). *Meditsinskiy vestnik Yuga Rossii = Medical Bulletin of the South of Russia*, 2013, no. 4, pp. 16-21. (In Russ.)]
4. Сотникова Н.Ю., Анциферова Ю.С., Кудряшова А.В., Посисеева Л.В., Панова И.А. Иммунологическая загадка беременности. Иваново: МИК, 2005. 272 с. [Sotnikova N.Yu., Antsiferova Yu.S., Kudryashova A.V., Posiseeva L.V., Panova I.A.. The immunological mystery of pregnancy]. Ivanovo: MIK, 2005. 272 p.
5. Сотникова Н.Ю., Кудряшова А.В., Анциферова Ю.С., Панова И.А., Крошкина Н.В. Системные и локальные механизмы регуляции иммунного ответа при неосложненной беременности // Материалы IV Российского форума «Мать и дитя» (Москва, 12-15 окт. 2004 г.). М., 2004. С. 323. [Sotnikova N.Yu., Kudryashova A.V., Antsiferova Yu.S., Panova I.A., Kroshkina N.V. Systemic and local mechanisms of regulation of the immune response during uncomplicated pregnancy. Materials of the IV Russian Forum "Mother and Child" (Moscow, October 12-15, 2004)]. Moscow, 2004, p. 323.
6. Сухих Г.Т., Ванько Л.В. Иммунология беременности. М.: изд. РАМН, 2003. 340 с. [Sukhikh G.T., Vanko L.V. Immunology of pregnancy]. Moscow: RAMS, 2003. 340 p.
7. Тесакова М.Л., Небышинец Л.М., Мельник Е.В., Малолеткина О.Л., Иванчик Г.И. Прогнозирование исхода индукции родов по уровням цитокинов в цервикальном секрете // Охрана материнства и детства, 2013. №2 (22). С. 47-51. [Tesakova M.L., Nebyshinets L.M., Melnik E.V., Maloletkina O.L., Ivanchik G.I. Prediction of the outcome of labor induction based on the levels of cytokines in cervical secretions. *Okhrana materinstva i detstva = Protection of Motherhood and Childhood*, 2013, no. 2 (22), pp. 47-51. (In Russ.)]
8. Шмагель К.В., Черешнев В.А. Иммуниетет беременной женщины. М.: Медицинская книга, 2003. 225 с. [Shmagel K.V., Chereshevnev V.A. Immunity of a pregnant woman]. Moscow: Meditsinskaya kniga, 2003. 225 p.
9. Cheng S.B., Sharma S. Interleukin-10: a pleiotropic regulator in pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2015, Vol. 73, no. 6, pp. 487-500.
10. Duhig K., Chappell L.C., Shennan A.H. Oxidative stress in pregnancy and reproduction. *Obstet. Med.*, 2016, Vol. 9, no. 3, pp. 113-116.
11. Piccinni M.P., Lombardelli L., Logiodice F., Kullolli O., Romagnani S., Le Bouteiller P. T-helper cell mediated-tolerance towards fetal allograft in successful pregnancy. *Clin. Mol. Allergy.*, 2015, Vol. 13, no. 1, 9. doi: 10.1186/s12948-015-0015-y.

---

### Авторы:

**Хамдамов Б.З.** — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой факультетской и госпитальной хирургии, Бухарский государственный медицинский университет, г. Бухара, Республика Узбекистан

**Турдыева Д.О.** — самостоятельный соискатель, Бухарский государственный медицинский университет, г. Бухара, Республика Узбекистан

**Рустамова Н.Б.** — базовый докторант, Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

---

### Authors:

**Khamdamov B.Z.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Faculty and Hospital Surgery, Bukhara State Medical University, Bukhara, Republic of Uzbekistan

**Turdyeva D.O.**, Independent Research, Bukhara State Medical University, Bukhara, Republic of Uzbekistan

**Rustamova N.B.**, Basic Doctoral Student (PhD), Institute of Human Immunology and Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

---

Поступила 27.03.2024

Отправлена на доработку 30.03.2024

Принята к печати 03.04.2024

---

Received 27.03.2024

Revision received 30.03.2024

Accepted 03.04.2024



## НАРУШЕНИЕ ЦИТОКИНОВОГО БАЛАНСА У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН С ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ

Мусаходжаева Д.А.<sup>1</sup>, Рустамова Н.Б.<sup>1</sup>, Садыкова Х.З.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

<sup>2</sup> Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр здоровья матери и ребенка, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Резюме.** Исследования проводились с целью изучения уровней про- (IL-6, IL-18, IL-17A) и противовоспалительных (IL-4) цитокинов в сыворотке крови у беременных женщин на разных сроках гестации: 18-20, 28-30 и 33-38 недель. В исследовании участвовали 76 пациенток, находящихся в группе риска по развитию преэклампсии. Из них 34 женщины развили преэклампсию, составив основную группу, а 42 беременных женщины не имели симптомов преэклампсии и составили группу сравнения. Группой контроля служили 28 соматически здоровых женщин с физиологически нормальным течением беременности. Средний возраст обследованных пациенток с преэклампсией составил  $26,2 \pm 4,3$  лет, а в группе беременных с нормальным течением беременности –  $25,8 \pm 4,7$  лет. Цель исследования заключалась в изучении уровней цитокинов IL-4, IL-6, IL-17A и IL-18 у женщин с неосложненной беременностью и при преэклампсии.

Эти цитокины играют важную роль в иммунном ответе и могут быть связаны с развитием преэклампсии. Результаты исследования могут помочь в дальнейшем понимании механизмов заболевания и разработке стратегий для его предотвращения и управления.

Уровни про- (IL-6, IL-18, IL-17A) и противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10) изучали в сыворотке крови методом ИФА с использованием тест-систем АО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск, Россия) в соответствии с рекомендациями производителя. Статистическая обработка результатов исследований проводилась методами вариационной статистики. Результаты представлены как выборочное среднее (M) и стандартная ошибка (m). Достоверность различий средних величин (P) сравниваемых показателей оценивали по критерию Стьюдента (t).

Исследование, проведенное авторами, выявило следующие закономерности в уровнях интерлейкинов (IL) у беременных женщин с риском развития преэклампсии (ПЭ). Уровень IL-6, IL-17A, IL-18 был достоверно повышен у беременных с ПЭ. Наблюдалась тенденция к снижению уровня IL-4, IL-10 у женщин с риском развития преэклампсии. Эти результаты могут помочь в дальнейших ис-

### Адрес для переписки:

Мусаходжаева Дилором Абдуллаевна  
Институт иммунологии и геномики человека  
Академии наук Республики Узбекистан  
100060, Республика Узбекистан, г. Ташкент,  
ул. Яхё Гулямова, 74.  
Тел.: +998 (93) 180-15-10.  
E-mail: dilym@mail.ru

### Address for correspondence:

Dilorom A. Musakhodzhaeva  
Institute of Human Immunology and Genomics,  
Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan  
74 Yakhyo Gulyatov St  
Tashkent  
100060 Republic of Uzbekistan  
Phone: +998 (93) 180-15-10.  
E-mail: dilym@mail.ru

### Образец цитирования:

Д.А. Мусаходжаева, Н.Б. Рустамова, Х.З. Садыкова  
«Нарушение цитокинового баланса у беременных  
женщин с преэклампсией» // Российский  
иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 859-864.  
doi: 10.46235/1028-7221-16953-CBI

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

### For citation:

D.A. Musakhodzhaeva, N.B. Rustamova, H.Z. Sadykova  
“Cytokine balance in pregnant women with preeclampsia”,  
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii  
Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 859-864.  
doi: 10.46235/1028-7221-16953-CBI

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16953-CBI

следованиях и разработке стратегий для предотвращения и управления преэклампсией у беременных женщин.

*Ключевые слова:* физиологическая беременность, патология беременности, преэклампсия, провоспалительные цитокины, противовоспалительные цитокины, баланс цитокинов

## CYTOKINE BALANCE IN PREGNANT WOMEN WITH PREECLAMPSIA

Musakhodzhaeva D.A.<sup>a</sup>, Rustamova N.B.<sup>a</sup>, Sadykova H.Z.<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Institute of Human Immunology and Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

<sup>b</sup> Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center for Maternal and Child Health, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Abstract.** Studies were conducted to study the levels of pro- (IL-6, IL-18, IL-17A) and anti-inflammatory (IL-4) cytokines in the blood serum of pregnant women at different stages of gestation: 18-20, 28-30, and 33-38 weeks. The study involved 76 patients at risk of developing preeclampsia. Of these, 34 women developed preeclampsia, making up the main group, and 42 pregnant women had no symptoms of preeclampsia and made up the comparison group. The control group consisted of 28 somatically healthy women with a physiologically normal pregnancy. The average age of the examined patients with preeclampsia was  $26.2 \pm 4.3$  years, and in the group of pregnant women with normal pregnancy it was  $25.8 \pm 4.7$  years. The purpose of the study was to study the levels of cytokines IL-4, IL-6, IL-17A, and IL-18 in women with uncomplicated pregnancy and preeclampsia. These cytokines play an important role in the immune response and may be associated with the development of preeclampsia. The results of the study may help further understand the mechanisms of the disease and develop strategies for its prevention and management.

The levels of pro- (IL-6, IL-18, IL-17A) and anti-inflammatory cytokines (IL-4, IL-10) were studied in blood serum by ELISA using test systems of Vector-best JSC (Novosibirsk, Russia) in accordance with the manufacturer's recommendations. Statistical processing of research results was carried out using variation statistics methods. The results are presented as the sample mean (M) and standard error (m). The significance of the differences in the mean values (P) of the compared indicators was assessed using the Student t test (t). A study conducted by the authors found the following patterns in interleukin (IL) levels in pregnant women at risk of developing preeclampsia (PE). The levels of IL-6, IL-17A, and IL-18 were significantly increased in pregnant women with PE. There was a tendency to decrease the levels of IL-4, and IL-10 in women at risk of developing preeclampsia. These findings may help guide further research and development of strategies to prevent and manage preeclampsia in pregnant women.

*Keywords:* physiological pregnancy, pregnancy pathology, preeclampsia, pro-inflammatory cytokines, anti-inflammatory cytokines, cytokine balance

### Введение

Преэклампсия – серьезное осложнение, возникающее во второй половине беременности. Это может негативно сказаться на здоровье матери и ребенка как в краткосрочной, так и в долгосрочной перспективе. Также могут наблюдаться дополнительные метаболические нарушения, такие как активация системы свертывания крови, нарушение функции печени, почечная недостаточность или отек легких, особенно в случаях

тяжелого раннего заболевания. При отсутствии лечения преэклампсия может прогрессировать до генерализованных судорог или эклампсии [1].

Симптомы обычно улучшаются только после удаления плаценты, и поэтому преэклампсия остается одной из наиболее распространенных причин преждевременных родов. Беременность у человека представляет собой метаболическую и иммунную проблему для матери. Она должна обеспечить развитие полуаллогенного плода в

своей утробе, энергетические потребности которого значительно возрастают по мере прогрессирования беременности.

Недавние исследования подтверждают, что правильные воспалительные процессы и баланс окислительных реакций являются необходимыми условиями для успешного протекания беременности [5]. Плацента играет ключевую роль в этой воспалительной реакции, активно вырабатывая различные цитокины и иммуномодулирующие гормоны. Однако при преэклампсии, опасном для жизни нарушении беременности, которое характеризуется повреждением и дисфункцией материнского эндотелия, окислительным стрессом в плаценте и аберрантной экспрессией цитокинов, может развиться системная воспалительная реакция у матери. Про- и противовоспалительные цитокины играют важную роль в развитии и функционировании плаценты. Любые изменения в этих цитокинах могут быть связаны со многими нарушениями, связанными с беременностью, такими как преэклампсия. Таким образом, настоящее исследование направлено на изучение экспрессии провоспалительных (TNF $\alpha$ , IL-6, IL-17A, IL-18) и противовоспалительных (IL-4) цитокинов в плаценте и сыворотке крови беременных женщин с преэклампсией [2, 3]. Проявление признаков воспаления обусловлено действием провоспалительных цитокинов: IL-17A, IL-6, IL-18 и противовоспалительных цитокинов: IL-4, баланс между которыми жестко регулируется. И хотя цитокины действуют преимущественно локально и кратковременным образом, избыточность цитокиновой системы проявляется в том, что каждый тип клеток способен продуцировать несколько цитокинов, и каждый цитокин может секретироваться разными клетками, а измерение уровней цитокинов в сыворотке крови представляет собой одну из потенциальных оценок воспалительной реакции [1, 4].

**Цель исследования** – определение уровня цитокинов IL-4, IL-6, IL-17A, IL-18 у женщин с неосложненной беременностью и преэклампсией.

## Материалы и методы

Мы обследовали 76 пациенток с риском развития преэклампсии в третьем триместре беременности, которые составили 2 группы: 1-ю группу составили 34 женщины, беременность которых осложнилась развитием преэклампсии. 2-ю группу составили 42 пациентки, беременность которых протекала без симптомов преэклампсии. Контрольную группу составили 28 соматически здоровых женщин с физиологиче-

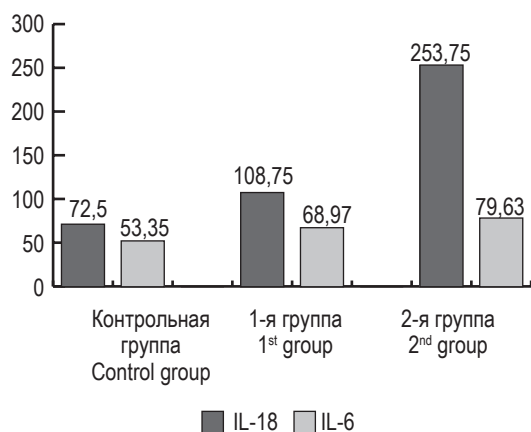
ски протекающей беременностью. Средний возраст обследованных пациенток с преэклампсией составил  $27,2 \pm 3,8$  года, в группе беременных с физиологическим течением беременности –  $26,8 \pm 4,2$  года. Уровни про- (IL-6, IL-18, IL-17A) и противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10) исследовали в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа с использованием тест-систем АО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск, Россия) в соответствии с рекомендациями производителя. Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием методов вариационной статистики. Результаты представлены в виде выборочного среднего (M) и стандартной ошибки (m). Значимость различий в средних значениях (p) сравниваемых показателей оценивалась с помощью t-критерия Стьюдента (t).

## Результаты и обсуждение

Уровни про- (IL-6, IL-18, IL-17A) и противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10) были исследованы в сыворотке крови на сроках беременности 18-20, 28-30 и 33-38 недель. Было обследовано 76 пациенток с риском развития преэклампсии в сроке беременности от 28 до 38 недель, из которых у 34 беременность осложнилась развитием преэклампсии; они составили основную группу. У 42 пациенток беременность протекала без симптомов преэклампсии, они составили группу сравнения. Контрольную группу составили 28 соматически здоровых женщин с физиологически протекающей беременностью. Средний возраст обследованных пациенток с преэклампсией составил  $26,2 \pm 4,3$  года, в группе беременных с физиологическим течением беременности –  $25,8 \pm 4,7$  года.

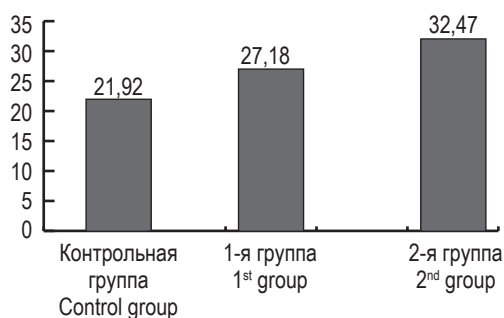
Анализ анамнестических данных показал, что среди обследованных пациенток 34 (39,1%) были первородящими и 53 (60,1%) – многоплодными. Следует отметить, что женщины с преэклампсией имели в анамнезе воспалительные заболевания половых органов в 5-6 раз чаще, чем женщины контрольной группы, что было статистически значимым (56%, 52%, 58% против 20% соответственно) ( $p < 0,01$ ).

Доброкачественные новообразования шейки матки чаще встречались в анамнезе женщин, осложненных ПЭ (56,0%), а у женщин с риском развития ПЭ этот показатель составил 52%. Внематочная беременность наступила у 2 (4%) женщин в контрольной группе и у 5 (10%) беременных во 2-й группе. В контрольной группе было 3



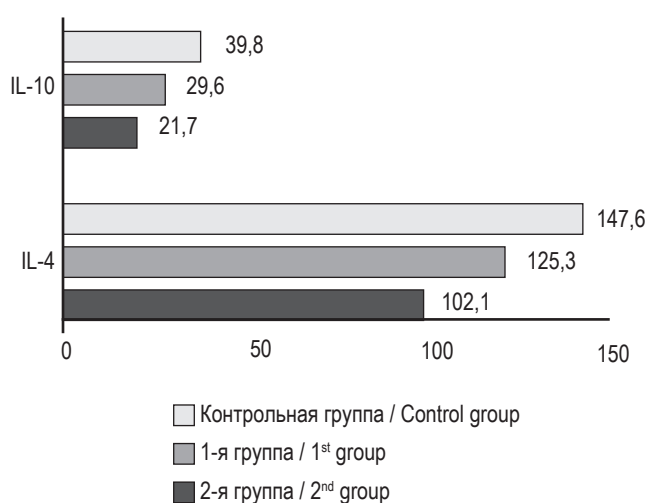
**Рисунок 1. Уровень провоспалительных цитокинов у обследованных беременных женщин (пг/мл)**

Figure 1. Proinflammatory cytokines levels in pregnant subjects (pg/mL)



**Рисунок 2. Уровень IL-17A у обследованных беременных женщин (пг/мл)**

Figure 2. IL-17A levels in pregnant subjects (pg/mL)



**Рисунок 3. Уровень противовоспалительных цитокинов у обследованных беременных женщин (пг/мл)**

Figure 3. Proinflammatory cytokines in pregnant subjects (pg/mL)

(6%) женщины с бесплодием в анамнезе и по 16% беременных женщин 1-й и 2-й групп ( $p < 0,05$ ).

Соматические заболевания являются серьезным фактором риска и неблагоприятным фоном для развития различных осложнений беременности, в том числе ПЭ. Таким образом, в группе беременных, осложненных ПЭ, анемия наблюдалась у 49 (98%) женщин, в то время как у беременных с риском развития ПЭ в первом и втором триместрах анемия была выявлена у 90% и 88% соответственно по сравнению с контрольной группой (78%). Заболевания щитовидной железы также были обнаружены у 78% женщин, беременность которых осложнилась ТЭЛА, у 92% беременных с риском ТЭЛА и у 58% беременных в контрольной группе.

Заболевания мочевыделительной системы были зафиксированы в анамнезе почти у каждой второй беременной женщины с ПЭ и встречались чаще, чем в контрольной группе, — 46% и 6% соответственно.

Исследования общего анализа крови показали статистически значимое снижение уровня гемоглобина и количества эритроцитов у беременных женщин с риском развития ПЭ и тенденцию к снижению цветового индекса у женщин с ПЭ. Такие изменения свидетельствуют о дальнейшем развитии железодефицитной анемии (ЖДА) у данной группы пациенток. Особенно выраженные изменения наблюдались у беременных 2-й группы.

Результаты наших исследований показали, что синтез IL-6 у женщин с физиологически протекающей беременностью составил в среднем  $53,35 \pm 2,03$  пг/мл (рис. 1). При увеличении риска развития ТЭЛА уровень IL-6 был достоверно повышен ( $p < 0,05$ ). Максимальное значение IL-6 наблюдалось у беременных с ТЭЛА, которое в среднем составило  $79,63 \pm 3,7$  пг/мл ( $p < 0,01$ ). Сравнительный анализ показал, что при развитии ТЭЛА уровень IL-6 достоверно выше, чем у беременных женщин с риском развития ТЭЛА ( $p < 0,05$ ). Известно, что интерлейкин-6 (IL-6) является цитокином воспаления. Источниками выработки IL-6 являются макрофаги, активированные Т-лимфоциты, В-лимфоциты, а также клетки, не имеющие прямого отношения к иммунной системе (фибробласты, кератиноциты, хондроциты, стромальные клетки эндометрия, фолликулярные звездчатые клетки гипофиза, гладкомышечные клетки кровеносных сосудов, эндотелиальные и синовиальные клетки и т. д.) [5].



Уровень IL-18 был достоверно ниже у здоровых беременных по сравнению с данными пациенток ( $p < 0,05-0,001$ ).

Таким образом, у женщин с риском развития ПЭ (1-я группа) уровень IL-18 был достоверно выше, чем у женщин контрольной группы ( $p < 0,05$ ), а у женщин, у которых уже развился ПЭ (2-я группа), наблюдалось более выраженное повышение уровня IL-18 ( $p < 0,001$ ) (рис. 1). Следует отметить, что уровень IL-18 у женщин с ПЭ был достоверно выше, чем у беременных с риском развития ПЭ ( $p < 0,05$ ). Таким образом, IL-18 может быть ранним предиктором развития преэклампсии. IL-18 — это провоспалительный цитокин, который в основном синтезируется макрофагами и моноцитами и, как полагают, обладает плейотропными свойствами, такими как регулирование как врожденных, так и адаптивных иммунных реакций и стимуляция иммунитета Th1.

IL-18 усиливает воспалительный процесс, стимулируя выработку  $IFN\gamma$ ,  $TNF\alpha$ . Было обнаружено, что IL-18 присутствует на границе раздела матки и плода и экспрессируется в хорионе и децидуальной оболочке.

При преэклампсии наблюдался повышенный уровень IL-18 в сыворотке крови и плаценте по сравнению с нормальной беременностью, что может дать представление о патогенезе заболевания.

Уровень IL-17A в группе риска, но без развития ТЭЛА, был достоверно выше значений у женщин с физиологически протекающей беременностью ( $p < 0,05$ ). А при развитии преэклампсии наблюдалось значительно повышенное значение IL-17A ( $p < 0,001$ ), что отражает сильную воспалительную среду (рис. 2).

Секрция IL-17A, провоспалительного цитокина, наиболее известна своей способностью активировать NF. Клетки Th17, относительно недавно обнаруженная субпопуляция Т-клеток, обладают цитокиновым профилем, отличным от Th1 и Th2 клеток. Основной функцией клеток Th17 является выработка IL-17A. Кроме того, IL-17 влияет на созревание дендритных клеток и подавление регуляторных Т-клеток (Treg), которые отвечают за поддержание иммунной толерантности.

Кроме провоспалительных цитокинов, нами были изучены показатели противовоспалительных цитокинов, которые играют также немаловажную роль в развитии воспалительного процесса. Анализ результатов исследований показал, что уровни противовоспалительных цитокинов,

IL-4 при развитии ПЭ достоверно снижаются (рис. 3).

Как видно из представленных данных на рисунке 3, наблюдалась тенденция к снижению уровня IL-4 у женщин с риском развития преэклампсии, а у беременных с развитием преэклампсии уровень IL-4 был в 1,44 раза ниже значений контрольной группы ( $p < 0,05$ ).

Анализ данных по IL-10 показал, что его уровень у женщин с ПЭ достоверно снижен, причем минимальное значение наблюдалось у беременных женщин 1-й группы ( $21,7 \pm 1,2$  пг/мл против  $39,8 \pm 2,0$  пг/мл в контрольной группе,  $p < 0,01$ ). Значение IL-10 у беременных женщин с бессимптомным течением ПЭ составило в среднем  $29,6 \pm 1,7$  пг/мл ( $p < 0,05$ ). Дефицит IL-10 может усилить в повышенный воспалительный ответ, вызванный  $TNF\alpha$  и  $IFN\gamma$ , против клеток трофобласта и плаценты. Уменьшение экспрессии IL-10 ворсинчатым трофобластом связывают с возможным усилением материнского иммунного ответа на антигены плода и неадекватным развитием плаценты при ПЭ. Продуцируемый в основном макрофагами и дендритными клетками IL-10 может быть доминирующим фактором в генезе развития ПЭ, участвуя в повреждении сосудов плаценты [6].

Многочратно подтверждалась гипотеза, согласно которой при нормальной беременности иммунная система матери склонна к уходу от потенциально повреждающего ответа 1-го типа (Th1 — воспалительного) ко 2-му типу (Th2 — супрессорному). В случае преобладания цитокинов Th1-типа может произойти выкидыш или недостаточное внедрение трофобласта в материнские сосуды, ассоциируемое с преэклампсией и задержкой внутриутробного развития плода. В случае продуцирования малого количества цитокинов Th1-типа может происходить избыточная инвазия трофобласта, ассоциирующаяся с пузырьным заносом, приращением плаценты и хорионкарциномой. Нарушения процессов инвазии трофобласта на ранних сроках гестации приводят к реализации поздних осложнений беременности. Синтез провоспалительных цитокинов приводит к развитию воспалительной реакции и начинается системная дисфункция эндотелия сосудов матери, которая может привести к таким клиническим проявлениям ПЭ, как гипертензия, протеинурия, отеки.

Следовательно, изучение уровня цитокинов при беременности может служить прогностическим критерием развития патологии беременности, в частности, развития преэклампсии.

## Заключение

С балансируемое соотношение про- и противовоспалительных цитокинов имеет важное значение для регуляции воспалительной системы матери на протяжении всей беременности. Таким образом, постепенное цитокиновое профилирование беременных женщин может быть полезным для лечения преэклампсии. У беременных с преэклампсией в плазме крови выявлено достоверное повышение уровня провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, IL-8) и достоверное

снижение противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10), что свидетельствует о сдвиге цитокиновой регуляции при преэклампсии в сторону Th1-механизма. При активации Т-хелперов 1-го типа происходит повышенная продукция провоспалительных цитокинов, что ведет к нарушению эндокринно-иммунных взаимосвязей в системе мать-плод и цитопатогенным эффектам на клетки трофобласта и плаценты, что клинически проявляется не только отторжением плода, но и развитием ПЭ на поздних сроках гестации.

## Список литературы / References

1. Акуленко Л.В., Дзансолова А.В., Мугадова З.В. Персонализированный подход к прогнозированию преэклампсии // Проблемы репродукции, 2017. Т. 23, № 2. С. 84-87. [Akulenko L.V., Dzansolova A.V., Mugadova Z.V. Personalized approach to predicting preeclampsia. *Problemy reproduksii = Problems of Reproduction*, 2017, Vol. 23, no. 2, pp. 84-87. (In Russ.)]
2. Барановская Е.И. Гипертензия у беременных и преэклампсия // Медицинские новости, 2017. № 6 (273). С. 4-7. [Baranovskaya E.I. Hypertension in pregnant women and preeclampsia. *Meditsinskie novosti = Medical News*, 2017, no. 6 (273), pp. 4-7. (In Russ.)]
3. Милованов А.П. Цитотрофобластическая инвазия – важнейший механизм плацентации и прогрессии беременности // Архив патологии, 2019. Т. 814. С. 5-10. [Milovanov A.P. Cytotrophoblastic invasion is the most important mechanism of placentation and pregnancy progression. *Arkhiv patologii = Pathology Archive*, 2019, Vol. 81, no. 4, pp. 5-10. (In Russ.)]
4. Просмотр на Publisher Site | Google Scholar. Dinarello C.A. Overview of the interleukin-1 family of ligands and receptors. *Semin. Immunol.*, 2013, Vol. 25, no. 6, pp. 389-393.
5. Юсупова З.С., Новикова В.А., Оленев А.С. Современные представления о преэклампсии – патогенез, диагностика, прогнозирование // Практическая медицина, 2018. Т. 16, № 6. С. 45-51. [Yusupova Z.S., Novikova V.A., Olenev A.S. Modern ideas about preeclampsia – pathogenesis, diagnosis, prognosis. *Prakticheskaya meditsina = Practical Medicine*, 2018, Vol. 16, no. 6, pp. 45-51. (In Russ.)]
6. Overton E., Tobes D., Lee A. Preeclampsia diagnosis and management. *Best Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.* 2022. Vol. 36, no 1. pp. 107-121.

---

### Авторы:

**Мусаходжаева Д.А.** – д.м.н., профессор, заведующая лабораторией иммунологии репродукции, Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Рустамова Н.Б.** – базовый докторант, Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Садыхова Х.З.** – директор Филиала государственного учреждения «Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр здоровья матери и ребенка», г. Ташкент, Республика Узбекистан

### Authors:

**Musakhodzhaeva D.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Reproductive Immunology, Institute of Human Immunology and Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Rustamova N.B.**, Basic Doctoral Student (PhD), Institute of Human Immunology and Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Sadykova H.Z.**, Director of the Branch of the Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center for Maternal and Child Health, Republic of Uzbekistan

---

Поступила 26.03.2024

Отправлена на доработку 30.03.2024

Принята к печати 03.04.2024

---

Received 26.03.2024

Revision received 30.03.2024

Accepted 03.04.2024

## HYPEREMESIS GRAVIDARUM – ЭТО «ЦИТОКИНОВЫЙ ШТОРМ»?

Джаббарова Ю.К.<sup>1,2</sup>, Абдиева С.<sup>3</sup>, Суяркулова М.Э.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Ташкентский педиатрический медицинский институт Министерства здравоохранения Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

<sup>2</sup> Республиканский перинатальный центр Министерства здравоохранения Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

<sup>3</sup> Ферганский институт общественного здоровья, г. Фергана, Республика Узбекистан

**Резюме.** Рвота беременных (РБ) встречается в 40-70% случаев, при этом тяжелой степени, *hyperemesis gravidarum*, выявляется в 0,3-10,8% и в редких случаях может приводить к материнской смертности. В литературе отсутствуют исчерпывающие данные о состоянии иммунной системы у женщин, страдающих РБ.

Цель – изучить системную реакцию провоспалительных цитокинов у женщин, страдающих РБ.

Основную группу составили 47 женщин с РБ, которую разделили на 3 подгруппы по степени тяжести: в 1-ю вошли 16 пациенток с легкой РБ, во 2-ю – 15 со средней степенью тяжести и в 3-ю – 16 женщин с тяжелой РБ. Группу контроля составили 10 беременных с физиологическим течением без признаков токсикоза. Интерлейкины (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ ) определяли в сыворотке крови беременных методом твердофазного ИФА с использованием тест наборов ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург, Россия).

С нарастанием тяжести токсикоза отмечается достоверный прирост IL-1 $\beta$  при тяжелой РБ – в 1,9 раз превышающий показатель нормы ( $p < 0,05$ ), в 2 раза – показатель при легкой рвоте ( $p < 0,05$ ) и в 1,7 раза – при РБ средней тяжести ( $p < 0,05$ ). Изучение уровня IL-6 выявило прямо пропорциональное повышение показателя с нарастанием тяжести токсикоза по отношению к контрольному показателю: при легкой рвоте – в 1,9 раза ( $p < 0,05$ ), при РБ средней тяжести – в 2,6 раза ( $p < 0,001$ ) и при тяжелой РБ – в 2,9 раза ( $p < 0,0001$ ). Наблюдали достоверное снижение уровня TNF $\alpha$  с нарастанием тяжести токсикоза по отношению контрольного показателя: при легкой рвоте – в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), при РБ средней тяжести – в 1,9 раз ( $p < 0,05$ ) и при тяжелой РБ – в 2,1 раза ( $p < 0,05$ ). Снижение концентрации TNF $\alpha$  может быть обусловлено иммунодефицитом – истощением защитных сил организма.

Чрезмерная секреция провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  и IL-6 (в 2 и 3 раза соответственно), превышающая норму, с резким подавлением продукции TNF $\alpha$  (в 2 раза) можно рассматривать как предикторы «цитокинового шторма», клинически протекающего с полиорганной недостаточностью вплоть до летального исхода, если своевременно не прервать беременность.

**Ключевые слова:** рвота беременных, степени тяжести, цитокины IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$

### Адрес для переписки:

Джаббарова Юлдуз Касымовна  
Ташкентский педиатрический медицинский институт  
100140, Республика Узбекистан, г. Ташкент,  
ул. Богишамол, 223.  
Тел.: +998 94 699-64-02.  
E-mail: ulduzjab43@mail.ru

### Address for correspondence:

Yulduz K. Djabbarova  
Tashkent Pediatric Medical Institute  
223 Bogishamol St  
Tashkent  
100140 Republic of Uzbekistan  
Phone: +998 94 699-64-02.  
E-mail: ulduzjab43@mail.ru

### Образец цитирования:

Ю.К. Джаббарова, С. Абдиева, М.Э. Суяркулова  
«Hyperemesis gravidarum – это “цитокиновый шторм”?» // Российский иммунологический журнал,  
2024. Т. 27, № 4. С. 865-870.  
doi: 10.46235/1028-7221-16636-HGI

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

### For citation:

Yu.K. Djabbarova, S. Abdieva, M.E. Suyarkulova  
“Hyperemesis gravidarum is a cytokine storm?”, *Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal*, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 865-870.  
doi: 10.46235/1028-7221-16636-HGI

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16636-HGI

## HYPEREMESIS GRAVIDARUM IS A CYTOKINE STORM?

Djabbarova Yu.K.<sup>a, b</sup>, Abdieva S.<sup>c</sup>, Suyarkulova M.E.<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Tashkent Pediatric Medical Institute of Health of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

<sup>b</sup> Republican Perinatal Center, Tashkent, Republic of Uzbekistan

<sup>c</sup> Fergana Institute of Public Health, Fergana, Republic of Uzbekistan

**Abstract.** Aim. To study the systemic response of proinflammatory cytokines in women suffering from VP. The main group consisted of 47 women with VP, which was divided into 3 subgroups according to severity: the 1<sup>st</sup> – included 16 patients with mild VP, the 2<sup>nd</sup> – 15 with moderate severity, and the 3<sup>rd</sup> – 16 women with severe VP. The control group consisted of 10 pregnant women with a physiological course without signs of toxicosis. Interleukins (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ ) were determined in the blood serum of pregnant women by solid-phase ELISA using Cytokine test kits (St. Petersburg, Russia).

With increasing severity of toxicosis, there is a significant increase in IL-1 $\beta$  in severe VP – 1.9 times higher than the same value of the norm ( $p < 0.05$ ), 2 times higher than in mild vomiting ( $p < 0.05$ ), and in 1.7 times – with moderate VP ( $p < 0.05$ ). The study of the level of IL-6 revealed a directly proportional increase in the indicator with increasing severity of toxicosis in relation to the control indicator: with mild vomiting – 1.9 times ( $p < 0.05$ ), with moderate vomiting – 2.6 times ( $p < 0.001$ ), and in severe VP – 2.9 times ( $p < 0.0001$ ). A significant decrease in the level of TNF $\alpha$  was observed with increasing severity of toxicosis in relation to the control indicator: with mild vomiting – by 1.5 times ( $p < 0.05$ ), with moderate vomiting – by 1.9 times ( $p < 0.05$ ), and with severe VP – 2.1 times ( $p < 0.05$ ).

Excessive secretion of proinflammatory cytokines IL-1 $\beta$  and IL-6 (2 and 3 times, respectively), exceeding the norm, with a sharp suppression of TNF $\alpha$  production (2 times) can be considered as predictors of a “cytokine storm”, clinically occurring with multiple organ failure up to death if the pregnancy is not terminated in a timely manner.

**Keywords:** vomiting of pregnancy, severity, cytokines IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$

### Введение

Одним из ранних признаков беременности довольно часто являются тошнота и рвота. Ранний токсикоз является грозным осложнением беременности, но при адекватной диагностике и лечении исходы для матери и плода обычно благоприятны [19]. Частота рвоты беременных по данным различных авторов колеблется от 40% до 70% [18]. При этом имеет место прогрессирование метаболических нарушений, в результате чего токсикоз легкой степени быстро переходит в среднюю, а затем в тяжелую форму, нередко требующую прерывания беременности [20, 21]. Ранний токсикоз тяжелой степени, hyperemesis gravidarum, выявляют у 1,5–2% беременных, а по данным M.S. Fejzo и соавт., – у 0,3–10,8% [23]. Гиперемезис гравидарум осложняется дегидратацией, нарушением питания и обмена [4, 12, 14], гипохлоремическим алкалозом электролитными нарушениями, вплоть до поражения печени, полинейропатии, энцефалопатии и др. [9], может приводить к мышечным судорогам, кетонурии [24]. В редких случаях может приводить к материнской смертности [20].

О.А. Кутузова [5] отмечает, что «токсикоз первой половины беременности является ранним проявлением гестационной дезадаптации». Ранний токсикоз (РТ) беременных рассматривается как проявление нарушений нейроэндокринной регуляции всех видов обмена вследствие частичного или полного голодания и обезвоживания [3]. Клинические проявления РТ являются отражением срыва механизмов гестационной адаптации, что соотносится с повышением уровня маркеров неспецифической воспалительной

реакции (увеличение провоспалительных цитокинов, белков острой фазы воспаления, активация сосудистого эндотелия, коагуляционного потенциала крови) [7]. На возникновение раннего токсикоза беременных влияет множество факторов: наследственность, хронические заболевания желудочно-кишечного тракта, психоневрологические нарушения, а также возникающий гормональный дисбаланс [19].

Э.К. Айламазян отмечает, что «существует множество теорий, в частности выделяют гормональную, неврогенную, иммунологическую, кортико-висцеральную, рефлекторную, но, несомненно, в патогенезе развития токсикоза может находиться несколько причин одновременно» [1].

По мнению многих авторов, ранний токсикоз – это гетерогенное клиническое отражение дезадаптации организма женщины к беременности ранних сроков. Важная роль отводится синдрому системного воспалительного ответа, эндотелиально-гемостазиологической дисфункции, функциональной недостаточности эндометрия, метаболических нарушений, вегетативного дисбаланса [8, 17]. Механизмы дезадаптации организма беременной к развитию гестации отражаются как на плодном яйце, в том числе и на ранней плаценте, так и реализуются через полисистемную и полиорганную дисфункцию и недостаточность (системный воспалительный ответ, активация сосудистотромбоцитарного звена гемостаза, иммунопатологические реакции, аллергия, метаболические и нейровегетативные нарушения) [11, 18].

Диагноз в большинстве случаев ставится на основании клинических проявлений, таких как



тошнота, многократная рвота, период голодания (сопровождающийся кетонурией) и потеря массы тела  $\geq 5\%$  [22, 27].

Различные аспекты иммунных взаимоотношений, возникающих между организмом беременной женщины и плодом, несущим отцовские антигены и, таким образом, представляющие собой полуаллогенный трансплантат, являются проблемой иммунологии репродукции.

Рвота беременных, как правило, начинает проявляться с 4-5 недель беременности, поэтому вполне логично рассматривать это осложнение беременности, как отмечают многие авторы, «в качестве «критического» этапа первого триместра гестации, когда имплантация и плацентация, представляют собой цитокинзависимые процессы» [13, 16]. Наличие раннего токсикоза отражает некоторую несостоятельность элементов системы предотвращения атаки иммунной системы беременной на тканевые и органоспецифические антигены, имеющие плацентарный генез [26].

В доступной нам литературе отсутствуют исчерпывающие данные о состоянии иммунной системы у женщин, страдающих рвотой беременных.

**Цель** – изучить системную реакцию провоспалительных цитокинов у женщин, страдающих рвотой беременных.

## Материалы и методы

Нами обследованы 57 беременных женщин, поступивших в Ферганский областной перинатальный центр в 2023 г. Основную группу составили 47 женщин с рвотой беременных, которую разделили на 3 подгруппы по степени тяжести: в 1-ю подгруппу вошли 16 пациенток с РБ легкой степени, во 2-ю подгруппу – 15 со средней степенью тяжести и в 3-ю подгруппу – 16 женщин с РБ тяжелой степени. Группу контроля составили 10 беременных с физиологическим течением беременности без признаков токсикоза.

Критерии включения: прогрессирующая беременность, наступившая естественным путем; срок беременности – 1-й триместр, информированное согласие. Критерии исключения: наследственные заболевания, тяжелая соматическая патология, хронические заболевания в стадии декомпенсации, эпилепсия, сахарный диабет, артериальная гипертензия, хромосомные аномалии и врожденные пороки развития плода. По социальному статусу, возрастному составу, паритету и сроку гестации беременные основной и контрольной групп были идентичны ( $p > 0,05$ ). Степень тяжести рвоты беременных оценивали в соответствии с рекомендациями Г.М. Савельевой [15].

Проведены клинические, клинико-лабораторные, иммунологические и статистические методы исследования. Интерлейкины (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ ) определяли в сыворотке крови беременных женщин методом твердофазного ИФА с использованием тест наборов ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург, Россия) в Институте иммунологии и геномики человека АН РУз (директор – академик АН РУз Т.У. Арипова) в лаборатории

Иммунологии репродукции (зав. – д.б.н. Д.А. Мусаходжаева). Полученные результаты были подвергнуты обработке методом вариационной статистики с определением  $M \pm m$ , критерия Стьюдента  $t$  и степени достоверности  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Средний возраст пациенток основной группы составил  $26,3 \pm 3,8$  года, контрольной группы –  $24,8 \pm 2,9$  года ( $p > 0,05$ ). 1-я беременность была у 37,4%, преобладали повторно беременные – 62,6%. Из акушерского анамнеза установлено, что роды перенесли 40,7% (50) женщин, аборт – 23,6% (28), из них по поводу неразвивающейся беременности – 55,2% (16). Указание на прерывание беременности по медицинским показаниям – неукротимая рвота было в 1 случае (0,8%). Клинически РБ сопровождалась артериальной гипотонией (84,6%) и угрозой прерывания (27,6%). Среди соматической патологии наиболее часто диагностирован эндемический зоб (60%), ЖДА (67,5%), ИМТ (17,0%).

Содержание цитокинов в сыворотке крови женщин с рвотой беременных с учетом степени тяжести представлен в таблице 1.

Анализ полученных данных показал, что при рвоте легкой и средней степени тяжести уровень IL-1 $\beta$  в сыворотке крови у беременных практически не отличался от показателя контрольной группы ( $p > 0,05$ ), но с нарастанием тяжести токсикоза отмечается достоверный прирост IL-1 $\beta$  при РБ тяжелой степени до  $270,9 \pm 9,5$  пг/мл, что в 1,9 раз превышает аналогичный показатель нормы ( $p < 0,05$ ) в 2 раза – показатель при легкой рвоте ( $p < 0,05$ ) и в 1,7 раза – при РБ средней тяжести ( $p < 0,05$ ). Известно, что IL-1 является центральным медиатором локальных и системных воспалительных реакций. Взаимодействие иммунной и эндокринной систем обуславливают изменения уровня IL-1. Гиперсекреция IL-1 может активизировать такие провоспалительные цитокины, как TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-2, IL-12, что может привести к прерыванию беременности.

IL-1 участвует в регуляции температуры тела, а его повышенная продукция приводит к развитию лихорадки, а также к гипотензии, анорексии [10]. Чрезмерно высокий уровень IL-1 указывает на возможность возникновения нежелательных иммунопатологических процессов. В нашем исследовании утяжеление токсикоза по мере возрастания уровня IL-1 $\beta$  может указывать на их патогенетическую связь и угрозу состояния матери и плода.

Изучение уровня IL-6 (табл. 1) выявило прямо пропорциональное повышение показателя с нарастанием тяжести токсикоза по отношению контрольного показателя. Так, при легкой рвоте уровень IL-6 возрос в 1,9 раза ( $p < 0,05$ ), при РБ средней тяжести – в 2,6 раза ( $p < 0,001$ ) и при РБ тяжелой степени – в 2,9 раза ( $p < 0,0001$ ). Уровень IL-6 при РБ тяжелой степени составил  $110,6 \pm 9,7$  пг/мл и был достоверно выше его уровня при РБ легкой степени в 2,5 раза ( $p < 0,05$ ) и практически не отличался от уровня при РБ

**ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЖЕНЩИН С РВОТОЙ БЕРЕМЕННЫХ (РБ) С УЧЕТОМ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ (M±m)**

TABLE 1. THE CONTENT OF CYTOKINES IN THE BLOOD SERUM OF WOMEN WITH VOMITING OF PREGNANCY (VP), TAKING INTO ACCOUNT THE SEVERITY (M±m)

Показатель, пг/мл Index, pg/mL	Контроль Control n = 10	РБ легкая VP easy n = 16	РБ средней тяжести Moderate VP n = 15	РБ тяжелая VP heavy n = 16
IL-1β	146,8±20,1	134,6±2,7	163,5±2,8 <sup>^</sup>	270,9±9,5* <sup>^ a</sup>
IL-6	38,8±13,5	74,2±11,3*	100,6±13,2*	110,6±9,7* <sup>^</sup>
TNFα	128,8±10,2	87,7±13,5*	69,6±12,7*	60,6±10,5*

Примечание. \* –  $p < 0,05$ , разница показателей достоверна по отношению аналогичного показателя контрольной группы. <sup>^</sup> –  $p < 0,05$ , разница показателей достоверна по отношению аналогичного показателя рвоты легкой степени. <sup>a</sup> –  $p < 0,05$ , разница показателей достоверна по отношению аналогичного показателя рвоты средней степени.

Note. \*,  $p < 0.05$ , the difference in indicators is significant in relation to similar indicator of the control group. <sup>^</sup>,  $p < 0.05$ , the difference in indicators is significant in relation to similar indicator of moderate vomiting.

средней степени тяжести. По данным литературы, «выраженная провоспалительная направленность может быть связана с определенным вкладом в продукцию IL-1β и IL-6 неиммунных клеток, в том числе эндотелиоцитов, которые в условиях активации и усиления взаимодействия с лейкоцитами являются непосредственными участниками реализации иммунного ответа и синтезируют ряд провоспалительных соединений, выступая, таким образом, не только клетками-мишенями, но и эффекторами, поддерживающими воспалительную направленность иммунных реакций» [2].

Что касается TNFα, то вместо ожидаемого прироста мы наблюдали достоверное снижение его уровня с нарастанием тяжести токсикоза по отношению контрольного показателя: при легкой рвоте уровень его был ниже в 1,5 раза (87,7±13,57 пг/мл,  $p < 0,05$ ), при РБ средней тяжести – в 1,9 раз (69,6±12,7 пг/мл,  $p < 0,05$ ) и при РБ тяжелой степени – в 2,1 раза (60,6±10,5 пг/мл,  $p < 0,05$ ). Как считают Г.Т., Сухих и Л.В. Ванько [16], стабильная концентрация TNFα на протяжении всей беременности может благотворно влиять на ее развитие.

Исследованиями И.А. Газиевой [2] установлено, что в ранние сроки беременности, осложнившейся впоследствии субкомпенсированной ПН, происходит увеличение содержания IL-1β, сопровождающееся тенденцией к повышению концентрации IL-6 в циркуляции и некоторое снижение базального уровня TNFα (т. е. выраженная провоспалительная направленность в первом случае и угнетение функциональной активности клеток моноцитарно-макрофагального звена – во втором). В то же время известно, что IL-6 участвует во многих физиологических и патологических процессах, в частности при аутоиммунных нарушениях. IL-6, относящийся к провоспалительным цитокинам, способен подавлять синтез провоспалительных цитокинов и тем самым оказывает противовоспалительное действие. Так, IL-6 стимулирует окончание созревания В-клеток в иммуноглобулин продуцирующие клетки, подавляет избыточную продукцию TNFα, индуцирует клеточный рост тимоцитов,

в больших количествах продуцируется на ранних этапах эмбриогенеза. Известно, что TNFα ингибирует рост трофобласта, препятствует развитию плаценты и инвазии спиральных артерий, непосредственно токсичен для эндотелия и может повредить децидуальную сосудистую сеть [25]. В низких концентрациях TNFα действует преимущественно в месте выработки, опосредуя локальные иммуновоспалительные процессы. Снижение концентрации TNFα может быть обусловлено иммунодефицитом, в том числе при тяжелых и затяжных инфекциях как отражение истощения защитных сил организма

Мы согласны с мнением И.С. Липатова и соавт., что одной из причин развития раннего токсикоза является повышение уровня маркеров неспецифической воспалительной реакции. Авторы объясняют этот процесс тем, что активируется первичный иммунный ответ на изменение структуры децидуальной оболочки в процессе того, как имплантируется плодное яйцо. По их данным, повышается С-реактивный белок, противовоспалительные цитокины, начинается активация коагуляционного потенциала крови и сосудистого эндотелия. Полученные нами данные об уровне провоспалительных цитокинов при РБ подтверждают их положение о том, что чем выраженнее отклонения маркеров гестационной дезадаптации от нормы, тем ярче клиника токсикоза [5, 6, 17].

Проанализировав полученные результаты, можно отметить, что клинические проявления раннего токсикоза различной степени тяжести являются отражением срыва механизмов гестационной адаптации, что соотносится с повышением уровня маркеров неспецифической воспалительной реакции (увеличение провоспалительных цитокинов). Следует отметить, что чем выраженнее отклонения маркеров гестационной дезадаптации от физиологической «нормы беременности», тем ярче клиническая картина и выше степень тяжести раннего токсикоза [18].

Следует учитывать, что воспалительная и иммунная реакции носят защитный характер и «граница» достаточного для защиты уровня цитокинов в крови индивидуальна. Когда провос-

палительные цитокины «переходят границы» достаточного для защиты уровня, иммунный ответ становится неуправляемым. Под его атакой оказываются собственные ткани организма.

## Выводы

Сопоставление клинико-иммунологических данных при рвоте беременных позволяет за-

ключить, что чрезмерная секреция провоспалительных цитокинов IL-1β и IL-6 (в 2 и 3 раза соответственно), превышающая норму, с резким подавлением продукции TNFα (в 2 раза) можно рассматривать как предикторы «цитокинового шторма», клинически протекающего с полиорганной недостаточностью вплоть до летального исхода, если своевременно не прервать беременность.

## Список литературы / References

1. Айламазян Э.К. Акушерство. 9-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 704 с. [Aylamazyan E.K. Obstetrics. 9<sup>th</sup> ed. Moscow: GEOTAR-Media; 2015. 704 p. (In Russ.)]
2. Газиева И.А., Чистякова Г.Н., Ремизова И.И. Роль нарушений продукции цитокинов в генезе плацентарной недостаточности и ранних репродуктивных потерь // Медицинская иммунология, 2014. Т. 16, № 6. С. 539-550. [Gazieva I.A., Chistyakova G.N., Remizova I.I. Role of cytokine production disorders in genesis of placental insufficiency and early reproductive losses. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology*, 2014, Vol. 16, no. 6, pp. 539-550. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2014-6-539-550.
3. Грицак Е.Е., Рогожина И.Е. Характер системных метаболических расстройств при токсикозе I половины беременности // Фундаментальные исследования, 2010. № 9. С. 101-114. [Gritsak E.E., Rogozhina I.E. The nature of systemic metabolic disorders in toxicosis of the first half of pregnancy. *Fundamentalnyye issledovaniya = Fundamental Research*, 2010, no. 9, pp. 101-114. (In Russ.)]
4. Давыдова Ю.В., Волошина Т.В., Лиманская А.Ю., Тудай В.Н., Двудит М.П., Баранова В.В. Ранний токсикоз беременности: оценка риска и тактика // Здоровье женщины, 2014. № 6 (92). С. 62-66. [Davydova U, Voloshina T, Limanskaya, A. Tудay V, Dvudit M., Baranova V.] Morning sickness of pregnancy: evaluation of risks and tactics. *Zdorovye zhenshchiny = Women's Health*, 2014, no. 6 (92), pp. 62-66. (In Russ.)]
5. Кутузова О.А. Оптимизация ведения беременных с ранним токсикозом путем выделения предикторов тяжелого течения // Аспирантский вестник Поволжья, 2015. № 5-6. С. 21-27. [Kutuzova O.A. Optimization of management of pregnant women with early toxicosis by identifying predictors of severe course. *Aspirantskiy vestnik Povolzhya = Postgraduate Bulletin of the Volga Region*, 2015, no. 5-6, pp. 21-27. (In Russ.)]
6. Липатов И.С., Тезиков Ю.В. Прогнозирование плацентарной недостаточности на основе маркеров эндотелиальной дисфункции, децидуализации, апоптоза и клеточной пролиферации // Саратовский научно-медицинский журнал, 2011. № 1 (7). С. 52-59. [Lipatov I.S., Tezikov Yu.V. Prognosis and diagnostics for placental insufficiency according to markers of endothelial dysfunction, decidualization, apoptosis and cellular proliferation. *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal = Saratov Journal of Medical Scientific Research*, 2011, no. 1 (7), pp. 52-59. (In Russ.)]
7. Липатов И.С., Тезиков Ю.В., Кутузова О.А. Эффективность дифференцированного подхода к лечению раннего токсикоза беременных с учетом клинико-патогенетических вариантов формирования // Известия Самарского научного центра Российской академии наук, 2015. Т. 17, № 5-3. С. 813-818. [Lipatov I.S., Tezikov Yu.V., Kutuzova O.A. The effectiveness of a differentiated approach to the treatment of early gestational toxicosis with regard to clinical and pathogenetic variants of development. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk = News of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 2015, Vol. 17, no. 5-3, pp. 813-818. (In Russ.)]
8. Липатов И.С., Тезиков Ю.В., Рябова С.А., Фролова Н.А., Табельская Т.В. Оценка церебральной гемодинамики плода при плацентарной недостаточности с учетом его суточного биоритмостаза // Российский вестник акушера-гинеколога, 2015. Т. 15, № 4. С. 42-48. [Lipatov I.S., Tezikov Yu.V., Ryabova S.A., Frolova N.A., Tabelskaya T.V. Assessment of cerebral hemodynamics of the fetus in case of placental insufficiency, taking into account its daily biorhythmostasis. *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa = Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist*, 2015, Vol. 15, no. 4, pp. 42-48. (In Russ.)]
9. Можейко Л.Ф., Поух М.А. Применение комплексного препарата прегинор в лечении рвоты беременных // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа, 2020. Т. 10, № 5. С. 638-646. [Mozheyko L., Poukh M. The use of Pregarin in the treatment of pregnancy – associated nausea and vomiting. *Reproduktivnoye zdorovye. Vostochnaya Yevropa = Reproductive Health. Eastern Europe*, 2020, Vol. 10, no. 5, pp. 638-646. (In Russ.)]
10. Москалёв А.В., Сбойчаков В.Б., Рудой А.С. Общая иммунология с основами клинической иммунологии: учеб. Пособие. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 352 с. [Moskalev A.V., Sboychakov V.B., Rudoy A.S. General immunology with the basics of clinical immunology: textbook manual]. Moscow: GEOTAR-Media, 2015. 352 p.
11. Овчинникова М.А., Санталова Г.В., Липатов И.С., Тезиков Ю.В. Состояние здоровья детей от герпесинфицированных матерей, получавших противорецидивную терапию // Известия Самарского научного центра Российской академии наук, 2015. Т. 17, № 2-2. С. 351-356. [Ovchinnikova M.A., Santalova G.V., Lipatov I.S., Tezikov Yu.V. The state of health of children from herpes-infected mothers who received anti-relapse therapy. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk = News of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 2015, Vol. 17, no. 2-2, pp. 351-356. (In Russ.)]
12. Павлова К.С. Токсикоз первой половины беременности. Физиотерапевтическая коррекция. В: Мечниковские чтения – 2020: материалы 93-й Всероссийской научно-практической студенческой конференции с международным участием. Санкт-Петербург. 29-30 апреля, 2020 г. СПб.: Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, 2020. [Pavlova K.S. Toxicosis of the first half of pregnancy. Physiotherapy correction. In: Mechnikov Readings – 2020: Materials of the 93<sup>rd</sup> All-Russian Scientific



- and Practical Student Conference with international participation. St Petersburg. April 29-30, 2020]. St Petersburg: I.I. Mechnikov Northwestern State Medical University, 2020. (In Russ.)]
13. Ранние сроки беременности. Под ред. Радзинского В.Е., Оразмурадова А.А. М.: Status Praesens, 2009. 448 с. [The early pregnancy. Edited by Radzinskiy V.E., Orazmuradov A.A.] Moscow: Status Praesens, 2009. 448 p.
14. Рахманова Т.Х., Исенова С.Ш., Святова Г.С., Эгле М. Современный взгляд на вопрос этиологии чрезмерной рвоты беременных // Вестник Казахского национального медицинского университета, 2020. № 3. С. 7-12. [Rakhmanova T.Kh., Isenova S.Sh., Svyatova G.S., Egle M. Modern view on the etiology of excessive vomiting of pregnant women. *Vestnik Kazakhskogo natsionalnogo meditsinskogo universiteta = Bulletin of the Kazakh National Medical University*, 2020, no. 3, pp. 7-12. (In Russ.)].
15. Савельева Г.М., Сухих Г.Т., Серова В.Н., Радзинский В.Е. (ред.). *Акушерство: национальное руководство*. 2-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. 1088 с. [Savelyeva G.M., Sukhykh G.T., Serova V.N., Radzinsky V.E. (eds.). *Obstetrics: national guidelines*. 2<sup>nd</sup> ed.] Moscow: GEOTAR-Media, 2018. 1088 p.
16. Сухих Г.Т., Ванько Л.В. Иммунные факторы в этиологии и патогенезе осложнений беременности // Акушерство и гинекология, 2012. № 1. С. 128-136. [Sukhykh G.T., Van'ko L.V. Immune factors in the etiology and pathogenesis of complications of pregnancy. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*, 2012, no. 1, pp. 128-136. (In Russ.)]
17. Тезиков Ю.В., Липатов И.С., Кутузова О.А., Приходько А.В., Фролова Н.А., Тезиков Т.А., Бренерова О.В. Значение факторов физиологического повреждения, эмбриоплацентарной дисфункции и синдромов гестационной дезадаптации в формировании гетерогенных вариантов течения беременности в I триместре // Тольяттинский медицинский консилиум, 2016. № 1-2. С. 25-33. [Tesikov Yu.V., Lipatov I.S., Kutuzova O.A., Prichodko A.V., Frolova N.A., Tesikova T.A., Brenerova O.V. The value of the factors of physiological damage, embriofetal dysfunction and syndromes of gestational maladjustment in the formation of heterogeneous variants of pregnancy in the first trimester. *Tolyattinskiy meditsinskiy konsilium = Tolyatti Medical Consilium*, 2016, no. 1-2, pp. 25-33. (In Russ.)]
18. Тезиков Ю.В., Липатов И.С. Предикторные индексы тяжелых форм хронической плацентарной недостаточности // Медицинский альманах, 2011. № 6. С. 60-63. [Tesikov Yu.V., Lipatov I.S. Predictive indices of severe forms of chronic placental insufficiency. *Meditsinskiy almanakh = Medical Almanac*, 2011, no. 6, pp. 60-63. (In Russ.)]
19. Юпатов Е.Ю., Филюшина А.В. Ранний токсикоз: обзор современных данных // Медицинский совет, 2022. Т. 16, № 5. С. 96-103. [Iupatov E. Yu., Filyushina A.V. Early toxicosis: a review of current data. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*, 2022, Vol. 16, no. 5, pp. 96-103. (In Russ.)]
20. Boelig R.C., Barton S.J., Saccone G., Kelly A.J., Edwards S.J., Berghella V. Interventions for treating hyperemesis gravidarum: a Cochrane systematic review and meta-analysis. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.*, 2018, Vol. 31, no. 18, pp. 2492-2505.
21. Committee on Practice Bulletins-Obstetrics. ACOG Practice Bulletin No. 189: Nausea And Vomiting Of Pregnancy. *Obstet. Gynecol.*, 2018, Vol. 131, no. 1, pp. e15-e30.
22. Dean C., Bannigan K., O'Hara M., Painter R., Marsden J. Recurrence rates of hyperemesis gravidarum in pregnancy: a systematic review protocol. *JBI Database System Rev. Implement Rep.*, 2017, Vol. 15, no. 11, pp. 2659-2665.
23. Fejzo M.S., Trovik J., Grooten I.J., Sridharan K., Roseboom T.J., Vikanes Å., Painter R.C., Mullin P.M. Nausea and vomiting of pregnancy and hyperemesis gravidarum. *Nat. Rev. Dis. Primers*, 2019, Vol. 5, no. 1, 62. doi: 10.1038/s41572-019-0110-3.
24. Garcia Saborio O.E., Hines B.K., Wesselman J. Safe management of nausea and vomiting during pregnancy in the emergency department. *Adv. Emerg. Nurs. J.*, 2019, Vol. 41, no. 4, pp. 336-347.
25. Haider S, Knöfler M. Human tumour necrosis factor: physiological and pathological roles in placenta and endometrium. *Placenta*, 2009, Vol. 30, no. 2, pp. 111-123.
26. Tan P.C., Khine P.P, Vallikkannu N., Zawiah S.Z.. Promethazine compared with metoclopramide for hyperemesis gravidarum: a randomized controlled trial. *Obstet. Gynecol.*, 2010, Vol. 115, pp. 975-981.
27. Tran T.T., Ahn J., Reau N. S. ACG clinical guideline: liver disease and pregnancy. *Am. J. Gastroenterol.*, 2016, Vol. 111, no. 2, pp. 76-94.

**Авторы:**

**Джаббарова Ю.К.** — д.м.н., академик медико-технической академии Российской Федерации, профессор кафедры фармакологии, физиологии, Ташкентский педиатрический медицинский институт Министерства здравоохранения; врач — акушер-гинеколог, Республиканский перинатальный центр Министерства здравоохранения Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Абдиева С.** — соискатель PhD, ассистент кафедры акушерства и гинекологии, Ферганский институт общественного здоровья, г. Фергана, Республика Узбекистан

**Суяркулова М.Э.** — PhD, соискатель DSc, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии, Ферганский институт общественного здоровья, г. Фергана, Республика Узбекистан

**Authors:**

**Djabbarova Yu.K.**, PhD, MD (Medicine), Full Member, Medical and Technical Academy of the Russian Federation, Professor, Department of Pharmacology, Physiology, Tashkent Pediatric Medical Institute; Obstetrician-Gynecologist, Republican Perinatal Center Ministry of Health, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Abdieva S.**, PhD Candidate, Assistant Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Fergana Institute of Public Health, Fergana, Republic of Uzbekistan

**Suyarkulova M.E.**, PhD, DSc Applicant, Head, Department of Obstetrics and Gynecology, Fergana Institute of Public Health, Fergana, Republic of Uzbekistan

Поступила 25.03.2024

Отправлена на доработку 28.03.2024

Принята к печати 02.04.2024

Received 25.03.2024

Revision received 28.03.2024

Accepted 02.04.2024



## НАРУШЕНИЯ В СИНТЕЗЕ ЦИТОКИНОВ У ЖЕНЩИН С МИОМОЙ МАТКИ

Исанбаева Л.М.<sup>1</sup>, Мусаходжаева Д.А.<sup>2</sup>, Нарзуллоева Н.С.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Центр развития профессиональных квалификаций медицинских работников, г. Ташкент, Республика Узбекистан

<sup>2</sup> Институт иммунологии и геномики человека академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

<sup>3</sup> Бухарский государственный медицинский университет, г. Бухара, Республика Узбекистан

**Резюме.** В структуре гинекологических заболеваний миома матки занимает «почетное» второе место после воспалительных процессов половых органов, а удельный вес ее достигает 40%. Миома матки — доброкачественная моноклональная опухоль, которая развивается из одной аномальной гладкомышечной клетки миометрия, имеющей в результате мутации способность к нерегулируемому росту. К распространенным симптомам заболевания относятся дискомфорт или боль в области таза, чрезмерные маточные кровотечения, вторичная анемия, бесплодие, дисфункция кишечника и мочевого пузыря. Миома матки способна негативно влиять на общее состояние женщины, вызывая гормональные, вегетососудистые и психоэмоциональные расстройства. При этом около 80% пациенток с миомой матки подвергаются радикальному оперативному лечению. Механизмы развития и роста этой доброкачественной опухоли окончательно не установлены и остаются дискуссионными. В настоящее время обсуждается роль в патогенезе миомы иммунных нарушений. Доказано, что рост миомы сопровождается ослаблением иммунной защиты на фоне повышения уровня провоспалительных цитокинов, которые являются регуляторами процессов пролиферации и апоптоза, медиаторами действия половых стероидов.

Целью исследования явилось изучение уровня некоторых провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-2, TGF- $\beta$ 2 и MCP-1) в сыворотке крови у женщин репродуктивного возраста с миомой матки в зависимости от размеров и характера роста опухоли.

Представлен сравнительный анализ результатов обследования 123 женщин с миомой матки, которые составили 2 группы: 1-я группа — 65 женщин с простой ММ и 2-я группа — 58 женщин с быстрорастущей ММ. Обследование включало комплексное клиничко-лабораторное исследование. Уровень цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-2, TGF- $\beta$ 2, MCP-1) в сыворотке крови оценивали методом ИФА. Было выявлено, что у пациенток репродуктивного возраста с миомой матки наблюдается повышение уровня IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$ 2 и MCP-1. У женщин с быстрорастущей ММ эти изменения более выражены. Концентрация IL-2 снижена у всех женщин с ММ вне зависимости от размеров и характера роста опухоли.

Установлено, что увеличение размеров миоматозных узлов сопровождается нарастанием иммунного дисбаланса: отмечается повышение уровней провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$ 2,

### Адрес для переписки:

Мусаходжаева Дилором Абдуллаевна  
Институт иммунологии и геномики человека  
Академии наук Республики Узбекистан  
100060, Республика Узбекистан, г. Ташкент,  
ул. Яхёв Гулямова, 74.  
Тел.: +998 (93) 180-15-10.  
E-mail: dilym@mail.ru

### Address for correspondence:

Dilorom A. Musakhodzhaeva  
Institute of Human Immunology and Genomics,  
Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan  
74 Yakhyo Gulyamov St  
Tashkent  
100060 Republic of Uzbekistan  
Phone: +998 (93) 180-15-10.  
E-mail: dilym@mail.ru

### Образец цитирования:

Л.М. Исанбаева, Д.А. Мусаходжаева, Н.С. Нарзуллоева  
«Нарушения в синтезе цитокинов у женщин с миомой  
матки» // Российский иммунологический журнал, 2024.  
Т. 27, № 4. С. 871-876.  
doi: 10.46235/1028-7221-16955-DIC

© Исанбаева Л.М. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

### For citation:

L.M. Isanbaeva, D.A. Musakhodzhaeva, N.S. Narzulloeva  
“Disorders in cytokine synthesis in women with uterine  
fibroids”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy  
Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 871-876.  
doi: 10.46235/1028-7221-16955-DIC

© Isanbaeva L.M. et al., 2024

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16955-DIC

МСП-1) на фоне сниженного содержания лимфокина ИЛ-2, что нами расценено как возможные звенья патогенеза миомы матки. Выраженный дефицит ИЛ-2 в сыворотке крови на фоне резкого повышения концентрации TGF-β2 и МСП-1 в крови женщин с миомой матки может рассматриваться как негативный критерий при прогнозе прогрессии заболевания и использоваться в качестве дополнительного прогностического маркера опухолевого роста.

*Ключевые слова:* репродуктивный возраст, миома матки, цитокины, женщины

## DISORDERS IN CYTOKINE SYNTHESIS IN WOMEN WITH UTERINE FIBROIDS

Isanbaeva L.M.<sup>a</sup>, Musakhodzhaeva D.A.<sup>b</sup>, Narzulloeva N.S.<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Center for the Development of Professional Qualifications of Medical Workers, Tashkent, Republic of Uzbekistan

<sup>b</sup> Institute of Human Immunology and Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

<sup>c</sup> Bukhara State Medical University, Bukhara, Republic of Uzbekistan

**Abstract.** In the structure of gynecological diseases, uterine fibroids occupy an “honorable” second place after inflammatory processes of the genital organs, and its share reaches 40%. Uterine fibroids are a benign monoclonal tumor that develops from one abnormal smooth muscle cell of the myometrium, which, as a result of mutation, has the ability to grow unregulated. Common symptoms of the disease include pelvic discomfort or pain, excessive uterine bleeding, secondary anemia, infertility, and bowel and bladder dysfunction. Uterine fibroids can negatively affect the general condition of a woman, causing hormonal, vegetative-vascular and psycho-emotional disorders. Moreover, about 80% of patients with uterine fibroids undergo radical surgical treatment. The mechanisms of development and growth of this benign tumor have not been fully established and remain controversial. The role of immune disorders in the pathogenesis of fibroids is currently being discussed. It has been proven that the growth of fibroids is accompanied by a weakening of immune defense against the background of an increase in the level of proinflammatory cytokines, which are regulators of the processes of proliferation and apoptosis, mediators of the action of sex steroids. The aim of the study was to study the level of some pro-inflammatory cytokines (IL-1β, IL-2, TGF-β2 and MCP-1) in the blood serum of women of reproductive age with uterine fibroids, depending on the size and nature of tumor growth. A comparative analysis of the results of examination of 123 women with uterine fibroids, who made up 2 groups: 1st group of 65 women with simple uterine fibroids and 2nd group of 58 women with rapidly growing uterine fibroids, is presented. The examination included a comprehensive clinical and laboratory study. The level of cytokines (IL-1β, IL-2, TGF-β2, MCP-1) in the blood serum was assessed by ELISA. It was found that in patients of reproductive age with uterine fibroids, there is an increase in the levels of IL-1β, TGF-β2 and MCP-1. In women with rapidly growing uterine fibroids, these changes are more pronounced. The concentration of IL-2 is reduced in all women with uterine fibroids, regardless of the size and nature of tumor growth. It has been established that an increase in the size of myomatous nodes is accompanied by an increase in immune imbalance: there is an increase in the levels of pro-inflammatory cytokines (IL-1β, TGF-β2, MCP-1) against the background of a reduced content of the lymphokine IL-2, which we regard as possible links in the pathogenesis of uterine fibroids. A pronounced deficiency of IL-2 in the blood serum against the background of a sharp increase in the concentration of TGF-β2 and MCP-1 in the blood of women with uterine fibroids can be considered as a negative criterion for predicting disease progression and used as an additional prognostic marker of tumor growth

*Keywords:* reproductive age, uterine fibroids, cytokines, women

### Введение

В настоящее время наиболее распространенной доброкачественной опухолью среди женского населения является миома матки. Патология затрагивает 25-80% женщин, данные варьируют

в зависимости от расы и наличия факторов риска в тех или иных географических, социальных условиях. Миома матки — доброкачественная моноклональная опухоль, которая развивается из одной аномальной гладкомышечной клетки ми-

ометрия, имеющей в результате мутации способность к нерегулируемому росту [1, 2, 9]. К распространенным симптомам заболевания относятся дискомфорт или боль в области таза, чрезмерные маточные кровотечения, вторичная анемия, бесплодие, дисфункция кишечника и мочевого пузыря [2, 6]. Миома матки способна негативно влиять на общее состояние женщины, вызывая гормональные, вегетососудистые и психоэмоциональные расстройства [1, 2, 6, 8, 9, 10]. При этом около 80% пациенток с миомой матки подвергаются радикальному оперативному лечению. Механизмы развития и роста этой доброкачественной опухоли окончательно не установлены и остаются дискуссионными. В настоящее время обсуждается роль в патогенезе миомы иммунных нарушений [4, 5]. Доказано, что рост миомы сопровождается ослаблением иммунной защиты на фоне повышения уровня провоспалительных цитокинов, которые являются регуляторами процессов пролиферации и апоптоза, медиаторами действия половых стероидов [4, 5].

Межклеточная сигнализация в иммунной системе осуществляется путем непосредственного контактного взаимодействия клеток или с помощью медиаторов межклеточных взаимодействий. При изучении дифференцировки иммунокомпетентных и гемопоэтических клеток, а также механизмов межклеточного взаимодействия, формирующих иммунный ответ, и была открыта большая и разнообразная группа растворимых медиаторов белковой природы – молекул-посредников («белков связи»), участвующих в межклеточной передаче сигналов – цитокинов [3, 4, 5, 7]. Изучение концентрации цитокинов при различных вариантах миоматозных узлов позволит уточнить особенности патогенеза миомы и, возможно, разработать дополнительные патогенетически обоснованные методы ее профилактики и лечения.

**Целью исследования** явилось изучение сывороточных уровней некоторых провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-2, TGF- $\beta$ 2 и MCP-1) у женщин репродуктивного возраста с миомой матки в зависимости от темпа роста опухоли.

## Материалы и методы

В исследование были включены 123 женщины репродуктивного возраста (31,3 $\pm$ 0,51 года) с миомой матки. Из них у 65 женщин была простая миома матки, у 58 – быстрорастущая миома матки. Контрольную группу составили 30 практически здоровых женщин сопоставимого возраста (29,7 $\pm$ 0,42 года). Критерии включения: репродуктивный возраст, миома матки малых и больших размеров. Критерии исключения: сопутствующая гинекологическая патология, соматическая патология в стадии субкомпенсации и декомпенсации, аутоиммунные, эндокринные заболевания, а также прием каких-либо препаратов последние 3 мес.

Для исследования взяты образцы сыворотки периферической крови. Уровни IL-1 $\beta$ , IL-2, TGF- $\beta$ 2 и MCP-1 определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерческих тест-систем. Для статистической обработки полученных данных применяли программу InStat 2.0. Достоверными считались результаты при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Согласно полученным результатам (табл. 1), наблюдался дисбаланс уровня изученных цитокинов в зависимости от темпа роста ММ.

Для пациенток с простой миомой матки было характерно повышение уровня IL-1 $\beta$  в 3 раза, составляя в среднем 83,4 $\pm$ 3,2 пг/мл по сравнению со здоровыми женщинами ( $p < 0,001$ ) (рис. 1). А у женщин с быстрорастущей миомой матки этот

ТАБЛИЦА 1. УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ У ОБСЛЕДОВАННЫХ ЖЕНЩИН (M $\pm$ m)

TABLE 1. CYTOKINES' LEVELS IN SUBJECTS (M $\pm$ m)

Цитокины, пг/мл Cytokines, pg/mL	Контрольная группа Control group	Простая ММ Simple uterine fibroids	Быстрорастущая ММ Rapidly growing uterine fibroids
IL-1 $\beta$	26,9 $\pm$ 1,6	83,6 $\pm$ 3,2*	46,5 $\pm$ 2,6* **
IL-2	7,9 $\pm$ 0,8	4,1 $\pm$ 0,5*	4,3 $\pm$ 0,3*
MCP-1	178,5 $\pm$ 23,4	446,3 $\pm$ 34,2*	589,7 $\pm$ 29,8* **
TGF- $\beta$ 2	654,7 $\pm$ 41,2	1073,5 $\pm$ 48,6*	1247,4 $\pm$ 51,4*

Примечание. \* – значение достоверно по отношению к контрольной группе. \*\* – значение достоверно по отношению к группе с простой ММ ( $p < 0,05-0,001$ ).

Note. \*, statistically significant differences when compared to controls. \*\*, statistically significant differences when compared to simple uterine fibroids.

показатель был повышен относительно контрольной группы в 1,73 раза ( $46,5 \pm 2,6$  пг/мл), ( $p < 0,01$ ). Необходимо отметить, что уровень IL-1 $\beta$  у женщин с простой миомой был достоверно выше относительно женщин с быстрорастущей миомой матки ( $p < 0,05$ ).

Как известно, IL-1 $\beta$  является индуцибельным белком, синтез которого начинается в ответ на внедрение микроорганизмов либо повреждения тканей и необходим для развития местного воспаления и осуществления всего комплекса защитных реакций [5, 6]. Основными клетками-продуцентами и главными источниками IL-1 $\beta$  в организме являются моноциты и макрофаги, а также клетки, имеющие с макрофагами общее происхождение. Вследствие своих плейотропных свойств и стимуляции практически всех сторон развития воспалительной реакции эти цитокины имеют важное значение в инициации роста опухолей [3].

Было установлено, что в сыворотке крови пациенток с миомой матки содержание IL-2 было сниженным вне зависимости от темпа роста миомы –  $4,1 \pm 0,5$  пг/мл у женщин с простой ММ и  $4,3 \pm 0,3$  пг/мл – у женщин с быстрорастущей ММ (рис. 2).

Взаимодействие клеток иммунной системы между собой осуществляется как за счет непосредственных межклеточных контактов, так и путем секреции множества растворимых белковых факторов, называемых лимфокинами. Одним из наиболее важных и хорошо изученных лимфокинов, участвующих в процессе развития и усиления иммунного ответа, является интерлейкин-2 (IL-2). Учитывая тот факт, что при миоме матки на системном уровне возрастает количество лимфоцитов, находящихся на ранних стадиях активации, недостаточная системная продукция IL-2 может вести к нарушению процессов созревания и дифференцировки активированных клеток и развитию у них состояния анергии (Ярилин А.А., 1999).

Одним из основных факторов роста, обнаруженных как в нормальной миометрии, так и в миоматозном узле является трансформирующий фактор роста – белок, который контролирует пролиферацию, клеточную дифференцировку и другие функции в большинстве клеток [3, 5]. Дисрегуляция факторов роста является одним из ведущих молекулярных механизмов возникновения и роста миомы матки [5, 6, 8]. В наших исследованиях было выявлено, что сывороточный уровень

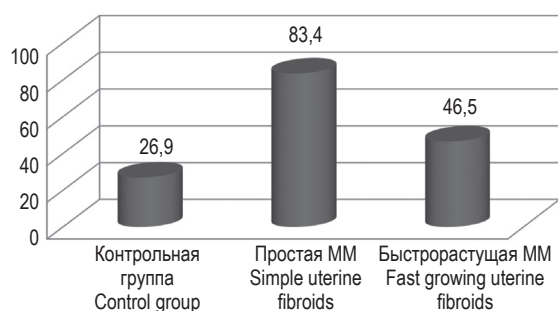


Рисунок 1. Уровень IL-1 $\beta$  у обследованных женщин, пг/мл

Figure 1. Level of IL-1 $\beta$  in the examined women, pg/mL

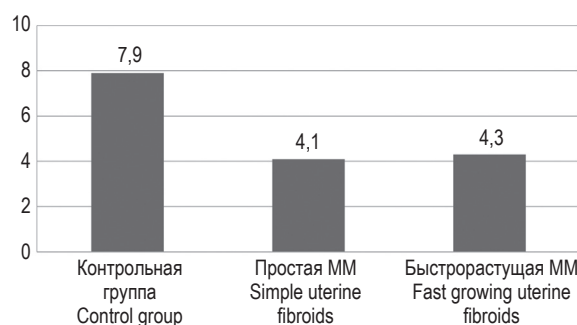


Рисунок 2. Уровень IL-2 у обследованных женщин, пг/мл

Figure 2. Level of IL-2 in the examined women, pg/mL

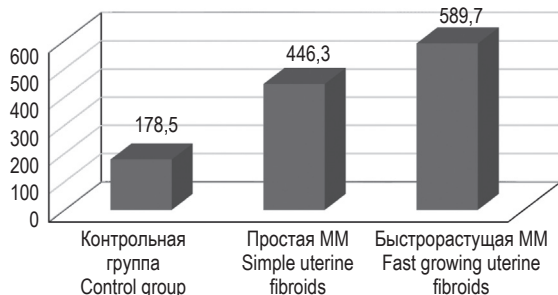


Рисунок 3. Уровень MCP-1 у обследованных женщин, пг/мл

Figure 3. Level of MCP-1 in the examined women, pg/mL

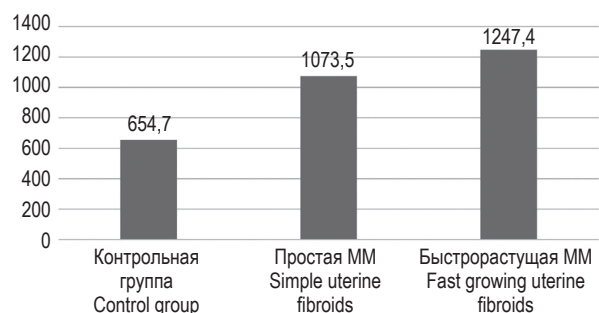


Рисунок 4. Уровень TGF- $\beta$ 2 у обследованных женщин, пг/мл

Figure 4. Level of TGF- $\beta$ 2 in the examined women, pg/mL



TGF- $\beta$ 2 достоверно выше значений контрольной группы –  $1073,5 \pm 48,6$  пг/мл у женщин с простой миомой матки ( $p < 0,01$ ), что в 1,6 раза выше значений контрольной группы ( $p < 0,01$ ). А у женщин с быстрорастущей миомой матки уровень данного цитокина был в 1,9 раза выше значений контрольной группы ( $p < 0,001$ ) и в 1,2 раза выше значений женщин с простой ММ ( $p < 0,05$ ) (рис. 4).

Таким образом, у всех больных с миомой матки на системном уровне было снижено содержание IL-2 независимо от темпа роста ММ, при этом наблюдалось повышение уровня TGF- $\beta$ 2, причем более выраженное при быстрорастущей ММ. Высокое сывороточное содержание фактора роста TGF- $\beta$ 2 по всей видимости связано с усилением системных реакций иммуносупрессии, опосредованных регуляторными Т-лимфоцитами [3, 6].

Моноцитарный хемотаксический протеин-1 (MCP-1) в основном экспрессируется макрофагами в ответ на широкий спектр цитокинов, таких как IL-6, TNF $\alpha$  и IL-1 $\beta$ , но может при стимуляции также продуцироваться и другими различными клетками и тканями, такими как фибробласты, эндотелиальные клетки или клетки различных типов опухолей. Из-за его направленной клеточной специфичности было постулировано, что MCP-1 играет патогенную роль при множестве различных заболеваний, характеризующихся инфильтрацией мононуклеарных клеток [5, 6]. В наших исследованиях было выявлено, что уровень MCP-1 у женщин с простой миомой матки в 2,5 раза выше значений контрольной группы ( $p < 0,01$ ) и в 3,3 раза выше у женщин с быстрорастущей миомой мат-

ки ( $p < 0,001$ ). Необходимо отметить, что уровень MCP-1 у женщин с быстрорастущей миомой матки достоверно выше значений женщин с простой миомой матки ( $p < 0,05$ ) (рис. 3).

Было выявлено, что одной из основных функций данного химокина является способность активировать направленную миграцию моноцитов в зону воспаления [3, 5] (рис. 4).

Таким образом, нами установлено, что увеличение размеров миоматозных узлов сопровождается нарастанием иммунного дисбаланса: отмечается повышение уровней провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$ 2, MCP-1) на фоне сниженного содержания лимфокина IL-2, что нами расценено как возможные звенья патогенеза миомы матки. Выраженный дефицит IL-2 в сыворотке крови на фоне резкого повышения концентрации TGF- $\beta$ 2 и MCP-1 в крови женщин с миомой матки может рассматриваться как негативный критерий при прогнозе прогрессии заболевания и использоваться в качестве дополнительного прогностического маркера опухолевого роста.

## Выводы

1. В сыворотке периферической крови пациенток репродуктивного возраста с миомой матки наблюдается повышение уровня IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$ 2 и MCP-1. У женщин с быстрорастущей ММ эти изменения более выражены.

2. Концентрация IL-2 достоверно снижена у женщин с ММ в независимости от размеров и характера роста опухоли.

## Список литературы / References

1. Буянова С.Н., Юдина Н.В., Гукасян С.А. Современные аспекты роста миомы матки // Российский вестник акушера-гинеколога, 2012. Т. 12, № 4. С. 42-48. [Buyanova S.N., Yudina N.V., Gukasyan S.A. Modern aspects of the growth of uterine fibroids. *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa = Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist*, 2012, Vol. 12, no. 4, pp. 42-48. (In Russ.)]
2. Каторкина Е.С. Шатунова Е.П. Современные аспекты этиологии и патогенеза миомы матки // Наука и инновации в медицине, 2017. № 1 (5). С. 6-12. [Katorkina E.S. Shatunova E.P. Modern aspects of the etiology and pathogenesis of uterine fibroids. *Nauka i innovatsii v meditsine = Science and Innovation in Medicine*, 2017, no. 1 (5), pp. 6-12. (In Russ.)]
3. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: Фолиант, 2008. 552 с. [Ketlinsky S.A., Simbirtsev A.S. Cytokines]. St. Petersburg: Foliant, 2008. 552 p.
4. Лицова А.О., Малышкина А.И., Воронин Д.Н. Особенности системной и местной продукции цитокинов у женщин с миомой матки разной скорости роста // Российский иммунологический журнал, 2012. Т. 6 (14), № 2 (1). С. 105-106. [Litsova A.O., Malyshkina A.I., Voronin D.N. Features of systemic and local production of cytokines in women with uterine fibroids of different growth rates. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2012, Vol. 6 (14), no. 2 (1), pp. 105-106. (In Russ.)]
5. Хворостухина Н.Ф., Островская А.Е., Новичков Д.А., Степанова Н.Н. Цитокиновый профиль при осложнениях гормональной терапии миомы матки // Медицинская иммунология, 2017, Т. 19, № 6. С. 739-748. [Khvorostukhina N.F., Ostrovskaya A.E., Novichkov D.A., Stepanova N.N. Cytokine profile in complications of hormone therapy for uterine fibroids. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2017, Vol. 19, no. 6, pp. 739-748. doi: 10.15789/1563-0625-2017-6-739-748.

6. Тихомиров А.Л., Лубнин Д.М. Миома матки. М.: Агентство медицинской информации, 2006. 176 с. [Tikhomirov A.L., Lubnin D.M. Uterine fibroids. Moscow: Medical Information Agency, 2006. 176 p.]
7. Ярилин А.А. Иммунология: Учебник. Москва: ГЭОТАР-Медиа. 2010. [Yarilin A.A. Immunology: Textbook]. Moscow: GEOTAR-Media. 2010. 752 p.]
8. Ciavattini A., Di Giuseppe J., Stortoni P., Montik N., Giannubilo S.R., Litta P., Islam M.S., Tranquilli A.L., Reis F.M., Ciarmela P. Uterine fibroids: pathogenesis and interactions with endometrium and endomyometrial junction. *Obstet. Gynecol. Int.*, 2013, Vol. 2013, 173184. doi: 10.1155/2013/173184.
9. Ciarmela P., Islam M.S., Reis F.M., Gray P.C., Bloise E., Petraglia F., Vale W., Castellucci M. Growth factors and myometrium: biological effects in uterine fibroid and possible clinical implications. *Hum. Reprod. Update*, 2011, Vol. 17, no. 6, pp. 772-790.
10. di Tommaso S., Massari S., Malvasi A., Bozzetti M.P., Tinelli A. Gene expression analysis reveals an angiogenic profile in uterine leiomyoma pseudocapsule. *Mol. Hum. Reprod.*, 2013, Vol. 19, no. 6, pp. 380-387.

---

**Авторы:**

**Исанбаева Л.М.** — д.м.н., доцент кафедры, Центр развития профессиональных квалификаций медицинских работников, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Мусаходжаева Д.А.** — д.м.н., профессор, заведующая лабораторией репродуктивной иммунологии, Институт иммунологии и геномики человека академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Нарзуллоева Н.С.** — к.б.н., доцент кафедры, Бухарский государственный медицинский университет, г. Бухара, Республика Узбекистан

Поступила 15.04.2024

Отправлена на доработку 17.04.2024

Принята к печати 19.04.2024

---

**Authors:**

**Isanbayeva L.M.**, PhD, MD (Medicine), Associate Professor of the Department, Center for the Development of Professional Qualifications of Medical Workers, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Musakhodzhaeva D.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Reproductive Immunology, Institute of Human Immunology and Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Narzulloeva N.S.**, PhD (Biology), Associate Professor of the Department, Bukhara State Medical University, Bukhara, Republic of Uzbekistan

Received 15.04.2024

Revision received 17.04.2024

Accepted 19.04.2024

---

## ОСОБЕННОСТИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА МОНОЦИТОВ/МАКРОФАГОВ У БОЛЬНЫХ МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ НА ПРИМЕРЕ ПРОДУКЦИИ IL-6 И MCP-1

Малащенко В.В., Хазиахматова О.Г., Юрова К.А., Тодосенко Н.М.,  
Бограя М.М., Газатова Н.Д., Мелащенко О.Б., Белецкая М.А.,  
Литвинова Л.С.

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

**Резюме.** Метаболический синдром (МС) является одним из наиболее распространенных социально значимых заболеваний. Около 1,9 миллиарда человек страдают от этого заболевания, что приводит к колоссальной нагрузке на систему здравоохранения во всем мире. Особенно это выражается в контексте сопутствующих заболеваний. Так, при МС значительно повышаются риски развития сахарного диабета 2-го типа, сердечно-сосудистых заболеваний, печеночной дисфункции, почечной недостаточности, ретинопатии и др. На фоне прогрессирования МС в организме происходят нарушения в работе иммунной системы, в том числе ассоциированные с митохондриальной дисфункцией, приводящие к формированию хронического воспаления. В частности, увеличивается количество циркулирующих моноцитов, которые активно рекрутируются в воспаленную жировую ткань, где происходит неспецифическая провоспалительная активация клеток врожденного иммунитета, которые приобретают M1-подобный фенотип и становятся менее чувствительными к противовоспалительным стимулам. Это в итоге приводит к снижению функциональной активности моноцит/макрофагов и их иммунной пластичности.

Объектом исследования являлась венозная кровь пациентов, а также полученные из нее методом иммуномагнитной сепарации CD14<sup>+</sup> моноцит/макрофаги. В работе мы сосредоточились на поиске значимых взаимосвязей между маркерами хронического воспаления и формированием иммунной толерантности моноцитов/макрофагов у больных метаболическим синдромом. Была проведена оценка биохимических показателей, базальной и ЛПС-стимулированной продукции провоспалительных цитокинов (IL-6 и MCP-1) культурой моноцит/макрофагов у пациентов с метаболическим синдромом.

Оценка биохимических показателей в образцах крови пациентов с МС и у здоровых доноров позволила выявить, что уровни АЛАТ, АСАТ, ГГТ, щелочной фосфатазы, мочевой кислоты, С-реактивного белка, глюкозы и инсулина у пациентов с МС были значимо выше, чем у здоровых доноров. Уровни П-амилазы и липопротеинов высокой плотности были значимо ниже, чем в контрольной группе.

### Адрес для переписки:

Литвинова Лариса Сергеевна  
ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный  
университет имени Иммануила Канта»  
236001, Россия, г. Калининград, ул. Гайдара, 6.  
Тел.: 8 (4012) 59-55-95 (доб. 6134).  
E-mail: larisalitvinova@yandex.ru

### Address for correspondence:

Larisa S. Litvinova  
Immanuel Kant Baltic Federal University  
6 Gaidar St  
Kaliningrad  
236001 Russian Federation  
Phone: +7 (4012) 59-55-95 (acc. 6134).  
E-mail: larisalitvinova@yandex.ru

### Образец цитирования:

В.В. Малащенко, О.Г. Хазиахматова, К.А. Юрова,  
Н.М. Тодосенко, М.М. Бограя, Н.Д. Газатова,  
О.Б. Мелащенко, М.А. Белецкая, Л.С. Литвинова  
«Особенности провоспалительного ответа моноцитов/  
макрофагов у больных метаболическим синдромом  
на примере продукции IL-6 и MCP-1» // Российский  
иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 877-882.  
doi: 10.46235/1028-7221-16912-COT

© Малащенко В.В. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

### For citation:

V.V. Malashchenko, O.G. Khaziakhmatova, K.A. Yurova,  
N.M. Todosenko, M.M. Bograya, N.D. Gazatova,  
O.B. Melashchenko, M.A. Beletskaya, L.S. Litvinova  
“Characteristics of the proinflammatory response of monocytes/  
macrophages in patients with metabolic syndrome, exemplified  
by the production of IL-6 and MCP-1”, Russian Journal  
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024,  
Vol. 27, no. 4, pp. 877-882.  
doi: 10.46235/1028-7221-16912-COT

© Malashchenko V.V. et al., 2024

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16912-COT

В рамках экспериментальной модели выявлено снижение продукции цитокинов в ответ на ЛПС при повторной стимуляции относительно первичной на 7-е сутки. Также было выявлено, что ответ на первичный стимул был выше у клеток полученных от пациентов с индексом массы тела (ИМТ) > 40 кг/м<sup>2</sup>, что может косвенно указывать на наличие фенотипа ассоциированного с хроническим воспалением и как следствие сниженную пластичность моноцит/макрофагального иммунного ответа.

*Ключевые слова: метаболический синдром, IL-6, MCP-1, моноциты, макрофаги, индекс массы тела*

## CHARACTERISTICS OF THE PROINFLAMMATORY RESPONSE OF MONOCYTES/MACROPHAGES IN PATIENTS WITH METABOLIC SYNDROME, EXEMPLIFIED BY THE PRODUCTION OF IL-6 AND MCP-1

Malashchenko V.V., Khaziakhmatova O.G., Yurova K.A., Todosenko N.M., Bograya M.M., Gazatova N.D., Melashchenko O.B., Beletskaya M.A., Litvinova L.S.

*Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation*

**Abstract.** Metabolic syndrome (MS) is one of the most common socially significant diseases. Around 1.9 billion people suffer from this disease, which places an enormous burden on healthcare systems around the world. This is particularly true in connection with concomitant diseases. With the progression of MS, disorders in the function of the immune system occur in the body, including those associated with mitochondrial dysfunction, leading to the development of chronic inflammation. In particular, there is an increase in the number of circulating monocytes actively recruited to inflamed adipose tissue, where there is non-specific proinflammatory activation of innate immune cells, which adopt an M1-like phenotype and become less sensitive to anti-inflammatory stimuli. This ultimately leads to a decrease in the functional activity of monocytes/macrophages and their immunoplasticity. The subject of the study was the venous blood of patients and the CD14<sup>+</sup> monocytes/macrophages obtained from it by immunomagnetic separation. In our work, we focused on the search for significant relationships between markers of chronic inflammation and the formation of immune tolerance of monocytes/macrophages in patients with metabolic syndrome. Biochemical parameters, basal and LPS-stimulated production of proinflammatory cytokines (IL-6 and MCP-1) were investigated by culture of monocytes/macrophages in patients with metabolic syndrome. The evaluation of biochemical parameters in blood samples from MS patients and healthy donors revealed that the levels of ALAT, AST, GGT, alkaline phosphatase, uric acid, C-reactive protein, glucose and insulin were significantly higher in MS patients than in healthy donors. The levels of P-amylase and high-density lipoprotein were significantly lower than in the control group.

Within the experimental model, repeated stimulation showed a decrease in cytokine production in response to LPS compared to the first stimulation on day 7. It was also found that the response to the primary stimulus was higher in cells from patients with a body mass index (BMI) > 40 kg/m<sup>2</sup>, which could indirectly indicate the presence of a phenotype associated with chronic inflammation and consequently with reduced plasticity of the monocyte/macrophage immune response.

*Keywords: metabolic syndrome, IL-6, MCP-1, monocytes, macrophages, body mass index*

Данное исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-15-00061).

### Введение

Метаболический синдром (МС) является одним из ведущих социально значимых заболеваний. Около четверти населения планеты страдают от нарушений метаболического спектра [1]. Прогрессирование МС приводит к развитию сахарного диабета 2-го типа (СД 2-го типа),

сердечно-сосудистых заболеваний, печеночной и почечной дисфункции, ретинопатии, снижению когнитивных функций, развитию инфекционных и онкологических заболеваний [4]. Эти факторы значительно снижают уровень жизни пациентов, способствуя их инвалидизации. Существует тесная связь между ожирением, диабетом и компонентами врожденного иммунитета, в частности моноцит/макрофагами [2]. Метаболическая дисрегуляция, включающая метаболизм липидов и глюкозы, может привести к неспеци-



ифической провоспалительной активации моноцитов и макрофагов; при этом макрофагальные клетки приобретают фенотип, близкий к М1-поляризованным макрофагам, начинают активно продуцировать широкий спектр провоспалительных цитокинов [3, 5, 6]. В рамках исследования мы сосредоточились на поиске значимых взаимосвязей между маркерами хронического воспаления и формированием иммунной толерантности моноцитов/макрофагов у больных МС.

## Материалы и методы

В исследование были включены пациенты с МС, прошедшие обследование и верификацию диагноза в областной клинической больнице г. Калининград, а также в клинико-диагностическом центре БФУ им. И. Канта. Ко всем лицам, принявшим участие в исследовании, были применены следующие критерии включения: возраст от 18 до 65 лет; верифицированный в условиях стационара диагноз ожирение (ИМТ > 30 кг/м<sup>2</sup>); верифицированный в условиях стационара диагноз СД 2-го типа; обязательное подписание информированного согласия на участие в исследовании и использование биологического материала в целях исследования.

Объектом исследования являлась венозная кровь пациентов, а также полученные из нее методом иммуномагнитной сепарации CD14<sup>+</sup> моноцит/макрофаги.

Согласно задачам исследования, было проведено формирование групп и комплексный анализ больных МС, включающий в себя сбор анамнеза и антропометрических характеристик. Было сформировано 3 группы: группа пациентов с МС и ИМТ выше 40 кг/м<sup>2</sup> (n = 24), группа пациентов с МС и ИМТ в пределах 30-40 кг/м<sup>2</sup> (n = 56) и группа здоровых доноров с ИМТ до 30 кг/м<sup>2</sup> (n = 28). Для каждой группы исследования был проведен биохимический анализ крови, определен уровень инсулина и индекс инсулинорезистентности (НОМА-IR).

Для оценки базальной и стимулированной продукции провоспалительных цитокинов моноцитами/макрофагами была разработана экспериментальная модель, включающая следующие контрольные точки: базальная секреция через 24 ч инкубации; ЛПС-стимулированная секреция через 24 ч инкубации; базальная секреция на 7-е сутки культивирования; повторно стимулированная секреция на 7-е сутки культивирования; первично стимулированная секреция на 7-е сутки культивирования. Жизнеспособность культур CD14<sup>+</sup> моноцит/макрофагов, полученных из цельной крови методом иммуномагнитной сепарации, составляла не менее 95%.

В полученных образцах (супернатантах клеточных культур) методом иммуноферментного анализа проводили оценку уровней провоспалительных цитокинов IL-6 и MCP-1.

## Результаты и обсуждение

Оценка биохимических показателей в образцах крови пациентов с МС и у здоровых доноров позволила выявить, что уровни АЛАТ, АСАТ и ГГТ у пациентов с МС были значимо выше, чем у здоровых доноров, но при этом находились в пределах верхней границы нормы. Для группы с ИМТ > 40 кг/м<sup>2</sup> они составляли 28,40 (22,28-57,45), 22,65 (19,50-32,30) и 29,60 (23,83-39,08) Ед/л. Для группы с ИМТ 30-40 кг/м<sup>2</sup> – 22,00 (15,10-35,33), 21,15 (17,53-25,93) и 20,50 (15,25-39,20) Ед/л. В контрольной группе эти показатели были равны 11,25 (8,20-14,65), 16,80 (16,00-20,53) и 13,40 (11,35-16,63) Ед/л соответственно.

Уровни общего, прямого и непрямого билирубина также находились в пределах нормы и значимо не отличались у больных МС и у здоровых доноров.

Уровень щелочной фосфатазы у пациентов с МС был выше нормы. При этом он статистически значимо различался как между группами исследования, так и от контрольной группы и составлял: 196,00 (186,00-213,00), 164,00 (149,50-208,00) и 130,00 (108,50-165,75) Ед/л для групп с ИМТ > 40 кг/м<sup>2</sup>, ИМТ 30-40 кг/м<sup>2</sup> и контрольной группы соответственно. Уровни мочевины и общего белка варьировали в пределах нормы и значимо не различались между группами, хотя наблюдалась тенденция к повышению этих показателей у больных МС. В то же время уровни мочевой кислоты у лиц с ИМТ > 40 кг/м<sup>2</sup> значимо отличались от контрольной группы, превышали норму и составляли 413,85 (311,98-476,93) ммоль/л. В группе с ИМТ 30-40 кг/м<sup>2</sup> и контрольной группе эти показатели были равны 328,90 (270,08-385,33) и 260,10 (218,50-290,38) ммоль/л соответственно.

Уровни П-амилазы у пациентов с ИМТ > 40 кг/м<sup>2</sup> были значимо ниже, чем в контрольной группе, и составляли 8,95 (6,28-12,73) Ед/л. В группе с ИМТ 30-40 кг/м<sup>2</sup> и контрольной группе эти показатели значимо не различались и были равны 12,40 (8,40-18,80) и 15,85 (12,33-22,20) Ед/л соответственно.

Уровень С-реактивного белка значимо различался между всеми группами и был выше нормы в обеих группах больных МС, составляя 7,13 (5,26-10,45), 3,75 (1,75-6,46) и 0,32 (0,15-1,22) мг/л для групп с ИМТ > 40 кг/м<sup>2</sup>, ИМТ 30-40 кг/м<sup>2</sup> и контрольной группы, соответственно.

Интересно отметить, что уровень холестерина во всех группах исследования, включая контроль, не отличался и при этом находился в пределах нормы. Уровень триглицеридов в группах исследования был повышен, но находился в пределах нормы и значимо отличался от показателей контрольной группы. Для групп с ИМТ > 40 кг/м<sup>2</sup>, ИМТ 30-40 кг/м<sup>2</sup> и контрольной группы его уровни составляли 1,81 (1,24-2,15), 1,31 (0,92-1,69) и 0,63 (0,60-0,89) ммоль/л соответственно. Липо-

протеины высокой плотности были снижены, особенно в группе с ИМТ > 40 кг/м<sup>2</sup>, составляя 1,22 (1,02-1,47), 1,46 (1,27-1,60) и 1,84 (1,60-2,05) ммоль/л для групп с ИМТ > 40 кг/м<sup>2</sup>, ИМТ 30-40 кг/м<sup>2</sup> и контрольной группы соответственно.

Содержание липопротеинов низкой плотности в основном варьировало в пределах нормы и значимо не различалось между группами. Значения индекса атерогенности во всех группах находились в пределах нормы, но статистически значимо отличались от показателей контрольной группы и составляли 2,96 (2,44-3,72), 2,72 (2,02-3,35) и 1,98 (1,47-2,41).

Уровень железа находился в пределах нормы, но значимо различался между группами с ИМТ > 40 кг/м<sup>2</sup> и контролем. У пациентов с МС он был ближе к нижней границе нормы и составлял 12,00 (9,25-15,15), 15,30 (12,05-17,80) и 17,05 (14,75-20,45) нмоль/л для групп с ИМТ > 40 кг/м<sup>2</sup>, ИМТ 30-40 кг/м<sup>2</sup> и контрольной группы соответственно.

Уровни глюкозы и инсулина были повышены у больных МС в сравнении с контрольными значениями составляя 5,38 (4,84-5,99, 5,01 (4,68-5,33) и 4,41 (4,19-4,62) ммоль/л для групп с ИМТ > 40 кг/м<sup>2</sup>, ИМТ 30-40 кг/м<sup>2</sup> и контрольной группы, соответственно. Индекс инсулинорезистентности (НОМА-IR) был повышен у больных

МС, однако его значения варьировали в пределах референсных.

На следующем этапе мы оценили *in vitro* реакцию CD14<sup>+</sup> моноцит/макрофагов, полученных от больных МС, на провоспалительный стимул.

Данные по продукции ИЛ-6 представлены в таблице 1.

Для групп с ИМТ > 40 кг/м<sup>2</sup> и ИМТ 30-40 кг/м<sup>2</sup>, наблюдали схожие уровни продукции ИЛ-6, за исключением первично ЛПС-стимулированной продукции на 7-е сутки.

Важно отметить, что продукция ИЛ-6 на 7-е сутки в случае первичной стимуляции была значимо выше, чем при повторной, и наиболее выражена в группе с ИМТ > 40 кг/м<sup>2</sup>, в то время как в контроле значимой разницы выявлено не было.

Это может указывать на чувствительность моноцит/макрофагов у больных МС к провоспалительным стимулам и, как следствие, способность поддерживать хроническое воспаление.

Данные по продукции МСР-1 представлены в таблице 2.

МСР-1 демонстрировал картину, схожую с ИЛ-6: отличия между первичной и повторной стимуляцией значимо различались только в группе с ИМТ > 40 кг/м<sup>2</sup>.

В целом соотношение показателей продукции ИЛ-6 и МСР-1 может указывать на чувстви-

**ТАБЛИЦА 1. УРОВЕНЬ ПРОДУКЦИИ ИЛ-6 МОНОЦИТ/МАКРОФАГАМИ, ПОЛУЧЕННЫМИ У БОЛЬНЫХ МС, В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ *IN VITRO*, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

TABLE 1. LEVEL OF IL-6 PRODUCTION BY MONOCYTES/MACROPHAGES FROM MS PATIENTS IN AN EXPERIMENTAL *IN VITRO* MODEL, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Контрольные точки оценки продукции ИЛ-6 IL-6 product evaluation points	Группа исследования (ИМТ > 40) Study group (BMI > 40)	Группа исследования (ИМТ 30-40) Study group (BMI 30-40)	Контрольная группа Control group
Базальная секреция через 24 ч инкубации (пг/мл) Basal secretion after 24 hours of incubation (pg/mL)	91,59* (19,93-194,88)	43,28* (21,15-186,84)	419,45 (52,27-2301,97)
ЛПС-стимулированная секреция через 24 ч инкубации (пг/мл) LPS-stimulated secretion after 24 hours of incubation (pg/mL)	44218,00* (21797,90-70000,00)	31167,50* (18127,70-56170,05)	14881,60 (10658,00-20723,95)
Базальная секреция на 7-е сутки культивирования (пг/мл) Basal secretion on the 7 <sup>th</sup> day of cultivation (pg/mL)	5,78 (0,82-11,43)	12,18 (0,00-22,96)	9,49 (0,61-16,59)
Повторно стимулированная секреция на 7-е сутки культивирования (пг/мл) Re-stimulated secretion on the 7 <sup>th</sup> day of cultivation (pg/mL)	12,02 (7,72-18,86)	18,28 (0,00-26,36)	8,74 (0,00-13,44)
Первично стимулированная секреция на 7-е сутки культивирования (пг/мл) Primary stimulated secretion on the 7 <sup>th</sup> day of cultivation (pg/mL)	88,21* ** (14,12-320,22)	23,15 (11,28-53,39)	15,75* (0,00-20,23)

Примечание. \* – p < 0,05 по сравнению с контрольной группой; \*\* – p < 0,05 между группами исследования.

Note. \*, p < 0.05 compared to the control group; \*\*, p < 0.05 between study groups.

**ТАБЛИЦА 2. УРОВЕНЬ ПРОДУКЦИИ МСР-1 МОНОЦИТ/МАКРОФАГАМИ, ПОЛУЧЕННЫМИ У БОЛЬНЫХ МС, В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ *IN VITRO*, Me ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ )**

TABLE 2. LEVEL OF MCP-1 PRODUCTION BY MONOCYTES/MACROPHAGES FROM MS PATIENTS IN AN EXPERIMENTAL *IN VITRO* MODEL, Me ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ )

Контрольные точки оценки продукции МСР-1 MCP-1 product evaluation points	Группа исследования (ИМТ > 40) Study group (BMI > 40)	Группа исследования (ИМТ 30-40) Study group (BMI 30-40)	Контрольная группа Control group
Базальная секреция через 24 ч инкубации (пг/мл) Basal secretion after 24 hours of incubation (pg/mL)	687,61* (445,54-1125,16)	1981,70* (606,54-12152,88)	11082,83 (2823,95-25000,00)
ЛПС-стимулированная секреция через 24 ч инкубации (пг/мл) LPS-stimulated secretion after 24 hours of incubation (pg/mL)	49893,10* (29594,85-59859,10)	34156,70* (20518,05-65239,95)	19790,30 (14862,70-34657,05)
Базальная секреция на 7-е сутки культивирования (пг/мл) Basal secretion on the 7 <sup>th</sup> day of cultivation (pg/mL)	292,17 (93,34-418,61)	394,17 (336,16-434,76)	377,31 (312,09-424,60)
Повторно стимулированная секреция на 7-е сутки культивирования (пг/мл) Re-stimulated secretion on the 7 <sup>th</sup> day of cultivation (pg/mL)	414,70 (330,45-439,12)	474,20 (421,54-610,10)	406,79 (353,70-491,56)
Первично стимулированная секреция на 7-е сутки культивирования (пг/мл) Primary stimulated secretion on the 7 <sup>th</sup> day of cultivation (pg/mL)	456,74* (413,25-719,68)	471,32* (355,06-1746,58)	397,30 (329,71-461,92)

Примечание. \* –  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой.

Note. \*,  $p < 0,05$  compared to the control group.

тельность моноцит/макрофагов у больных МС к провоспалительным стимулам, и, как следствие, способность поддерживать хроническое воспаление.

Корреляционный анализ позволил выявить несколько взаимосвязанных кластеров, среди которых ожидаемо были кластеры, содержащие индекс инсулинорезистентности и инсулин; АЛАТ, АСАТ, мочевая кислота, индекс атерогенности; ЛПВП, ЛПНП, триглицериды и холестерин; билирубин и креатинин. Из них наибольший интерес представляла сильная корреляция между продукцией ИЛ-6 и МСР-1 при повторной стимуляции ЛПС на 7-е сутки культивирования ( $r = 0,83$ ,  $p < 0,0001$ ) у пациентов с ИМТ > 40 кг/м<sup>2</sup>. В то же время у лиц с ИМТ 30-40 кг/м<sup>2</sup> аналогичная взаимосвязь была показана при первичной стимуляции на 7-е сутки ( $r = 0,82$ ,  $p < 0,0001$ ). В контрольной группе выявлены обе взаимосвязи, но они менее выражены ( $r = 0,4$ ,  $p < 0,05$ ) ( $r = 0,47$ ,  $p < 0,01$ ).

## Заключение

Таким образом, на фоне МС наблюдается формирование провоспалительного микроокружения, что, с одной стороны, приводит к снижению функциональной активности моноцит/макрофагов. В этих условиях повторная стимуляция ЛПС приводит к менее выраженному ответу посредством продукции провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, и МСР-1), чем первичная. С другой стороны, чувствительность к провоспалительным стимулам при длительном культивировании сохраняется только у клеток, полученных от больных МС ИМТ > 40 кг/м<sup>2</sup>, что может свидетельствовать о наличии фенотипа у этой категории лиц, ассоциированного с хроническим воспалением и, как следствие, о снижении пластичности моноцит/макрофаг-опосредованного иммунного ответа.

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

## Список литературы / References

1. Chew N.W.S., Ng C.H., Tan D.J.H., Kong G., Lin C., Chin Y.H., Lim W.H., Huang D.Q., Quek J., Fu C.E., Xiao J., Syn N., Foo R., Khoo C.M., Wang J.W., Dimitriadis G.K., Young D.Y., Siddiqui M.S., Lam C.S.P., Wang Y., Figtree G.A., Chan M.Y., Cummings D.E., Noureddin M., Wong V.W., Ma R.C.W., Mantzoros C.S., Sanyal A., Muthiah M.D. The global burden of metabolic disease: Data from 2000 to 2019. *Cell Metab.*, 2023, Vol. 35, no. 3, pp. 414-428.e3.



2. Forrester J.V., Kuffova L., Delibegovic M. The role of inflammation in diabetic retinopathy. *Front. Immunol.*, 2020, Vol. 11, 583687. doi: 10.3389/fimmu.2020.583687.
3. Lumeng C.N., Saltiel A.R. Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *J. Clin. Invest.*, 2011, Vol. 121, no. 6, pp. 2111-2117.
4. Powell-Wiley T.M., Poirier P., Burke L.E., Després J.P., Gordon-Larsen P., Lavie C.J., Lear S.A., Ndumele C.E., Neeland I.J., Sanders P., St-Onge M.P., American heart association council on lifestyle and cardiometabolic health, council on cardiovascular and stroke nursing, council on clinical cardiology, council on epidemiology and prevention, stroke council. Obesity and cardiovascular disease: a scientific statement from the american heart association. *Circulation*, 2021, Vol. 143, pp. e984-e1010.
5. Todosenko N., Khaziakhmatova O., Malashchenko V., Yurova K., Bograya M., Beletskaya M., Vulf M., Gazatova N., Litvinova L. Mitochondrial dysfunction associated with mtDNA in metabolic syndrome and obesity. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, Vol. 24, no. 15, 12012. doi: 10.3390/ijms241512012.
6. Todosenko N., Khaziakhmatova O., Malashchenko V., Yurova K., Bograya M., Beletskaya M., Vulf M., Mikhailova L., Minchenko A., Soroko I., Khlusov I., Litvinova L. Adipocyte- and Monocyte-Mediated Vicious Circle of Inflammation and Obesity (Review of Cellular and Molecular Mechanisms). *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, Vol. 24, no. 15, 12259. doi: 10.3390/ijms241512259.

**Авторы:**

**Малащенко В.В.** — к.б.н., научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ОНК «Институт медицины и наук о жизни» ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

**Хазиахматова О.Г.** — к.б.н., старший научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ОНК «Институт медицины и наук о жизни» ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

**Юрова К.А.** — к.м.н., старший научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ОНК «Институт медицины и наук о жизни» ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

**Тодосенко Н.М.** — к.б.н., старший научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ОНК «Институт медицины и наук о жизни» ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

**Газатова Н.Д.** — к.б.н., заведующая лабораторией экспериментальных исследований препаратов крови, ОНК «Институт медицины и наук о жизни» ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

**Бограя М.М.** — младший научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ОНК «Институт медицины и наук о жизни» ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

**Мелащенко О.Б.** — научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ОНК «Институт медицины и наук о жизни» ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

**Белецкая М.А.** — аспирант ОНК «Институт медицины и наук о жизни» ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

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

**Authors:**

**Malashchenko V.V.**, PhD (Biology), Research Associate, Centre of Immunology and Cell Biotechnology, Institute of Medicine and Life Sciences, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

**Khaziakhmatova O.G.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Centre of Immunology and Cell Biotechnology, Institute of Medicine and Life Sciences, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

**Yurova K.A.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Centre of Immunology and Cell Biotechnology, Institute of Medicine and Life Sciences, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

**Todosenko N.M.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Centre of Immunology and Cell Biotechnology, Institute of Medicine and Life Sciences, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

**Gizatova N.D.**, PhD (Biology), Head, Laboratory of Experimental Studies of Blood Products, Institute of Medicine and Life Sciences, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

**Bograya M.M.**, Junior Research Associate, Centre of Immunology and Cell Biotechnology, Institute of Medicine and Life Sciences, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

**Melashchenko O.B.**, Research Associate, Centre of Immunology and Cell Biotechnology, Institute of Medicine and Life Sciences, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

**Beletskaya M.A.**, Postgraduate Student, Institute of Medicine and Life Sciences, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

**Litvinova L.S.**, PhD, MD (Medicine), Head, Centre of Immunology and Cell Biotechnology Institute of Medicine and Life Sciences, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Поступила 03.04.2024  
Отправлена на доработку 08.04.2024  
Принята к печати 10.04.2024

Received 03.04.2024  
Revision received 08.04.2024  
Accepted 10.04.2024



# АНТИТЕЛА К gp120 ВИЧ-1 В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ АТЕРОСКЛЕРОЗА, ВЫЗВАННОГО ИММУНИЗАЦИЕЙ НАТИВНЫМИ ЛИПОПРОТЕИНАМИ ВЫСОКОЙ ПЛОТНОСТИ

Снигирев А.Я., Терентьева О.С., Шкляева Н.П.

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

**Резюме.** При некоторых системных аутоиммунных заболеваниях выявляются антитела к бактериальным и вирусным антигенам в отсутствие инфицирования. При смешанном заболевании соединительной ткани человека, у аутоиммунных мышей линии MRL вырабатывают антитела к gp120 ВИЧ-1, несмотря на то, что ни те, ни другие никогда не подвергались воздействию ВИЧ-1. С другой стороны, вирусные инфекции могут сопровождаться патологическими аутоиммунными реакциями. Реактивность к вирусным антигенам при аутоиммунных заболеваниях и аутоиммунные реакции при вирусных заболеваниях обусловлены индукцией антител через идиотип-антиидиотипические взаимодействия между аутоклонами и клонами лимфоцитов против чужеродных антигенов или гомологией чужеродных антигенов и аутоантигенов. Одной из ведущих причин смертности среди ВИЧ-инфицированных пациентов являются ассоциированные с атеросклерозом сердечно-сосудистые заболевания. Предполагается, что ВИЧ-инфекция ускоряет атерогенез. Механизм ассоциации между ВИЧ-инфекцией и атеросклерозом до конца не ясен. Хроническая активация иммунной системы, нарушение цитокиновой регуляции, вызванные ВИЧ-инфекцией, индукция аутоантител против окисленных ЛПВП и антител к ApoB-D рассматриваются как возможные факторы атерогенеза при ВИЧ-инфекции. Целью работы было выяснить может ли атерогенный иммунный ответ против нативных липопротеинов высокой плотности (нЛПВП) человека индуцировать антитела к gp120 ВИЧ-1. Исследования были проведены на модели аутоиммунного атеросклероза кроликов, вызванного иммунизацией нативными ЛПВП человека. Кроликов (n = 6) иммунизировали нЛПВП человека в дозе 200 мкг (по белку) однократно внутрикожно в неполном адьюванте Фрейнда. Антитела к gp120 ВИЧ-1 были измерены перед иммунизацией кроликов и на 28 и 42 дни после иммунизации ЛПВП, антитела к ЛПВП измеряли еженедельно в течение 42 дней после иммунизации. Гистологический анализ аорты проводили через 8 месяцев после иммунизации. Обнаружено, что у кроликов, иммунизированных нативными ЛПВП, образуются антитела к gp120 ВИЧ-1. Их продукция была транзиторной. Появление антител к gp120 ВИЧ-1 в ответ на иммунизацию нативными ЛПВП, вызывающую атеросклероз, позволяет предполагать, что иммунный ответ к gp120 ВИЧ-1 при ВИЧ-инфекции в свою очередь может сопровождаться продукцией атерогенных антител к ЛПВП. Следовательно, фактором атерогенеза при

## Адрес для переписки:

Снигирев Александр Яковлевич  
ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный  
университет»  
426034, Россия, г. Ижевск,  
ул. Университетская, 1.  
Тел.: 8 (912) 462-21-72.  
Факс: 8 (341) 291-64-26.  
E-mail: Alex.Snigirev72@yandex.ru

## Address for correspondence:

Alexander Ya. Snigirev  
Udmurt State University  
1 Universitetskaya St  
Izhevsk  
426034 Russian Federation  
Phone: +7 (912) 462-21-72.  
Fax: +7 (341) 291-64-26.  
E-mail: Alex.Snigirev72@yandex.ru

## Образец цитирования:

А.Я. Снигирев, О.С. Терентьева, Н.П. Шкляева  
«Антитела к gp120 ВИЧ-1 в экспериментальной  
модели атеросклероза, вызванного иммунизацией  
нативными липопротеинами высокой плотности»  
// Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27,  
№ 4. С. 883-886.  
doi: 10.46235/1028-7221-16694-ATH

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

## For citation:

A. Ya. Snigirev, O. S. Terentieva, N. P. Shklyayeva "Antibodies  
to HIV-1 gp120 in an experimental model of atherosclerosis  
caused by immunization with native high-density lipoproteins",  
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii  
Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 883-886.  
doi: 10.46235/1028-7221-16694-ATH

© Snigirev A. Ya. et al., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License  
DOI: 10.46235/1028-7221-16694-ATH

ВИЧ-1-инфекции могут быть антитела к нативным липопротеинам, появление которых обусловлено иммунным ответом против gp120 ВИЧ-1.

*Ключевые слова:* gp120 ВИЧ-1, антитела, аутоиммунные заболевания, атеросклероз, ВИЧ-инфекция, липопротеины высокой плотности

## ANTIBODIES TO HIV-1 gp120 IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF ATHEROSCLEROSIS CAUSED BY IMMUNIZATION WITH NATIVE HIGH-DENSITY LIPOPROTEINS

Snigirev A. Ya., Terentieva O. S., Shklyaeva N. P.

*Udmurt State University, Izhevsk, Russian Federation*

**Abstract.** Antibodies to bacterial and viral antigens are detected in some systematic autoimmune diseases in the absence of infection. Autoimmune MRL mice and patients with mixed connective tissue disease produce antibodies to gp120 HIV-1, despite the fact that they had never been exposed to HIV-1. Conversely, viral infections may be accompanied by pathological autoimmune reactions. Reactivity to viral antigens in autoimmune diseases and autoimmune reactions in viral diseases are caused by the induction of antibodies via idiotype-anti-idiotype interactions between autoclones and lymphocyte clones against foreign antigens or homology of foreign antigens and autoantigens. Cardiovascular diseases caused by atherosclerosis are currently one of the main causes of mortality in HIV infected patients. It is assumed that HIV infection accelerates atherogenesis. The mechanisms of the association between HIV infection and atherosclerosis are not completely clear. Chronic activation of the immune system, disturbance of cytokine regulation caused by HIV infection, induction of autoantibodies against oxidized low-density lipoproteins (LDL) and antibodies to ApoB-D are considered as possible factors of atherogenesis in HIV infection. The aim of this research was to determine whether an atherogenic immune response against native human high-density lipoproteins (nHDL) could induce antibodies to gp120 HIV-1. Studies were conducted on model of autoimmune atherosclerosis caused by immunization with native human HDL in rabbits. Rabbits (n = 6) were one-time intradermally immunized with human nHDL at a dose of 200 µg of protein per animal in incomplete Freund's adjuvant. Antibodies to gp120 HIV-1 were measured before immunization of rabbits and on the 28<sup>th</sup> and 42<sup>th</sup> day after immunization with HDL, and antibodies to HDL were weekly measured within 42 days after immunization. Histological analysis of the aorta was conducted after eight months after immunization. Transient anti-gp120 HIV-1 antibody production was detected in rabbits immunized with native HDL. The appearance of antibodies to gp120 HIV-1 in response to immunization with native HDL which causes atherosclerosis suggests that the immune response to gp120 HIV-1 during HIV infection may be accompanied by the production of atherogenic antibodies to HDL. Consequently, the antibodies to native lipoproteins caused by an immune response against gp120 HIV-1 may be a factor in atherogenesis during HIV-1 infection.

*Keywords:* gp120 HIV-1, antibodies, autoimmune diseases, atherosclerosis, HIV infection, high-density lipoproteins

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

### Введение

При некоторых системных аутоиммунных заболеваниях выявляются антитела к бактериальным и вирусным антигенам, в отсутствие инфицирования. Например, часть пациентов с кожными аутоиммунными заболеваниями имеют антитела, реагирующие с белками человеческих ретровирусов HTLV-I и ВИЧ-1 [8]. При смешанном заболевании соединительной ткани — ревматическом заболевании, клинически

протекающем сходно с ВИЧ-1-инфекцией, выявляются антитела к gp120 ВИЧ [8]. Аутоиммунные мыши линии MRL вырабатывают антитела к gp120 и p24 ВИЧ, хотя мыши никогда не подвергались воздействию ВИЧ [8]. С другой стороны, ВИЧ-инфекция и инфекции некоторыми другими вирусами, такими как SARS-CoV-2 вирус, могут сопровождаться аутоиммунными проявлениями [5, 7]. Считается, что реактивность к вирусным антигенам при аутоиммунных заболеваниях и аутоиммунные реакции при вирусных заболеваниях обусловлены индукцией антител через идиотип-антиидиотипические взаимодействия между аутоклонами и клонами против чу-

жеродных антигенов или гомологией чужеродных и аутоантигенов [1, 3]. Например, появление аутоантител против ангиотензинпревращающего фермента (АПФ2) могут появляться при инфекции SARS-CoV-2 как антиидиотипические к антителам против S-белка SARS-CoV-2 [1]. Реактивность к gp120 ВИЧ у больных смешанным заболеванием соединительной ткани объясняют гомологией между белком 70К малых ядерных рибонуклеопротеиновых частиц, к которым при смешанном заболевании соединительной ткани образуются аутоантитела, и доминантным эпитопом V3 пептида gp120 ВИЧ-1 [3].

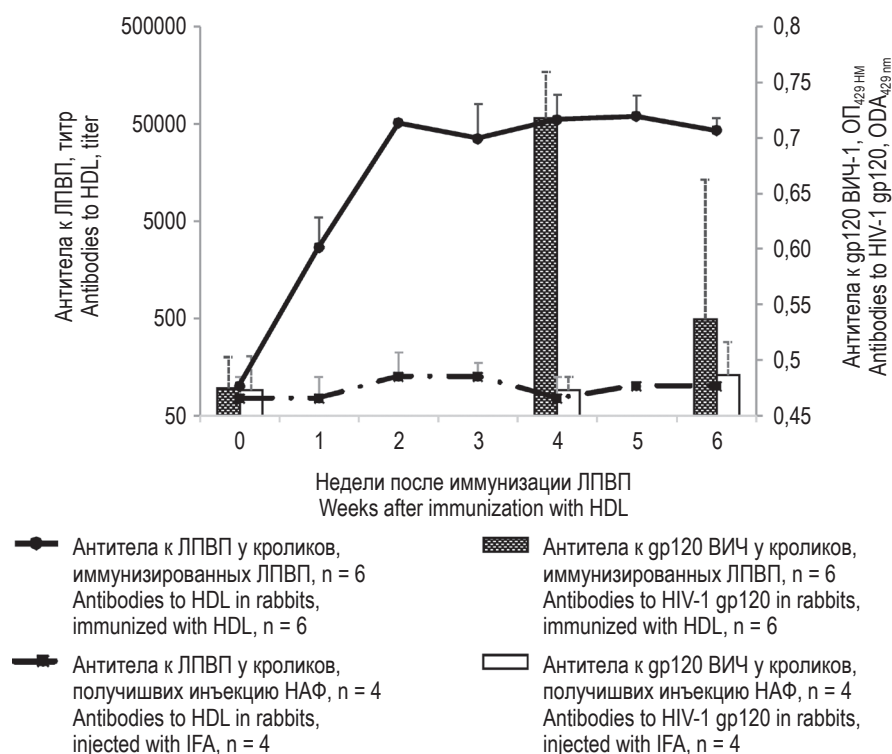
Одной из ведущих причин смертности среди ВИЧ-инфицированных пациентов являются ассоциированные с атеросклерозом сердечно-сосудистые заболевания. Предполагается, что ВИЧ-инфекция ускоряет атерогенез. Изучение инфекции, вызванной вирусом иммунодефицита обезьян, у приматов демонстрирует аналогичную картину ускоренного атерогенеза [6]. Механизм ассоциации между ВИЧ-инфекцией и атеросклерозом до конца не ясен. Хроническая активация иммунной системы, нарушение регуляции цитокинов, связанное с ВИЧ-инфекцией, ин-

дукция аутоантител против окисленных ЛПВП и анти-АpoB-D антител рассматриваются как возможные факторы атерогенеза при ВИЧ-инфекции [2, 4].

**Целью работы** было выяснить может ли атерогенный иммунный ответ против нативных липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) индуцировать антитела к gp120 ВИЧ. Исследования были проведены на модели аутоиммунного атеросклероза кроликов, вызванного иммунизацией нативными ЛПВП человека.

## Материалы и методы

Кроликов (n = 6) иммунизировали нЛПВП человека (Kalen Biomedical, США) в дозе 200 мкг (по белку). Липопротеины вводили в заднюю часть спины однократно внутривожно в неполном адьюванте Фрейнда (НАФ) (InvivoGen, США). Контрольная группа животных (n = 4) получила инъекцию НАФ. В крови животных определяли уровень антител к нативным ЛПВП и антител к gp120 ВИЧ-1 (ACROBiosystems, США). Антитела к gp120 ВИЧ-1 были измерены перед иммунизацией кроликов и на 28-й и 42-й дни после имму-



**Рисунок 1. Уровень антител к ЛПВП и антител к gp120 ВИЧ-1 в сыворотке крови кроликов, иммунизированных ЛПВП, и контрольных кроликов, получивших инъекцию НАФ**

Примечание. Среднее  $\pm$  SD.

Figure 1. Levels of antibodies to HDL and antibodies to HIV-1 gp120 in the blood serum of rabbits immunized with HDL and control rabbits that received an injection of IFA

Note. Mean  $\pm$  SD.

низации ЛПВП, антитела к ЛПВП измеряли еженедельно в течение 42 дней после иммунизации. Гистологический анализ аорты проводили через 8 месяцев после иммунизации.

## Результаты и обсуждение

Иммунизация нативными ЛПВП человека вызвала атеросклерозоподобные поражения аорты кроликов, такие как лейкоцитарная инфильтрация стенки аорты, адипоцитарная и хондроцитарная метаплазия меди, отложения протеогликанов в меди.

Продукция антител к нативным ЛПВП человека и антител к gp120 ВИЧ показана на рисунке 1. Как видно, у кроликов, иммунизированных ЛПВП, на 28-й и 42-й дни выявляются антитела к gp120 ВИЧ (рис. 1). Кролики не подвергались воздействию ВИЧ-1 или gp120 ВИЧ-1. Поэтому появление антител к gp120 в крови кроликов

может быть вызвано только иммунным ответом против ЛПВП.

Появление антител к gp120 ВИЧ-1 в ответ на иммунизацию нативными ЛПВП, вызывающую атеросклероз, позволяет предполагать, что иммунный ответ к gp120 ВИЧ-1 при ВИЧ-инфекции в свою очередь может сопровождаться продукцией атерогенных антител к ЛПВП. Следовательно, фактором атерогенеза при ВИЧ-1-инфекции могут быть антитела к нативным липопротеинам, появление которых обусловлено иммунным ответом против gp120 ВИЧ-1.

## Заключение

Таким образом, атерогенный иммунный ответ против нативных ЛПВП в модели атеросклероза кроликов сопровождается продукцией антител к gp120 ВИЧ-1.

## 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. Da Cunha J., Ferreira Maselli L.M., Treitinger A., Monteiro A.M., Gidlund M., Maranhao R.C., Spada C., Bydlowski S.P. Serum levels of IgG antibodies against oxidized LDL and atherogenic indices in HIV-1-infected patients treated with protease inhibitors. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2013, Vol. 51, no. 2, pp. 371-378.
3. Douvas A., Takehana Y. Cross-reactivity between autoimmune anti-U1 snRNP antibodies and neutralizing epitopes of HIV-1 gp120/41. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 1994, Vol. 10, no. 3, pp. 253-262.
4. Fonseca H.A.R., Gidlund M., Sant'Anna V.R., Fernandes E.R., Fonseca F.A.H., Izar M.C. HIV-infected naive patients exhibit endothelial dysfunction concomitant with decreased natural antibodies against defined apolipoprotein B autoantigens. *Arq. Bras. Cardiol.*, 2021, Vol. 116, no. 4, pp. 844-849.
5. Kanduc D., Shoenfeld Y. Molecular mimicry between SARS-CoV-2 spike glycoprotein and mammalian proteomes: implications for the vaccine. *Immunol. Res.*, 2020, Vol. 68, no. 5, pp. 310-313.
6. Kearns A., Gordon J., Burdo T.H., Qin X. HIV-1-associated atherosclerosis: unraveling the missing link. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2017, Vol. 69, no. 25, pp. 3084-3098.
7. Luo Z., Zhou Z., Ogunrinde E., Zhang T., Li Z., Martin L., Wan Z., Wu H., Qin Z., Ou T., Zhang J., Ma L., Liao G., Heath S., Huang L., Jiang W. The effect of plasma auto-IgGs on CD4(+) T cell apoptosis and recovery in HIV-infected patients under antiretroviral therapy. *J. Leukoc. Biol.*, 2017, Vol. 102, no. 6, pp. 1481-1486.
8. Ranki A., Kurki P., Riepponen S., Stephansson E. Antibodies to retroviral proteins in autoimmune connective tissue disease. Relation to clinical manifestations and ribonucleoprotein autoantibodies. *Arthritis Rheum.*, 1992, Vol. 35, no. 12, pp. 1483-1491.

### Авторы:

**Снигирев А.Я.** — аспирант кафедры иммунологии и клеточной биологии ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет», г. Ижевск, Россия  
**Терентьева О.С.** — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной иммунологии ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет», г. Ижевск, Россия  
**Шкляева Н.П.** — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной иммунологии ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет», г. Ижевск, Россия

### Authors:

**Snigirev A. Ya.**, Postgraduate Student, Department of Immunology and Cell Biology, Udmurt State University, Izhevsk, Russian Federation  
**Terentieva O.S.**, Junior Research Associate, Laboratory of Molecular and Cell Immunology, Udmurt State University, Izhevsk, Russian Federation  
**Shklyaeva N.P.**, Junior Research Associate, Laboratory of Molecular and Cell Immunology, Udmurt State University, Izhevsk, Russian Federation

Поступила 30.03.2024  
Отправлена на доработку 31.03.2024  
Принята к печати 04.04.2024

Received 30.03.2024  
Revision received 31.03.2024  
Accepted 04.04.2024



# ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ И СПОСОБНОСТЬ К ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВАЦИИ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК ИНТИМЫ АОРТЫ ЧЕЛОВЕКА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Хованцева У.С.<sup>1</sup>, Матвеева Д.К.<sup>2</sup>, Чакал Д.А.<sup>1</sup>, Брешенков Д.Г.<sup>1</sup>,  
Чарчян Э.Р.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> ГНЦ РФ «Институт медико-биологических проблем Российской академии наук», Москва, Россия

Резюме. Аорта представляет собой самый крупный кровеносный сосуд организма, который достигает в диаметре около 3 см и отвечает за транспортировку обогащенной кислородом артериальной крови от сердца к тканям и органам. Стенка аорты состоит из трех оболочек: внутренней — *Tunica intima*, средней — *Tunica media* и наружной *Tunica adventitia*. Оболочки стенки аорты имеют разнотипный клеточный состав мезенхимального происхождения и включают в себя гладкомышечные клетки (ГМК), фибробласты, эндотелиальные клетки и др. Функциональные нарушения в клетках интимы аорты человека могут приводить к различным сердечно-сосудистым заболеваниям (ССЗ), например, аневризме и, как следствие, расслоению или разрыву грудной аорты. Ежегодно от расслоения и разрыва грудной аорты умирает более 150 тысяч человек по всему миру. Клеточные и молекулярные механизмы развития ССЗ остаются не до конца изученными, поэтому изучение функциональных особенностей различных клеточных популяций, входящих в состав аорты человека, является актуальной на сегодняшний день задачей.

Цель — оценить иммунный ответ, формируемый клетками, входящими в состав интимы аорты человека, в процессе фагоцитоза латексных частиц и интернализации липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), для понимания их роли в патогенезе аневризмы.

Эксперименты проводили на ГМК, выделенных из интимы аорты пацинетов с аневризмой. Фагоцитарную активность исследовали путем добавления к ГМК интимы латексных частиц, способность интернализировать ЛПНП оценивали с помощью красителя BDP 630/650 (Lumiprobe, Россия) и биохимического метода, оценку способности к про- и противовоспалительной активации изучали с помощью иммуноферментного анализа (ИФА).

Показано, что поглощение латексных частиц и ЛПНП стимулирует секрецию интерлейкинов гладкомышечными клетками, входящими в состав интимы аорты, а именно провоспалительных ци-

## Адрес для переписки:

Хованцева Ульяна Сергеевна  
ГНЦ РФ ФГБНУ «Российский научный центр  
хирургии имени академика Б.В. Петровского»  
119435, Россия, Москва, Абрикосовский пер., 2.  
Тел.: 8 (903) 655-72-85.  
E-mail: ulyana.khovantseva@gmail.com

## Address for correspondence:

Ulyana S. Khovantseva  
Petrovsky National Research Centre of Surgery  
2 Abrikosovsky Lane  
Moscow  
119435 Russian Federation  
Phone: +7 (903) 655-72-85.  
E-mail: ulyana.khovantseva@gmail.com

## Образец цитирования:

У.С. Хованцева, Д.К. Матвеева, Д.А. Чакал,  
Д.Г. Брешенков, Э.Р. Чарчян «Фагоцитарная  
активность и способность к провоспалительной  
активации гладкомышечных клеток интимы  
аорты человека в эксперименте» // Российский  
иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 887-892.  
doi: 10.46235/1028-7221-16684-PAA

© Хованцева У.С. и соавт., 2024  
Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

## For citation:

U.S. Khovantseva, D.K. Matveeva, D.A. Chakal,  
D.G. Breshenkov, E.R. Charchyan "Phagocytic activity and  
proinflammatory activation potential of smooth muscle cells  
of the *Tunica intima* of human aorta under experimental  
conditions", *Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy  
Immunologicheskii Zhurnal*, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 887-892.  
doi: 10.46235/1028-7221-16684-PAA

© Khovantseva U.S. et al., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16684-PAA

токинов IL-6 и IL-8. Таким образом, в условиях организма может происходить переключение фенотипа ГМК интимы аорты человека с сократительного на секреторный или макрофагоподобный, что говорит об участии данного фенотипического перехода клеток в процессе развития аневризмы.

*Ключевые слова:* сердечно-сосудистые заболевания, аневризма, интима аорты человека, интерлейкины, липопротеины низкой плотности, иммуноферментный анализ, фагоцитарная активность, провоспалительная активация, латексные шары, гладкомышечные клетки

## PHAGOCYTOTIC ACTIVITY AND PROINFLAMMATORY ACTIVATION POTENTIAL OF SMOOTH MUSCLE CELLS OF THE TUNICA INTIMA OF HUMAN AORTA UNDER EXPERIMENTAL CONDITIONS

Khovantseva U.S.<sup>a</sup>, Matveeva D.K.<sup>b</sup>, Chakal D.A.<sup>a</sup>, Breshenkov D.G.<sup>a</sup>, Charchyan E.R.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Petrovsky National Research Center of Surgery, Moscow, Russian Federation

<sup>a</sup> Institute of Biomedical Problems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** The aorta is the largest blood vessel in the body, which reaches a diameter of about 3 cm and is responsible for transporting oxygen-enriched arterial blood from the heart to tissues and organs. The aortic wall consists of three layers: the inner *Tunica intima*, the middle *Tunica media* and the outer *Tunica adventitia*. The layers of the aortic wall have a diverse cellular composition and include smooth muscle cells (SMCs), fibroblasts, endothelial cells, etc. Functional disorders in the cells of the intima of the human aorta can lead to various cardiovascular diseases (CVD), such as aneurysm and, as a result, dissection or rupture of the thoracic aorta. The cellular and molecular mechanisms of CVD development remain not fully understood, therefore, the study of the functional characteristics of various cell populations that make up the human aorta is an urgent task today. The aim is to evaluate the inflammatory response formed by cells that are part of the *Tunica intima* of the human aorta during phagocytosis of latex particles and internalization of low-density lipoproteins (LDL) to study their role in the development of aneurysms. The experiments were performed on smooth muscle cells (SMCs) isolated from the intima of the human aorta in patients with aneurysm. Phagocytic activity was studied by adding latex beads to the SMCs of *Tunica intima*, the ability to internalize LDL was evaluated using the BDP 630/650 dye and a biochemical method, the assessment of the ability to pro- and anti-inflammatory activation was studied using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Our results demonstrated that the absorption of latex beads and LDL stimulates the activation of interleukin secretion by smooth muscle cells that are part of the *Tunica intima* of the aorta, namely the proinflammatory cytokines IL-6 and IL-8. This fact may indicate that in the conditions of the body, the human aortic intima SMCs phenotype may switch from contractile to secretory or macrophage-like, which indicates the participation of this phenotypic cell transition in the process of aneurysm development.

*Keywords:* cardiovascular diseases, aneurysm, *Tunica intima* of the human aorta, interleukins, low-density lipoproteins, enzyme-linked immunosorbent assay, phagocytic activity, proinflammatory activation, latex beads, smooth muscle cells

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

### Введение

Аорта представляет собой самый крупный кровеносный сосуд организма, который достига-

ет в диаметре около 3 см и отвечает за транспортировку обогащенной кислородом артериальной крови от сердца к тканям и органам. Грудной отдел аорты состоит из корня аорты, восходящей аорты, дуги аорты и нисходящей аорты. Стенка аорты состоит из трех оболочек: внутренней – *Tunica intima*, средней – *Tunica media* и наружной *Tunica adventitia*. Оболочки стенки аорты

имеют разнообразный клеточный состав мезенхимального происхождения и включают в себя гладкомышечные клетки (ГМК), фибробласты, эндотелиальные клетки и др. Функциональные нарушения в клетках интимы аорты человека могут приводить к различным сердечно-сосудистым заболеваниям (ССЗ), например, аневризме и, как следствие, расслоению или разрыву грудной аорты [7].

Аневризма грудной аорты – это патологическое состояние, в процессе которого происходит расширение ее диаметра до 50%. Данное заболевание может быть обусловлено как наследственными патологиями (синдром Марфана, Элерса–Данло, двустворчатая аорта), так и, например, травмой. Кроме того, к факторам, способствующим развитию аневризмы, относят: высокое кровяное давление, повышенный уровень холестерина, инфекции и др. [2]. Последствием аневризмы является расслоение грудной аорты, при котором происходит разрыв внутренней оболочки аорты – интимы, вследствие чего кровь попадает в среднюю оболочку – медию, что может приводить к внезапной смерти пациента. Ежегодно от расслоения и разрыва грудной аорты умирает более 150 тысяч человек по всему миру [8].

Аневризма и расслоение грудной аорты характеризуются схожими патогенетическими изменениями: дисфункцией внеклеточного матрикса и сократительного аппарата ГМК. Кроме того, было показано, что в развитии аневризмы аорты принимают участие ГМК различных фенотипов: сократительный, секреторный и макрофагоподобный [3, 11]. В ряде исследований показано, что клетки, входящие в состав интимы аорты у людей, больных аневризмой, могут активно интернализировать липопротеины низкой плотности (ЛПНП), что влияет на расширение диаметра восходящей аорты [1].

Клеточные и молекулярные механизмы развития ССЗ остаются не до конца изученными, поэтому изучение функциональных особенностей различных клеточных популяций, входящих в состав аорты человека, является актуальной на сегодняшний день задачей.

В связи с вышеизложенным, **целью настоящей работы** являлась оценка воспалительной реакции, формируемой клетками, входящими в состав интимы аорты человека, в процессе фагоцитоза латексных частиц и интернализации ЛПНП, для изучения их роли в развитии аневризмы.

## Материалы и методы

В настоящей работе были использованы первичные гладкомышечные клетки, выделенные

из интимы аорты пациентов с аневризмой корня и восходящей аорты. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом Национального исследовательского центра хирургии им. Петровского (утверждение № 8 от 20 декабря 2022 г.). Первичную культуру ГМК выделяли из внутренней оболочки грудной аорты человека с помощью инкубации в коллагеназе I и IV типов (StemCell, США) [13]. Полученные ГМК высевали в 24-луночный планшет и культивировали в 0,6 мл среды DMEM/F12 (НПП «ПанЭко», Россия), содержащей, L-глутамин, пенициллин, стрептомицин, феноловый красный и 10% сыворотки (Biowest, Южная Америка) при 37 °С.

Фагоцитарную активность исследуемых клеток изучали с использованием следующих методов:

1) инкубация с латексными шарами Fluospheres carboxylate, 0,5 мкм (Thermo Fisher Scientific, США) по протоколу производителя. Анализ количества поглощенных шаров на клетку проводился с использованием микроскопа Leica DM4000 B LED (Leica Biosystems, Германия). Оценку проводили следующим образом: вначале – по 10 клеток в пяти полях зрения, далее считали количество поглощенных шаров в каждой выбранной клетке.

2) инкубация с атерогенными ЛПНП [14]. Для получения ЛПНП использовали кровь пациентов с диагностированными ССЗ [9]. Все пациенты предоставили письменное информированное согласие. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом Национального исследовательского центра хирургии им. Петровского (утверждение № 5 от 11 декабря 2022 г.).

Накопление липидных капель оценивали с использованием двух методов – флуоресцентного красителя для липидов BDP 630/650 (Lumiprobe, Россия) согласно ранее опубликованному протоколу [6]. Для валидации результатов проводили измерения ферментативным колориметрическим методом с использованием набора Cholesterol Liquicolor (HUMAN, Германия) по модифицированной методике Фолча [4], белок определяли по методу Лоури [10].

В ходе исследования в изучаемых клетках выделяли по 3 исследуемые группы:

1. Группа клеток после инкубации с ЛПНП.
2. Группа клеток после инкубации с латексными шарами.
3. Группа клеток без добавления веществ – контрольная группа.

После инкубации с ЛПНП или латексными шарами культуральную жидкость отбирали для

последующего анализа секреции про- и противовоспалительных цитокинов.

Концентрации IL-6, IL-8 и IL-10 в образцах культуральной жидкости определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерческих наборов DuoSet ELISA (R&D Systems Inc., США). ИФА проводили по протоколу производителя.

Статистический анализ полученных данных был проведен с использованием языка программирования Python. Статистическая значимость оценивалась с помощью U-критерия Манна–Уитни для попарных сравнений и критерия Краскала–Уоллиса для сравнения более двух групп. Все значения были нормированы по масштабированию на минимальные и максимальные значения (min-max scaler). Обработку изображений производили в программе Fiji.

## Результаты и обсуждение

Статистический анализ фагоцитарной активности показал, что среднее количество поглощенных шаров в ГМК интимы (рис. 1), выделенных из стенки аорты человека на клетку составило  $41,5 \pm 5,5$  шт. Полученные данные подтверждают, что ГМК интимы аорты человека, полученные от больных аневризмой, обладают высокой фагоцитарной активностью. Это может свидетельствовать о том, что при развитии аневризмы ГМК интимы аорты человека приобретают макрофагоподобный фенотип [3].

В ходе исследования было выявлено, что первичные ГМК, выделенные из интимы аор-

ты человека, обладают высокой способностью интернализировать ЛПНП. Так, в ГМК интимы без добавления ЛПНП медианное значение относительного показателя нормализованной интенсивности флуоресценции красителя BDP на  $\text{nm}^2$  в клетке составила 38,80 (26,63–58,47) и было значительно ниже, чем в клетках, после инкубации с ЛПНП 89,58 (66,58–112,16) ( $p < 0,001$ ).

В результате анализа по изучению способности ГМК интимы аорты человека накапливать холестерин ферментативным колориметрическим было выявлено значимое увеличение соотношения холестерина к белку в первичных клетках интимы аорты человека после инкубации с ЛПНП. Так, медианное значение относительного показателя нормализованного отношения холестерина к белку в контрольной группе клеток интимы составило 0,08 (0,04–0,12), а в клетках интимы, после инкубации с ЛПНП 0,19 (0,12–0,45) ( $p < 0,05$ ).

При анализе культуральной жидкости было выявлено, что способность секретировать провоспалительные (IL-6 и IL-8) и противовоспалительные (IL-10) цитокины в ответ на внесение латексных частиц и ЛПНП значительно отличается между различными клеточными группами (табл. 1).

Как следует из таблицы 1, в первичных ГМК, выделенных из интимы аорты человека, после инкубации с ЛПНП секреция IL-8 была значительно выше, чем в ГМК интимы без добавления веществ ( $p < 0,05$ ). Также в настоящем исследовании выявлено, что секреция IL-8 исследуемыми

**ТАБЛИЦА 1. МЕДИАННОЕ ЗНАЧЕНИЕ АБСОЛЮТНОГО ПОКАЗАТЕЛЯ СЕКРЕТИРУЕМЫХ ЦИТОКИНОВ (IL-8, IL-6, IL-10) В ИССЛЕДУЕМЫХ КЛЕТКАХ, пг/мл, Me ( $Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$ )**

TABLE 1. THE MEDIAN VALUE OF THE ABSOLUTE INDEX OF SECRETED CYTOKINES (IL-8, IL-6, IL-10) IN THE STUDIED CELLS, pg/mL, Me ( $Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$ )

Секретируемый цитокин Secreted cytokine	Группа Group name			Статистическая значимость Significance, p
	Контроль Control (1)	ЛПНП LDL (2)	Шары Beads (3)	
IL-8	169 (155-180)	423 (383-487)	514(415-585)	p (1-2) < 0,05 p (1-3) < 0,05
IL-6	1439 (1027-1973)	1181 (1107-1826)	135 (126-410)	p (1-3) < 0,001 p (2-3) < 0,001
IL-10	130 (108-1367)	132 (129-1456)	168 (165-1279)	Статистически значимых различий между группами найдено не было No statistically significant differences



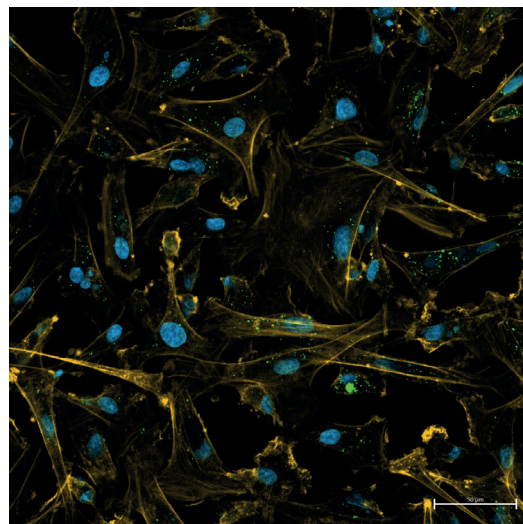
клетками увеличивается в процессе фагоцитоза латексных шаров по сравнению с контрольной группой клеток ( $p < 0,05$ ). Полученные данные демонстрируют, что у ГМК интимы аорты человека, выделенных у больных аневризмой, после провоспалительной активации увеличивается секреция провоспалительных цитокинов, что может свидетельствовать о том, что ГМК интимы аорты меняют свой фенотип с сократительного на секреторный.

Результаты исследования показывают, что секреция IL-6 в первичных ГМК интимы, выделенных из аорты человека, была выше в контрольной группе, по сравнению с группой клеток, после инкубации с латексными шарами ( $p < 0,001$ ). Статистически значимых различий в секреции IL-6 между контрольной группой клеток и группой клеток после инкубации с ЛПНП обнаружено не было. Это может быть связано с тем, что ГМК интимы при развитии аневризмы приобретают фенотип, ассоциированный с секрецией провоспалительных цитокинов. Это подтверждает, что фенотипический переход ГМК может являться ключевым событием в процессе развития аневризмы внутри оболочки сосуда [3, 11, 12].

Баланс между секрецией про- и противовоспалительных цитокинов играет важную роль в развитии ССЗ. Было выявлено, что в клетках после инкубации с ЛПНП или латексными шарами секреция IL-10 увеличивалась, но незначительно. Это может свидетельствовать о том, что IL-10 играет защитную роль в развитии ССЗ и воспалительной реакции [5].

## Заключение

Таким образом, поглощение латексных частиц и ЛПНП стимулирует активацию секреции интерлейкинов ГМК, входящих в состав интимы аорты, а именно провоспалительных цитокинов IL-6 и IL-8. Данный факт может указывать на то, что в условиях организма может происходить



**Рисунок 1. Клетки, выделенные из внутренней оболочки (*Tunica intima*) аорты человека после инкубации с латексными частицами**

**Примечание.** Зеленое свечение – латексные частицы, желтое – актиновые филаменты цитоскелета, окрашенные Rhodamine phalloidin (Thermo Fisher Scientific, США). Докраска ядер DAPI (BioFroxx, Германия) – синее свечение. Масштабный отрезок – 50 мкм.

Figure 1. Cells isolated from the *Tunica intima* of the human aorta after incubation with latex beads

Note. Green fluorescence, latex particles; yellow, actin filaments of the cytoskeleton stained with Rhodamine phalloidin (Thermo Fisher Scientific, USA); blue, DAPI (BioFroxx, Germany). The scale segment is 50 microns.

переключение фенотипа ГМК интимы аорты человека с сократительного на секреторный или макрофагоподобный. Это свидетельствует об участии данного фенотипического перехода клеток в процессе развития аневризмы. Полученные данные об их функциональных возможностях расширяют наши знания о роли ГМК в развитии ССЗ и являются предпосылкой для будущих исследований.

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

## Список литературы / References

1. Alegret J. M., Masana L., Martinez-Micaelo N., Heras M., Beltran-Debon R. LDL cholesterol and apolipoprotein B are associated with ascending aorta dilatation in bicuspid aortic valve patients. *Int. J. Med.*, 2015, Vol. 108, no. 10, pp. 795-801.
2. Bossone E., Eagle K.A. Epidemiology and management of aortic disease: aortic aneurysms and acute aortic syndromes. *Cardiology*, 2021, Vol. 18, no. 5, pp. 331-348.
3. Cao G., Xuan X., Li Y., Hu J., Zhang R., Jin H., Dong H. Single-cell RNA sequencing reveals the vascular smooth muscle cell phenotypic landscape in aortic aneurysm. *Cell Commun. Signal.*, 2023. Vol. 21, no. 1, 113. doi: 10.1186/s12964-023-01120-5.

4. 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, Vol. 226, no. 1, pp. 497-509.
5. Han X., Boisvert W.A. Interleukin-10 protects against atherosclerosis by modulating multiple atherogenic macrophage function. *Thromb. Haemost.*, 2015, Vol. 113, no. 3, pp. 505-512.
6. Kiseleva D.G., Kolmogorov V.S., Cherednichenko V.R., Khovantseva U.S., Bogatyreva A.I., Markina Y.V., Gorelkin P.V., Erofeev A.S., Markin A.M. 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.
7. Komutrattananont P., Mahakkanukrauh P., Das S. Morphology of the human aorta and age-related changes: anatomical facts. *Anat. Cell Biol.*, 2019, Vol. 52, no. 2, 109. doi: 10.5115/acb.2019.52.2.109.
8. Krafcik B.M., Stone D.H., C. Ming, Jarmel I.A., Eid M., Goodney P.P., Columbo J.A., Smith M.M. Changes in global mortality from aortic aneurysm. *J. Vasc. Surg.*, 2024, S0741-5214(24)00402-6. doi: 10.1016/j.jvs.2024.02.025.
9. Li K., Wong D.K., Luk F.S., Kim R.Y., Raffai R.L. Isolation of plasma lipoproteins as a source of extracellular RNA. *Methods Mol. Biol.*, 2018. Vol. 1740, pp. 139-153.
10. 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.
11. Lu H., Du W., Ren L., Hamblin M.H., Becker R.C., Chen Y.E., Fan Y. Vascular smooth muscle cells in aortic aneurysm: from genetics to mechanisms. *J. Am. Heart Assoc.*, 2021, Vol. 10, no. 24, e023601. doi: 10.1161/JAHA.121.023601.
12. Petsophonsakul P., Furmanik M., Forsythe R., Dweck M., Schurink G.W., Natour E., Reutelingsperger C., Jacobs M., Mees B., Schurgers L. Role of vascular smooth muscle cell phenotypic switching and calcification in aortic aneurysm formation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2019, Vol. 39, no. 7, pp. 1351-1368.
13. Poursaleh A., Esfandiari G., Beigee F.S., Eshghifar N., Najafi M. Isolation of intimal endothelial cells from the human thoracic aorta: Study protocol. *Med. J. Islam. Repub. Iran*, 2019, Vol. 33, 51. doi: 10.34171/mjiri.33.51.
14. Tertov V.V., Orekhov A.N. Metabolism of native and naturally occurring multiple modified low density lipoprotein in smooth muscle cells of human aortic intima. *Exp. Mol. Pathol.*, 1997, Vol. 64, no. 3, pp. 127-145.

---

**Авторы:**

**Хованцева У.С.** – младший научный сотрудник ГНЦ РФ ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

**Матвеева Д.К.** – младший научный сотрудник лаборатории клеточной физиологии ГНЦ РФ «Институт медико-биологических проблем Российской академии наук», Москва, Россия

**Чакал Д.А.** – к.м.н., научный сотрудник I кардиохирургического отделения (отделение реконструктивно-восстановительной сердечно-сосудистой хирургии) ГНЦ РФ ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

**Брешенков Д.Г.** – к.м.н., старший научный сотрудник I кардиохирургического отделения (отделение реконструктивно-восстановительной сердечно-сосудистой хирургии) ГНЦ РФ ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

**Чарчян Э.Р.** – д.м.н., член-корр. РАН, профессор, заведующий I кардиохирургическим отделением (отделение реконструктивно-восстановительной сердечно-сосудистой хирургии) ГНЦ РФ ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

**Authors:**

**Khovantseva U.S.**, Junior Research Associate, Petrovsky National Research Center of Surgery, Moscow, Russian Federation

**Matveeva D.K.**, Junior Research Associate, Laboratory of Cellular Physiology, Institute of Biomedical Problems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

**Chakal D.A.**, PhD (Medicine), Research Associate, I Cardiac Surgery Department, Petrovsky National Research Center of Surgery, Moscow, Russian Federation

**Breshenkov D.G.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, I Cardiac Surgery Department, Petrovsky National Research Center of Surgery, Moscow, Russian Federation

**Charchyan E.R.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head, I Cardiac Surgery Department, Petrovsky National Research Center of Surgery, Moscow, Russian Federation

---

Поступила 28.03.2024

Отправлена на доработку 30.03.2024

Принята к печати 03.04.2024

---

Received 28.03.2024

Revision received 30.03.2024

Accepted 03.04.2024

## ПАЦИЕНТЫ С КОРОНАРНЫМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ ИМЕЛИ ИЗМЕНЕННОЕ СООТНОШЕНИЕ СУБПОПУЛЯЦИЙ МОНОЦИТОВ В КРОВИ, КОТОРОЕ БЫЛО СВЯЗАНО С ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИЕЙ КЛЕТОК

Верхова С.С.<sup>1, 2</sup>, Никифоров Н.Г.<sup>1, 3</sup>, Чегодаев Е.С.<sup>1, 4</sup>, Попов М.А.<sup>5</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцина ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

<sup>3</sup> Центр коллективного пользования и Центра высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины ФГБУН «Институт биологии гена» Российской академии наук, Москва, Россия

<sup>4</sup> ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, Москва, Россия

<sup>5</sup> ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского», Москва, Россия

**Резюме.** Коронарный атеросклероз (CAD) является одной из ведущих причин смертности в развитых странах. Экспериментальные данные подтверждают роль моноцитов в развитии CAD. Известны три основные субпопуляции циркулирующих моноцитов крови: классические CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> (~80%), промежуточные CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> (~5%) и неклассические CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup> (~15%). Считается, что каждая из субпопуляций моноцитов выполняет разные функции. Есть исследования, которые демонстрируют, что классические моноциты отвечают в большей степени на бактериальное присутствие, тогда как неклассические на вирусное. Однако функции субпопуляций моноцитов до конца не изучены. Ранее мы продемонстрировали, что циркулирующие моноциты крови пациентов с атеросклерозом имели повышенную провоспалительную активность. Мы решили выяснить, как связано соотношение субпопуляций моноцитов в крови и воспалительная реакция клеток при атеросклерозе. Целью нашей работы стало исследовать связь воспалительного ответа первичных моноцитов с распределением субпопуляций моноцитов относительно общего пула моноцитов у здоровых и больных CAD. В исследование было включено 20 мужчин в возрасте от 46 до 70 лет, 10 из них без CAD и 10 пациентов с CAD.

### Адрес для переписки:

Верхова Светлана Сергеевна  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт  
общей патологии и патофизиологии»  
125315, Россия, Балтийская ул., 8  
Тел.: 8 (926) 673-39-16.  
E-mail: verkhova.svetlana@gmail.com

### Address for correspondence:

Svetlana S. Verkhova  
Institute of General Pathology and Pathophysiology  
8 Baltiyskaya St  
Moscow  
125315 Russian Federation  
Phone: +7 (926) 673-39-16.  
E-mail: verkhova.svetlana@gmail.com

### Образец цитирования:

С.С. Верхова, Н.Г. Никифоров, Е.С. Чегодаев, М.А. Попов «Пациенты с коронарным атеросклерозом имели измененное соотношение субпопуляций моноцитов в крови, которое было связано с воспалительной реакцией клеток» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 893-898. doi: 10.46235/1028-7221-16857-PWC

© Верхова С.С. и соавт., 2024  
Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

### For citation:

S.S. Verkhova, N.G. Nikiforov, E.S. Chegodaev, M.A. Popov “Patients with coronary atherosclerosis had an altered ratio of monocyte subpopulations in the blood, which was associated with an inflammatory cell response”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 893-898. doi: 10.46235/1028-7221-16857-PWC

© Verkhova S.S. et al., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16857-PWC

Была произведена коронарография по результатам которой пациенты были разделены на больных коронарным атеросклерозом с выявленным стенозом в 2 и более артериях (CAD) и здоровых без стеноза в артериях. Далее производился забор крови для изучения циркулирующих моноцитов. Субпопуляции моноцитов были выявлены при помощи проточной цитометрии из лейкоцитарной фракции с использованием антител против CD14-FITC и CD16-PB450-A. Сразу после выделения моноциты стимулировали LPS с конечной концентрацией 1 мкг/мл, через 24 часа отбирали супернатант для дальнейшего иммуноферментного анализа. Воспалительный ответ оценивали по секреции цитокинов TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, CCL2 с помощью ELISA. Моноциты пациентов с CAD обладали измененной воспалительной реакцией в ответ на стимуляцию LPS по сравнению с пациентами без CAD. Это проявлялось в повышенной секреции IL-1 $\beta$  и TNF, и пониженной секрецией CCL2 и IL-6. Повышение количества промежуточных и неклассических моноцитов у пациентов с CAD было связано с изменениями в воспалительном ответе клеток по секреции цитокинов IL-1 $\beta$  и CCL2. Можно предположить, что патологические изменения в представленности субпопуляций моноцитов в кровотоке может быть одной из причин хронизации воспаления в стенках артерий, способствуя прогрессии атеросклеротических поражений.

*Ключевые слова:* коронарный атеросклероз, субпопуляции моноцитов, CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup>, воспалительный ответ, LPS, IL-1 $\beta$ , CCL2

## PATIENTS WITH CORONARY ATHEROSCLEROSIS HAD AN ALTERED RATIO OF MONOCYTE SUBPOPULATIONS IN THE BLOOD, WHICH WAS ASSOCIATED WITH AN INFLAMMATORY CELL RESPONSE

Verkhova S.S.<sup>a, b</sup>, Nikiforov N.G.<sup>a, c</sup>, Chegodaev E.S.<sup>a, d</sup>, Popov M.A.<sup>e</sup>

<sup>a</sup> Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russian Federation

<sup>b</sup> Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russian Federation

<sup>c</sup> Core Facility Center and Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine, Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

<sup>d</sup> Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

<sup>e</sup> Vladimirskiy Moscow Regional Research and Clinical Institute, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** Coronary artery disease (CAD) is one of the leading causes of death in developed countries. Experimental data confirm the role of monocytes in the development of CAD. Three main subpopulations of circulating blood monocytes are known: classical CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup> (~80%), intermediate CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> (~5%) and non-classical CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup> (~15%). It is believed that each of the subpopulations of monocytes performs different functions. There are studies that demonstrate that classical monocytes respond more to the bacterial presence, whereas non-classical ones respond to the viral one. However, the functions of monocyte subpopulations have not been fully studied. Previously, we demonstrated that circulating monocytes of the blood of patients with atherosclerosis had increased proinflammatory activity. We decided to find out how the ratio of monocyte subpopulations in the blood is related to the inflammatory response of cells in atherosclerosis. The aim of our work was to investigate the relationship of the inflammatory response of primary monocytes with the distribution of monocyte subpopulations relative to the total pool of monocytes in healthy and sick CAD. The study included 20 men aged 46 to 70 years, 10 of them without CAD and 10 patients with CAD. A coronary angiography was performed, according to the results of which the patients were divided into patients with coronary atherosclerosis with detected stenosis in 2 or more arteries (CAD) and healthy ones without stenosis in the arteries. Next, blood was taken to study circulating monocytes. Monocyte subpopulations were detected by flow cytometry from the leukocyte fraction using antibodies against CD14-FITC and CD16-PB450-A. Immediately after isolation, monocytes were stimulated with LPS with a final concentration of 1  $\mu$ g/mL, and a supernatant was selected 24 hours later for further enzyme immunoassay. The inflammatory response was



assessed by the secretion of cytokines TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, and CCL2 using ELISA. The monocytes of CAD patients had an altered inflammatory response in response to LPS stimulation compared to patients without CAD. This was manifested in increased secretion of IL-1 $\beta$  and TNF, and decreased secretion of CCL2 and IL-6. An increase in the number of intermediate and non-classical monocytes in patients with CAD was associated with changes in the inflammatory response of cells to the secretion of cytokines IL-1 $\beta$  and CCL2. It can be assumed that pathological changes in the representation of monocyte subpopulations in the bloodstream may be one of the causes of chronic inflammation in the walls of the arteries, contributing to the progression of atherosclerotic lesions.

*Keywords:* coronary atherosclerosis, monocyte subpopulations, CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup>, inflammatory response, LPS, IL-1 $\beta$ , CCL2

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-15-00273.

## Введение

Моноциты являются ключевыми клетками врожденного иммунитета. Известны три основные субпопуляции циркулирующих моноцитов крови: классические CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup> (~80%), промежуточные CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> (~5%) и неклассические CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup> (~15%) [5]. Считается, что каждая из субпопуляций моноцитов выполняет разные функции [1, 2]. Есть исследования, которые демонстрируют, что классические моноциты отвечают в большей степени на бактериальное присутствие, тогда как неклассические – на вирусное [1]. Однако функции субпопуляций моноцитов до конца не изучены. Ранее мы продемонстрировали, что циркулирующие моноциты крови пациентов с атеросклерозом имели повышенную провоспалительную активность [3]. Мы решили выяснить, как связано соотношение субпопуляций моноцитов в крови и воспалительная реакция клеток при атеросклерозе. **Целью нашей работы** стало исследовать связь воспалительного ответа первичных моноцитов с распределением субпопуляций моноцитов относительно общего пула моноцитов у здоровых и больных САД.

## Материалы и методы

В исследование было включено 20 мужчин в возрасте от 46 до 70 лет, 10 из них без коронарного атеросклероза (САД) и 10 пациентов с САД. Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией, все пациенты предоставили письменное информированное согласие. Пациенты были приняты в кардиохирургическое отделение МОНИКИ имени М.Ф. Владимирского. Была произведена коронарография по результатам которой пациенты были разделены на больных коронарным атеросклерозом с выявленным стенозом в 2 и более артериях (САД) и здоровых без стеноза в артериях. Далее производился забор крови для изучения циркулирующих

моноцитов. Лейкоцитарную фракцию получали путем наслаивания на фикал и центрифугирования. Затем выделяли первичные моноциты с помощью магнитной сепарации положительной по CD14<sup>+</sup>. Субпопуляции моноцитов были выявлены при помощи проточной цитометрии (производитель Beckman Coulter, США) из лейкоцитарной фракции с использованием антител против CD14-FITC и CD16-PB450-A (производитель Miltenyi Biotec, Германия). Первичные моноциты культивировали в 48-луночном культуральном планшете (производитель SPL Lifesciences, Южная Корея) в среде X-VIVO 10 (производитель Lonza Bioscience, США) сразу после выделения стимулировали LPS с конечной концентрацией 1 мкг/мл, через 24 часа отбирали супернатант для дальнейшего иммуноферментного анализа. Воспалительный ответ оценивали по секреции цитокинов TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, CCL2 с помощью ELISA (производитель R&D Systems, США).

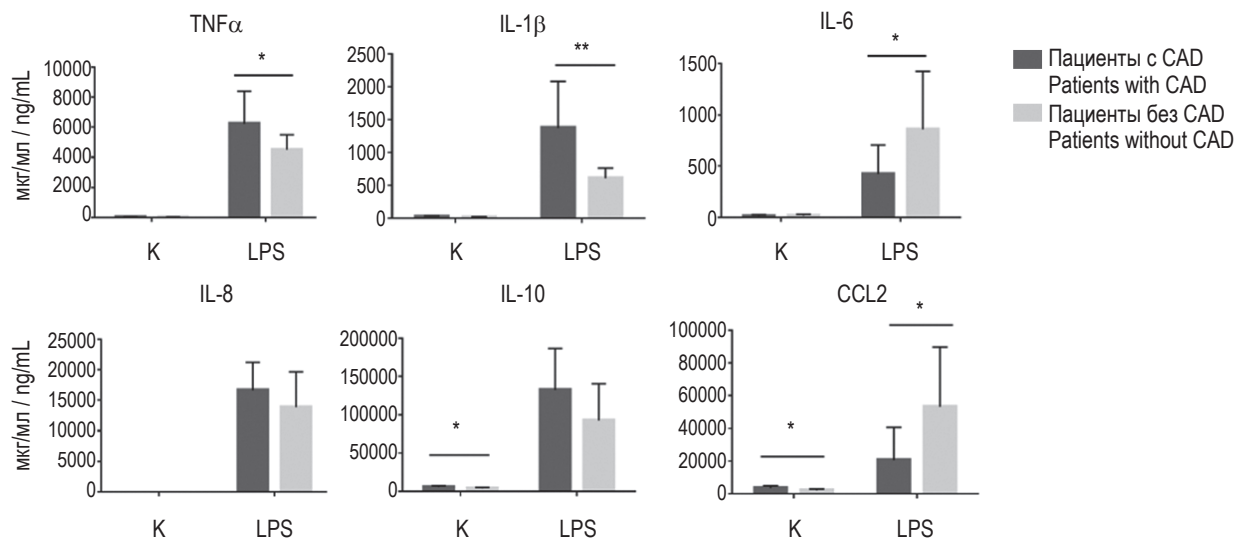
## Результаты и обсуждение

Оказалось, что моноциты пациентов с САД секретировали повышенный уровень IL-1 $\beta$  и TNF, но пониженный уровень CCL2 и IL-6 при стимуляции LPS по сравнению пациентов без САД (рис. 1).

У пациентов с САД наблюдалось повышенное содержание промежуточных и неклассических субпопуляций моноцитов, и сниженное количество классических моноцитов по сравнению пациентами без САД (рис. 2А).

Также у пациентов с САД наблюдалась прямая корреляция как между неклассической, так и промежуточной субпопуляцией моноцитов и секрецией IL-1 $\beta$ , и обратная с секрецией IL-10 и CCL2 после стимуляции LPS. Так как базальная секреция цитокинов была на уровне чувствительности метода, то различия в таких значениях не приводили (рис. 2Б).

Таким образом, наблюдаемое повышение количества промежуточных и неклассических моноцитов у пациентов с САД было связано с

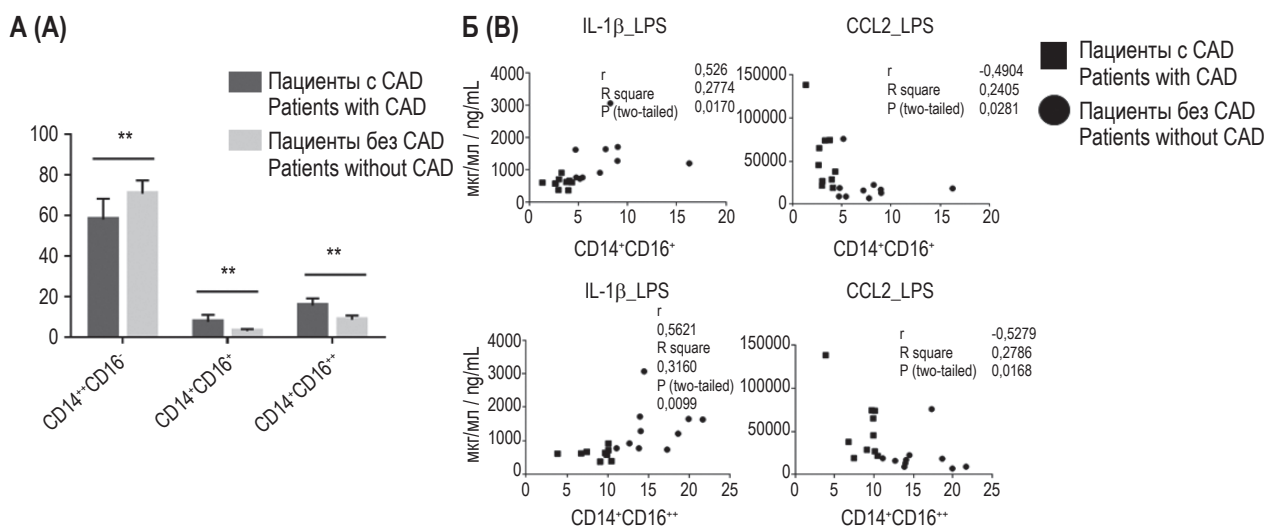


**Рисунок 1. Секретия цитокинов стимулированными LPS первичными моноцитами пациентов с CAD**

Примечание. Представлен воспалительный ответ первичных моноцитов по цитокинам TNF, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, CCL2 после стимуляции LPS (1 мкг/мл) через 24 часа. По оси X – моноциты с базальной (K) и стимулированной липополисахаридом (LPS) секретией от здоровых и больных CAD соответственно. По оси Y – уровень секреции соответствующих цитокинов в пг/мл. \* – по критерию Стьюдента  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ .

Figure 1. Cytokine secretion by LPS-stimulated primary monocytes from CAD patients

Note. The inflammatory response of primary monocytes according to the cytokines TNF, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, CCL2 after stimulation with LPS (1  $\mu$ g/mL) after 24 hours is presented. X-axis shows monocytes with basal (K) and lipopolysaccharide (LPS)-stimulated secretion from healthy and CAD patients, respectively. The Y axis is the level of secretion of the corresponding cytokines in pg/mL. \*, by Student's t-test  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ .



**Рисунок 2. Взаимосвязь субпопуляций и воспалительного ответа первичных моноцитов у пациентов с CAD**

Примечание. А – процентное соотношение субпопуляций от общего моноцитарного пула у пациентов с CAD и без соответственно. По оси X – субпопуляции моноцитов (классические CD14 $^{++}$ CD16 $^{-}$ , промежуточные CD14 $^{++}$ CD16 $^{+}$  и неклассические CD14 $^{++}$ CD16 $^{++}$ ). По оси Y – процент субпопуляций от общего моноцитарного пула. \*\* – по критерию Стьюдента  $p < 0,01$ . Б – взаимосвязь субпопуляций моноцитов с воспалительным ответом пациентов с CAD и без соответственно. По оси X – процент промежуточных CD14 $^{++}$ CD16 $^{+}$  и неклассических CD14 $^{++}$ CD16 $^{++}$  субпопуляций моноцитов от общего моноцитарного пула. По оси Y – уровень секреции цитокина IL-1 $\beta$  и хемокина CCL2 после стимуляции LPS (1 мкг/мл) в пг/мл. По критерию Пирсона на уровне  $p < 0,05$ .

Figure 2. Relationship between subpopulations and the inflammatory response of primary monocytes in patients with CAD

Note. A, percentage of subpopulations of the total monocytic pool in patients with and without CAD, respectively. Along the X axis are monocyte subpopulations (classical CD14 $^{++}$ CD16 $^{-}$ , intermediate CD14 $^{++}$ CD16 $^{+}$  and non-classical CD14 $^{++}$ CD16 $^{++}$ ). The Y axis is the percentage of subpopulations from the total monocytic pool. \*\*, Student's t-test  $p < 0.01$ . B, relationship of monocyte subpopulations with the inflammatory response of patients with and without CAD, respectively. The X axis is the percentage of intermediate CD14 $^{++}$ CD16 $^{+}$  and non-classical CD14 $^{++}$ CD16 $^{++}$  subpopulations of monocytes from the total monocytic pool. The Y axis shows the level of secretion of the cytokine IL-1 $\beta$  and chemokine CCL2 after stimulation with LPS (1  $\mu$ g/mL) in pg/mL. By Pearson t-test at  $p < 0.05$  level.

изменениями в воспалительном ответе клеток по секреции цитокинов IL-1 $\beta$  и CCL2. При этом изменения в секреции TNF и IL-6 моноцитами пациентов с САД не были связаны с субпопуляциями клеток.

## Заключение

Моноциты пациентов с САД обладали измененной воспалительной реакцией в ответ на стимуляцию LPS по сравнению с пациентами без САД. Это проявлялось в повышенной секреции IL-1 $\beta$  и TNF, и пониженной секрецией CCL2 и IL-6. Повышение количества промежуточных и неклассических моноцитов у пациентов с САД

было связано с изменениями в воспалительном ответе клеток по секреции цитокинов IL-1 $\beta$  и CCL2. Можно предположить, что патологические изменения в представленности субпопуляций моноцитов в кровотоке может быть одной из причин хронизации воспаления в стенках артерий, способствуя прогрессии атеросклеротических поражений.

## Благодарности

Авторы выражают благодарность Центру высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины ИБГ РАН за возможность использования научного оборудования.

## Список литературы / References

1. Auffray C., Fogg D., Garfa M., Elain G., Join-Lambert O., Kayal S., Sarnacki S., Cumano A., Lauvau G., Geissmann F. Monitoring of blood vessels and tissues by a population of monocytes with patrolling behavior. *Science*, 2007, Vol. 317, no. 5838, pp. 666-670.
2. Cros J., Cagnard N., Woollard K., Patey N., Zhang S.Y., Senechal B., Puel A., Biswas S.K., Moshous D., Picard C., Jais J.P., D'Cruz D., Casanova J.L., Trouillet C., Geissmann F. Human CD14dim monocytes patrol and sense nucleic acids and viruses via TLR7 and TLR8 receptors. *Immunity*, 2010, Vol. 33, no. 3, pp. 375-386.
3. Ghattas A., Griffiths H.R., Devitt A., Lip G.Y., Shantsila E. Monocytes in coronary artery disease and atherosclerosis: where are we now? *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2013, Vol. 62, no. 17, pp. 1541-1551.
4. Nikiforov N.G., Kirichenko T.V., Kubekina M.V., Chegodaev Y.S., Zhuravlev A.D., Ilchuk L.A., Nikolaeva M.A., Arefieva A.S., Popov M.A., Verkhova S.S., Bagheri E.M., Orekhov A.N. Macrophages derived from LPS-stimulated monocytes from individuals with subclinical atherosclerosis were characterized by increased pro-inflammatory activity. *Cytokine*, 2023, Vol. 172, 156411. doi: 10.1016/j.cyto.2023.156411.
5. Passlick B., Flieger D., Ziegler-Heitbrock H.W. Identification and characterization of a novel monocyte subpopulation in human peripheral blood. *Blood*, 1989, Vol. 74, no. 7, pp. 2527-2534.
6. Patel A.A., Zhang Y., Fullerton J.N., Boelen L., Rongvaux A., Maini A.A., Bigley V., Flavell R.A., Gilroy D.W., Asquith B., Macallan D., Yona S. The fate and lifespan of human monocyte subsets in steady state and systemic inflammation. *J. Exp. Med.*, 2017, Vol. 214, no. 7, pp. 1913-1923.

### Авторы:

**Верхова С.С.** – аспирант Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского»; старший лаборант лаборатории Ангиопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

**Никифоров Н.Г.** – к.б.н., научный сотрудник лаборатории ангиопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; младший научный сотрудник, Центр коллективного пользования и Центра высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины ФГБНУ «Институт биологии гена» Российской академии наук, Москва, Россия

### Authors:

**Verkhova S.S.**, Postgraduate Student, Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Petrovsky National Research Centre of Surgery; Senior Assistant, Angiopathology Laboratory, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russian Federation

**Nikiforov N.G.**, PhD (Biology), Research Associate, Angiopathology laboratory, Institute of General Pathology and Pathophysiology; Junior Research Associate, Core Facility Center and Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine, Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

**Чегодаев Е.С.** – аспирант ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук; старший лаборант лаборатории ангиопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

**Попов М.А.** – к.м.н., научный сотрудник кардиохирургического отделения ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского», Москва, Россия

**Chegodaev E.S.**, Postgraduate Student, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences; Senior Assistant, Angiopathology Laboratory, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russian Federation

**Popov M.A.**, PhD (Medicine), Research Associate, Department of Cardiac Surgery, Vladimirskiy Moscow Regional Research and Clinical Institute, Moscow, Russian Federation

---

Поступила 01.04.2024  
Отправлена на доработку 04.04.2024  
Принята к печати 25.04.2024

---

Received 01.04.2024  
Revision received 04.04.2024  
Accepted 25.04.2024



# ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ РЕПАРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ТКАНЕЙ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ И ЛОКАЛЬНОЙ КОРРЕКЦИИ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ

Шперлинг М.И.<sup>1</sup>, Кубышкин А.В.<sup>1</sup>, Урюпин К.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО

«Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

**Резюме.** Гипотезой исследования явилось предположение, что локальная коррекция вторичной альтерации купирует чрезмерную активность воспаления и способствует ранней активации репаративных процессов. Цель – в эксперименте на животных оценить динамику в плазме крови концентрации циркулирующих цитокинов воспаления при остром ишемическом повреждении мягких тканей и после местного действия препарата на основе гиалуроновой кислоты.

У наркотизированных крыс линии Wistar моделировали острое ишемическое повреждение мягких тканей бедра путем механической компрессии тисками в течение 7 ч. После снятия тисков крысы были разделены на 2 группы по 32 особи: контрольную (без лечения) и опытную (через 3 ч после снятия тисков животным в область, граничащую с зоной компрессии, стерильным шприцом вводили препарат на основе гиалуроновой кислоты «Гиалифт-3,5», разведенный 0,9%-ным раствором до конечной концентрации препарата – 1,75%). В плазме крови определяли концентрацию цитокинов, исследовали гистологические срезы мягких тканей в области компрессии.

Выявлено повышение в плазме крови концентрации провоспалительных цитокинов (IL-1β, TNFα, IL-6) в течение всего периода наблюдения (21 сут.), особенно через 7 сут. от момента повреждения. В наибольшей степени эти изменения отмечались у животных в контрольной группе, что проявлялось статистически значимым, относительно значений у интактных крыс, повышением концентрации IL-1β, TNFα и IL-6: в среднем в 7,2; 3,7 и 5,3 раза соответственно. У крыс в опытной группе локальное введение препарата на основе гиалуроновой кислоты уже в ранний период после повреж-

## Адрес для переписки:

Кубышкин Анатолий Владимирович  
Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского  
295051, Россия, Республика Крым, г. Симферополь,  
бул. Ленина, 5/7.  
Тел.: 8 (365) 255-49-99.  
E-mail: kubyshkin\_av@mail.ru

## Address for correspondence:

Anatolii V. Kubyshkin  
Order of Labor Red Banner S. Georgievsky Medical Institute  
5/7 Lenin Blvd  
Simferopol, Republic of Crimea  
295051 Russian Federation  
Phone: +7 (365) 255-49-99.  
E-mail: kubyshkin\_av@mail.ru

## Образец цитирования:

М.И. Шперлинг, А.В. Кубышкин, К.И. Урюпин  
«Определение уровня провоспалительных цитокинов для оценки репаративного потенциала тканей при ишемическом повреждении и локальной коррекции гиалуроновой кислотой» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 899-906.  
doi: 10.46235/1028-7221-16861-DOP

© Шперлинг М.И. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

## For citation:

M.I. Shperling, A.V. Kubyshkin, K.I. Uryupin “Determination of proinflammatory cytokine levels to assess the reparative potential of tissues in ischemic damage and local correction with hyaluronic acid”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 899-906.  
doi: 10.46235/1028-7221-16861-DOP

© Shperling M.I. et al., 2024

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16861-DOP

дения ограничивало выраженность воспаления (в плазме крови регистрировали повышенную концентрацию IL-10).

Саногенетическая роль локального введения гиалуроновой кислоты в раневом процессе опосредована купированием воспаления в ранний период повреждения и реализуется в повышении репаративного потенциала тканей по варианту более раннего и значимого формирования мышечно-соединительнотканых регенератов.

*Ключевые слова:* цитокины, воспаление, гиалуроновая кислота, репарация, ишемическое повреждение, гистологическая характеристика

## DETERMINATION OF PROINFLAMMATORY CYTOKINE LEVELS TO ASSESS THE REPARATIVE POTENTIAL OF TISSUES IN ISCHEMIC DAMAGE AND LOCAL CORRECTION WITH HYALURONIC ACID

Shperling M.I.<sup>a</sup>, Kubyshkin A.V.<sup>a</sup>, Uryupin K.I.<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Order of Labor Red Banner S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

<sup>b</sup> Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

**Abstract.** The hypothesis of the study was the assumption that local correction of secondary alteration stops excessive inflammation activity and promotes early activation of reparative processes. Objective: in an animal experiment, to evaluate the dynamics in blood plasma of the concentration of circulating inflammatory cytokines in acute ischemic damage to soft tissues and after local action of a hyaluronic acid-based drug.

In anesthetized Wistar rats, acute ischemic damage to the soft tissues of the thigh was simulated by mechanical compression with a vise for 7 hours. After removing the vise, the rats were divided into 2 groups of 32 individuals: control (without treatment) and experimental (3 hours after removing the vise, the drug was injected into the area bordering the compression zone with a sterile syringe based on hyaluronic acid “Hyalift-3.5”, diluted with 0.9% solution to the final concentration of the drug – 1.75%). The concentration of cytokines in blood plasma was determined, histological sections of soft tissues in the compression area were examined.

An increase in the plasma concentration of proinflammatory cytokines (IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-6) was revealed during the entire follow-up period (21 days), especially 7 days after the injury. To the greatest extent, these changes were observed in animals in the control group, which was manifested by a statistically significant increase in the concentration of IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  and IL-6, relative to the values in intact rats: on average by 7.2; 3.7 and 5.3 times, respectively. In rats in the experimental group, local administration of a hyaluronic acid-based drug already in the early period after injury limited the severity of inflammation (an increased concentration of IL-10 was recorded in blood plasma).

The sanogenetic role of local administration of hyaluronic acid in the wound process is mediated by the relief of inflammation in the early period of damage and is realized in increasing the reparative potential of tissues according to the variant of earlier and significant formation of musculoskeletal tissue regenerates.

*Keywords:* cytokines, inflammation, hyaluronic acid, repair, ischemic damage, histological characteristics

### Введение

Ишемические повреждения тканей в результате чрезмерного и продолжительного сдавления сопровождаются высокой частотой анатомических дефектов и функциональной неполно-

ценностью после лечения, являются основной причиной осложнений и летальных исходов компрессионной травмы. В основе развивающихся постишемических изменений лежат последовательные процессы: мембраногенный отек, цитоллиз, выброс в кровоток токсических продуктов,

локальное и системное воспаление, направленные на ограничение, устранение и изоляцию агента, вызвавшего нарушение, а также на восстановление тканей в области повреждения, что в сущности представляет раневой процесс [6, 13].

Активация протеолитических ферментов в ране обеспечивает вторичную альтерацию с запуском каскада механизмов воспаления, способствующий усугублению тяжести процесса. С другой стороны, снижение протеолитической активности замедляет деградацию некротических элементов и последующее очищение раны [3]. Причем интенсивность локального повреждения тканей может приводить к выраженным системным изменениям в организме [1].

Учитывая значимость воспаления в рамках пато- и саногенеза при повреждении тканей, основной гипотезой настоящего исследования явилось предположение, что локальная коррекция вторичной альтерации опосредованно купирует чрезмерную активность воспаления и способствует ранней активации репаративных процессов.

В качестве локальной коррекции рассматривается введение в места анатомических дефектов гидрогелей на основе гиалуроновой кислоты [7, 9]. Гиалуроновая кислота составляет основное вещество внеклеточного матрикса, образует высокогидрофильную среду, участвует в регуляции коллагенообразования, проявляет различные иммунологические свойства [11, 15].

**Цель исследования** – в эксперименте на животных оценить динамику в плазме крови концентрации циркулирующих цитокинов воспаления при остром ишемическом повреждении мягких тканей и после местного действия препарата на основе гиалуроновой кислоты.

## Материалы и методы

Исследование проведено на базе ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского» (программа исследования одобрена Комитетом по этике, протокол № 5 от 25.05.2023 г.). В основе дизайна исследования лежала модель острого ишемического повреждения мягких тканей бедра наркотизированных крыс линии Wistar (внутримышечное введение смеси золетила и ксилазина по 10 мг/кг массы животного каждого препарата) путем механической компрессии тисками в течение 7 ч с последующим (через 3 ч после снятия тисков) введением в область, граничащую с зоной компрессии, препарата на основе гиалуроновой кислоты «Гиалифт-3,5» (Испания) (далее – ГК) [8]. После

моделирования острого ишемического повреждения мягких тканей все крысы были разделены на 2 группы по 32 особи: контрольную (без лечения) и опытную (локальное введение ГК, предварительно разведенную вдвое 0,9%-ным раствором натрия хлорида до конечной концентрации препарата – 1,75%). Для оценки направленности изменений исследуемых показателей была сформирована группа интактных животных (8 особей) без моделирования повреждения. Динамическое наблюдение проводили через 3, 7, 14 и 21 сут. после начала эксперимента. Плазму крови получали из крови наркотизированных декапитированных животных.

Перечень методик, использованных в исследовании, включал определение и оценку:

– уровня провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ ) и противовоспалительного цитокина (IL-10) в плазме крови (с помощью наборов иммуноферментного анализа (АО «Вектор-Бест», Россия);

– гистоморфологической картины тканей зоны компрессии (фотографирование микропрепаратов проводили с помощью камеры Canon VJС-1000, Япония).

Для статистического анализа использовали программу Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Определение типа распределения данных проводили по критерию Шапиро–Уилка. Значимость различий между сравниваемыми выборками определяли с помощью критерия Манна–Уитни (различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ ).

## Результаты и обсуждение

В результате моделирования повреждения к окончанию периода наблюдения (21-е сут) наблюдалась гибель животных: 7 – в контрольной (21,9%) и 5 – в опытной (15,6%), что свидетельствовало о тяжести повреждения.

В результате исследования установлено, что продолжительная механическая компрессия мягких тканей вызвала повышение в плазме крови концентрации провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-6) в течение всего периода наблюдения (21 сут.), особенно через 7 сут. от момента повреждения. В наибольшей степени эти изменения отмечались у животных в контрольной группе в ранние сроки (первые 7 сут. после повреждения). Это проявлялось статистически значимым, относительно значений у интактных крыс, повышением в плазме крови концентрации IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  и IL-6: в среднем в 7,2; 3,7 и 5,3 раза соответственно. В дальнейшем соответству-

ющие показатели демонстрировали динамичное снижение, но оставались повышенными даже к исходу периода наблюдения (21-е сут.). Однотипная, но менее выраженная динамика концентрации провоспалительных цитокинов была зарегистрирована у крыс в опытной группе. Так, у крыс, которым локально вводили ГК через 7 сут. после моделирования повреждения в крови, регистрировалось статистически значимо меньшая, по сравнению с животными без локальной коррекции, концентрация IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  и IL-6: в среднем в 1,8; 1,4 и 1,3 раза соответственно. В более поздние сроки наблюдения (14-21-е сут. после повреждения) показатели концентрации провоспалительных цитокинов между контрольной и опытной группами не различались, за исключением повышенной концентрации IL-1 у животных в контрольной группе на 14-е сут. наблюдения (табл. 1).

Продолжительная механическая компрессия мягких тканей также вызывала сдвиги значений концентрации в плазме крови противовоспалительного цитокина IL-10. У крыс в контрольной группе после моделирования повреждения отмечалась слабо выраженная тенденция к нарастанию концентрации IL-10 с достижением статистически значимого, относительно значений у интактных крыс, повышения: в среднем в 6 раз. В противоположность динамики провоспалительных цитокинов, наиболее выраженная цитокинемия была зарегистрирована у крыс после введения ГК. Статистически значимый рост значений данного параметра был зарегистрирован уже в начальные сроки наблюдения с пиковым, но меньшим в 1,6 раза, чем в контроле, уровнем на 14-е сут. наблюдения. К окончанию периода наблюдения (21-е сут.) исследуемый параметр сохранял высокие значения у крыс в контрольной и опытной группах, не имея межгрупповых различий (табл. 1).

Таким образом, раннее (через 3 ч после декомпрессии) локальное введение ГК в область, граничащую с зоной компрессии, ограничивало выраженность воспаления. Объяснением тому являются известные факты о физиологической роли гиалуроновой кислоты в обеспечении гомеостаза тканей.

Известно, что продукты протеолиза запускают каскад местных и системных иммунных механизмов, лежащих в основе воспаления. Воспалительная реакция характеризуется активацией процессов свободно-радикального окисления, повышением функциональной активности нейтрофилов, с последующей их миграцией в пораженную область. Лейкоциты, мигрируя в очаг

повреждения, секретируют протеолитические ферменты, способные вызывать деструкцию клеток и тканей в поврежденной области. Матриксные протеиназы участвуют в протеолитической деградации внеклеточного матрикса, оказывают моделирующие эффекты в регуляции ангиогенеза и регулируют процессы репарации [14].

Чрезмерно избыточная неконтролируемая продукция компонентов иммунного ответа, особенно провоспалительных цитокинов, а именно IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ , приводит к развитию системной воспалительной реакции, гиперактивации иммунных клеток с повторным высвобождением ими биологически активных веществ и формированием порочного патогенетического круга. Возникновение положительной обратной связи в среде медиаторов приводит к сильному разрушению тканей очага воспаления с распространением процесса на близлежащие тканевые структуры, поступлению провоспалительных цитокинов в кровотоки, генерализации патологического процесса [5].

Структура гиалуроновой кислоты (трехмерные сетки гиалуроновой кислоты, наличие полярных и неполярных сегментов, обеспечивающие формирование ионных связей) обуславливает ее вязкоупругие и гидрофильные свойства, позволяющие удерживать воду в своем окружении [2, 10], что ограничивает выход токсических продуктов рабдомиолиза в кровеносное русло.

Кроме того, снижение проявлений воспалительного ответа под влиянием высокомолекулярной гиалуроновой кислоты ассоциировано с ингибированием выработки макрофагами провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-6) посредством подавления транскрипционных факторов NF- $\kappa$ B и I- $\kappa$ B  $\alpha$  через сайты связывания с молекулами межклеточной адгезии ICAM-1 [12].

Степень устранения флогогена и некротических масс определяет смену спектра цитокинов и медиаторов с провоспалительного (IL-1, TNF $\alpha$ , IL-2 и другие) на противовоспалительный, что обуславливает начало фибробластической стадии воспаления, включающую процессы регенерации тканей [4]. Следовательно, выявленный противовоспалительный эффект ГК в раннюю фазу раневого процесса должен способствовать пролиферативной активности тканей. Данное предположение было подтверждено результатами гистологических исследований.

Через 3 сут после моделирования повреждения на гистологических препаратах мягких тканей зоны компрессии у крыс в контрольной и опытной группе отмечалась картина некроза



**ТАБЛИЦА 1. КОНЦЕНТРАЦИЯ ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ У КРЫС ПРИ ОСТРОМ ИШЕМИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ МЯГКИХ ТКАНЕЙ БЕДРА И ПОСЛЕ ЛОКАЛЬНОГО ОДНОКРАТНОГО ВНУТРИМЫШЕЧНОГО ВВЕДЕНИЯ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ В ОБЛАСТЬ, ГРАНИЧАЩУЮ С ЗОНОЙ КОМПРЕССИИ, ЧЕРЕЗ 3 ЧАСА ПОСЛЕ ДЕКОМПРЕССИИ, Ме (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

TABLE 1. CONCENTRATION OF PRO- AND ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES IN BLOOD PLASMA IN RATS WITH ACUTE ISCHEMIC DAMAGE TO THE SOFT TISSUES OF THE THIGH AND AFTER A LOCAL SINGLE INTRAMUSCULAR INJECTION OF A HYALURONIC ACID-BASED DRUG INTO THE AREA BORDERING THE COMPRESSION ZONE 3 HOURS AFTER DECOMPRESSION, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Группы животных Groups of animals	Сроки исследования, сут. Duration of the study, day	n	Концентрация цитокинов в сыворотке крови, пг/мл Cytokine concentration in blood serum, pg/mL			
			IL-1β	TNFα	IL-6	IL-10
Интактные животные Intact animals		6	7,5 (7,1-8,0)	6,3 (6,2-6,4)	4,4 (4,0-4,7)	3,3 (1,7-4,0)
Контрольная группа Control group	3	6	48,5* (42,6-52,1)	17,4* (15,3-23,0)	28,8* (24,2-32,9)	5,4 (3,3-7,0)
	7	6	54,0* (51,0-56,1)	23,1* (20,2-26,1)	23,1* (21,8-25,9)	6,9 (3,5-10,1)
	14	6	28,4*,*** (26,4-30,7)	16,4*,*** (14,6-18,7)	15,2*,*** (14,7-17,5)	19,8*,*** (17,9-23,7)
	21	7	18,2*,*** (15,4-21,2)	14,6* (11,8-17,2)	13,1* (13,0-15,5)	17,0* (16,2-18,7)
Основная группа (ГК) Main group (HA)	3	6	29,0*,** (26,8-30,7)	11,2*,** (9,1-14,2)	17,0*,** (13,7-19,2)	9,1* (7,9-10,9)
	7	6	30,5*,** (27,8-32,0)	16,1*,** (12,4-18,5)	18,3*,** (15,7-21,8)	9,4* (7,4-12,9)
	14	6	19,0*,**,* (18,7-19,6)	14,1* (13,5-16,1)	13,2* (11,8-15,6)	12,3*,** (10,8-16,0)
	21	9	16,5* (15,1-17,7)	12,4* (9,7-15,1)	11,1* (9,0-13,5)	11,4*,** (10,5-12,6)

Примечание. n – количество животных; ГК – препарат на основе гиалуроновой кислоты; \*, \*\*, \*\*\* – различия достоверны (p < 0,05) по сравнению с интактными животными / контрольной группой / с предыдущим сроком наблюдения соответственно; Me – медиана; Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub> – 1-й и 3-й квартили.

Note. n, number of animals; HA, preparation based on hyaluronic acid; \*, \*\*, \*\*\*, the differences were significant (p < 0.05) compared with intact animals / control group / with the previous observation period, respectively; Me, median; Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>, 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> quartile.

мышечных волокон в виде «опустошенных» (неокрашенных) фрагментов миосимпласов. Вместе с тем, межмышечная лейкоцитарная инфильтрация была менее выражена на гистологических срезах у животных с локальным применением ГК. Признаков регенерации (миогистогенеза) не наблюдалось ни в одном из препаратов.

Через 7 сут. после моделирования повреждения в гистологических срезах у крыс в обе-

их группах сохранялись признаки некроза мышечных волокон, но менее распространенные, чем в предыдущие сроки наблюдения. Во всех препаратах заметны признаки регенерации мышечных структур (миогистогенез), показателем которого служило появление на препаратах мышечных трубок и молодых мышечных волокон с извилистыми ходами, равномерно оксифильной саркоплазмой, в которой определяется 5 и более

миоцелл, занимающих преимущественно периферическое положение. Вокруг молодых мышечных структур располагались новообразованная соединительная ткань. Вместе с тем на гистологических препаратах тканей у крыс регенераты содержали большее количество новообразованных мышечных элементов.

Через 14 и 21 сут. после моделирования компрессионного повреждения продолжали формироваться мышечно-соединительнотканые регенераты, сравнительно в большей степени у крыс после локального введения ГК.

## Заключение

Динамика уровня цитокинов в плазме крови у крыс при моделировании ишемического повреждения мягких тканей путем механической компрессии характеризуется повышением концен-

трации провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-6) в течение всего периода наблюдения (21 сут.), особенно через 7 сут. от момента повреждения. Локальное введение ГК (через 3 ч после декомпрессии) в область, граничащую с зоной компрессии, ограничивало выраженность воспаления, начиная с раннего периода после повреждения (в плазме крови регистрировали повышение концентрации IL-10). Таким образом, саногенетическая роль локального введения гиалуроновой кислоты в раневом процессе опосредована купированием воспаления в ранний период повреждения и реализуется в повышении репаративного потенциала тканей по варианту более раннего и значимого формирования мышечно-соединительнотканых регенератов.

### Финансирование

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

## Список литературы / References

1. Анисимова Л.В., Харченко В.З., Федосов М.И., Кубышкин А.В. Система протеолиза сыворотки крови в формировании синдрома полиорганной недостаточности // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины, 2016. Т. 6, № 1. С. 4-7. [Anisimova L.V., Kharchenko V.Z., Fedosov M.I., Kubyshekin A.V. The role of proteinase-inhibitory system of blood serum in formation of the syndrome of polyorgan insufficiency. *Krymskiy zhurnal eksperimentalnoy i klinicheskoy meditsiny = Crimea Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 2016, Vol. 6, no. 1, pp. 4-7. (In Russ.)]
2. Капулер О.М., Галеева А.Г., Сельская Б.Н., Камилов Ф. Гиалуронан: свойства и биологическая роль // Врач, 2015. № 2. С. 25-27. [Kapuler O.M., Galeeva A.G., Selskaya B.N., Kamilov F. Hyaluronan: properties and biological role. *Vrach = Doctor*, 2015, no. 2, pp. 25-27. (In Russ.)]
3. Костина О.В., Преснякова М.В., Кузнецова В.Л. Особенности воспалительного ответа у пациентов с острыми и длительно незаживающими ожоговыми ранами // Клиническая лабораторная диагностика, 2017. Т. 62, № 7. С. 410-413. [Kostina O.V., Presnyakova M.V., Kuznetsova V.L. The characteristics of inflammatory response in patients with acute and persistent non-healing burn wounds. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2017, Vol. 62, no. 7, pp. 410-413. (In Russ.)]
4. Потапнев М.П. Иммуные механизмы стерильного воспаления // Иммунология, 2015. Т. 36, № 5. С. 312-318. [Potapnev M.P. Immune mechanisms of sterile inflammation. *Immunologiya = Immunologiya*, 2015, Vol. 36, no. 5, pp. 312-318. (In Russ.)]
5. Серебренникова С.Н., Семинский И.Ж., Гузовская Е.В., Гуцол Л.О. Воспаление – фундаментальный патологический процесс: лекция 1 (альтерация, сосудистые реакции) // Байкальский медицинский журнал, 2023. Т. 2, № 2. С. 53-64. [Serebrennikova S.N., Seminsky I.Zh., Guzovskaiia E.V., Gutsol L.O. Inflammation as a fundamental pathological process: lecture 1 (alteration, vascular reactions). *Bajkalskiy medicinskiy zhurnal = Baikal Medical Journal*, 2023, Vol. 2, no 2, pp. 53-64. (In Russ.)]
6. Супильников А.А., Девяткин А.А., Павлова О.Н., Гуленко О.Н. Морфологические и физиологические аспекты течения раневого процесса (литературный обзор) // Вестник медицинского института «РЕАВИЗ», 2016. № 3. С. 144-151. [Supil'nikov A.A., Devyatkin A.A., Pavlova O.N., Gulenko O.N. The morphology of the wound healing process (literature review). *Vestnik meditsinskogo instituta "REAVIZ" = Bulletin of the Medical Institute "REAVIZ": Rehabilitation, Doctor and Health*. 2016, no. 3, pp. 144-151. (In Russ.)]
7. Шперлинг И.А., Шулепов А.В., Шперлинг Н.В., Юркевич Ю.В., Лютов Р.В., Арутюнян А.А., Кузьмина О.Ю. Ранняя локальная коррекция микроциркуляторных и метаболических нарушений при экс-

периментальной травматической ишемии мышц // Политравма, 2021. № 2. С. 94-102. [Shperling I.A., Shulepov A.V., Shperling N.V., Yurkevich Yu.V., Lutov R.V., Arutyunyan A.A., Kuzmina O.Yu. Early local correction of microcirculatory and metabolic disorders in experimental traumatic muscle ischemia. *Politravma = Polytrauma*, 2021, no. 2, pp. 94-102. (In Russ.)]

8. Шперлинг И.А., Шулепов А.В., Шперлинг Н.В., Юркевич Ю.В., Кузьмина О.Ю., Арутюнян А.А., Заргарова Н.И. Саногенетические и фармакологические эффекты локального применения гиалуроновой кислоты при экспериментальной компрессионной травме мягких тканей // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины, 2020. Т. 10, № 2. С. 53-60. [Shperling I.A., Shulepov A.V., Shperling N.V., Yurkevich Yu.V., Kuz'mina O.Yu., Arutyunyan A.A., Zargarova N.I. Sanogenetic and pharmacological effects of local application of Hyaluronic acid in experimental soft tissue compression trauma. *Krymskiy zhurnal eksperimentalnoy i klinicheskoy meditsiny = Crimea Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 2020, Vol. 10, no. 2, pp. 53-60. (In Russ.)]

9. Aya K.L., Stern R. Hyaluronan in wound healing: rediscovering a major player. *Wound Repair Regen.*, 2014, Vol. 22, no 5, pp. 579-593.

10. Fallacara A., Baldini E., Manfredini S., Vertuani S. Hyaluronic acid in the third millennium. *Polymers (Basel)*, 2018, Vol. 10, no. 7, pp. 701-710.

11. Johnson P., Arif A.A., Lee-Sayer S.S.M., Dong Y. Hyaluronan and its interactions with immune cells in the healthy and inflamed lung. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, pp. 2787-2795. doi: 10.3389/fimmu.2018.02787.

12. Lee C.H., Chiang C.F., Kuo F.C., Su S.C., Huang C.L., Liu J.S., Lu C.H., Hsieh C.H., Wang C.C., Lee C.H., Shen P.H. Affiliations High-molecular-weight hyaluronic acid inhibits il-1 $\beta$ -induced synovial inflammation and macrophage polarization through the GRP78-NF- $\kappa$ B signaling pathway. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, Vol. 22, no. 21, 11917. doi: 10.3390/ijms222111917.

13. Murata I., Miyake Y., Takahashi N., Suzuki R., Fujiwara T., Sato Y., Inoue Y., Kobayashi J., Kanamoto I. Low-dose sodium nitrite fluid resuscitation prevents lethality from crush syndrome by improving nitric oxide consumption and preventing myoglobin cytotoxicity in kidney in a rat model. *Shock*. 2017, Vol. 48, no. 1, pp. 112-118.

14. Pan S.C., Wu L.W., Chen C.L., Shieh S.J., Chiu H.Y. Angiogenin expression in burn blister fluid: implications for its role in burn wound neovascularization. *Ann. Plast. Surg.*, 2018, Vol. 2, no. 80 (2S Suppl. 1), pp. 79-83.

15. Wight T.N. Provisional matrix: A role for versican and hyaluronan. *Matrix Biol.*, 2017, Vol. 60-61, no. 7, pp. 38-56.

---

**Авторы:**

**Шперлинг М.И.** – аспирант кафедры общей и клинической патофизиологии, 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:**

**Shperling M.I.**, Postgraduate Student, Department of General and Clinical Pathophysiology, Order of Labor Red Banner S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

**Кубышкин А.В.** — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей и клинической патофизиологии, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

**Kubyshkin A.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of General and Clinical Pathophysiology, Order of Labor Red Banner S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

**Урюпин К.И.** — студент 6-го курса педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

**Uryupin K.I.**, Student, Pediatric Faculty, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

---

Поступила 01.04.2024

Отправлена на доработку 03.04.2024

Принята к печати 25.04.2024

Received 01.04.2024

Revision received 03.04.2024

Accepted 25.04.2024



## СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ К ПАНАЛЛЕРГЕНАМ

**Желтикова Т.М., Ахапкина И.Г., Антропова А.Б.,  
Конищева А.Ю., Мазурина С.А., Мокроносова М.А.**

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

**Резюме.** Паналлергены – молекулы, преимущественно белков различных семейств, ответственные за перекрестную реактивность к широкому спектру родственных и неродственных аллергенов. Клиническое значение сенсibilизации к молекулам некоторых паналлергенов, например nsLTP, парвальбуминов, белков хранения связано с тем, что могут развиваться тяжелые, генерализованные состояния, например nsLTP-синдром. Сенсibilизация к паналлергенам зависит от многих факторов: географического проживания, возраста, пищевых пристрастий, социально-экономических особенностей пациента. Цель исследования – выявить особенности сенсibilизации к различным молекулам паналлергенов у больных с аллергическими заболеваниями, проживающими в средней полосе России.

В мультиплексном иммуноферментном анализе были изучены сыворотки в общей сложности 556 больных с аллергическими заболеваниями. Были использованы 6 молекул профилинов, 2 молекулы полкальцинов, 12 – nsLTP и 7 молекул парвальбуминов.

Особенностями сенсibilизации пациентов средней полосы России к профилинам являются невысокая частота выявления IgE-аТ к ним (5-7%). При этом практически у всех пациентов с IgE-аТ к профилинам есть IgE-аТ как к Bet v 1 (PR-10), так и другим профилинам. В этой связи можно рассматривать Bet v 1 в качестве первичного сенсibilизатора. Особенность сенсibilизации к полкальцинам заключалась в низкой частоте выявления к ним IgE-аТ – всего 0,5% изученных сывороток. Особенностью IgE-ответа на nsLTP является также низкая частота выявления IgE-аТ (0,2-3%). При этом, как правило, ни молекулы nsLTP персика, ни даже яблок, которые часто едят в средней полосе России, не провоцируют развитие nsLTP-синдрома. Частота выявления IgE-аТ к парвальбуминам в сыворотках всех пациентов с аллергическими реакциями не высока и составляет 7-10%. Тогда как частота выявления IgE-аТ к парвальбуминам в сыворотках пациентов с аллергией на рыбу очень высока и достигает 63-90%. Как правило, выявляют IgE-аТ сразу ко всем молекулам, т. е. к парвальбуминам всех исследуемых видов рыб.

Характер сенсibilизации к профилинам, полкальцинам, nsLTP и парвальбуминам у пациентов, проживающих в средней полосе России, имеет свои особенности. Одним из первичных сенсibilизаторов у пациентов с сенсibilизацией на пыльцу ветроопыляемых деревьев является Bet v 1 (гомолог PR-10), IgE-аТ к которому выявляли у 42% пациентов. Частота выявления IgE-аТ к различным молекулам паналлергенов была невысока и составляла: к профилинам – 5-7%, полкальцинам – 0,5%, nsLTP – 0,2-3%, и парвальбуминам – 7-10%.

*Ключевые слова:* аллергия, паналлергены, профилины, полкальцины, парвальбумины, nsLTP, молекулярная аллергодиагностика

### Адрес для переписки:

Желтикова Татьяна Михайловна  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт  
вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»  
105064, Россия, Москва, Малый Казенный пер., 5а.  
Тел.: 8 (916) 195-59-86.  
E-mail: t-zheltikova@yandex.ru

### Address for correspondence:

Tatiana M. Zheltikova  
Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera  
5a Malyy Kazenny Lane  
Moscow  
105064 Russian Federation  
Phone: +7 (916) 195-59-86.  
E-mail: t-zheltikova@yandex.ru

### Образец цитирования:

Т.М. Желтикова, И.Г. Ахапкина, А.Б. Антропова,  
А.Ю. Конищева, С.А. Мазурина, М.А. Мокроносова  
«Современные проблемы сенсibilизации к  
паналлергенам» // Российский иммунологический  
журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 907-912.  
doi: 10.46235/1028-7221-16598-MPO

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

### For citation:

T.M. Zheltikova, I.G. Akhapkina, A.B. Antropova,  
A.Yu. Konishcheva, S.A. Mazurina, M.A. Mokronosova  
“Modern problems of sensitization to panallergens”, Russian  
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii  
Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 907-912.  
doi: 10.46235/1028-7221-16598-MPO

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16598-MPO

## MODERN PROBLEMS OF SENSITIZATION TO PANALLERGENS

Zheltikova T.M., Akhapkina I.G., Antropova A.B., Konishcheva A.Yu., Mazurina S.A., Mokronosova M.A.

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

**Abstract.** Pan-allergens are molecules, mainly proteins of various families, responsible for cross-reactivity to a wide range of related and unrelated allergens. The clinical significance of having sensitization to some pan-allergens, for example, nsLTP, parvalbumins, storage proteins grows from the fact that severe, generalized reactions can develop, for example, nsLTP syndrome. Sensitization to pan-allergens depends on many factors, such as geographical location, age, food preferences, socioeconomic characteristics of the patient. The aim of the study is to identify the pattern of the sensitization to various molecules of pan-allergens in patients with allergic diseases living in the central part of Russia.

We analyzed the sera of a total of 556 patients with allergic diseases in a multiplex enzyme immunoassay. Six profilin molecules, 2 polcalcin molecules, 12 – nsLTP, and 7 parvalbumin molecules were used.

The frequency of IgE-ab to profilins in patients in central Russia is low (5-7%). At the same time, almost all patients with IgE-ab to profilins have IgE-ab to Bet v 1 (PR-10) and concomitantly to other profilins. In this regard, Bet v 1 can be considered as a primary sensitizer. The peculiarity of sensitization to polcalcins and LTPs was the low frequency of detection of IgE-ab to them (from 0.2% to 3%). At the same time, neither the nsLTP molecules of a peach, nor even apples, which are often consumed in central Russia, provoke the development of nsLTP syndrome. The detection rate of IgE-ab to parvalbumin in the sera of all patients with allergic reactions is also relatively not high and is 7-10%. Whereas the frequency of detection of IgE-ab to parvalbumins in the sera of patients with fish allergy is very high and reaches 63-90%. As a rule, IgE-ab are detected to all molecules, i.e., for parvalbumins of all studied fish species.

The sensitization profile to profilins, polcalcins, nsLTP and parvalbumins in patients living in central Russia has its own unique characteristics. One of the primary sensitizers in patients with sensitization to pollen of wind-pollinated trees is Bet v 1 (PR-10 homologue), IgE-ab to which was detected in 42% of patients. The detection rate of IgE-ab for various molecules of pan-allergens in general was low as follows: profilins – 5-7%, polcalcins – 0.5%, nsLTP – 0.2-3%, and parvalbumins – 7-10%.

*Keywords: allergy, pan-allergens, profilins, polcalcin, parvalbumin, nsLTP, allergy molecular diagnostics*

### Введение

Паналлергены – молекулы, преимущественно белков различных семейств, ответственные за перекрестную реактивность к широкому спектру родственных и неродственных аллергенов. Часто это минорные аллергены. Однако есть и исключения, например Bet v 1. Сенсibilизация к паналлергенам, как правило, протекает как ко- или полисенсibilизация, причем моносенсibilизация паналлергеном формируется редко. Сенсibilизация к паналлергенам зависит от многих факторов: географического проживания, возраста, пищевых пристрастий, социально-экономических особенностей пациента.

В настоящее время происходит переосмысление, переоценка общепринятых представлений о клинической значимости различных аллергенных молекул, в том числе и паналлергенов: профилинов, тропомиозинов, полкальцинов и др. Аллергические реакции на паналлергены различны: от орального синдрома до тяжелых, медленно развивающихся системных реакций

вплоть до анафилаксии. К таким белкам относятся белки хранения, белки, неспецифические переносчики липидов (nsLTP), тропомиозины, парвальбумины и др. К другим белкам развиваются локальные, преимущественно, местные, оральные симптомы (профилины, PR-10 и др.). Однако не все так однозначно. В настоящее время в научных публикациях появляются данные о тяжелых анафилактических реакциях у пациентов с моносенсibilизацией к Bet v 1-гомологам (PR-10), которые сразу после физической нагрузки пили яблочный сок [2, 3, 5, 8]. Происходит переосмысление клинического значения сенсibilизации к профилинам. Так, и у пациентов с моносенсibilизацией к профилину, проживающих в районах с высокой экспозицией пыльцы, были зарегистрированы тяжелые аллергические реакции [5].

Таким образом, актуальность исследования обусловлена фрагментарностью данных, а то и их отсутствием, о сенсibilизации пациентов, проживающих в средней полосе России, к раз-

личным молекулам пищевых и ингаляционных аллергенов, в том числе и паналлергенов.

**Цель исследования** — оценить особенности сенсibilизации к молекулам ингаляционных и пищевых паналлергенов у пациентов в средней полосе России.

## Материалы и методы

Всего было исследовано 556 сывороток больных с аллергопатологией от 6 до 58 лет. Среди пациентов 256 мужчин (46%) и 300 женщин (54%) в возрасте от 5 до 58 лет. Эти сыворотки были исследованы на выявление IgE-аТ к профилинам, полкальцинам, nsLTP. Для изучения частоты выявления IgE-аТ к парвальбуминам были использованы 440 сывороток пациентов (из них 211 мужчины (48%) и 229 женщины (52%)) в возрасте от 7 до 52 лет с аллергопатологией. Все пациенты были с диагнозами «атопический дерматит» и/или «аллергический ринит» и/или «бронхиальная астма», «атопический фенотип» и/или «пищевая аллергия». Критерии исключения пациентов из исследования: прием цитостатиков или системных стероидов на момент взятия сыворотки крови. В сыворотках пациентов с использованием диагностикума — аллергочипа ALEX<sup>2</sup> (MacroArrayDX, Вена, Австрия), выявляли IgE — аТ к 300 аллергенам (120 экстрактов и 180 молекул), а также общие IgE-аТ.

Работа одобрена Локальным советом по этике при ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова. Выписка из протокола № 8 от 22 ноября 2022 г.

Статистическую обработку количественных данных выполняли с помощью статистических формул программы Microsoft Office Excel 2010 и Statistica 6.0.

## Результаты и обсуждение

В сыворотках крови 556 пациентов были изучены IgE-аТ к профилинам, полкальцинам и неспецифическим белкам переноса липидов (nsLTP). Была изучена частота выявления IgE-аТ к 6 молекулам профилинов растительного происхождения: Bet v 2 (береза), Cuc m 2 (мускусная дыня), Nev b 8 (латекс), Mer a 1 (пролесник многолетний), Phl p 12 (timoфеевка), Pho d 2 (финиковая пальма). Частота выявления IgE-аТ к профилинам у обследованных пациентов невысока и варьирует от 5% до 7% (рис. 1). При этом практически у всех пациентов есть IgE-аТ как к Bet v 1 (гомолог PR-10), так и другим профилинам. При анализе профиля сенсibilизации к профилинам у пациентов только с сенсibilизацией к пыльце,

частота выявления IgE-аТ к профилинам была выше и варьировала от 11% до 17%.

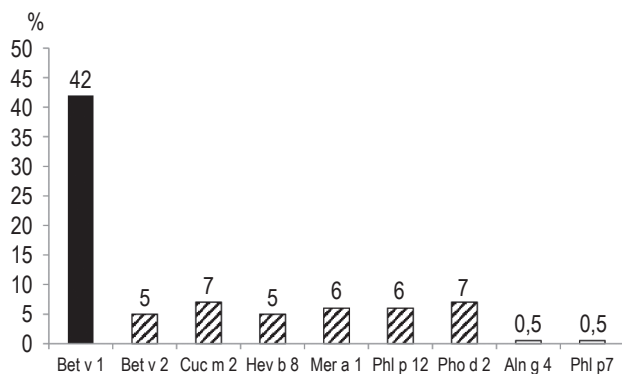
Были изучены IgE-аТ к 2 молекулам полкальцинов растительного происхождения — Aln g 4 (ольха) и Phl p 7 (timoфеевка). Частота выявления IgE-аТ к полкальцинам у обследованных пациентов невысока — всего 0,5% (n = 556) (рис. 1). При анализе больных только с сенсibilизацией к пыльце (n = 235), частота выявления IgE-аТ к полкальцинам не превышала 1,3%, что ниже, чем в северной и центральной Европе [5, 8]. Наиболее часто выявляли IgE-аТ к Bet v 1 (гомологу PR-10) мажорному, клинически значимому аллергену пыльцы березы — у 42% пациентов. Это сопоставимо с профилем сенсibilизации пациентов с аллергией на пыльцу деревьев в некоторых странах, в первую очередь в странах северной и центральной Европы [5].

Таким образом, географической особенностью профиля сенсibilизации пациентов средней полосы России к профилинам являются невысокая частота выявления IgE-аТ к ним (5-7%). При этом практически у всех пациентов с IgE-аТ к профилинам есть IgE-аТ как к Bet v 1 (PR-10), так и профилинам других растений. В этой связи можно рассматривать Bet v 1 в качестве первичного сенсibilизатора.

Были изучены IgE-аТ к 12 молекулам nsLTP: Act d 10 (киви), Api g 2, 6 (сельдерей), Ara h 9 (арахис), Art v 3 (полынь), Cor a 8 (фундук), Fra a 1+3 (земляника), Jug r 3 (грецкий орех), Pru p 3 (персик), Mal d 3 (яблоко), Sola l 6 (томаты), Vit v 1 (грейпфруты). Частота выявления IgE-аТ к молекулам nsLTP невысока и варьирует от 0,2% до 3% (рис. 2). Наиболее часто в 33% сывороток регистрировали IgE-аТ к молекуле земляники (Fra a 1+3). Однако это, по сути, две объединенные молекулы. Fra a 1 — это гомолог Bet v 1 (PR-10) и только Fra a 3 — nsLTP. В этой связи основной IgE-ответ идет, по-видимому, на Fra a 1 гомолог Bet v 1.

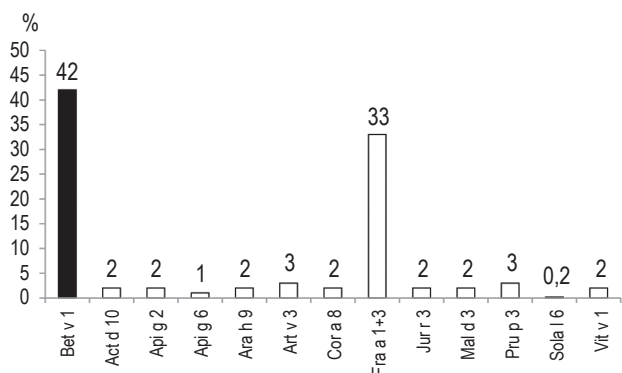
Таким образом, особенностью IgE-ответа наших пациентов является низкая частота выявления nsLTP-антител. При этом ни nsLTP персика, ни даже яблок, которые часто едят в средней полосе России не провоцируют развитие nsLTP-синдрома. Наиболее часто пациенты реагируют на PR-10 пыльцы березы (Bet v 1), который и в этих случаях также можно рассматривать, как первичный сенсibilизатор.

Из 440 сывороток в 48 (11%) были выявлены IgE-аТ против парвальбуминов. Всего в исследовании было использовано 7 молекул парвальбуминов: из сельди (*Clupea harengus*) — Clu h 1, карпа (*Cyprinus carpio*) — Cyp c 1, атлантической трески (*Gadus morhua*) — Gad m 1, лосося (*Salmo salar*) — Sal s 1, атлантической макрели (*Scomber*



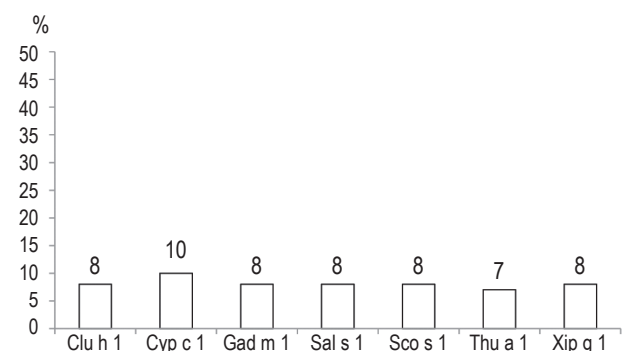
**Рисунок 1.** Частота выявления (%) IgE-aT к PR-10 (Bet v 1), профилинам (Bet v 2, Cuc m 2, Hev b 8, Mer a 1, Phl p 12, Pho d 2) и полкальцинам (Aln g 4, Phl p 7) у пациентов с респираторной аллергией (n = 556)

Figure 1. Frequency (%) of IgE-aT to PR-10 (Bet v 1), profilins (Bet v 2, Cuc m 2, Hev b 8, Mer a 1, Phl p 12, Pho d 2) and polcalcins (Aln g 4, Phl p 7) in patients with respiratory allergies (n = 556)



**Рисунок 2.** Частота выявления (%) IgE-aT к PR-10 (Bet v 1) и nsLTP у пациентов с респираторной аллергией (n = 556)

Figure 2. Frequency (%) of IgE-aT to PR-10 (Bet v 1) and nsLTP in patients with respiratory allergies (n = 556)



**Рисунок 3.** Частота выявления (%) IgE-aT к парвальбуминам у пациентов с респираторной аллергией (n = 440)

Figure 3. Frequency (%) of IgE-aT to parvalbumins in patients with respiratory allergies (n = 440)

*scombrus*) – Sco s 1, тунца (*Thunnus albacares*) – Thu a 1, рыбы-меч (*Xiphias gladius*) – Xip g 1.

Частота выявления IgE-aT к парвальбуминам в сыворотках всех пациентов с аллергическими реакциями не высока и составляет 7-10% (рис. 3). Тогда как частота выявления IgE-aT к парвальбуминам в сыворотках пациентов с аллергией на рыбу очень высока и достигает 63-90%. Как правило, выявляют IgE-aT сразу ко всем молекулам, т. е. к парвальбуминам всех исследуемых видов рыб. Концентрация IgE-aT к парвальбуминам варьирует от 0,3 kU<sub>A</sub>/L до 49,13 kU<sub>A</sub>/L. При этом у 44% пациентов (21 из 48) выявляют очень высокие концентрации IgE-aT к парвальбуминам – больше 15 kU<sub>A</sub>/L.

Профилины, полкальцины, парвальбумины и nsLTP-белки, паналлергены, ответственные за перекрестную реактивность. Клиническое значение сенсibilизации к молекулам nsLTP и парвальбуминам связано с тем, что могут развиваться тяжелые, генерализованные состояния, например, nsLTP-синдром [5, 8, 9]. Однако в настоящее время пересматривают значение сенсibilизации к профилинам и полкальцинам, которую ранее считали не имеющей большого клинического значения. Поступает все больше сведений о тяжелых, системных аллергических реакциях на эти белки [1, 9]. Однако особенность сенсibilизации к этим белкам зависит от разных факторов, в том числе и климато-географических, социально-экономических и т.д. [1, 7].

Профилины отвечают за перекрестную реактивность между пылью, латексом и растительной пищей [5]. В первую очередь сенсibilизация к профилинам ассоциируется с аллергией на пыльцу трав и на плоды растений семейства тыквенных (огурцы, тыквы, цукини, дыни, арбузы и т. д. Ранее его не считали клинически значимым аллергеном. Современные данные меняют эту ситуацию и убедительно подтверждают необходимость пересмотра ранее принятой парадигмы в отношении профилинов [10]. Полученные данные свидетельствуют о том, что в ряде случаев сенсibilизация к профилинам может проявиться в виде системных, жизнеугрожающих аллергических реакций. Профилины способны вызывать IgE-реакцию у 10-60% пациентов с аллергией на пыльцу [8]. Как правило, сенсibilизация к профилинам следует за сенсibilизацией к первичному, основному аллергенному компоненту пыльцы, часто это аллергены пыльцы трав. Однако, в зависимости от географических регионов, аллергены пыльцы березы могут действовать как первичные сенсibilизаторы [10]. В средней полосе России первичным сенсibilизатором также являются аллергены березы, в первую очередь Bet v 1.



Роль профилинов как пищевого аллергена долгое время недооценивали. В настоящее время до 50% пациентов с пищевой аллергией на растительную пищу имеют сенсibilизацию к профилинам [5, 8]. Так, например, в северо-западных регионах Испании, где частота выявления IgE-аТ к аллергенам пыльцы трав достигает 76% и выше, сенсibilизация к профилинам также высока – до 50% [1]. У пациентов в средней полосе России частота выявления IgE-аТ к профилинам, в том числе и березы (Bet v 2) невысока и варьирует от 5% до 7%. Тогда как частота выявления IgE-аТ к Bet v 1 достигает 42%.

Полкальцины – это белки, которые присутствуют только в пыльце деревьев и трав, но не фруктах и овощах, т. е. не связаны с пищевой аллергией в отличие от профилинов и nsLTP [5, 8]. Одним из наиболее клинически значимых полкальцинов является Phl p 7 из *Phleum pratense* (timoфеевка). Полкальцины, как и профилины, в некоторых регионах считаются второстепенными аллергенами. Частота выявления сенсibilизации к полкальцинам варьирует в разных странах от 5% до 46% [5, 8]. В нашем исследовании частота выявления пациентов с IgE-аТ к полкальцинам не превышала 0,5%. Сенсibilизация к полкальцинам в настоящее время рассматривают как маркер более длительной, медленной сенсibilизации и более тяжелого течения аллергических заболеваний.

nsLTP – неспецифические белки переноса липидов присутствуют в яблоках, персиках, абрикосах, вишне, сливе, груше, малине, клубнике и шелковице и т. д. Они являются клинически значимыми аллергенами и в основном находятся во внешних тканях, коже фруктов. Клиническое значение nsLTP связано с тем, что эти молекулы являются как пыльцевыми, так пищевыми аллергенами и провоцируют тяжелые, генерализованные состояния – nsLTP-синдром [8, 9]. Специфическим аспектом синдрома nsLTP является выраженные географические особенности в сенсibilизации. Тяжелые клинические проявления, вызванные IgE-аТ к nsLTP, обычно выявляют у пациентов, проживающих в регионах Средиземного моря. В центральной и северной Европе, как и средней полосе России, наиболее часто регистрируют легкие клинические проявления синдрома оральной аллергии, которые связаны с IgE-аТ на пыльцу березы (Bet v 1 и Bet v 2). Частота выявления IgE-аТ к nsLTP у наших пациентов была невысока и варьировала от 0,2% до 3,0%.

В разных странах распространенность пищевой аллергии на различные виды рыб варьирует от 10% до 40% среди пациентов с пищевой аллергией [5, 8]. Парвальбумин – мажорный аллерген рыб, обладающий высокой аллергенностью.

IgE-аТ на парвальбумины выявляют у 90-95% пациентов с аллергией на рыбу [5, 8]. Однако у разных видов рыб аллергенность парвальбуминов различна [11]. Парвальбумины содержатся в мускульной ткани и кожных покровах рыб и являются паналлергенами, ответственными за перекрестную реактивность между различными видами. В Международной номенклатуре аллергенов (Allergen Nomenclature) [12] представлены 22 молекулы парвальбуминов из 20 видов рыб. Эти белки устойчивы к действию высоких температур и пищеварительных ферментов. Однако аллергические реакции вызывают и термически обработанная рыба. Зачастую парвальбумины провоцируют не только оральный аллергический синдром, но и более тяжелые (в том числе системные) аллергические реакции, вплоть до анафилаксии [7]. В многочисленных исследованиях, проведенных в различных странах, было продемонстрировано, что сенсibilизация к одному и тому же пищевому продукту, в том числе и парвальбуминам рыб, в различных странах имеют различные клинические проявления [5, 8]. Безусловно, в основе этого феномена лежит как генетическая предрасположенность к развитию того или иного типа ответа на аллерген, так и социальные, экологические, культурные и экономические факторы [11]. Так, особенностями сенсibilизации у наших пациентов были невысокая частота выявления аллергии на рыбу (11%), в том числе и на парвальбумины, которая составляла 7-10%. При этом частота выявления IgE-аТ к парвальбуминам среди пациентов с аллергией на рыбу была очень высока и достигала 63-90%, что сопоставимо с данными других исследователей [5, 8]. Почти у половины пациентов с аллергией на рыбу (44%) выявляют очень высокие концентрации IgE-аТ к парвальбуминам.

## Заключение

Таким образом, характер сенсibilизации к профилинам, полкальцинам, nsLTP и парвальбуминам у пациентов, проживающих в средней полосе России имеет свои особенности. Одним из первичных сенсibilизаторов у пациентов с сенсibilизацией на пыльцу ветроопыляемых деревьев является Bet v 1 (гомолог PR-10), IgE-аТ к которому выявляли у 42% пациентов. Частота выявления сенсibilизации к различным молекулам паналлергенов была невысока и составляла: к профилинам – 5-7%, полкальцинам – 0,5%, nsLTP – 0,2-3%, и парвальбуминам – 7-10%.

## Список литературы / References

1. Alvarado M.I., Jimeno L., de la Torre F., Boissy P., Rivas B., Lázaro M.J., Barber D. Profilin as a severe food allergen in allergic patients overexposed to grass pollen. *Allergy*, 2014., Vol. 69, pp. 1610-1616.
2. Ansotegui I.J., Melioli G., Canonica G.W., Gómezd R.M., Jensen-Jarolime E., Motohiro Ebisawaf M., Luengog O., Caraballo L., Passalacqua G., Poulsen L.K., Eleonora Savik E., Zuberbierl T., Villam E., Oppenheimern J. WAO – ARIA – GA2LEN consensus document on molecular-based allergy diagnosis (PAMD@): Update 2020. *World Allergy Organ J.*, 2020, Vol. 13, no 2, 100091. doi: 10.1016/j.waojou.2019.100091.
3. Canonica G.W., Ansotegui I.J., Pawankar R., Schmid-Grendelmeier P., van Hage M., Baena-Cagnani C.T., Melioli G., Nunes C., Passalacqua G., Rosenwasser L., Sampson H., Sastre J., Bousquet J., Zuberbier T.A. WAO-ARIA-GA(2)LEN consensus document on molecular-based allergy diagnostics. *World Allergy Organ J.*, 2013, no. 6, pp. 1-16.
4. del Río R., Díaz-Perales A., Sánchez-García S., Escudero C., Ibáñez M.D., Méndez-Brea P., Barber D. Profilin, a change in the paradigm. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, 2018, Vol. 28, pp. 1-12.
5. Dramburg S., Hilger C., Santos A.F., de Las Vecillas L., Aalberse R.C., Acevedo N., Aglas L., Altmann F., Arruda K.L., Asero R., Ballmer-Weber B., Barber D., Beyer K., Biedermann T., Bilo M.B. Molecular Allergology User's Guide 2.0. *Pediatr. Allergy Immunol.*, Vol. 34, Suppl 28, e13854. doi: 10.1111/pai.13854.
6. Larenas-Linnemann D., Michels A., Dinger H., Dinger H., Shah-Hosseini K., Mösges R., Arias-Cruz A., Ambriz-Moreno M., Bedolla Barajas M., Cerino Javier R., de la Luz Cid Del Prado M., Cruz Moreno Manuel A. Allergen sensitization linked to climate and age, not to intermittent-persistent rhinitis in a cross-sectional cohort study in the (sub)tropics. *Clin. Transl. Allergy*, 2014, no 4, pp. 1-20.
7. Liang J., Taylor S., Lopata B.J., Andreas L., Lee N.A. Effects of thermal treatment on the immunoreactivity and quantification of parvalbumin from Southern hemisphere fish species with two anti-parvalbumin antibodies. *Food Control*, 2020, Vol. 121, no. 15, 107675. doi: 10.1016/j.foodcont.2020.107675.
8. Matricardi P.M., Kleine-Tebbe J., Hoffmann H.J., 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. EAACI Molecular Allergology User's Guide. *Pediatr. Allergy Immunol.*, 2016, Vol. 27, no. 23, pp. 1-250.
9. Ridolo E., Pucciarini F., Kihlgren P., Barone A., Nicoletta F., Peveri S., Montagni M., Incorvaia C. Lipid transfer protein syndrome: How to save a life through careful education. *World Allergy Organ J.*, 2022, Vol. 15, 100683. doi: 10.1016/j.waojou.2022.100683.
10. Villalta D., Asero R. Analysis of the allergenic profile of patients hypersensitive to pollen pan-allergens living in two distinct areas of Northern Italy. *Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol.*, 2011, Vol. 43, pp. 54-57.
11. Wai C.Y.Y., Leung N.Y.H., Leung A.S.Y., Wong G.W.K., Leung T.F. Seafood Allergy in Asia: Geographical Specificity and Beyond. *Front. Allergy*, 2021, no. 2, 676903. doi: 10.3389/falgy.2021.676903.
12. WHO/IUIS Allergen Nomenclature Home Page [Internet]. [cited 2023]. Available at: www.allergen.org.

### Авторы:

**Желтикова Т.М.** — д.б.н., ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией аллергодиагностики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

**Ахапкина И.Г.** — к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории аллергодиагностики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

**Антропова А.Б.** — к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории аллергодиагностики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

**Конищева А.Ю.** — к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории аллергодиагностики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

**Мазурина С.А.** — к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории аллергодиагностики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

**Мокроносова М.А.** — д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории аллергодиагностики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

### Authors:

**Zheltikova T.M.**, PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Head, Allergy Diagnostics Laboratory, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

**Akhapkina I.G.**, PhD (Biology), Leading Research Associate, Allergy Diagnostics Laboratory, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

**Antropova A.B.**, PhD (Biology), Leading Research Associate, Allergy Diagnostics Laboratory, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

**Konishcheva A.Yu.**, PhD (Medicine), Leading Research Associate, Allergy Diagnostics Laboratory, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

**Mazurina S.A.**, PhD (Biology), Leading Research Associate, Allergy Diagnostics Laboratory, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

**Mokronosova M.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Leading Research Associate, Allergy Diagnostics Laboratory, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Поступила 18.03.2024

Отправлена на доработку 19.03.2024

Принята к печати 02.04.2024

Received 18.03.2024

Revision received 19.03.2024

Accepted 02.04.2024

## КОРРЕЛЯЦИЯ ЧАСТОТЫ АТОПИЧЕСКОЙ КОМОРБИДНОСТИ С ЛАБОРАТОРНЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ РИНИТЕ

Кухарев Я.В.<sup>1</sup>, Климов А.В.<sup>1</sup>, Климов В.В.<sup>1</sup>, Щербик Н.В.<sup>1</sup>,  
Шкатова А.Н.<sup>2</sup>, Слёзкин М.И.<sup>1</sup>, Хусейнова К.Д.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> ОГАУЗ «Межвузовская поликлиника», г. Томск, Россия

**Резюме.** Одной из актуальных проблем в аллергологии и оториноларингологии является исследование сопутствующих болезней при аллергическом рините, который представляет собой самую распространенную патологию среди всех atopических заболеваний. Два десятилетия назад был идентифицирован новый эндотип болезни — локальный аллергический ринит. В прошлом пациенты с типичными жалобами на хроническую заложенность носа, постоянный насморк, другими подобными симптомами, но с отсутствием таких характерных диагностических критериев, как положительные кожные аллергопробы и повышение общего IgE и специфических антител этого класса в крови квалифицировались врачами — аллергологами-иммунологами и оториноларингологами как больные неаллергическим ринитом и, соответственно, не получали адекватного лечения. Однако симптомы у данных пациентов сохранялись, что в результате побуждало их к злоупотреблению деконгестантами и оборачивалось повышенной нагрузкой на сердечно-сосудистую систему. Это, наряду с отягощенностью сопутствующей патологией, включая другие atopии, можно рассматривать как значительную медико-социальную проблему. С целью выявления связи коморбидности с лабораторными биомаркерами обследовано 46 больных аллергическим ринитом и другими atopиями. В работе изучались как рутинные показатели (общий IgE и эозинофильный катионный белок крови), так и редко исследуемый IL-4 экссудата «кожного окна». Клинический анализ показал, что достоверно чаще аллергический ринит у пациентов сочетался с бронхиальной астмой (в 39,1%,  $p < 0,05$ ), реже с пищевой аллергией (в 19,6%), atopическим дерматитом (в 10,9%), инсектной аллергией (в 8,7%) и аллергической крапивницей (в 4,5%). В одном случае был выявлен локальный круглогодичный ринит, которому сопутствовал классический сезонный ринит с высоким содержанием общего IgE в крови и положительными аллергопробами с пылевыми аллергенами. Кожные тесты с бытовыми аллергенами,

### Адрес для переписки:

Климов Владимир Васильевич  
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский  
университет» Министерства здравоохранения РФ  
634041, Россия, г. Томск, ул. Вершинина, 28, кв. 5.  
Тел.: 8 (906) 950-63-35.  
E-mail: vlklimov54@gmail.com

### Address for correspondence:

Vladimir V. Klimov  
Siberian State Medical University  
28 Vershinin St, Apt 5  
Tomsk  
634041 Russian Federation  
Phone: +7 (906) 950-63-35.  
E-mail: vlklimov54@gmail.com

### Образец цитирования:

Я.В. Кухарев, А.В. Климов, В.В. Климов, Н.В. Щербик,  
А.Н. Шкатова, М.И. Слёзкин, К.Д. Хусейнова  
«Корреляция частоты atopической коморбидности  
с лабораторными показателями при аллергическом  
рините» // Российский иммунологический журнал,  
2024. Т. 27, № 4. С. 913-918.  
doi: 10.46235/1028-7221-16911-RCB

© Кухарев Я.В. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

### For citation:

Ya.V. Kukharev, A.V. Klimov, V.V. Klimov, N.V. Tcherbik,  
A.N. Shkatova, M.I. Slezkin, K.D. Huseinova "Rank  
correlation between atopical comorbidity and laboratory  
parameters in allergic rhinitis", Russian Journal  
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024,  
Vol. 27, no. 4, pp. 913-918.  
doi: 10.46235/1028-7221-16911-RCB

© Kukharev Ya.V. et al., 2024

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16911-RCB

включая продукты домашнего клеща, показали отрицательный результат. Данный случай был расценен как проявление так называемого «двойного» аллергического ринита. При оценке корреляции по Spearman выявлена обратная связь средней силы между показателями коморбидности и IgE и эозинофильного катионного белка крови ( $p < 0,05$ ). Парадоксальный на первый взгляд результат может быть интерпретирован вполне логично, принимая во внимание иммунопатогенетические механизмы аллергического воспаления. В частности, с повышением частоты атопической коморбидности усиливается миграция эозинофилов из крови на сайты эозинофильного воспаления.

*Ключевые слова: аллергический ринит, коморбидность, корреляция, IgE, эозинофильный катионный белок, IL-4*

## RANK CORRELATION BETWEEN ATOPIC COMORBIDITY AND LABORATORY PARAMETERS IN ALLERGIC RHINITIS

Kukharev Ya.V.<sup>a</sup>, Klimov A.V.<sup>a</sup>, Klimov V.V.<sup>a</sup>, Tcherbik N.V.<sup>a</sup>, Shkatova A.N.<sup>b</sup>, Slezkin M.I.<sup>a</sup>, Huseinova K.D.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

<sup>b</sup> Student Polyclinic, Tomsk, Russian Federation

**Abstract.** One of the current cutting-edge problems in allergy and ENT is the study of comorbidity in allergic rhinitis, which is the most common atopic disease among all other atopies. Two decades ago, a new endotype of the disease, local allergic rhinitis, was discovered. In the past, some patients with typical complaints of chronic nasal congestion, persistent runny nose, and other similar symptoms, did not display such characteristic diagnostic criteria as positive allergy skin tests and an increased value of serum total IgE and specific IgE antibodies. They were qualified by allergists and ENT specialists as individualists with non-allergic rhinitis and, accordingly, did not receive adequate treatment. However, their symptoms remained, prompting them to abuse decongestants and resulting in an increased burden on the cardiovascular system. This, along with the burden of concomitant pathology, including other atopies, can be considered a significant medical and social problem. With the purpose to study rank correlation between comorbidity and three laboratory biomarkers, 46 patients with allergic rhinitis were examined. The list of parameters included two routine items such as serum total IgE and eosinophilic cationic protein, and rarely studied IL-4 in skin exudate. Clinical analysis showed that significantly more often allergic rhinitis in patients was combined with bronchial asthma (in 39.1%,  $p < 0.05$ ), less often with food allergy (in 19.6%), atopic dermatitis (in 10.9%), insect allergy (in 8.7%), and allergic urticaria (in 4.5%). In one case, local perennial rhinitis was identified, accompanied by conventional seasonal rhinitis with a high content of serum total IgE and positive allergic skin tests with pollen allergens. Skin tests with household allergens, including house dust mite products, showed a negative result. This case was regarded as a manifestation of the so-called “double” allergic rhinitis. The Spearman correlation demonstrated a negative mean strength relationship between comorbidity and serum IgE and eosinophilic cationic protein ( $p < 0.05$ ). The seemingly paradoxical result can be interpreted quite logically, taking into account immunopathogenetic mechanisms of allergic inflammation. In particular, with an increase in the frequency of atopic comorbidity, the migration of eosinophils from the blood to sites of eosinophilic inflammation increases.

*Keywords: allergic rhinitis, comorbidity, correlation, IgE, eosinophilic cationic protein, IL-4*

### Введение

Аллергический ринит является наиболее распространенной атопической патологией, которая за счет хронических клинических проявлений, таких как назальная обструкция, не только снижает качество жизни пациентов, но и мотивирует

их на отход от рекомендуемой базисной терапии. Злоупотребление деконгестантами создает определенную нагрузку на сердечно-сосудистую систему и является серьезной медико-социальной проблемой. Нередко аллергический ринит протекает в сочетании с другими атопиями, и такая



коморбидность становится еще одной проблемой для пациента [1, 10]. Современным трендом в исследованиях по коморбидности при данной патологии является поиск чувствительных и специфических биомаркеров, которые могли бы прогнозировать течение аллергического ринита, включая развитие осложнений и исходы [3, 5].

Целью настоящей работы было исследование корреляции между показателями частоты атопической коморбидности у больных с аллергическим ринитом и двумя рутинными лабораторными параметрами: содержанием общего IgE и эозинофильного катионного белка в крови, а также одного редко определяемого показателя – концентрации IL-4 в эксудате «кожного окна».

## Материалы и методы

Обследовано 46 больных аллергическим ринитом в возрасте 18-60 лет (в среднем  $35,6 \pm 9,7$ ), из них было 30 женщин (65,2%) и 16 мужчин (34,8%). Среди фенотипов болезни преобладала круглогодичная форма (у 32 – в 70,0%), реже наблюдалась сезонная (у 10 в 21,7%), а у 4 человек (8,3%) диагностирована комбинированная форма. Локальный эндотип заболевания был у 8 (17,4%) пациентов, классический, соответственно, у 38 (82,6%). Среди больных с локальным аллергическим ринитом у одного пациента диагностирован «двойной» ринит – своеобразная недавно описанная форма болезни [4], при которой у одного человека классический сезонный аллергический ринит может сочетаться с локальным круглогодичным.

При изучении сопутствующих атопических болезней установлено, что у пациентов с аллергическим ринитом бронхиальная астма наблюдалась у 18 (39,1%), пищевая аллергия у 9 (19,6%), атопический дерматит у 5 (10,9%), инсектная аллергия у 4 (8,7%), аллергическая крапивница у двух (4,5%). Показатель частоты бронхиальной астмы как сопутствующего атопического заболевания достоверно отличался от остальных показателей коморбидности ( $p < 0,05$ ). Для количественной оценки корреляции нами была использована балльная оценка частоты коморбидности: 0 баллов – нет сопутствующих атопий, 1 балл – наличие одной сопутствующей атопической болезни, 2 балла – наличие двух атопий, 3 балла – трех атопий, 4 балла – четырех атопий. При подсчете у 6 больных оказался один балл (13,0%), у других 6 – два балла (13,0%), у 4 – три балла (8,7%), у 2 – четыре балла (4,5%); ноль баллов было у 4 пациентов (8,7%).

В качестве лабораторных биомаркеров при аллергическом рините в сочетании с другими атопиями были выбраны общий IgE, эозинофильный катионный белок (ЕСР) крови и IL-4 кожного эксудата. Всего было обследовано 22 пациента. Определение концентрации общего IgE в крови проводилось методом твердофазного иммуноферментного анализа. Содержание ЕСР оценивалось на основе иммунохемилюминесцентного исследования.

Для получения бесклеточного кожного эксудата, в котором определялось содержание IL-4, использовалась технология «кожного окна» [7]. Такой выбор среды для исследования IL-4 был обусловлен тем, что кожа является местом проведения кожных аллергопроб, дающих представление о системной атопии [8]. На передней поверхности предплечья левой руки выбирали участок диаметром 0,5 см, обрабатывали его 70%-ным раствором этилового спирта; с помощью скальпеля скребущими движениями удаляли поверхностный слой эпидермиса до появления розоватого оттенка отделяемого. Следует подчеркнуть, что этот процесс требует большой осторожности, поскольку шиповатый и базальный слои эпидермиса должны оставаться интактными. На указанный участок кожи устанавливали камеру с 0,9%-ным раствором натрия хлорида и фиксировали гипоаллергенным пластырем. Камеру выдерживали в течение 6 часов, предупредив пациента о необходимости сохранять ее в нетронутом состоянии. Через 6 часов камера снималась, и ее содержимое собиралось в пробирку. Супернатант, полученный путем центрифугирования, служил биологической средой для исследования IL-4. Стандартизация по белку проводилась микробактериальным методом.

Результаты лабораторных показателей, а также баллы коморбидности у случайно выбранных 22 пациентов из 46 были подвергнуты методам описательной статистики с предварительной верификацией формы распределения путем расчета коэффициентов асимметрии и эксцесса. Параметры коморбидности варьировали по закону распределения, близкому к нормальному, однако остальные показали принадлежность к распределению, отличающемуся от нормального. Были использованы непараметрические статистические методы, в частности ранговый корреляционный анализ по Spearman.

## Результаты и обсуждение

Полученные данные описательной статистики представлены в таблице 1.

**ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ ОПИСАТЕЛЬНОЙ СТАТИСТИКИ ЧАСТОТЫ КОМОРБИДНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, IgE И ECP В КРОВИ И IL-4 В КОЖНОМ ЭКССУДАТЕ ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ РИНИТЕ (n = 22)**

TABLE 1. DESCRIPTIVE STATISTICS OF COMORBIDITY, SERUM IgE AND ECP, AND SKIN EXUDATE IL-4 IN ALLERGIC RHINITIS (n = 22)

Показатели Parameters	asym	kur	M	SD	m	Me	Q1	Q3	Min	Max
Коморбидность, баллы Comorbidity, points	0,22	2,03	1,73	1,24	0,26	2	1	3	0	4
IgE, IU/mL	1,35	4,98	301,7	158,3	33,8	254	202	368	50	785
ECP, ng/mL	1,19	5,03	34,7	12,4	2,6	34	28	40	17	73
IL-4, pg/mL	1,51	5,40	0,31	0,17	0,04	0,27	0,2	0,35	0,09	0,85

Примечание. asym – коэффициент асимметрии, kur – коэффициент эксцесса, M – среднее арифметическое значение, SD – стандартное отклонение, m – ошибка среднего арифметического значения, Me – медиана, Q1 – первый квартиль, Q3 – третий квартиль, Min – минимальное значение, Max – максимальное значение.

Note. asym, asymmetry coefficient; kur, kurtosis coefficient; M, mean; SD, standard deviation; m, mean's standard error; Me, median; Q1, the first quartile; Q3, the third quartile; Min, minimal value; Max, maximal value.

**ТАБЛИЦА 2. КОРРЕЛЯЦИЯ (ρ) ПОКАЗАТЕЛЕЙ КОМОРБИДНОСТИ, СОДЕРЖАНИЯ IgE, ECP В КРОВИ И IL-4 В КОЖНОМ ЭКССУДАТЕ ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ РИНИТЕ (n = 22)**

TABLE 2. RANK CORRELATION (ρ) BETWEEN COMORBIDITY, SERUM IgE AND ECP VALUES, AND SKIN EXUDATE IL-4 IN ALLERGIC RHINITIS (n = 22)

Показатели, ρ Parameters, ρ	IgE, IU/mL	ECP, ng/mL	IL-4, pg/mL
Коморбидность, баллы Comorbidity, points	-0,36 p < 0,05	-0,37 p < 0,05	-0,07 p > 0,05
IgE, IU/mL		0,15 p > 0,05	0,18 p > 0,05
ECP, ng/mL	0,15 p > 0,05		0,19 p > 0,05
IL-4, pg/mL	0,18 p > 0,05	0,19 p > 0,05	

Примечание. ρ – коэффициент корреляции по Spearman.

Note. ρ, Spearman's rank correlation coefficient.

Результаты анализа корреляции отражены в таблице 2 и рисунках 1 и 2.

Как видно из таблицы 2 и рисунков 1 и 2, выявлено только две достоверные обратные корреляции средней силы: коморбидности с IgE ( $\rho = -0,36$ ) и коморбидности с ECP ( $\rho = -0,37$ ). Линия регрессии на обоих графиках подчеркивает обратный характер связи. На первый взгляд это представляется парадоксальным. Однако если принять во внимание цитофильный характер IgE [7], вовлеченность большого количества органов-мишеней по мере нарастания количе-

ства сопутствующих атопий с повышенной миграцией эозинофилов на сайт эозинофильного воспаления, то подобная направленность корреляции может быть объяснена вполне логично.

Кроме того, в барьерных органах людей, имеющих наиболее выраженный характер атопической конституции, где, как правило, манифестирует аллергическое воспаление, создается особое микроокружение, привлекающее эффекторы воспаления из других тканей организма [8], в том числе из кровеносного русла. Это IgE-продуцирующие плазматические клетки, эози-

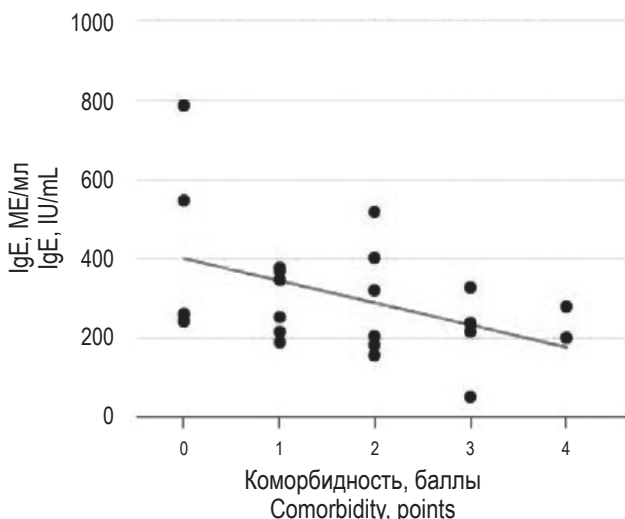


Рисунок 1. Корреляция коморбидности с IgE

Примечание. При проведении рангового корреляционного анализа по Spearman обнаружена обратная связь средней силы ( $\rho = -0,36$ ,  $p < 0,05$ ) частоты коморбидных заболеваний и содержания IgE в крови.

Figure 1. Correlation of comorbidity with IgE value

Note. The Spearman rank correlation analysis revealed a negative moderate correlation ( $\rho = -0,36$ ,  $p < 0,05$ ) between comorbid condition frequency and serum IgE value.

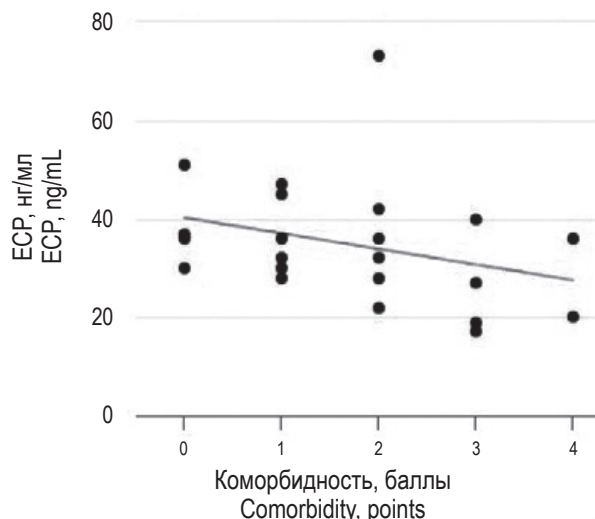


Рисунок 2. Корреляция коморбидности с ECP

Примечание. Также найдена обратная корреляция средней силы ( $\rho = -0,37$ ,  $p < 0,05$ ) частоты сопутствующих атопий с содержанием ECP\* в крови. \* – ECP – эозинофильный катионный белок.

Figure 2. Correlation of comorbidity with ECP content

Note. Also, a negative moderate correlation ( $\rho = -0,37$ ,  $p < 0,05$ ) was found between comorbid atopy frequency and serum ECP\* concentration. \*, ECP, eosinophilic cationic protein.

нофилы, IL-5, хемокины; важную роль играет экспрессия рецепторов хемокинов [2, 6]. Среди хемокинов доминирует CCL11 (Eotaxin-1), который, наряду со стимуляцией миграции эозинофилов, способствует их высвобождению из костного мозга. Большое значение имеют также CCL24 (Eotaxin-2) и CCL26 (Eotaxin-3).

## Заключение

Исследование коморбидности при аллергическом рините привлекает все больше внимания аллергологических и оториноларингологических сообществ и становится трендом среди современных научных работ.

## Список литературы / References

1. Bousquet J., Melen E., Haahtela T., Koppelman G.H., Togias A., Valenta R., Akdis C.A., Czarlewski W., Rothenberg M., Valiulis A., Wickman M., Akdis M., Aguilar D., Bedbrook A., Bindslev-Jensen C., Bosnic-Anticevich S., Boulet L.P., Brightling C.E., Brussino L., Burte E., Bustamante M., Canonica G.W., Cecchi L., Celedon J.C., Loureiro C.C., Costa E., Cruz A.A., Erhola M., Gemiciglu B., Fokkens W.J., Garcia-Aymerich J., Guerra S., Heinrich J., Ivancevich J.C., Keil T., Klimek L., Kuna P., Kupczyk M., Kvedariene V., Larenas-Linnemann D.E., Lemonnier N., Lodrup Carlsen K.C., Louis R., Makela M., Makris M., Maurer M., Momas I., Morais-Almeida M., Mullol J., Naclerio R.N., Nadeau K., Nadif R., Niedoszytko M., Okamoto Y., Ollert M., Papadopoulos N.G., Passalacqua G., Patella V., Pawankar R., Pham-Thi N., Pfaar O., Regateiro F.S., Ring J., Rouadi P.W., Samolinski B., Sastre J., Savoré M., Scichilone N., Shamji M.H., Sheikh A., Siroux V., Sousa-Pinto B., Standl M., Sunyer J., Taborda-Barata L., Toppila-Salmi S., Torres M.J., Tsiligianni I., Valovirta E., Vandenplas O., Ventura M.T., Weiss S., Yorgancioglu A., Zhang L., Abdul Latiff A.H., Aberer W., Agache I., Al-Ahmad M., Alobid I., Ansotegui I.J., Arshad S.H., Asayag E., Barbara C., Baharudin A., Battur L., Bennoor K.S., Berghea E.C., Bergmann K.C., Bernstein D., Bewick M., Blain H., Bonini M., Braido F., Buhl R., Bumbacea R.S., Bush A., Calderon M., Calvo-Gil M., Camargos P., Caraballo L., Cardona V., Carr W., Carreiro-Martins P., Casale T., Cepeda Sarabia A.M., Chandrasekharan R., Charpin D., Chen Y.Z., Cherrez-Ojeda I., Chivato T., Chkhartishvili E., Christoff G., Chu D.K., Cingi C., Correia de Sousa J., Corrigan C., Custovic A., D'Amato G., del Giacco S., de Blay F., Devillier P., Didier A., do Ceu Teixeira M., Dokic D., Douagui H., Doulaptsi M., Durham S., Dykewicz M., Eiwegger T., El-Sayed Z.A., Emuzyte R., Fiocchi A., Fyhrquist N., Gomez R.M., Gotua M., Guzman M.A., Hagemann J., Hamamah S., Halcken S., Halpin D.M.G., Hofmann M., Hossny E., Hrubisko M., Irani C., Ispayeva Z., Jares E., Jartti T., Jassem E., Julge K., Just J., Jutel M., Kaidashev I., Kalayci O., Kalyoncu A.F., Kardas P., Kirenga B., Kraxner H., Kull I., Kulus M., La Grutta S., Lau S., Le Tuyet Thi L., Levin M., Lipworth B., Lourenço O., Mahboub B., Martinez-Infante E., Matricardi P., Miculinic N., Miguères N., Mihaltan F., Mohammad Y., Moniuszko M., Montefort S., Neffen H., Nekam K., Nunes E., Tshipukane D.N., O'Hehir R., Ogulur I., Ohta K.,

Okubo K., Ouedraogo S., Olze H., Pali-Schöll I., Palomares O., Palosuo K., Panaitescu C., Panzner P., Park H.S., Pitsios C., Plavec D., Popov T.A., Puggioni F., Quirce S., Recto M., Repka-Ramirez M.S., Cordeiro C.R., Roche N., Rodriguez-Gonzalez M., Romantowski J., Filho N.R., Rottem M., Sagara H., Serpa F.S., Sayah Z., Scheire S., Schmid-Grendelmeier P., Sisul J.C., Sole D., Soto-Martinez M., Sova M., Šperl A., Spranger O., Stelmach R., Ulrik C.S., Thomas M., To T., Todo-Bom A., Tomazic P.V., Urrutia-Pereira M., Valentin-Rostan M., van Ganse E., van Hage M., Vasankari T., Vichyanond P., Viegi G., Wallace D., Wang D.Y., Williams S., Worm M., Yiallourous P., Yusuf O., Zaitoun F., Zernotti M., Zidarn M., Zuberbier J., Fonseca J.A., Zuberbier T., Anto J.M. Rhinitis associated with asthma is distinct from rhinitis alone: The ARIA-MeDALL hypothesis. *Allergy*, 2023, Vol. 78, no. 5, pp. 1169-1203.

2. Castan L., Magnan A., Bouchaud G. Chemokine receptors in allergic diseases. *Allergy*, 2017, Vol. 72, pp. 682-690.

3. Cingi C., Gevaert P., Mösges R., Rondon C., Hox V., Rudenko M., Muluk N.B., Scadding G., Manole F., Hupin C., Fokkens W.J., Akdis C., Bachert C., Demoly P., Mullol J., Muraro A., Papadopoulos N., Pawankar R., Rombaux P., Toskala E., Kalogjera L., Prokopakis E., Hellings P.W., Bousquet J. Multi-morbidities of allergic rhinitis in adults: european academy of allergy and clinical immunology task force report. *Clin. Transl. Allergy*, 2017, Vol. 7, 17. doi: 10.1186/s13601-017-0153-z.

4. Eguiluz-Gracia I., Fernandez-Santamaria R., Testera-Montes A., Ariza A., Campo P., Prieto A., Perez-Sanchez N., Salas M., Mayorga C., Torres M.J., Rondon C. Coexistence of nasal reactivity to allergens with and without IgE sensitization in patients with allergic rhinitis. *Allergy*, 2020, Vol. 75, no. 7, pp. 1689-1698.

5. Espada-Sánchez M., de Santa María R.S., Martín-Astorga M.C., Lebrón-Martín C., Delgado M.J., Eguiluz-Gracia I., Rondón C., Mayorga C., Torres M.J., Aranda C.J., Cañas J.A. Diagnosis and treatment in asthma and allergic rhinitis: past, present, and future. *Appl. Sci.*, 2023, Vol. 13, 1273. doi: 10.3390/app13031273.

6. Griffith J.W., Sokol C.L., Luster A.D. Chemokines and chemokine receptors: positioning cells for host defense and immunity. *Annu. Rev. Immunol.*, 2014, Vol. 32, pp. 659-702.

7. Klimov V.V. From basic to clinical immunology. *Springer*, 2019, pp. 22-226.

8. Larenas-Linnemann D., Luna-Pech J.A., Mesges R. Debates in allergy medicine: allergy skin testing cannot be replaced by molecular diagnosis in the near future. *World Allergy Organ J.*, 2017, Vol. 10, no. 32, pp. 1-7.

9. Ramirez G.A., Yacoub M.-R., Ripa M., Mannina D., Cariddi A., Saporiti N., Ciceri F., Castagna A., Colombo G., Dagna L. Eosinophils from physiology to disease: A comprehensive review. *BioMed. Res. Int.*, 2018, Vol. 2018, 9095275. doi: 10.1155/2018/9095275.

10. Sriprasart T., Saiphoklang N., Kawamatawong T., Boonsawat W., Mitthamsiri W., Chirakalwasan N., Chiewchalernsri C., Athipongarporn A., Kamalaporn H., Kornthatchapong K., Kulpraneet M., Sompornrattanaphan M., Oer-Areemitr N., Rerkpattanapipat T., Silairatana S., Thawanaphong S., Gaensan T., Jirakran K., Poachanukoon O. Allergic rhinitis and other comorbidities associated with asthma control in Thailand. *Front. Med.*, 2024, Vol. 10, 1308390. doi: 10.3389/fmed.2023.1308390.

#### Авторы:

**Кухарев Я.В.** — к.м.н., ассистент кафедры иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

**Климов А.В.** — к.м.н., доцент кафедры иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

**Климов В.В.** — д.м.н., профессор, главный аллерголог-иммунолог Томской области, заведующий кафедрой иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

**Щербик Н.В.** — к.м.н., доцент, заведующая кафедрой оториноларингологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

**Шкатова А.Н.** — к.м.н., заведующая аллергологическим отделением ОГАУЗ «Межвузовская поликлиника», г. Томск, Россия

**Слэзкин М.И.** — научный сотрудник кафедры иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

**Хусейнова К.Д.** — ординатор кафедры иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

#### Authors:

**Kukharev Ya.V.**, PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Immunology and Allergology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

**Klimov A.V.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Immunology and Allergology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

**Klimov V.V.**, PhD, MD (Medicine), Immunology-in-Chief, Tomsk Region, Head, Department of Immunology and Allergology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

**Tcherbik N.V.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Head, Department of Otorhinolaryngology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

**Shkatova A.N.**, PhD (Medicine), Head, Allergy Unit, Student Polyclinic, Tomsk, Russian Federation

**Slezkin M.I.**, Research Associate, Department of Immunology and Allergology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

**Huseinova K.D.**, Postgraduate Student, Department of Immunology and Allergology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Поступила 03.04.2024

Отправлена на доработку 04.04.2024

Принята к печати 23.04.2024

Received 03.04.2024

Revision received 04.04.2024

Accepted 23.04.2024



# РОЛЬ ИММУНОПОСРЕДОВАННОЙ ДИСРЕГУЛЯЦИИ В ПРОГРЕССИРОВАНИИ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ У ВОЕННОСЛУЖАЩИХ В УСЛОВИЯХ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО СТРЕССА

Зайцева Н.С., Сизякина Л.П., Уразмамбетов Р.Т.

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,  
г. Ростов-на-Дону, Россия

**Резюме.** С целью выявления клиничко-иммунологические предикторов прогрессирования аллергопатологии у военнослужащих — участников спецопераций в условиях профессионального стресса обследовано 43 военнослужащих — участников спецопераций разделенных на две группы. 1-ю группу составили офицеры, имеющие аллергопатологию или впервые дебютировавшие симптомы аллергических заболеваний во время или в течение 6 месяцев после участия в спецоперациях (n = 13, средний возраст 36,4±4,5 лет). Во 2-ю группу вошли офицеры — участники спецопераций, не имевшие симптомов аллергических заболеваний (n = 13, средний возраст 36,4±4,5 лет). Проведен анализ жалоб, медицинской документации. Клиническо-лабораторное обследование выполнялось вне обострения соматической патологии. Иммуный статус оценивали по экспрессии CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>, внутриклеточному содержанию FoxP3 в CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T-клетках, гранзима В в CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> и CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> лимфоцитах с использованием соответствующих моноклональных антител (Beckman Coulter, США) и учетом результатов на цитофлюориметре FC 500. Иммунологический мониторинг выполнен до участия в боевых действиях и через 6 месяцев после возвращения. Сопоставительная оценка состояния клеточного и гуморального звена военнослужащих обеих групп сравнения до отъезда в зону с неблагоприятной оперативной обстановкой выявила следующие отличия. В группе военнослужащих с проявлениями аллергии отмечено значительно меньшее количество CD4<sup>+</sup> лимфоцитов, а также регистрировалось значительно меньшее количество CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3 регуляторных лимфоцитов и увеличение количества циркулирующих В-лимфоцитов. При динамическом наблюдении за параметрами клеточного и гуморального иммунного ответа у военнослужащих — участников боевых действий спустя 6 месяцев после возвращения из командировки в зоны с неблагоприятной оперативной обстановкой зарегистрированы однонаправленные изменения иммунного статуса в виде нарушения процессов дифференцировки Т-клеточного звена иммунной системы. В

## Адрес для переписки:

Зайцева Наталья Сергеевна  
ФГБОУ ВО «Ростовский государственный  
медицинский университет»  
344022, Россия, г. Ростов-на-Дону,  
Нахичеванский пер., 29.  
Тел.: 8 (928) 755-07-70; 8 (863) 250-42-00.  
Факс: 8 (863) 201-43-90.  
E-mail: okt@rostgmu.ru

## Address for correspondence:

Natalya S. Zaitseva  
Rostov State Medical University  
29 Nakhichevan Lane  
Rostov-on-Don  
344022 Russian Federation  
Phone: +7 (928) 755-07-70; +7 (863) 250-42-00.  
Fax: +7 (863) 201-43-90.  
E-mail: okt@rostgmu.ru

## Образец цитирования:

Н.С. Зайцева, Л.П. Сизякина, Р.Т. Уразмамбетов  
«Роль иммуноопосредованной дисрегуляции  
в прогрессировании аллергической патологии  
у военнослужащих в условиях профессионального  
стресса» // Российский иммунологический журнал,  
2024. Т. 27, № 4. С. 919-924.  
doi: 10.46235/1028-7221-16728-TRO

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

## For citation:

N.S. Zaitseva, L.P. Sizyakina, R.T. Urazmambetov “The role of immuno-mediated dysregulation in the progression of allergic pathology in military personnel under occupational stress”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 919-924.  
doi: 10.46235/1028-7221-16728-TRO

© Zaitseva N.S. et al., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License  
DOI: 10.46235/1028-7221-16728-TRO

группе военнослужащих, страдавших аллергическими заболеваниями, выявленные изменения сопровождались ослаблением процессов физиологической иммуносупрессии в виде стойкого снижения содержания регуляторных Т-лимфоцитов в динамике наблюдения в течение 6 месяцев.

*Ключевые слова:* стресс, иммунитет, аллергия, Т-регуляторные лимфоциты, военнослужащие, комбатанты

## THE ROLE OF IMMUNO-MEDIATED DYSREGULATION IN THE PROGRESSION OF ALLERGIC PATHOLOGY IN MILITARY PERSONNEL UNDER OCCUPATIONAL STRESS

Zaitseva N.S., Sizyakina L.P., Urazmambetov R.T.

*Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation*

**Abstract.** In order to identify clinical and immunological predictors of the progression of allergopathology in military personnel participating in special operations under conditions of professional stress, 43 military personnel participating in special operations divided into two groups were examined. Group 1 consisted of officers with allergopathology or who first debuted symptoms of allergic diseases during or within 6 months after participating in special operations ( $n = 13$ , average age  $36.4 \pm 4.5$  years). Group 2 included officers participating in special operations who did not have symptoms of allergic diseases ( $n = 13$ , average age  $36.4 \pm 4.5$  years). The analysis of complaints and medical documentation were carried out. Clinical and laboratory examination was performed without exacerbation of somatic pathology. The immune status was assessed by the expression of CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>, intracellular FoxP3 content in CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T cells, granzyme B in CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> and CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> lymphocytes using appropriate monoclonal antibodies (Beckman Coulter) and taking into account the results on the cytofluorometer "FC 500". Immunological monitoring was performed before participation in hostilities and 6 months after return. A comparative assessment of the cellular and humoral state of military personnel of both comparison groups before leaving for an area with an unfavorable operational situation revealed the following differences. In the group of military personnel with allergic manifestations, significantly fewer CD4<sup>+</sup> lymphocytes were noted, as well as significantly fewer CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3 regulatory lymphocytes and an increase in the number of circulating B lymphocytes were recorded. When dynamically monitoring the parameters of the cellular and humoral immune response in military personnel participating in hostilities, 6 months after returning from a business trip to areas with an unfavorable operational situation, unidirectional changes in the immune status were recorded in the form of a violation of the differentiation processes of the T cell link of the immune system. In the group of servicemen suffering from allergic diseases, the revealed changes were accompanied by a weakening of the processes of physiological immunosuppression in the form of a persistent decrease in the content of regulatory T lymphocytes in the dynamics of observation for 6 months.

*Keywords:* stress, immunity, allergies, T regulatory lymphocytes, military personnel, combatants

### Введение

Проблема сохранения здоровья военнослужащих — участников локальных конфликтов, вооруженных столкновений либо полномасштабных боевых действий, является приоритетным направлением современного здравоохранения. При этом речь идет не только о восстановлении после боевых травм, но и о последствиях психоэмоционального стресса [1, 6, 7].

Доказано, что дисрегуляция нейроиммунных гомеостатических механизмов при стрессе при-

водит к превалированию Th2 варианта иммунного ответа с проаллергической воспалительной направленностью [2, 9]. Наличие устойчивой стресс-индуцированной иммунной дисфункции становится основой для соматизации гомеостатической дисрегуляции с формированием нозологического профиля коморбидного больного и ранней инвалидизации [3, 8]. Выявление биологических маркеров расстройств адаптации при стрессе необходимо для совершенствования лечебных и разработки профилактических воздей-

ствий у лиц опасных профессий, к которым относятся участники боевых действий [4, 5].

**Цель** — выявить клинико-иммунологические предикторы прогрессирования аллергопатологии у военнослужащих — участников спецопераций в условиях профессионального стресса.

## Материалы и методы

Обследовано 43 военнослужащих — участников спецопераций (служба в зонах с неблагоприятной оперативной обстановкой продолжительностью 3–6 месяцев в 2017–2019 гг.), разделенных на две группы. 1-ю группу составили офицеры — участники спецопераций, имеющие аллергопатологию или впервые дебютировавшие симптомы аллергических заболеваний во время или в течение 6 месяцев после участия в спецоперациях ( $n = 13$ , средний возраст  $36,4 \pm 4,5$  лет). Во 2-ю группу вошли офицеры — участники спецопераций, не имевшие симптомов аллергических заболеваний ( $n = 30$ , средний возраст  $38,1 \pm 5,2$  лет). Проведен анализ жалоб, медицинской документации, выполнена оценка иммунного статуса. Представлены результаты иммунологического мониторинга, выполненные до участия в боевых действиях и через 6 месяцев после возвращения. Иммунный статус оценивали по экспрессии  $CD3^+$ ,  $CD4^+$ ,  $CD8^+$ ,  $CD16^+$ ,  $CD19^+$ ,  $HLA-DR^+$ , внутриклеточному содержанию FoxP3 в  $CD4^+CD25^+$ Т-клетках, гранзима В в  $CD3^+CD16^+$  и  $CD3^+CD8^+$  лимфоцитах с использованием соответствующих моноклональных антител (Beckman Coulter, США) и учетом результатов на цитофлуориметре FC 500. Клиническое исследование выполнено вне обострения соматической патологии с письменного согласия в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека», «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава России от 19.06.2003 № 266. Количественные значения параметров представлены в виде центральной тенденции медианы (Me) и межквартильного размаха (25-й и 75-й процентиля) и обозначены как Me ( $Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$ ). Анализ изменений медиан в группах осуществляли с помощью теста Манна–Уитни. Средние уровни в группах сравнивались с применением критерия Вилкоксона для связанных выборок. Изменения признавались статистически достоверными при значении  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

В группе военнослужащих — участников спецопераций (1-я группа) 11 пациентов страдали различными аллергическими заболеваниями, по

поводу которых находились на диспансерном учете до участия в спецоперациях: 8 — сезонный и круглогодичный аллергический ринит легкой и средней степени тяжести (сенсibilизация к аллергенам амброзии и домашней пыли), 2 пациента отмечали в анамнезе наличие пищевой непереносимости, 1 — редкие (1 раз в 2–3 года) эпизоды обострения хронической идиопатической крапивницы, легкой степени. Наблюдение за участниками спецопераций в течение 6 месяцев после возвращения из командировки в зону с неблагоприятной оперативной обстановкой выявило следующие изменения в клиническом течении аллергических заболеваний: у 4 пациентов, страдающих сезонным аллергическим ринитом, отмечено ухудшение клинического течения заболевания в период поллинозиса, потребовавшее дополнительного обращения за медицинской помощью и расширения спектра фармакологического воздействия. Пациент, страдавший крапивницей до участия в спецоперациях, отмечал появление зудящих волдырей во время исполнения служебных обязанностей в зоне с неблагоприятной оперативной обстановкой и через 2 месяца после возвращения из командировки развитие обострения крапивницы, потребовавшее терапии глюкокортикостероидами и антигистаминными препаратами. Следует отметить, что в течение 6 месяцев наблюдения после возвращения из командировки из зоны с неблагоприятной оперативной обстановкой 2 военнослужащих отметили впервые дебют клиники аллергического риноконъюнктивита легкой степени в период поллинозиса амброзии (август), которая потребовала приема антигистаминных препаратов в течение 10–14 дней. Оба пациента имели отягощенную наследственность по аллергопатологии и в настоящее время взяты под диспансерное наблюдение. 2-ю группу составили офицеры — участники спецопераций, не имевшие симптомов и наследственной отягощенности по аллергическим заболеваниям.

Сопоставительная оценка состояния клеточного и гуморального звена военнослужащих обеих групп сравнения до отъезда в зону с неблагоприятной оперативной обстановкой выявила следующие отличия. В группе военнослужащих с проявлениями аллергии отмечено значительно меньшее количество Т-лимфоцитов, дифференцированных в  $CD4^+$  субпопуляцию. Также в Т-звене адаптивного иммунного ответа у военнослужащих, имевших проявление аллергии, регистрируется значительно меньшее количество  $CD3^+CD4^+CD25^+$ FoxP3-регуляторных лимфоцитов, при этом отмечается увеличение количества циркулирующих В-лимфоцитов.

**ТАБЛИЦА 1. СОПОСТАВИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАРАМЕТРОВ ИММУННОГО СТАТУСА У ВОЕННОСЛУЖАЩИХ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ДО УЧАСТИЯ В СПЕЦОПЕРАЦИЯХ И СПУСТЯ 6 МЕСЯЦЕВ НАБЛЮДЕНИЯ**

TABLE 1. COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE PARAMETERS OF THE IMMUNE STATUS IN MILITARY PERSONNEL WITH ALLERGIC DISEASES BEFORE PARTICIPATING IN SPECIAL OPERATIONS AND AFTER 6 MONTHS OF OBSERVATION

Показатель, % Parameter, %	Военнослужащие с аллергопатологией Military personnel with allergopathology (n = 13)		Военнослужащие без аллергопатологии Military personnel without allergopathology (n = 30)	
	До Before	Спустя 6 мес After 6 months	До Before	Спустя 6 мес After 6 months
CD3 <sup>+</sup> (%)	71 (70-74)	74 (70-78,2)	73 (70-76)	74,2 (70-75)
CD3 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> (%)	3,3 (2,8-3,6)	3,1 (2,8-3,4)	3,2 (2,8-3,5)	3,3 (2,8-3,6)
CD3 <sup>+</sup> CD95 <sup>+</sup> (%)	1,9 (1,6-2,1)	2,6 (1,9-2,9) ***	1,7 (1,5-2)	2,6 (1,9-3,1) ****
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> (%)	36 (32-40) *	39 (36,0-42,5) **	45 (41-47)	43,4 (38,0-47,6)
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> FoxP3 (%)	0,7 (0,5-1,1) *	1,1 (0,9-1,6)**	1,1 (0,9-1,3)	2,1 (1,5-2,6)
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> (%)	33 (25-38)	29 (25,0-32,5)	26 (23-29)	29,8 (26,0-38,5)
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> (%)	2,6 (1,9-2,9)	1,9 (1,6-2,4)	2,8 (2,6-3,3)	1,9 (1,6-2,4)****
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> Gr <sup>+</sup> (%)	23 (19-27)	20,3 (18-23)	25 (20-28)	19,3 (18-22)
CD16 <sup>+</sup> (%)	10 (8-12)	9 (7-13)	12 (9,0-14,4)	7,9 (6,2-12,0)
CD16 <sup>+</sup> Gr <sup>+</sup> (%)	8 (6,5-10,1)	6 (5,4-8,7)	9,1 (7,2-10,3)	6,6 (4,5-9,3)
CD19 <sup>+</sup> (%)	14 (11,3-16,0)*	12,1 (10,0-13,3)	10,2 (8,1-12,0)	10,5 (8,3-14,0)
IgA (г/л) IgA (g/L)	2,1 (1,6-2,4)	1,8 (1,6-2,2)	1,7 (1,5-2,1)	2,1 (1,6-2,4)
IgM (г/л) IgM (g/L)	0,9 (0,7-1,2)	1,3 (0,9-1,5)	1,1 (0,9-1,3)	1,1 (0,7-1,3)
IgG (г/л) IgG (g/L)	12,2 (9,3-13,1)	11,2 (9,3-13,1)	10,2 (8,8-12,8)	12,2 (9,3-13,1)

Примечание. Статистически достоверные изменения параметров между показателями в обследуемых группах военнослужащих – участников спецопераций при значении  $p < 0,05$  рассчитаны с учетом U-критерия Манна–Уитни. \* – статистическая значимость различий между группами военнослужащих до участия в спецоперации. \*\* – статистическая значимость различий между группами военнослужащих спустя 6 месяцев после участия в спецоперации. \*\*\* – статистическая значимость различий в группе военнослужащих с аллергопатологией в динамике наблюдения до и спустя 6 месяцев после участия в спецоперации. \*\*\*\* – статистическая значимость различий в группе военнослужащих без аллергопатологии в динамике наблюдения до и спустя 6 месяцев после участия в спецоперации.

Note. Statistically significant changes in parameters between indicators in the surveyed groups of military personnel participating in special operations at a value of  $p < 0.05$  were calculated taking into account the Mann–Whitney U test. \*, statistical significance of differences between groups of military personnel before participating in a special operation. \*\*, statistical significance of differences between groups of military personnel 6 months after participation in a special operation. \*\*\*, statistical significance of differences in the group of military personnel with allergopathology in the dynamics of observation before and 6 months after participation in a special operation. \*\*\*\*, statistical significance of differences in the group of military personnel without allergopathology in the dynamics of observation before and 6 months after participation in a special operation.



При динамическом наблюдении за параметрами клеточного и гуморального иммунного ответа у военнослужащих – участников боевых действий, не страдающих аллергическими заболеваниями, через шесть месяцев после возвращения в стандартные условия службы по сравнению с параметрами до отъезда в районы с неблагоприятной оперативной обстановкой выявлены следующие изменения: значимое увеличение в периферической циркуляции количества Т-регуляторных CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> лимфоцитов и уменьшение содержания Т-лимфоцитов-эффекторов, экспрессирующих поздний активационный маркер HLADR.

У военнослужащих с аллергопатологией через шесть месяцев после участия в спецоперациях отмечаются сходные с группой сравнения изменения в клеточном звене в виде статистически значимого увеличения количества CD3<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup> лимфоцитов и тенденции к снижению CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>HLADR<sup>+</sup>. Выявленные изменения функциональных параметров Т-клеточного звена не сопровождаются повышением изменения количества Т-регуляторных клеток, облада-

ющих физиологической иммуносупрессорной активностью (табл. 1).

## Заключение

В ходе динамического наблюдения за военнослужащими спустя полгода после участия в спецоперации в обеих группах наблюдения зарегистрированы однонаправленные изменения иммунного статуса в виде нарушения процессов дифференцировки Т-клеточного звена иммунной системы. Выявленные изменения в группе военнослужащих, страдавших аллергическими заболеваниями, сопровождались ослаблением процессов физиологической иммуносупрессии в виде стойкого снижения содержания регуляторных Т-лимфоцитов в динамике наблюдения в течение 6 месяцев. Постоянство этих параметров в сочетании с прогрессией клинических признаков аллергических заболеваний определяет значимость выявленных критериев дисрегуляции иммунного ответа в качестве возможного предиктора прогрессии аллергопатологии у военнослужащих в условиях профессионального стресса.

## Список литературы / References

1. Гизатуллин Т.Р., Цыган В.Н., Павлов В.Н., Катаев В.А., Давыдович М.Г. Психосоматические компоненты боевого стресса. Санкт-Петербург; Уфа: Башкирский государственный медицинский университет, 2018. 206 с. [Gizatullin T.R., Tsygan V.N., Pavlov V.N., Kataev V.A., Davydovich M.G. Psychosomatic components of combat stress]. St. Petersburg; Ufa: Bashkir State Medical University, 2018. 206 p. (In Russ.)
2. Дороженко И.Ю. Психоаллергология (обзор литературы) // Вестник новых медицинских технологий, 2018. Т. 25, № 4. С. 23-29. [Dorozhenko I.Yu. Psychoallergology (review). *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy = Journal of New Medical Technologies*, 2018, Vol. 25, no. 4, pp. 23-29. (In Russ.)]
3. Зайцева Н.С., Сизякина Л.П. Дисфункция иммунной системы в структуре коморбидной патологии у военнослужащих – ветеранов боевых действий в отдаленном периоде наблюдения // Иммунология, 2016. Т. 37, № 5. С. 267-270. [Zaitseva N.S., Sizyakina L.P. The immune dysfunction in the structure of comorbid diseases in the combatants in the late period of observation. *Immunologiya = Immunologiya*, 2016, Vol. 37, no. 5, pp. 267-270. (In Russ.)]
4. Зайцева Н.С., Багмет А.Д., Цыган В.Н. Иммунная дисфункция у военнослужащих – участников спецопераций и возможности медико-психологической реабилитации // Вестник Российской Военно-медицинской академии, 2022. Т. 24, № 2. С. 307-314. [Zaitseva N.S., Bagmet A.D., Tsygan V.N. Immune dysfunction in military personnel participating in special operations and the possibilities of medical and psychological rehabilitation. *Vestnik Rossiyskoy Voennomeditsinskoy akademii = Bulletin of the Russian. Military Medical Academy*, 2022, Vol. 24, no. 2, pp. 307-314. (In Russ.)]
5. Иванов И.В., Сырникова Б.А., Гладкова Т.В., Стороженко Д.В. Применение нейрогимнастики в процессе медико-психологической реабилитации комбатантов. // Военно-медицинский журнал, 2024. № 3. С. 33-36. [Ivanov I.V., Syrnikova B.A., Gladkova T.V., Storozhenko D.V. The use of neurogymnastics in the process of medical and psychological rehabilitation of combatants. *Voennomeditsinskiy zhurnal = Military Medical Journal*, 2024, Vol. 345, no. 3, pp. 33-36. (In Russ.)]
6. Папко С.В., Серговец А.А., Долгих С.В., Кирсанова А.А., Ковлен Д.В., Подберезкина Л.А., Смольникова А.А., Обертинская Л.Ю. Современные подходы к совершенствованию медицинской реабилитации в Южном военном округе // Военно-медицинский журнал, 2023. № 9. С. 4-9. [Papko S.V., Sergoventsev A.A., Dolgikh S.V., Kirsanova A.A., Kovlen D.V., Podbereskina L.A., Smolnikov A.A., Obertynskaya L.Yu. Modern approaches to improving medical rehabilitation in the Southern Military District. *Voennomeditsinskiy zhurnal = Military Medical Journal*, 2023, no. 9, pp. 4-9. (In Russ.)]
7. Сизякина Л.П., Андреева И.И., Уразмамбетов Р.Т., Чеботов С.А. Характеристика параметров врожденного и приобретенного иммунного ответа в период адаптации к обучению в медицинском вузе // Медицинская иммунология, 2021. Т. 23, № 5. С. 1191-1196. [Sizyakina L.P., Andreeva I.A., Urazmambetov R.T.,

Chebotov S.A. Characteristics of the parameters of the innate and acquired immune response during the period of adaptation to training at a medical university. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2021, Vol. 23, no. 5, pp. 1191-1196. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-COT-2393.

8. Feller L., Feller G., Ballyram T., Chandran R., Lemmer J, Khammissa R. Interrelations between pain, stress and executive functioning. *Br. J. Pain.* 2020. Vol. 14, no. 3, pp. 188-194.

9. Xiang L., del Ben K.S., Rehm K.E., Marshall G.D. Jr. Effects of acute stress-induced immunomodulation on TH1/TH2 cytokine and catecholamine receptor expression in human peripheral blood cells. *Neuropsychobiology*, 2012, Vol. 65, no. 1, pp. 12-19.

---

**Авторы:**

**Зайцева Н.С.** — к.м.н., доцент кафедры клинической иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

**Сизякина Л.П.** — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой клинической иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

**Уразмамбетов Р.Т.** — начальник организационно-планового отдела военно-медицинского управления Южного военного округа ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

**Authors:**

**Zaitseva N.S.**, Associate Professor, Clinical Immunology and Allergology Department, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

**Sizyakina L.P.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Clinical Immunology and Allergology Department, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

**Urazmambetov R.T.**, Head, Organizational and Planning Department, Military Medical Department of the Southern Military District, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

---

Поступила 29.03.2024

Отправлена на доработку 30.03.2024

Принята к печати 02.04.2024

---

Received 29.03.2024

Revision received 30.03.2024

Accepted 02.04.2024

## КРАТКИЙ ОБЗОР СОВРЕМЕННЫХ СТАТЕЙ ОБ ЭТИОПАТОГЕНЕЗЕ И РЕАБИЛИТАЦИИ ПАЦИЕНТОВ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМ РИНИТОМ

Игнатова И.А.<sup>1,2</sup>, Иваненко Д.Б.<sup>2</sup>

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

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

**Резюме.** В статье представлен краткий обзор современных источников литературы, касающихся распространенности, этиопатогенетических подходов в диагностике и лечении аллергических ринитов.

Актуальность рассматриваемой проблемы обусловлена высокой распространенностью данной патологии, многообразием этиопатогенетических механизмов и вариабельностью классификаций. Одной из наиболее востребованных классификаций является сезонная.

При изучении патогенетических механизмов выявлены следующие закономерности: слизистая оболочка носа является основным кондиционером дыхательных путей и первой линией защиты от инфекционных агентов, передающихся воздушно-капельным путем. Для этих ролей необходимы поддержание и восстановление целостности эпителия и способности инициировать иммунные ответы. При наличии условий или факторов, которые нарушают целостность слизистой оболочки, эпителий высвобождает алармины и другие молекулярные структуры, связанные с повреждением, которые запускают механизмы восстановления, но также могут вызывать защитное воспаление. При аллергическом рините те же механизмы могут активизировать развитие заболевания.

Многие авторы рассматривают различные диагностические методы аллергического ринита, такие как подробный и грамотный сбор жалоб и анамнеза, в том числе семейного; физикальный осмотр, эндоскопическое исследование полости носа, риноманометрия, кожные прик-тесты, радиологические исследования, в том числе компьютерная томография придаточных пазух носа, внутрикожные пробы, исследование общих и специфических иммуноглобулинов Е в сыворотке крови, тест активации базофилов, назальный провокационный тест, назальная цитология и гистология биопсийного материала, акустическая ринометрия, исследование пикового потока назального вдоха, измерения оксида азота. Также внимание уделяется лабораторным и инструментальным методам для дифференциальной диагностики ринитов псевдоаллергического генеза, для этого применяются следующие методы: ультразвуковая диагностика гепатобилиарной системы, биохимический анализ крови, иммунологические исследования.

### Адрес для переписки:

Игнатова Ирина Акимовна  
Научно-исследовательский институт  
медицинских проблем Севера  
660022, Россия, г. Красноярск,  
ул. Партизана Железняка, 3г.  
Тел.: 8 (905) 975-28-09.  
E-mail: ignatovai@mail.ru

### Address for correspondence:

Irina A. Ignatova  
Research Institute of Medical Problems of the North  
3g Partizan Zheleznyak St  
Krasnoyarsk  
660022 Russian Federation  
Phone: +7 (905) 975-28-09.  
E-mail: ignatovai@mail.ru

### Образец цитирования:

И.А. Игнатова, Д.Б. Иваненко «Краткий обзор современных статей об этиопатогенезе и реабилитации пациентов с аллергическим ринитом» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 925-928.  
doi: 10.46235/1028-7221-16937-ARA

© Игнатова И.А., Иваненко Д.Б., 2024  
Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

### For citation:

I.A. Ignatova, D.B. Ivanenko “Allergic rhinitis: a brief overview of the etiopathogenesis and rehabilitation of patients”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 925-928.  
doi: 10.46235/1028-7221-16937-ARA

© Ignatova I.A., Ivanenko D.B., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16937-ARA

Лечение больных аллергическим ринитом предполагает комплексный и междисциплинарный подход и, безусловно, требует дифференциальных и персонифицированных методов с учетом этиопатогенетических механизмов.

*Ключевые слова:* аллергический ринит, распространенность, этиология, патогенез, диагностика, лечение

## ALLERGIC RHINITIS: A BRIEF OVERVIEW OF THE ETIOPATHOGENESIS AND REHABILITATION OF PATIENTS

Ignatova I.A.<sup>a, b</sup>, Ivanenko D.B.<sup>b</sup>

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

<sup>b</sup> *Krasnoyarsk State V. Voyno-Yasenetsky Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation*

**Abstract.** The article presents a brief overview of modern literature sources concerning the prevalence, etiopathogenetic approaches in the diagnosis and treatment of allergic rhinitis. The relevance of the problem under consideration is due to the high prevalence of this pathology, the variety of etiopathogenetic mechanisms and the variability of classifications. One of the most popular classifications is seasonal. When studying pathogenetic mechanisms, the following patterns were revealed: the nasal mucosa is the main air conditioner of the respiratory tract and the first line of defense against infectious agents transmitted by airborne droplets. These roles require maintaining and restoring epithelial integrity and the ability to initiate immune responses. When conditions or factors are present that compromise the integrity of the mucosa, the epithelium releases alarmins and other molecular patterns associated with damage that trigger repair mechanisms but can also cause protective inflammation. In allergic rhinitis, the same mechanisms can activate the development of the disease. Many authors consider various diagnostic methods for allergic rhinitis. Such as a detailed and competent collection of complaints and anamnesis, including family history, physical examination, endoscopic examination of the nasal cavity, rhinomanometry, skin prick tests, radiological studies, including computed tomography of the paranasal sinuses, intradermal tests, study of total and specific immunoglobulins E in blood serum, basophil activation test, nasal provocation test, nasal cytology and biopsy histology, acoustic rhinometry, nasal inspiratory peak flow testing, and nitric oxide measurements are used. Attention is also paid to laboratory and instrumental methods for the differential diagnosis of rhinitis of pseudoallergic origin; the following methods are used: ultrasound diagnostics of the hepatobiliary system, biochemical blood test, and immunological studies.

Treatment of patients with allergic rhinitis requires an integrated and interdisciplinary approach and, of course, requires differential and personalized methods taking into account etiopathogenetic mechanisms.

*Keywords:* allergic rhinitis, prevalence, etiology, pathogenesis, diagnostics, treatment

### Введение

#### Актуальность проблемы

Аллергическая риносинусопатия (АР) является значительной социальной проблемой, связанной не только со стремительным повышением распространенности, но и модификацией ее протекания [1, 2, 3, 4, 15].

В клинике АР нередко наблюдается расширение «шоковых» территорий аллергических реакций, прежде всего за счет поражения респираторного тракта. Практически у 80-90% больных аллергической риносинусопатией отмечается бронхиальная астма (БА) различной степени тяжести [1, 3, 7, 9, 14].

Затруднение носового дыхания приносит много проблем в повседневной жизни. Эпидемиологические исследования, проведенные в разных странах, указывают на высокий уровень распространенности, а также прогрессирующее увеличение заболеваемости АР, которое составляет 4-32%, в России – 10-24% [3, 11, 12, 13, 14]. Обращает на себя внимание низкий уровень обращаемости пациентов с АР на ранних стадиях заболевания и поздняя диагностика. Чаще всего заболевание возникает в первой половине жизни [4, 9].

**Цель работы** – представить современное состояние вопроса на основе краткого обзора со-



временной научной литературы по теме аллергического ринита.

## Материалы и методы

Материалом исследования послужили публикации, посвященные проблеме влияния диагностики аллергического ринита на здоровье человека. Применены методы исследования общенаучного характера (индукция, дедукция, анализ, синтез, обобщение, аналогия, сравнение), анкетирование.

## Результаты и обсуждение

Слизистая оболочка верхних дыхательных путей играет защитную функцию. Однако барьерная роль эпителия нарушается при воздействии инфекции, с триггерным влиянием экзогенных и эндогенных факторов. Часто экзогенными факторами являются поллютанты окружающей среды, эндогенными – дисфункциональные и морфологические проблемы самого организма. Между тем воспалительный процесс не протекает изолированно в слизистой носовых ходов, а формирует содружественное поражение слизистых ЛОР-органов. И, казалось бы, маленькая проблема рискует стать неразрешимой бедой.

Злободневность рассматриваемой проблемы обусловлена значительной распространенностью данной патологии, многообразием этиопатогенетических механизмов и вариабельностью классификаций [2, 3, 15].

Термин «аллергическая риносинусопатия» собирательный, отражающий как самостоятельную нозологическую форму, так и псевдоаллергический синдром фоновой патологии, объединенные общностью диагностических критериев со стороны носа и околоносовых пазух, но различающиеся по этиологии и патогенезу. Независимо от этиопатогенетической сути АР, общим патогенетическим звеном является выброс медиаторов воспаления, приводящих к повреждению тканей [2, 4, 6, 15].

При изучении патогенетических механизмов выявлены следующие закономерности: слизистая оболочка носа является основным кондиционером дыхательных путей и первой линией защиты от инфекционных агентов, передающих-

ся воздушно-капельным путем. Для этих ролей необходимы поддержание и восстановление целостности эпителия и способности инициировать иммунные ответы. При наличии условий или факторов нарушающих целостность слизистой оболочки, эпителий высвобождает алармины и другие молекулярные структуры, связанные с повреждением, которые запускают механизмы восстановления, но также могут вызывать защитное воспаление. При аллергическом рините те же механизмы могут активизировать развитие заболевания [4, 9].

Эпидемиологические исследования имеют большое значение не только для выявления распространенности и причин развития АР, но и для уточнения патогенетических механизмов. А это в свою очередь помогает определить патогенетически обоснованные пути их терапевтической коррекции и профилактические мероприятия, совершенствуя тем самым оториноларингологическую и аллергологическую службы.

Внедрение дифференциально-диагностических критериев и дифференцированных подходов к терапии различных клинико-патогенетических вариантов АР имеет важный социально-экономический эффект в виде оптимизации схем обследования и реабилитации.

Реабилитация пациентов с аллергическим ринитом содержит комплексный, междисциплинарный подход и требует дифференциальных и персонализированных методов с учетом этиопатогенетических механизмов.

Лечение аллергического ринита основано на симптоматическом лечении антигистаминными препаратами, которые, возможно, более эффективно вводятся интраназально, чем пероральные и интраназальные кортикостероиды. Аллергенная иммунотерапия очень эффективна даже при местном аллергическом рините, а недостатки подкожной иммунотерапии в виде неудобства и безопасности нивелируются введением сублингвальной иммунотерапии (СЛИТ). Использование последнего в настоящее время несколько ограничено из-за отсутствия соответствующей информации о дозировке жидкостей СЛИТ и ограниченного числа аллергенов, для которых доступны таблетки СЛИТ [5, 8, 9, 10, 15].

## Список литературы / References

1. Дынева М.Е., Курбачева О.М. Аллергический ринит – актуальная проблема XXI века // *Consilium Medicum*, 2019. Т. 21, № 3. С. 65-68. [Dyneva M.E., Kurbacheva O.M. Allergic rhinitis – the actual problem of the XXI century. *Consilium Medicum = Consilium Medicum*, 2019, Vol. 21, no. 3, pp. 65-68. (In Russ.)]
2. Игнатова И.А., Смирнова С.В., Манчук В.Т. Аллергическая риносинусопатия (истинного и псевдоаллергического генеза). СПб.: Диалог, 2007. 104 с. [Ignatova I.A., Smirnova S.V., Manchuk V.T. Allergic rhinosinusopathy (true and pseudoallergic origin)]. St. Petersburg: Dialog, 2007. 104 p.

3. Ильина Н.И., Курбачева О.М., Павлова К.С., Польшер С.А. Федеральные клинические рекомендации: Аллергический ринит // РАЖ, 2017. № 2. С. 47-54. [Ilyina N.I., Kurbacheva O.M., Pavlova K.S., Polner S.A. Federal clinical guidelines. *Allergicheskii rinit. RAZh = Russian Journal of Allergy*, 2017, no. 2, pp. 47-54. (In Russ.)]
4. Лусс Л.В. Этиология, патогенез, проблемы диагностики и лечения аллергического ринита // РМЖ, 2003. Т. 11, № 12. С. 718-728. [Luss L.V. Etiology, pathogenesis, diagnostic problems and treatment of allergic rhinitis. *RMZh = Russian Medical Journal*, 2003, Vol. 11, no. 12, pp. 718-728. (In Russ.)]
5. Свистушкин В.М., Никифорова Г.Н., Артамонова П.С., Шевчик Е.А. Современные возможности патогенетической терапии больных аллергическим ринитом // Медицинский совет, 2020. № 6. С. 101-106. [Svistushkin V.M., Nikiforova G.N., Artamonova P.S., Shevchik E.A. Modern possibilities of pathogenetic therapy of patients with allergic rhinitis. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*, 2020, no. 6, pp. 101-106. (In Russ.)]
6. Bernstein D.I., Schwartz G., Bernstein J.A. Allergic rhinitis: mechanisms and treatment. *Immunol. Allergy Clin. North Am.*, 2016, Vol. 36, no. 2, pp. 261-278.
7. Bousquet J., Anto J.M., Bachert C., Baiardini I., Bosnic-Anticevich S., Walter Canonica G., Melén E., Palomares O., Scadding G.K., Togias A., Toppila-Salmi S. Allergic rhinitis. *Nat. Rev. Dis. Primers*, 2020, Vol. 6, no. 1, 95. doi: 10.1038/s41572-020-00227-0.
8. Czech E.J., Overholser A., Schultz P. Allergic rhinitis. *Prim Care*, 2023, Vol. 50, no. 2, pp. 159-178.
9. Hoyte F.C.L., Nelson H.S. Recent advances in allergic rhinitis. *F1000Res.*, 2018, Vol. 7, F1000 Faculty Rev-1333. doi: 10.12688/f1000research.15367.1.
10. Meng Y., Wang C., Zhang L. Advances and novel developments in allergic rhinitis. *Allergy*, 2020, Vol. 75, no. 12, pp. 3069-3076.
11. Moitra S., Mahesh P.A., Moitra S. Allergic rhinitis in India. *Clin. Exp. Allergy*, 2023, Vol. 53, no. 7, pp. 765-776.
12. Okubo K., Kurono Y., Ichimura K., Enomoto T., Okamoto Y., Kawauchi H., Suzaki H., Fujieda S., Masuyama K.; Japanese Society of Allergology. Japanese guidelines for allergic rhinitis 2020. *Allergol. Int.*, 2020, Vol. 69, no. 3, pp. 331-345.
13. Schuler Iv.C.F., Montejo J.M. Allergic rhinitis in children and adolescents. *Pediatr. Clin. North Am.*, 2019, Vol. 66, no. 5, pp. 981-993.
14. Siddiqui Z.A., Walker A., Pirwani M.M., Tahiri M., Syed I. Allergic rhinitis: diagnosis and management. *Br. J. Hosp. Med. (Lond.)*, 2022, Vol. 83, no. 2, pp. 1-9.
15. Wise S.K., Damask C., Roland L.T., and others International consensus statement on allergy and rhinology: Allergic rhinitis – 2023. *Int. Forum Allergy Rhinol.*, 2023, Vol. 13, no. 4, pp. 293-859.

---

**Авторы:**

**Игнатова И.А.** — д.м.н., доцент ВАК, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук»; профессор кафедры оториноларингологии ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия

**Иваненко Д.Б.** — ординатор 1-го года обучения кафедры ЛОР-болезней ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия

**Authors:**

**Ignatova I.A.**, PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Clinical Pathophysiology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; Professor, Department of Otolaryngology, Krasnoyarsk State V. Voino-Yasenetsky Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation

**Ivanenko D.B.**, 1<sup>st</sup> year Resident, Department of Otolaryngology, Krasnoyarsk State V. Voino-Yasenetsky Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation

---

Поступила 04.04.2024  
Отправлена на доработку 08.04.2024  
Принята к печати 11.04.2024

---

Received 04.04.2024  
Revision received 08.04.2024  
Accepted 11.04.2024

# ТКАНЕВЫЙ ПУЛ ГИПЕРСЕГМЕНТИРОВАННЫХ НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С ПРЕДОПУХОЛЕВЫМИ И ОПУХОЛЕВЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ГОРТАНИ И ГОРТАНОГЛОТКИ

Кологривова Е.Н.<sup>1</sup>, Плешко Р.И.<sup>1</sup>, Черемисина О.В.<sup>2</sup>,  
Болдышевская М.А.<sup>2</sup>, Геренг Е.А.<sup>1</sup>, Насибов Т.Ф.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский  
центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

**Резюме.** Присутствие нейтрофилов в опухоли часто коррелирует с неблагоприятным прогнозом, однако до сих пор нет однозначного ответа о роли опухоли-ассоциированных нейтрофилов и о связи их морфофункциональных особенностей с прогнозом течения заболевания. Целью исследования была оценка структурных особенностей ядер тканевых нейтрофилов в зоне патологического процесса у больных с предопухолевыми изменениями и злокачественными новообразованиями в области гортани. Обследованы 8 человек с предопухолевыми изменениями гортани, 18 пациентов с локализованным раком гортани (II и III стадии опухолевого процесса и отсутствие метастазов – T<sub>2-3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>) и 12 пациентов с распространенным раком (III стадия опухолевых заболеваний и регионарные метастазы – T<sub>3</sub>N<sub>1-2</sub>M<sub>0</sub>). Исследовали мазки гепаринизированной венозной крови и мазки-отпечатки тканевых биоптатов из трех локализаций: 1 – зоны патологического очага; 2 – границы между патологическим очагом и условно здоровой тканью; 3 – условно здоровой ткани. В крови больных с предопухолевыми изменениями гортани и больных раком число гиперсегментированных форм (5 и более сегментов) было выше, чем в крови условно здоровых добровольцев (p < 0,002). В мазках биоптатов из разных зон патологического очага у больных с предраками и злокачественными новообразованиями выявлены однотипные изменения: по мере приближения к патологическому очагу наблюдалось увеличение содержания клеток, ядра которых имеют 4-5 и более сегментов, а содержание гиперсегментированных форм было максимальным в патологическом очаге. Только у пациентов с распространенным опухолевым процессом нейтрофилы с 4-сегментным ядром доминировали в ближайшем окружении опухоли, и отмечалась тенденция к снижению содержания слабо сегмен-

## Адрес для переписки:

Кологривова Елена Николаевна  
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский  
университет» Министерства здравоохранения РФ  
634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, 2.  
Тел.: 8 (913) 876-80-69.  
E-mail: enkolgrivova@mail.ru

## Address for correspondence:

Elena N. Kolgrivova  
Siberian State Medical University  
2 Moskovsky Trakt  
Tomsk  
643050 Russian Federation  
Phone: +7 (913) 876-80-69.  
E-mail: enkolgrivova@mail.ru

## Образец цитирования:

Е.Н. Кологривова, Р.И. Плешко, О.В. Черемисина,  
М.А. Болдышевская, Е.А. Геренг, Т.Ф. Насибов  
«Тканевый пул гиперсегментированных нейтрофилов  
у пациентов с предопухолевыми и опухолевыми  
заболеваниями гортани и гортаноглотки»  
// Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27,  
№ 4. С. 929-938.  
doi: 10.46235/1028-7221-16626-TPO

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

## For citation:

E.N. Kolgrivova, R.I. Pleshko, O.V. Cheremisina,  
M.A. Boldyshevskaya, E.A. Gereng, T.F. Nasibov “Tissue pool  
of hypersegmented neutrophils in patients with precancerous  
and tumor diseases of the larynx and laryngopharynx”,  
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii  
Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 929-938.  
doi: 10.46235/1028-7221-16626-TPO

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16626-TPO

тированных нейтрофилов вокруг опухоли. Таким образом, на этапе предопухолевых изменений, а также на ранних стадиях развития опухоли в отсутствие регионарных метастазов, состав тканевых пулов нейтрофилов на границе патологического очага и в неизменной ткани совпадает по своим морфологическим характеристикам. По мере распространения опухоли и формирования метастазов в популяции внутри-опухолевых нейтрофилов увеличивается доля гиперсегментированных клеток. Весьма вероятно, что морфологические особенности тканевых нейтрофилов в разных зонах патологического очага отражают их функциональную гетерогенность, а гиперсегментация ядер может рассматриваться в качестве потенциального предиктора развития и прогрессирования опухолевого процесса.

*Ключевые слова:* нейтрофилы крови, тканевые нейтрофилы, гиперсегментация ядер, предопухолевые заболевания гортани, локализованный рак гортани, распространенный рак гортани

## TISSUE POOL OF HYPERSEGMENTED NEUTROPHILS IN PATIENTS WITH PRECANCEROUS AND TUMOR DISEASES OF THE LARYNX AND LARYNGOPHARYNX

Kologrivova E.N.<sup>a</sup>, Pleshko R.I.<sup>a</sup>, Cheremisina O.V.<sup>b</sup>,  
Boldyshevskaya M.A.<sup>b</sup>, Gereng E.A.<sup>a</sup>, Nasibov T.F.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

<sup>b</sup> Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

**Abstract.** The presence of neutrophils in a tumor often correlates with an unfavorable prognosis, however, there is still no clear answer about the role of tumor-associated neutrophils and the relationship of their morphofunctional features with the prognosis of the course of the disease. The aim of the study was to evaluate the structural features of tissue neutrophil nuclei in the pathological zone in patients with precancerous changes and malignant neoplasms in the larynx. Eight people with precancerous changes in the larynx, 18 patients with localized cancer of the larynx (stages II and III of the tumor process and the absence of metastases – T<sub>2-3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>), and 12 patients with advanced cancer (stage III of tumor diseases and regional metastases – T<sub>3</sub>N<sub>1-2</sub>M<sub>0</sub>) were examined. Blood slides and smear prints of tissue biopsies from three localizations were examined: 1 – zones of the pathological focus; 2 – boundaries between the pathological focus and conditionally healthy tissue; and 3 – conditionally healthy tissue. In the blood of patients with precancerous changes in the larynx and cancer patients, the main part of neutrophils was represented by cells with a 4-segment nucleus, and the number of hypersegmented forms (5 or more segments) was higher than in the blood of healthy volunteers ( $p < 0.002$ ). The same type of changes in smear prints of biopsies from different areas of the pathological focus in patients with precancerous and malignant neoplasms were revealed: as they approached the pathological focus, an increase the cells with 4–5 or more segments was observed. The content of hypersegmented forms was maximum in the pathological focus. Only in patients with a widespread tumor process, neutrophils with a 4-segment nucleus dominated the immediate environment of the tumor. As the tumor spreads and metastases form, the proportion of hypersegmented cells increases in the population of intra-tumor neutrophils. It is very likely that the morphological features of tissue neutrophils in different zones of the pathological focus reflect their functional heterogeneity, and hypersegmentation of nuclei can be considered as a potential predictor of the development and progression of the tumor process.

*Keywords:* blood neutrophils, tissue neutrophils, hypersegmentation of nuclei, precancerous diseases of the larynx, localized laryngeal cancer, advanced laryngeal cancer



## Введение

Развитие и течение опухолевых процессов обычно сопровождается привлечением иммунных клеток. При различных типах раков многие авторы отмечают увеличение численности циркулирующих в крови нейтрофилов [9]. Нейтрофильные гранулоциты (НГ) в большом количестве присутствуют и в очаге развития злокачественных новообразований. Показано, что миграция нейтрофилов в опухоль не всегда связана с воспалительной реакцией. В настоящее время считается, что в ткани опухоли нейтрофилы могут выполнять разные функции, осуществляя при этом про- либо противоопухолевое действие [4, 15]. В настоящее время получены многочисленные свидетельства, подтверждающие участие НГ на всех стадиях развития злокачественных новообразований, от инициации опухолевой трансформации до их инвазивного роста и метастазирования.

Известно, что присутствие нейтрофилов в опухоли часто коррелирует с неблагоприятным прогнозом, однако до сих пор нет однозначного ответа о роли опухоль-ассоциированных нейтрофилов (TAN – tumor-associated neutrophils) и о связи их морфофункциональных особенностей с прогнозом течения заболевания. TAN представлены гетерогенной популяцией, в которой в настоящее время выделяют две разных по функциональным свойствам субпопуляции: N1 и N2 с противоопухолевыми и проопухолевыми свойствами соответственно [3]. Результаты клинических и экспериментальных исследований демонстрируют возможность нейтрофилов к функциональной и морфологической трансформации под влиянием факторов опухолевого микроокружения [6].

Хотя пластичность нейтрофилов изначально рассматривалась применительно к опухолевым процессам, в настоящее время ее значимость распространяется на различные клинические ситуации, включая хроническое воспаление и инфекционные заболевания.

**Цель исследования** – оценить структурные особенности ядер тканевых нейтрофилов в зоне патологического процесса у больных с предопухолевыми изменениями и злокачественными новообразованиями в области гортани и гортаноглотки.

## Материалы и методы

Обследованы 8 человек с предопухолевыми изменениями в области гортани и гортаноглотки (5 – с хроническим гиперпластическим ларингитом, 3 – с дисплазией эпителия гортани), а также 32 пациента с впервые выявленным ра-

ком гортани и гортаноглотки, медианные значения возраста которых составили 57,6 (39–69) лет. Взятие материала у пациентов осуществлялось в эндоскопическом отделении НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск (заведующий отделением – д.м.н. Черемисина О.В.). Группа условно здоровых доноров (21 человек сопоставимого возраста) сформирована во время профилактического осмотра. Все лица, биологический материал которых был использован в данной работе, проходили процедуру подписи информированного согласия на участие в научно-практическом исследовании.

В соответствии с классификацией TNM все пациенты с раком гортани и гортаноглотки были разделены на 2 группы: первую группу составили 18 пациентов с II и III стадиями опухолевого процесса и отсутствием метастазов ( $T_{2-3}N_0M_0$ ), вторая группа состояла из 12 пациентов с III стадией опухолевых заболеваний, у которых были выявлены регионарные метастазы ( $T_3N_{1-2}M_0$ ).

Материалом исследования стали мазки из гепаринизированной венозной крови и мазки-отпечатки, приготовленные из тканевых биоптатов пациентов НИИ онкологии, полученных из трех локализаций: 1 – зоны патологического очага; 2 – границы между патологическим очагом и неизменной (условно здоровой) тканью; 3 – условно здоровой ткани. Мазки фиксировались в этиловом спирте в течение 10 мин и окрашивались в течение 30 мин по методу Романовского–Гимзы.

Основное внимание при анализе морфологических особенностей нейтрофилов уделяли структурным особенностям их ядер. Подсчет степени сегментированности ядер нейтрофилов в мазках крови и биоптатах был проведен с помощью микроскопа Zeiss Primo Star (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Германия) в стандартном режиме. Оценка степени сегментированности была проведена в 100 нейтрофильных гранулоцитах. В каждой клетке оценивалось количество сегментов в ядре с последующим выделением трех групп:

- 1) нейтрофилы, ядра которых содержат 2–3 сегмента;
- 2) нейтрофилы, ядра которых содержат 4 сегмента;
- 3) нейтрофилы, ядра которых содержат 5 и более сегментов.

Для анализа структурных особенностей был введен средний коэффициент сегментированности (СКС), который отражает распределение нейтрофильных гранулоцитов с ядрами различной степени сегментированности [2].

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения STATISTICA 10.0 (StatSoft, США). Для оценки характера распределения данных использовали критерий Шапиро–Уилка. Результаты представляли в виде медианы и межквартильного интервала – Ме ( $Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$ ). Для исследования значимости различий применяли U-критерий Манна–Уитни

## Результаты и обсуждение

Оценка степени сегментированности ядер нейтрофилов показала, что в крови условно здоровых добровольцев преобладали клетки с умеренно сегментированными ядрами (2-3 сегмента), и их количество было значимо выше (75 (69-80) %), чем в крови больных с предопухолевыми изменениями гортани (39 (35-48) %,  $p < 0,001$ ) и больных раком гортани соответственно (51 (41-61) %,  $p < 0,001$ ). В крови больных с предопухолевыми изменениями гортани и онкобольных основная часть нейтрофилов была представлена клетками с 4-сегментным ядром, а число гиперсегментированных форм (5 и более сегментов) было выше (9,5 (6-13) %; 10 (7-16) % соответственно), чем в крови условно здоровых добровольцев (1-2) %;  $p < 0,002$ . В сравнении с пациентами, у которых диагностировали предопухолевые заболевания, у онкобольных отмечалось более высокое содержание умеренно сегментированных форм нейтрофилов (51 (41-61) %; 39 (35-48) %;  $p = 0,05$ ) и меньшее число 4-сегментных нейтрофилов (38 (31-75) %; 50 (47-50) %;  $p = 0,07$ ).

Изучение характера сегментированности тканевых нейтрофилов в разных локализациях патологического процесса показало, что у больных с предопухолевыми изменениями гортани и онкобольных выявляются во многом схожие характеристики популяционного состава (табл. 1).

Было выявлено, что при предопухолевых заболеваниях тканевые нейтрофилы с умеренной сегментированностью ядер (2-3 сегмента) преимущественно локализируются в здоровой ткани, а на границе со здоровой тканью и в зоне патологического очага их количество прогрессивно снижается. В то же время число 4-сегментных и гиперсегментированных форм нейтрофильных гранулоцитов возрастало по мере приближения к зоне патологического очага (табл. 1).

Важно, что при анализе степени сегментированности нейтрофилов в мазках биоптатов из разных зон патологического очага у больных раком гортани и гортаноглотки мы выявили аналогичные изменения: по мере приближения к опухоли наблюдалось увеличение содержания клеток, ядра которых имеют 4 сегмента, 5 и более

сегментов, а содержание менее сегментированных форм было максимальным в здоровой ткани (табл. 2). Это отразилось на значениях показателя СКС (введенного нами интегрального показателя, отражающего степень сегментированности ядер нейтрофилов в общем пуле клеток), максимальные значения которого отмечались в опухолевой ткани.

Примечательно, что числовые значения СКС у пациентов с опухолями и предопухолевыми процессами статистически значимо не различались. Чтобы оценить связь распространенности опухолевого процесса с особенностями структурной организации тканевых нейтрофилов, был проведен сравнительный анализ сегментированности НГ в разных зонах патологического процесса у пациентов двух подгрупп: «локализованный рак» – больные без регионарных и отдаленных метастазов со II-ой и III-ей стадией опухолевого процесса ( $T_{2-3}N_0M_0$ ); «распространенный рак» – с III-ей стадией опухолевого процесса и регионарными метастазами ( $T_3N_{1-2}M_0$ ).

В ходе проведения анализа внутри каждой подгруппы были выявлены однотипные статистически значимые различия, аналогичные изменениям в общей группе онкобольных: увеличение числа 4-сегментных и гиперсегментированных нейтрофилов по мере приближения к зоне роста опухоли и снижение численности менее сегментированных (2-3 сегмента) форм (табл. 3). Средний коэффициент сегментированности имел максимальные значения в зоне роста опухоли, а наименьшие – в биоптатах здоровой ткани.

При межгрупповом сравнении показателей у больных с локализованным и распространенным раком мы не выявили каких-либо статистически значимых различий. Однако можно отметить, что только у пациентов с распространенным опухолевым процессом нейтрофилы с 4-сегментным ядром доминируют в ближайшем окружении опухоли (табл. 3). Обращает на себя внимание тенденция к изменению содержания слабо сегментированных нейтрофилов в здоровой ткани и окружении опухоли, проявившаяся при распространенном раке в большем их числе в неизменной ткани и сниженном – в опухолевом окружении (табл. 3).

В настоящее время общепринятым является представление о существовании двух основных фенотипов НГ при развитии онкологических заболеваний: N1 – противоопухолевый и N2 – проопухолевый. НГ с гиперсегментированными ядрами многие авторы рассматривают, как N1-нейтрофилы, обладающие повышенным цитотоксическим потенциалом и способностью к продукции провоспалительных медиаторов [3, 10]. В то же время на модели острого воспаления

**ТАБЛИЦА 1. СЕГМЕНТИРОВАННОСТЬ ЯДЕР НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ В МАЗКАХ БИОПТАТОВ У БОЛЬНЫХ С ПРЕДОПУХОЛЕВЫМИ ИЗМЕНЕНИЯМИ ГОРТАНИ, % (Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>))**

TABLE 1. SEGMENTATION OF NEUTROPHIL GRANULOCYTE NUCLEI IN BIOPSY SMEARS IN PATIENTS WITH PRECANCEROUS LARYNGEAL CHANGES, % (Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>))

Число сегментов в ядрах Number of segments	Исследуемые зоны Study areas			p
	Здоровая ткань Healthy tissue	Граница патологического очага и здоровой ткани Border of the pathological focus and healthy tissue	Патологический очаг Pathological focus	
2-3 сегмента 2-3 segments	64 (62-66)	41 (24-57)	20 (16-25)	p <sub>1-2</sub> = 0,04 p <sub>1-3</sub> < 0,001 p <sub>2-3</sub> = 0,05
4 сегмента 4 segments	30 (27-33)	41 (38-45)	47 (43-53)	p <sub>1-2</sub> = 0,05 p <sub>1-3</sub> = 0,03 p <sub>2-3</sub> = 0,33
5 и более сегментов 5 or more segments	6 (1-8)	11 (6-24)	27 (21-34)	p <sub>1-2</sub> = 0,04 p <sub>1-3</sub> < 0,001 p <sub>2-3</sub> = 0,06
СКС ASC	1,43 (1,35-1,46)	1,50 (1,46-1,92)	2,00 (1,85-2,11)	p <sub>1-2</sub> = 0,35 p <sub>1-3</sub> < 0,001 p <sub>2-3</sub> = 0,003

Примечание. СКС – средний коэффициент сегментированности; p – уровень значимости различий.

Note. ASC, average segmentation coefficient; p, the level of significance of differences.

**ТАБЛИЦА 2. СЕГМЕНТИРОВАННОСТЬ ЯДЕР НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ В МАЗКАХ БИОПТАТОВ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ГОРТАНИ И ГОРТАНОГЛОТКИ, % (Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>))**

TABLE 2. SEGMENTATION OF NEUTROPHIL GRANULOCYTE NUCLEI IN BIOPSY SMEARS IN PATIENTS WITH LARYNGEAL AND LARYNGOPHARYNGEAL CANCER, % (Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>))

Число сегментов в ядрах Number of segments	Исследуемые зоны Study areas			p
	Здоровая ткань Healthy tissue	Ближайшее окружение опухоли Immediate environment of the tumor	Опухоль Tumor	
2-3 сегмента 2-3 segments	62 (47-76)	50 (40-54)	23 (15-32)	p <sub>1-2</sub> = 0,007 p <sub>1-3</sub> < 0,001 p <sub>2-3</sub> < 0,001
4 сегмента 4 segments	27 (22-38)	42 (38-50)	50 (44-54)	p <sub>1-2</sub> = 0,006 p <sub>1-3</sub> < 0,001 p <sub>2-3</sub> = 0,048
5 и более сегментов 5 or more segments	6 (2-9)	9 (4-15)	24,5 (14-32)	p <sub>1-2</sub> = 0,2 p <sub>1-3</sub> < 0,001 p <sub>2-3</sub> < 0,001
СКС ASC	1,42 (1,26-1,63)	1,6 (1,5-1,73)	2,07 (1,82-2,19)	p <sub>1-2</sub> = 0,2 p <sub>1-3</sub> < 0,001 p <sub>2-3</sub> < 0,001

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

**ТАБЛИЦА 3. СЕГМЕНТИРОВАННОСТЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ В МАЗКАХ БИОПАТОВ ИЗ РАЗНЫХ ЗОН ПАТОЛОГИЧЕСКОГО ОЧАГА У БОЛЬНЫХ ЛОКАЛИЗОВАННЫМ (T<sub>2-3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>) И РАСПРОСТРАНЕННЫМ (T<sub>3</sub>N<sub>1-2</sub>M<sub>0</sub>) РАКОМ ГОРТАНИ И ГОРТАНОГЛОТКИ, % (Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>))**

TABLE 3. SEGMENTATION OF NEUTROPHIL GRANULOCYTES IN BIOPSY SMEARS FROM DIFFERENT AREAS OF THE PATHOLOGICAL FOCUS IN PATIENTS WITH LOCALIZED (T<sub>2-3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>) AND WIDESPREAD (T<sub>3</sub>N<sub>1-2</sub>M<sub>0</sub>) CANCER OF THE LARYNX AND LARYNX, % (Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>))

Число сегментов в ядрах Number of segments	Исследуемые зоны Study areas			p
	Здоровая ткань Healthy tissue	Ближайшее окружение опухоли Immediate environment of the tumor	Опухоль Tumor	
<b>Больные с локализованным раком (T<sub>2-3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>), n = 18</b> Patients with localized cancer (T <sub>2-3</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub> ), n = 18				
2-3 сегмента 2-3 segments	50 (33-57)	50 (46-54)	26 (22-31)	p <sub>1-2</sub> = 1,00 p <sub>1-3</sub> = 0,02 p <sub>2-3</sub> = 0,01
4 сегмента 4 segments	38 (36-53)	40 (36-52)	51 (49-54)	p <sub>1-2</sub> = 1,00 p <sub>1-3</sub> = 0,10 p <sub>2-3</sub> = 0,10
5 и более сегментов 5 or more segments	8 (6-13)	10 (3-14)	20 (15-27)	p <sub>1-2</sub> = 1,00 p <sub>1-3</sub> = 0,005 p <sub>2-3</sub> = 0,04
СКС ASC	1,66 (1,50-1,80)	1,60 (1,55-1,62)	1,96 (1,84-2,10)	p <sub>1-2</sub> = 0,84 p <sub>1-3</sub> = 0,008 p <sub>2-3</sub> = 0,01
<b>Больные с распространенным раком (T<sub>3</sub>N<sub>1-2</sub>M<sub>0</sub>), n = 12</b> Patients with advanced cancer (T <sub>3</sub> N <sub>1-2</sub> M <sub>0</sub> ), n = 12				
2-3 сегмента 2-3 segments	64 (49-69)	38 (33-52)	24 (18-36)	p <sub>1-2</sub> = 0,16 p <sub>1-3</sub> = 0,01 p <sub>2-3</sub> = 0,03
4 сегмента 4 segments	33 (26-37)	48 (40-55)	46 (43-59)	p <sub>1-2</sub> = 0,05 p <sub>1-3</sub> = 0,03 p <sub>2-3</sub> = 0,6
5 и более сегментов 5 or more segments	6 (4-13)	9 (5-13)	22 (17-26)	p <sub>1-2</sub> = 0,75 p <sub>1-3</sub> = 0,03 p <sub>2-3</sub> = 0,03
СКС ASC	1,39 (1,37-1,66)	1,73 (1,53-1,83)	1,93 (1,83-2,08)	p <sub>1-2</sub> = 0,3 p <sub>1-3</sub> = 0,01 p <sub>2-3</sub> = 0,02

Примечание. СКС – средний коэффициент сегментированности; p – уровень значимости различий; n – число обследованных пациентов в каждой группе.

Note. ASC, average segmentation coefficient; p, the level of significance of differences; n is the number of examined patients in each group.

и у пациентов с тяжелыми травмами другие авторы показали, что гиперсегментированные НГ клетки обладают иммуносупрессивным, т.е. потенциально проопухолевым эффектом [13].

В проведенных нами ранее исследованиях было выявлено, что в системной циркуляции у здоровых добровольцев доминируют НГ с умеренной степенью сегментированности (2-3 сегмента) и практически не встречаются гипер-

сегментированные формы, тогда как в крови онкобольных их содержание существенно повышено и возрастает по мере распространения опухолевого процесса [2]. Настоящее исследование продемонстрировало, что повышенное содержание в крови гиперсегментированных НГ характерно и для пациентов с предопухолевыми процессами. Известно, что к предопухолевым процессам относят усиленную пролиферацию и



гиперплазию, а также нарушения дифференцировки в виде метаплазии и дисплазии. Возникновение таких нарушений предполагает не только наличие клеток с измененным функциональным статусом, но и способность таких клеток трансформировать и подчинять себе окружающее пространство. Формирование «опухолевой ниши» является важнейшим условием малигнизации и дальнейшего развития опухоли. В состав клеточного пула «опухолевой ниши», несомненно, входят и нейтрофилы, гиперсегментация ядер которых является, по-видимому, адаптационной структурной трансформацией, необходимой для реализации функций в сформированном патологическом очаге.

Хорошо известно, что НГ инфильтрируют многие органы и ткани даже в условиях здоровья, что свидетельствует об их гистофизиологическом потенциале [1]. Причем, гомеостатическая роль нейтрофилов может быть реализована как с помощью потенциально деструктивных факторов, так и посредством влияния на экспрессию генов, контролирующих пролиферативные процессы и ангиогенез в ходе репаративных процессов [1].

Предопухолевые процессы, как и злокачественные новообразования, характеризуются усиленной пролиферацией и гиперплазией. У обследованных нами пациентов с предопухолевыми изменениями гортани содержание 4-сегментных и гиперсегментированных нейтрофилов было достоверно повышено в «пограничной» зоне и непосредственно в очаге патологического процесса. Т.е. уже на стадии предопухолевых заболеваний, вероятно, в связи с длительным хроническим воспалением, в тканевом пуле клеток происходит накопление гиперсегментированных гранулоцитов. Подобная закономерность отмечена и при анализе мазков биоптатов, полученных от пациентов с раком гортани и гортаноглотки, причем, значения средних коэффициентов сегментации из разных зон патологического очага практически совпадали с аналогичными показателями пациентов с предраками. Известно, что микроокружение опухоли характеризуется стойким воспалением, при этом обсуждается как негативная, так и позитивная роль тканевых нейтрофилов [13]. В частности, способность нейтрофилов рекрутироваться и впоследствии контролировать воспаление может являться решающим звеном в формировании опухоли и дальнейшей её прогрессии.

Сравнительный анализ степени сегментированности ядер нейтрофилов на примере опухолевого процесса у больных с локализованным и распространенным раком гортани и гортаноглотки показал, что в обеих подгруппах наблюдалась тенденция к увеличению содержания

4-сегментных и гиперсегментированных нейтрофилов и снижению менее сегментированных форм по мере приближения к зоне опухолевого очага. Средний коэффициент сегментированности также увеличивался и в зоне роста опухоли достигал максимальных значений. При этом в группе онкобольных без регионарных метастазов ( $T_{2-3}N_0M_0$ ) не наблюдалось достоверных различий по содержанию нейтрофилов разной степени сегментированности в здоровой ткани и ближайшем опухолевом окружении. В то же время у пациентов с распространенным раком ( $T_3N_{1-2}M_0$ ) в ближайшем окружении опухоли было существенно снижено число слабосегментированных гранулоцитов и повышено содержание нейтрофилов с 4-мя сегментами. Вероятно, увеличение сегментированности ядер опухоль-инфильтрирующих нейтрофилов может свидетельствовать об увеличении риска метастазирования опухоли. Подтверждением этому могут служить результаты экспериментальных исследований о способности нейтрофилов влиять на миграцию опухолевых клеток, а значит, и стимулировать метастазирование [8].

До настоящего времени остаются неразрешенными многие важные вопросы, касающиеся клеточного происхождения и разнообразия ассоциированных с опухолью нейтрофилов, в частности, закономерности их инфильтрации в опухолевую ткань, а также фенотипические изменения, которым они подвергаются в «опухолевой нише», включая происхождение N2-нейтрофилов [5]. Предположительно, нейтрофилы с проканцерогенным фенотипом (N2) могут образовываться в костном мозге под влиянием стимулов, исходящих от опухолевых клеток. Второй механизм образования нейтрофилов популяции  $N_2$  может быть связан с трансформацией нейтрофилов  $N_1$  непосредственно в опухоли под влиянием продуцируемых ею факторов [12]. В недавно проведенном экспериментальном исследовании убедительно показано, что опухолевую ткань инфильтрируют как зрелые, так и незрелые нейтрофилы костномозгового происхождения [11]. При попадании в опухоль эти субпопуляции реализуют различные эпигенетические и транскрипционные программы, обозначенные авторами как T1 и T2 (аналогичные N1 и N2). Более того, было отмечено дальнейшее перепрограммирование НГ внутри опухоли, приводящее к конвергенции T1 и T2 в новую, окончательно дифференцированную популяцию TAN, обозначенную как T3, при этом устранение факторов, способствующих дифференцировке T1/T2 в T3, не изменяло фенотип клеток на противоположный. По мнению Fridlender Z.G. и соавт., детально проанализировавших это исследование, процессы перепро-

граммирования НГ под влиянием локальных стимулов могут происходить и при многих хронических воспалительных заболеваниях [5].

Состав и плотность клеточного инфильтрата опухолевого микроокружения определяется как локальными хемокиновыми сигналами, так и миграционной способностью клеток. Высокая мобильность зрелых нейтрофилов связана, в том числе, с наличием уникальной многолопастной формы ядра, обеспечивающей быстрое проникновение в ткани через тесные межклеточные контакты [7, 14]. В таком случае гиперсегментация ядер может максимально ускорять миграционные процессы, опосредованно способствуя приобретению проопухолевого фенотипа.

## Заключение

Таким образом, на этапе предопухолевых изменений и на ранних стадиях развития опухоли ( $T_{2-3}N_0M_0$ ) состав тканевых пулов нейтрофилов

на границе патологического очага и в неизменной ткани совпадает по своим морфологическим характеристикам, но по мере распространения опухолевого процесса ( $T_3N_{1-2}M_0$ ) в популяции тканевых гранулоцитов, так же, как и в системном кровотоке [2], увеличивается доля гиперсегментированных клеток. Весьма вероятно, что отмеченные нами морфологические особенности тканевых НГ в разных зонах патологического очага отражают их функциональную гетерогенность, поэтому могут рассматриваться в качестве потенциальных предикторов развития и прогрессирования онкологических заболеваний. Совершенствование наших знаний о молекулярных механизмах, лежащих в основе гиперсегментации ядер НГ, может способствовать выбору новых терапевтических мишеней для лечения острых и хронических воспалительных процессов, а также для контроля функционального статуса нейтрофилов в очаге опухолевого роста.

## Список литературы / References

1. Долгушин И.И., Мезенцева Е.А. Нейтрофильные гранулоциты: участие в гомеостатических и репаративных процессах. Часть II // Инфекция и иммунитет, 2021. Т. 11, № 1. С. 25-41. [Dolgushin I.I., Mezentseva E.A. Neutrophil granulocytes: participation in homeostatic and reparative processes. Part II. *Infektsiya i иммунитет = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, Vol. 11, no. 1, pp. 25-41. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-NGP-1258.
2. Кологривова Е.Н., Плешко Р.И., Черемисина О.В., Болдышевская М.А. Гиперсегментация ядер нейтрофилов крови у больных с локализованным распространенным раком гортани и гортаноглотки // Медицинская иммунология, 2023. Т. 25, № 5. С. 1111-1116. [Kologrivova E.N. Pleshko R.I., Cheremisina O.V., Boldyshevskaya M.A. Hypersegmentation of neutrophil nuclei in peripheral blood of patients with localized and advanced cancer of the larynx and laryngopharynx. *Meditinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2023, Vol. 25, no. 5, pp. 1111-1116. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-HON-2715.
3. Fridlender Z.G., Sun J., Kim S., Kapoor V., Cheng G., Ling L., Worthen G.S., Albelda S.M. Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF-beta: "N1" versus "N2" TAN. *Cancer Cell*, 2009, Vol. 16, no. 3, pp. 183-194.
4. Fridlender Z.G., Albelda S.M. Tumor-associated neutrophils: friend or foe? *Carcinogenesis*, 2012, Vol. 33, no. 5, pp. 949-955.
5. Fridlender Z.G., Granot Z. Neutrophils in the tumor microenvironment – when a company becomes a crowd. *Cell. Mol. Immunol.*, 2024. doi: 10.1038/s41423-024-01147-9.
6. Jaillon S., Ponzetta A., Di Mitri D., Santoni A., Bonocchi R., Mantovani A. Neutrophil diversity and plasticity in tumour progression and therapy. *Nat. Rev. Cancer*, 2020, Vol. 20, no. 9, pp. 485-503.
7. Manley H.R., Keightley M.C., Lieschke G.J. The neutrophil nucleus: an important influence on neutrophil migration and function. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, 2867. doi: 10.3389/fimmu.2018.02867.
8. Masucci M.T., Minopoli M., Carriero M.V. Tumor associated neutrophils. Their role in tumorigenesis, metastasis, prognosis and therapy. *Front. Oncol.*, 2019, Vol. 9, 1146. doi: 10.3389/fonc.2019.01146.
9. Mishalian I., Granot Z., Fridlender Z.G. The diversity of circulating neutrophils in cancer. *Immunobiology*, 2017, Vol. 222, no. 1, pp. 82-88.
10. Murdoch C., Muthana M., Coffelt S.B., Lewis C.E. The role of myeloid cells in the promotion of tumour angiogenesis. *Nat. Rev. Cancer*, 2008, Vol. 8, no. 8, pp. 618-631.
11. Ng M.S.F., Kwok I., Tan L., Shi C., Cerezo-Wallis D., Tan Y., Leong K., Calvo G.F., Yang K., Zhang Y., Jin J., Liong K.H., Wu D., He R., Liu D., Teh Y.C., Bleriot C., Caronni N., Liu Z., Duan K., Narang V., Ballesteros I., Moalli F., Li M., Chen J., Liu Y., Liu L., Qi J., Liu Y., Jiang L., Shen B., Cheng H., Cheng T., Angeli V., Sharma A., Loh Y.H.,

Tey H.L., Chong S.Z., Iannacone M., Ostuni R., Hidalgo A., Ginhoux F., Ng L.G. Deterministic reprogramming of neutrophils within tumors. *Science*, 2024, Vol. 12, no. 383, 6679. doi: 10.1126/science.adf6493.

12. Ohms M., Moller S., Laskay T. An attempt to polarize human neutrophils toward N1 and N2 phenotypes *in vitro*. *Front. Immunol.*, 2020, Vol. 11, 532. doi: 10.3389/fimmu.2020.00532.

13. Powell D.R., Huttenlocher A. Neutrophils in the Tumor Microenvironment. *Trends Immunol.*, 2016, Vol. 37, no. 1, pp. 41-52.

14. Salvermoser M., Begandt D., Alon Rand Walzog B. Nuclear Deformation During Neutrophil Migration at Sites of Inflammation. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, 2680. doi: 10.3389/fimmu.2018.02680.

15. Uribe-Querol E., Rosales C. Neutrophils in Cancer: Two Sides of the Same Coin. *J. Immunol. Res.*, 2015, Vol. 2015, 983698. doi: 10.1155/2015/983698.

---

**Авторы:**

**Кологривова Е.Н.** — д.м.н., профессор, профессор кафедры иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

**Плешко Р.И.** — д.м.н., профессор, профессор кафедры морфологии и общей патологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

**Черемисина О.В.** — д.м.н., заведующая эндоскопическим отделением, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

---

**Authors:**

**Kologrivova E.N.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Immunology and Allergology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

**Pleshko R.I.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

**Cheremisina O.V.**, PhD, MD (Medicine), Head, Endoscopy Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

**Болдышевская М.А.** — врач клинической лабораторной диагностики патолого-анатомического отделения, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

**Геренг Е.А.** — д.м.н., доцент, профессор кафедры морфологии и общей патологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

**Насибов Т.Ф.** — студент 5 курса ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

**Boldyshevskaya M.A.**, Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Pathological and Anatomical Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

**Gereng E.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

**Nasibov T.F.**, 5<sup>th</sup> year Student, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

---

Поступила 22.03.2024  
Принята к печати 30.03.2024

---

Received 22.03.2024  
Accepted 30.03.2024



# СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ КРОВИ ПРИ ГАСТРИТЕ У ШКОЛЬНИКОВ С СЕМЕЙНОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬЮ К РАКУ ЖЕЛУДКА И ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ

Поливанова Т.В., Вшивков В.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.** Начало формирования заболеваний желудка и двенадцатиперстной кишки у взрослого населения приходится на школьный возраст. Среди ведущих факторов риска их формирования выделяют семейную предрасположенность (к язвенной болезни (ЯБ), раку желудка). Основой в их формировании выступает гастрит, активное влияние на течение которого оказывают цитокины.

Цель — изучить особенности показателей цитокинов в сыворотке крови у школьников с гастритом при семейном отягощении по раку желудка и язвенной болезни. Всего обследовано 179 школьников с гастроэнтерологическими жалобами. Всем обследуемым проведено эндоскопическое исследование с взятием биопсий из антрального отдела желудка и морфологическим подтверждением у них гастрита (Сиднейская классификация). Также определено наличие *H. pylori* морфологическим методом. Уровень цитокинов в крови (IL-2, IL-4, IL-8, IL-18, IL-1 $\beta$ , IFN $\alpha$ , TNF $\alpha$ ) установлен методом ИФА. В ходе исследования установлено, что у школьников с отягощением по ЯБ снижен IL-1 $\beta$  в сравнении с детьми без отягощения ( $p = 0,005$ ), и с детьми, имеющими отягощение по раку ( $p = 0,030$ ). Также у школьников увеличен IFN $\alpha$  при отягощении по ЯБ ( $p = 0,001$ ) и по раку желудка ( $p = 0,038$ ). Установлено снижение IL-1 $\beta$  у детей с отягощением по ЯБ, как при инфицировании *H. pylori* ( $p = 0,048$ ), так и при его отсутствии ( $p = 0,043$ ). IL-1 $\beta$  играет важную роль в иммунном ответе на инфицирование *H. pylori*. Помимо этого, известно, что при инфекции *H. pylori* повышается уровень IL-1 $\beta$ , что сопровождается ингибированием кислотности желудочного сока. Отмечено снижение IL-1 $\beta$  и увеличение IFN $\alpha$  у детей при отягощении по ЯБ независимо от активности воспаления. Помимо этого у них наблюдалось увеличение TNF $\alpha$  ( $p = 0,04$ ) при высокой активности гастрита (2-3-я ст.). Кроме того, у детей с язвенной отягощенностью при высокой активности гастрита увеличен IL-4 ( $p = 0,018$ ).

## Адрес для переписки:

Вшивков Виталий Алексеевич  
Научно-исследовательский институт  
медицинских проблем Севера  
660022, Россия, г. Красноярск,  
ул. Партизана Железняка, 3г.  
Тел.: 8 (923) 280-06-98.  
E-mail: vitali1983@mail.ru

## Address for correspondence:

Vitaliy A. Vshivkov  
Research Institute for Medical Problems for the North  
3g Partizan Zheleznyak St  
Krasnoyarsk  
660022 Russian Federation  
Phone: +7 (923) 280-06-98.  
E-mail: vitali1983@mail.ru

## Образец цитирования:

Т.В. Поливанова, В.А. Вшивков «Сравнительная характеристика цитокинового профиля крови при гастрите у школьников с семейной предрасположенностью к раку желудка и язвенной болезни» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 939-946.  
doi: 10.46235/1028-7221-16689-CCO

© Поливанова Т.В., Вшивков В.А., 2024

Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

## For citation:

T.V. Polivanova, V.A. Vshivkov “Comparative characteristics of the blood cytokine profile in gastritis in schoolchildren with a family predisposition to gastric cancer and peptic ulcer”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 939-946.  
doi: 10.46235/1028-7221-16689-CCO

© Polivanova T.V., Vshivkov V.A., 2024

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16689-CCO

Таким образом, у детей при наличии семейного отягощения как по язвенной болезни, так и по раку желудка имеются особенности ассоциации конкретных цитокинов с гастритом, а также его активностью и инфицированием *H. pylori*.

*Ключевые слова:* цитокины, дети, гастрит, язвенная болезнь, рак желудка, семейная предрасположенность

## COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE BLOOD CYTOKINE PROFILE IN GASTRITIS IN SCHOOLCHILDREN WITH A FAMILY PREDISPOSITION TO GASTRIC CANCER AND PEPTIC ULCER

Polivanova T.V., Vshivkov V.A.

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

**Abstract.** The formation of diseases of the gastric and duodenum in the adult population begins at school age. Among the leading risk factors for their formation are family predisposition (to peptic ulcer disease (PU), gastric cancer). The basis for their formation is gastritis, the course of which is actively influenced by cytokines. Aim. To study the characteristics of cytokine levels in blood serum in schoolchildren with gastritis and a family history of gastric cancer and peptic ulcer. A total of 179 schoolchildren with gastroenterological complaints were examined. All subjects underwent an endoscopic examination with biopsies taken from the antrum of the gastric and morphological confirmation of gastritis (Sydney classification). The presence of *H. pylori* was also determined by morphological method. The level of cytokines in the blood (IL-2, IL-4, IL-8, IL-18, IL-1 $\beta$ , IFN $\alpha$ , TNF $\alpha$ ) was determined by ELISA. The study found that schoolchildren with a burden of ulcer had a decreased IL-1 $\beta$  in comparison with children without aggravation ( $p = 0.005$ ), and with children with a burden of cancer ( $p = 0.030$ ). Also, IFN $\alpha$  was increased in schoolchildren with a burden of ulcerative disease ( $p = 0.001$ ) and gastric cancer ( $p = 0.038$ ). A decrease in IL-1 $\beta$  was found in children with aggravated ulcer disease, both with *H. pylori* infection ( $p = 0.048$ ) and without it ( $p = 0.043$ ). IL-1 $\beta$  plays an important role in the immune response to *H. pylori* infection. In addition, it is known that during *H. pylori* infection the level of IL-1 $\beta$  increases, which is accompanied by inhibition of gastric acidity. There was a decrease in IL-1 $\beta$  and an increase in IFN $\alpha$  in children with aggravated ulcer disease, regardless of the activity of inflammation. In addition, they observed an increase in TNF $\alpha$  ( $p = 0.04$ ) with high gastritis activity (stage 2-3). In addition, in children with ulcer burden and high gastritis activity, IL-4 is increased ( $p = 0.018$ ). Thus, in children with a family history of both peptic ulcers and gastric cancer, there are features of the association of specific cytokines with gastritis, as well as its activity and *H. pylori* infection.

*Keywords:* cytokines, children, gastritis, peptic ulcer, gastric cancer, family predisposition

### Введение

Детский возраст является истоком в развитии большинства заболеваний желудка и двенадцатиперстной кишки у взрослых, в том числе язвенной болезни (ЯБ) и рака желудка [2]. Заболевания гастродуоденальной зоны являются мультифакториальными. К ведущим факторам с негативным влиянием в их развитии относят семейную предрасположенность, особенно к таким заболеваниям, как язвенная болезнь и рак желудка [2, 10]. Изначально структурной единицей в их развитии выступает гастрит [1, 7]. Генетической основой неблагоприятного течения гастрита выступает специфика нейрогуморальной

регуляции, морфофункциональные особенности желудка. Этот факт предполагает повышенный риск развития атрофии и метаплазии [7]. Изменения микробиоты желудка и воспалительный процесс в слизистой оболочке, связанные с коинфекцией бактерией *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) и вирусом Эпштейна–Барр, имеют значение для канцерогенеза желудка [7].

В последние годы активно изучается и показано многостороннее влияние цитокинов на течение заболеваний с воспалительным генезом. Это касается вопросов регуляции гуморального и клеточного иммунитета, клеточной дифференцировки, апоптоза клеток, взаимодействия между клетками и системами и др., причем не только

в очаге воспаления, но и на системном уровне. Цитокиновый каскад определяет тип иммунного ответа на повреждение (инфекцию), а также его выраженность [5, 6].

Научные исследования показывают влияние цитокинового звена на воспалительный процесс в слизистой оболочке желудка, канцерогенез желудка и их связь с полиморфизмом цитокинов и их рецепторов [11]. Имеются данные об особенностях показателей цитокинов при гастрите, инициированном бактерией *H. pylori*, которая индуцирует продукцию широкого круга цитокинов: IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, IL-17, IL-18, IL-21 и IL-22 [3]. При этом хроническое воспаление, ассоциированное с *H. pylori*, является одной из причин канцерогенеза желудка, что сопряжено с аномальной активацией иммунных клеток и повышением уровня воспалительных цитокинов. В настоящее время, несмотря на то, что *H. pylori*-ассоциированный гастрит широко изучается, остается много неясного, требующего дополнительного изучения [7]. Таким аспектом является ассоциация конкретных цитокинов с воспалительным процессом в слизистой желудка у детей (на начальном этапе формирования) при семейном отягощении по раку желудка и язвенной болезни. Выявленные отклонения у лиц с предрасположенностью следует рассматривать неблагоприятными прогностическими маркерами с возможностью их использования в ранней профилактике столь серьезных заболеваний.

**Цель** – изучить особенности показателей цитокинов в сыворотке крови у школьников с гастритом при семейном отягощении по раку желудка и язвенной болезни.

## Материалы и методы

На первом этапе проведено поперечное скрининговое обследование детей и подростков в школах с использованием стандартных анкет. Анкеты содержали вопросы о наличии гастроинтестинальных жалоб и анамнестических сведений о родственниках 1-й и 2-й степени родства: наличие у них язвенной болезни и рака желудка.

Второй этап исследования заключался в проведении углубленного обследования школьников с гастроэнтерологическими жалобами, у которых морфологически был подтвержден диагноз гастрит. Обследование включало в себя: 1) эндоскопическое исследование пищевода и гастродуоденальной зоны с забором биопсийного материала из слизистой оболочки антрального отдела желудка для последующего изучения морфологического состояния слизистой оболочки; 2) забор образца крови объемом 5 мл для изучения содержания циркулирующих цитокинов. Образец крови центрифугировали, что позволяло отделять

сыворотку, которая до проведения исследования находилась в холодильнике при температуре -20 °С.

Критериями исключения детей из исследования являлись: 1) возраст ребенка младше 7 и старше 17 лет; 2) наличие острых воспалительных заболеваний в течение последнего месяца; 3) наличие хронических заболеваний других органов в стадии обострения; 4) функциональная недостаточность органов и систем организма; 5) наличие аллергических заболеваний; 6) отсутствие морфологических признаков гастрита. Всего на втором этапе обследовано 179 школьников. При анализе материала обследованные дети распределены на 3 группы: с семейным отягощением по ЯБ, по раку желудка и без отягощения.

Диагностика гастрита осуществлялась посредством световой микроскопии окрашенных гематоксилин-эозином биопсийных срезов. В качестве критерия в оценке степени активности гастрита использовалась интенсивность нейтрофильной инфильтрации эпителия и/или собственной пластинки слизистой желудка, которая осуществлялась в соответствии с рекомендациями, изложенными в модифицированной Сиднейской классификации. Определение *H. pylori* осуществлялось морфологическим методом после окраски биопсийного материала слизистой желудка по Гимзе [4, 12].

Определение уровня циркулирующих цитокинов в сыворотке крови (IL-2, IL-4, IL-8, IL-18, IL-1 $\beta$ , IFN $\alpha$ , TNF $\alpha$ ) осуществляли методом ИФА с использованием тест-систем АО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск, Россия).

Согласно статье 24 Конституции РФ и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964) до начала исследования все школьники и их родители были информированы о целях, методах и характере возможных осложнений во время его проведения с подписанием согласия на участие. В работе использовалось эндоскопическое оборудование Красноярского регионального центра коллективного пользования ФИЦ КНЦ СО РАН.

Анализ статистической значимости различий признаков проводили с помощью программы SPSS version 23.0 (IBM, Inc., США). Анализ статистической значимости различий качественных признаков проведен с помощью критерия  $\chi^2$ . Достоверность различий количественных признаков анализировали с помощью критерия Манна–Уитни. Результаты исследования представлены для выборок, не подчиняющихся нормальному закону распределения, медианой (Me) и интерквартильным интервалом (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>). Статистическая значимость различий признаков оценивалась при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

У обследованных, при наличии семейного отягощения по ЯБ и по раку желудка, имелись отличия содержания цитокинов в крови как между собой, так и со школьниками, не имевшими отягощения по этим нозологическим формам (табл. 1). У школьников, имеющих родственников с ЯБ наблюдалось снижение IL-1 $\beta$  в сравнении с детьми без предрасположенности ( $p = 0,005$ ), и с детьми, имеющими отягощение по раку ( $p = 0,030$ ). Также у школьников с отягощением по ЯБ наблюдалось увеличение IFN $\alpha$ , в сравнении с детьми без отягощения ( $p = 0,001$ ). Кроме того, аналогичное увеличение данного цитокина отмечено у детей и с семейным отягощением по раку желудка ( $p = 0,038$ ). IFN $\alpha$  является функциональным триггером иммунных реакций организма на повреждение [8]. Отклонения показателей конкретных цитокинов свидетельствуют о чрезмерной активации или снижении на местном уровне процессов, регуляцию которых они воплощают в действительность, что сопровождается изменениями на системном уровне цито-

киновой регуляции. При этом IFN $\alpha$  обладает не только противовирусным, но и эффектом иммуномодуляции путем повышения экспрессии рецепторов главного комплекса гистосовместимости (МНС). Есть данные об антибактериальном действии IFN $\alpha$ , реализуемом путем усиления активности ферментов, в качестве которых рассматриваются индоламин-2,3- и NO-синтетаза [9].

Исходя из того, что важнейшим негативным фактором в развитии и рака желудка и ЯБ, рассматривается инфекция *H. pylori*, был проведен анализ связи инфицирования с выявленными изменениями цитокинового профиля у детей в зависимости от отягощения в семье по этим заболеваниям (табл. 2). Установленные закономерности заключались в снижении IL-1 $\beta$ , которое отмечено у детей с семейной предрасположенностью по язвенной болезни, как при инфицировании ( $p = 0,048$ ), так и при его отсутствии ( $p = 0,043$ ) в сравнении с детьми без отягощения. Интерлейкин-1 $\beta$  играет важную роль организма в иммунном ответе на инфицирование *H. pylori*. Помимо этого, известно, что при инфекции *H. pylori* повышается экспрессия IL-1 $\beta$ , что со-

**ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ У ДЕТЕЙ С ГАСТРИТОМ ПРИ СЕМЕЙНОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ И РАКУ ЖЕЛУДКА**

TABLE 1. THE CONTENT OF CYTOKINES IN THE BLOOD IN CHILDREN WITH GASTRITIS WITH A FAMILY PREDISPOSITION TO PEPTIC ULCERS AND GASTRIC CANCER

Цитокины Cytokines	1. Семейная предрасположенность к язвенной болезни + Family predisposition to peptic ulcer disease + (n = 64)			2. Семейная предрасположенность к раку желудка + Family predisposition to gastric cancer + (n = 14)			3. Без семейной предрасположенности No family history (n = 101)			p		
	Me	Q <sub>0,25</sub>	Q <sub>0,75</sub>	Me	Q <sub>0,25</sub>	Q <sub>0,75</sub>	Me	Q <sub>0,25</sub>	Q <sub>0,75</sub>	1-2	1-3	2-3
IL-2	0,1	0,1	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,133	0,069	0,561
IL-4	1,6	0,8	2,0	1,5	1,1	2,3	1,1	0,4	1,9	0,761	0,076	0,148
IL-8	14,8	0,1	74,5	20,9	5,8	68,7	13,0	0,1	89,6	0,339	0,771	0,364
IL-18	127,7	70,1	181,6	130,7	70,0	253,7	128,3	81,4	215,9	0,491	0,604	0,775
IL-1 $\beta$	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,030	0,005	0,843
IFN $\alpha$	0,7	0,1	1,7	0,6	0,1	1,8	0,1	0,1	0,1	1,0	0,001	0,038
TNF $\alpha$	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,340	0,166	0,593

Примечание. n – число детей; p – уровень значимости.

Note. n, number of children; p, level of significance.



пряжено с ингибированием кислотности желудочного сока [14]. Не исключено, что снижение IL-1β у детей с семейным отягощением по ЯБ является генетически обусловленной функциональной особенностью, в связи с которой в должной мере не подавляется кислотная продукция при *H. pylori*-ассоциированном гастрите и это повышает агрессивность желудочного содержимого и риск формирования ЯБ. Различий уровня IL-1β в крови у детей с семейным отягощением по раку

желудка в сравнении с детьми без отягощения, в зависимости от инфицирования установить не удалось. Данный факт мы связываем, в большей степени, с влиянием на результат малочисленности группы детей с отягощением.

У инфицированных детей имелось увеличение IFNα при наличии отягощения по ЯБ (p = 0,046). Тогда как у неинфицированных более высокое его содержание выявлено не только у детей с отягощением по ЯБ (p = 0,002), но и с отягощением

**ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ У ДЕТЕЙ С ГАСТРИТОМ ПРИ СЕМЕЙНОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ, РАКУ ЖЕЛУДКА И НАЛИЧИИ *H. PYLORI***

TABLE 2. THE CONTENT OF CYTOKINES IN THE BLOOD IN CHILDREN WITH GASTRITIS WITH A FAMILY PREDISPOSITION TO PEPTIC ULCERS, GASTRIC CANCER AND THE PRESENCE OF *H. PYLORI*

<i>H. pylori</i>	Цитокины Cytokines	1. Семейная предрасположенность к язвенной болезни + Family predisposition to peptic ulcer disease +			2. Семейная предрасположенность к раку желудка + Family predisposition to gastric cancer +			3. Без семейной предрасположенности No family history			p		
		Me	Q <sub>0,25</sub>	Q <sub>0,75</sub>	Me	Q <sub>0,25</sub>	Q <sub>0,75</sub>	Me	Q <sub>0,25</sub>	Q <sub>0,75</sub>	1-2	1-3	2-3
<i>H. pylori</i> + (nЯБ+ = 29; nРЖ+ = 7; nЯБ-, РЖ- = 55) <i>H. pylori</i> + (nПУ+ = 29; nGC+ = 7; nПУ-, GC- = 55)	IL-2	0,1	0,1	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,287	0,203	0,728
	IL-4	1,5	0,4	2,0	1,3	0,8	1,8	1,0	0,5	1,8	0,981	0,360	0,605
	IL-8	22,6	0,7	89,9	21,6	13,4	62,9	16,4	0,1	92,0	0,969	0,531	0,647
	IL-18	124,6	34,6	186,4	70,0	25,9	304,4	160,3	102,9	235,1	0,712	0,171	0,300
	IL-1β	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,3	1,0	0,048	0,587
	IFNα	1,4	0,1	1,5	0,5	0,1	0,7	0,1	0,1	1,3	0,702	0,046	0,406
	TNFα	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,784	0,050	1,0
<i>H. pylori</i> - (nЯБ+ = 29; nРЖ+ = 7; nЯБ-, РЖ- = 41) <i>H. pylori</i> - (nПУ+ = 29; nРЖ+ = 7; nПУ-, GC- = 41)	IL-2	0,1	0,1	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,505	0,167	0,932
	IL-4	1,6	0,8	2,0	1,7	1,3	2,8	1,1	0,4	1,9	0,398	0,139	0,074
	IL-8	7,8	0,1	57,5	19,7	2,9	74,7	7,6	0,1	84,5	0,387	0,771	0,380
	IL-18	108,0	70,1	154,8	176,2	124,3	253,7	117,7	24,1	155,3	0,035	0,924	0,130
	IL-1β	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	4,6	0,1	0,1	0,2	0,345	0,043	0,795
	IFNα	0,1	0,1	1,5	1,5	0,1	1,9	0,1	0,1	0,1	0,410	0,002	0,042
	TNFα	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	1,0	0,289	0,929

Примечание. n – число детей; ЯБ – язвенная болезнь; РЖ – рак желудка; p – уровень значимости.

Note. n, number of children; PU, peptic ulcer; GC, gastric cancer; p, level of significance.

**ТАБЛИЦА 3. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ У ДЕТЕЙ С РАЗЛИЧНОЙ АКТИВНОСТЬЮ АНТРАЛЬНОГО ГАСТРИТА ПРИ СЕМЕЙНОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ И РАКУ ЖЕЛУДКА**

TABLE 3. THE CONTENT OF CYTOKINES IN THE BLOOD IN CHILDREN WITH VARYING ACTIVITY OF ANTRAL GASTRITIS WITH A FAMILY PREDISPOSITION TO PEPTIC ULCERS AND GASTRIC CANCER

Активность гастрита Gastritis activity	Цитокины Cytokines	1. Семейная предрасположенность к язвенной болезни + Family predisposition to peptic ulcer disease +			2. Семейная предрасположенность к раку желудка + Family predisposition to gastric cancer +			3. Без семейной предрасположенности No family history			p		
		Me	Q <sub>0,25</sub>	Q <sub>0,75</sub>	Me	Q <sub>0,25</sub>	Q <sub>0,75</sub>	Me	Q <sub>0,25</sub>	Q <sub>0,75</sub>	1-2	1-3	2-3
<b>1 степень (nЯБ+ = 34; nРЖ+ = 6; nЯБ-, РЖ- = 47)</b> 1 <sup>st</sup> degree (nPU+ = 34; nGC+ = 6; nPU-, GC- = 47)	IL-2	0,1	0,1	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,596	0,312	0,741
	IL-4	1,1	0,4	1,6	0,6	0,1	0,9	1,0	0,3	1,8	0,381	0,934	0,433
	IL-8	8,8	0,1	40,0	12,4	3,2	54,2	7,8	0,1	76,7	0,897	0,526	0,826
	IL-18	111,0	102,4	209,0	123,2	96,5	297,4	129,6	65,9	293,2	0,817	0,566	0,762
	IL-1β	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,966	0,049	0,648
	IFNα	0,1	0,1	1,7	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,315	0,001	0,831
	TNFα	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	1,0	1,0	1,0
<b>2-3 степень (nЯБ+ = 30; nРЖ+ = 8; nЯБ-, РЖ- = 54)</b> 2-3 degree (nPU+ = 30; nGC+ = 8; nPU-, GC- = 54)	IL-2	0,1	0,1	0,5	0,1	0,1	1,2	0,1	0,1	0,1	0,641	0,129	0,941
	IL-4	1,9	0,9	2,3	1,4	1,1	2,0	1,1	0,5	1,7	0,921	0,018	0,363
	IL-8	24,3	0,8	86,4	19,7	7,6	47,5	7,2	0,1	89,8	0,727	0,380	0,786
	IL-18	113,7	33,2	162,6	96,4	74,9	141,4	126,1	50,2	227,3	0,947	0,326	0,471
	IL-1β	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	3,2	0,1	0,1	0,1	0,524	0,082	0,857
	IFNα	0,6	0,1	1,5	0,1	0,1	1,6	0,1	0,1	1,1	0,344	0,016	0,712
	TNFα	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,771	0,040	1,0

Примечание. n – число детей; ЯБ – язвенная болезнь; РЖ – рак желудка; p – уровень значимости.

Note. n, number of children; PU, peptic ulcer; GC, gastric cancer; p, level of significance.

по раку желудка ( $p = 0,042$ ). Важно, что в условия бактериальной инвазии *H. pylori* у детей с язвенной болезнью в анамнезе в сравнении с детьми без отягощения, был повышен уровень TNFα ( $p = 0,05$ ). Учитывая наиболее важную роль рассматриваемого цитокина в развитии воспалительной реакции, можно говорить о резкой ее активации у данной категории лиц, которая, очевидно, влечет за собой и большую активность, о чем свидетельствуют научные исследования [13]. Вполне вероятно, что это может указывать на

своеобразие и даже дефект каких-либо других звеньев иммунного ответа.

Кроме того, среди неинфицированных установлено отличие между детьми с отягощением по ЯБ и по раку желудка. У последних отмечено существенное повышение IL-18 ( $p = 0,035$ ), который, как известно, индуцирует продукцию IFNγ и рассматривается одним из ведущих регуляторов противоинфекционной и противоопухолевой защиты организма. Усиление иммуномодулирующих регуляторов на системном уровне, можно

предположить, что обусловлено снижением иммунных реакций на местном уровне – в слизистой оболочке желудка, которое имеет генетическую основу.

Цитокины в большей степени ассоциируют с воспалительным процессом, специфика течения которого, по мнению исследователей, и является фактором неблагоприятия у лиц с семейной предрасположенностью. В этой связи мы проанализировали связь показателей изучаемых цитокинов с активностью гастрита (табл. 3). Обращает на себя внимание снижение IL-1 $\beta$  у детей при отягощении по ЯБ независимо от активности воспалительного процесса в сравнении с детьми без отягощения ( $p = 0,049$  – при 1-й степени активности гастрита и  $p = 0,082$  при 2-3-й степени). Аналогичная закономерность касалась и увеличения у них IFN $\alpha$  ( $p = 0,001$  – при 1-й степени активности гастрита и  $p = 0,016$  при 2-3-й степени).

Помимо данных показателей у школьников с семейным отягощением по ЯБ наблюдалось увеличение содержания TNF $\alpha$  ( $p = 0,04$ ) при высокой активности гастрита (2-3-й ст.), о котором

мы предполагали, когда отмечали его увеличение у этой группы школьников при наличии *H. pylori*. Кроме того, у детей с язвенной отягощенностью в случае высокой активности гастрита отмечено увеличение IL-4 ( $p = 0,018$ ), который стимулирует синтез некоторых цитокинов, таких как TNF, подавление активности макрофагов. Известно, что у лиц с ЯБ страдают пролиферативные процессы, лежащие в основе образования язвенного дефекта в слизистой и, очевидно, это присутствует и у лиц с семейной предрасположенностью. Увеличение IL-4 на системном уровне, скорее всего, направлено на активацию пролиферативных процессов в слизистой с участием всего организма, активатором которой он является [11].

## Заключение

Таким образом, у детей при наличии семейного отягощения, как по язвенной болезни, так и по раку желудка имеются особенности ассоциации конкретных цитокинов с гастритом, а также его активностью и инфицированием *H. pylori*.

## Список литературы / References

1. Поливанова Т.В., Вшивков В.А. Распространенность САGA штамма *H. pylori* и характеристика ассоциированного с ним гастрита у школьников с синдромом диспепсии в республике Тыва // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология, 2014. Т. 109, № 9. С. 52-55. [Polivanova T.V., Vshivkov V.A. Prevalence of *H. pylori* САGA strain and characteristics of associated gastritis in schoolchildren with dyspepsia syndrome in Tyva Republic. *Ekspierimentalnaya i klinicheskaya gastroenterologiya = Experimental and Clinical Gastroenterology*, 2014, Vol. 109, no. 9, pp. 52-55. (In Russ.)]
2. Харитонов Л.А., Григорьев К.И., Запруднов А.М. От идеи к реалиям: современные успехи детской гастроэнтерологии // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология, 2019. Т. 171, № 11. С. 4-15. [Kharitonova L.A., Grigoriev K.I., Zaprudnov A.M. From an idea to realities: modern successes of children's gastroenterology. *Ekspierimentalnaya i klinicheskaya gastroenterologiya = Experimental and Clinical Gastroenterology*, 2019, Vol. 171, no. 11, pp. 4-15. (In Russ.)]
3. Bagheri N., Azadegan-Dehkordi F., Shirzad H., Rafeian-Kopaei M., Rahimian G., Razavi A. The biological functions of IL-17 in different clinical expressions of *Helicobacter pylori*-infection. *Microb. Pathog.*, 2015, no. 81, pp. 33-38.
4. Dixon M.F., Genta R.M., Yardley J.H., Correa P. Histological classification of gastritis and *Helicobacter pylori* infection: an agreement at last? The International Workshop on the Histopathology of Gastritis. *Helicobacter*, 1997, Vol. 2, no. 1, pp. 17-24.
5. Felice C., Dal Buono A., Gabbiadini R., Rattazzi M., Armuzzi A. Cytokines in spondyloarthritis and inflammatory bowel diseases: from pathogenesis to therapeutic implications. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, Vol. 24, no. 4, 3957. doi: 10.3390/ijms24043957.
6. Lambrecht B.N., Hammad H., Fahy J.V. The Cytokines of Asthma. *Immunity*, 2019, Vol. 50, no. 4, pp. 975-991.
7. Lim N.R., Chung W.C. *Helicobacter pylori*-associated chronic atrophic gastritis and progression of gastric carcinogenesis. *Korean J. Gastroenterol.*, 2023, Vol. 82, no. 4, pp. 171-179.
8. Liu X., Diedrichs-Möhring M., Wildner G. The role of IFN- $\alpha$  in experimental and clinical uveitis. *Ocul. Immunol. Inflamm.*, 2019, Vol. 27, no. 1, pp. 23-33.
9. Liu Y., Lv J., Liu J., Liang X., Jin X., Xie J., Zhang L., Chen D., Fiskesund R., Tang K., Ma J., Zhang H., Dong W., Mo S., Zhang T., Cheng F., Zhou Y., Jia Q., Zhu B., Kong Y., Guo J., Zhang H., Hu Z.W., Cao X., Qin F.X., Huang B. STAT3/p53 pathway activation disrupts IFN- $\beta$ -induced dormancy in tumor-repopulating cells. *J. Clin. Invest.*, 2018, Vol. 128, no. 3, pp. 1057-1073.
10. Smyth E.C., Nilsson M., Grabsch H.I., Grieken N.C., Lordick F. Gastric cancer. *Lancet*, 2020, Vol. 396, no. 10251, pp. 635-648.

11. Song X., Traub B., Shi J., Kornmann M. Possible roles of Interleukin-4 and -13 and their receptors in gastric and colon cancer. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, Vol. 22, no. 2, 727. doi: 10.3390/ijms22020727
12. Sugano K., Tack J., Kuipers E.J., Graham D.Y., El-Omar E.M., Miura S., Haruma K., Asaka M., Uemura N., Malfertheiner P. Kyoto global consensus report on Helicobacter pylori gastritis. *Gut*, 2015, Vol. 64, no. 9, pp. 1353-1367.
13. Sukanuma M., Watanabe T., Sueoka E., Lim I.K., Fujiki H. Role of TNF- $\alpha$ -inducing protein secreted by helicobacter pylori as a tumor promoter in gastric cancer and emerging preventive strategies. *Toxins (Basel)*, 2021, Vol. 13, no. 3, 181. doi: 10.3390/toxins13030181.
14. Yuan X.Y., Zhang Y., Zhao X., Chen A., Liu P. IL-1 $\beta$ , an important cytokine affecting Helicobacter pylori-mediated gastric carcinogenesis. *Microb. Pathog.*, 2023, no. 174, 105933. doi: 10.1016/j.micpath.2022.105933.

---

**Авторы:**

**Поливанова Т.В.** — д.м.н., главный научный сотрудник клинического отделения патологии пищеварительной системы у взрослых и детей, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», г. Красноярск, Россия

**Вшивков В.А.** — к.м.н., старший научный сотрудник клинического отделения патологии пищеварительной системы у взрослых и детей, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», г. Красноярск, Россия

**Authors:**

**Polivanova T.V.**, PhD, MD (Medicine), Chief Research Associate, Clinical Department of Pathology of the Digestive System in Adults and Children, Research Institute of Medical Problems for the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

**Vshivkov V.A.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Clinical Department of Pathology of the Digestive System in Adults and Children, Research Institute of Medical Problems for the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

---

Поступила 28.03.2024  
Отправлена на доработку 30.03.2024  
Принята к печати 03.04.2024

Received 28.03.2024  
Revision received 30.03.2024  
Accepted 03.04.2024



## ЦИТОКИНЫ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ЭРОЗИВНЫМ ГАСТРИТОМ

Поливанова Т.В., Вшивков В.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.** Цель — оценить цитокиновый профиль сыворотки крови у детей с эрозивным гастритом в зависимости от активности воспалительного процесса, бактериальной инвазии *H. pylori* и семейной предрасположенности к язвенной болезни. Проведена гастроскопия с забором биопсийного материала из слизистой желудка 168 детям в возрасте 7-17 лет с гастроэнтерологическими жалобами. В дальнейшем, при морфологическом исследовании биоптатов у всех обследованных подтвержден диагноз «гастрит» и проведено определение инвазии *H. pylori*. Методом иммуоферментного анализа установлено содержание цитокинов в сыворотке крови (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, IL-1 $\beta$ , IFN $\alpha$ , TNF $\alpha$ ).

При анализе показателей содержания цитокинов у инфицированных *H. pylori* школьников различия концентрации цитокинов отсутствовали ( $p > 0,05$ ). В то время как у неинфицированных детей при наличии эрозивных изменений отмечено снижение содержания IL-2 ( $p = 0,026$ ). У лиц с семейным отягощением по язвенной болезни при эрозивном гастрите наблюдалось увеличение содержания IL-8 ( $p = 0,006$ ), который, как известно, выполняет важную роль в поддержании врожденного иммунитета. Тогда как в отсутствие семейной предрасположенности у школьников с эрозивным гастритом отмечено снижение IL-2 ( $p = 0,027$ ), что аналогично содержанию IL-2 у школьников с эрозивным гастритом без инфицирования *H. pylori*. IL-2 рассматривается активатором противоопухолевого ответа, и это его свойство активно изучается у больных с раком желудка. В контексте этих данных можно предположить, что у лиц с эрозивным гастритом даже без семейной предрасположенности и инфицирования *H. pylori* наблюдается ингибирование синтеза IL-2. Что является причиной такого влияния — вопрос открытый.

Таким образом, многообразие составляющих цитокинового профиля, участвующих в регуляции воспалительного процесса, и воздействующих негативных факторов формируют трудности в оценке и тем более предсказании роли и значения изменения содержания конкретного цитокина в сыворотке крови у детей при эрозивном гастрите.

**Ключевые слова:** цитокины, дети, гастрит, эрозия, *Helicobacter pylori*, язвенная болезнь, семейная предрасположенность

---

### Адрес для переписки:

Вшивков Виталий Алексеевич  
Научно-исследовательский институт  
медицинских проблем Севера  
660022, Россия, г. Красноярск,  
ул. Партизана Железняка, 3г.  
Тел.: 8 (923) 280-06-98.  
E-mail: vitali1983@mail.ru

### Address for correspondence:

Vitaliy A. Vshivkov  
Research Institute for Medical Problems of the North  
3g Partizan Zheleznyak St  
Krasnoyarsk  
660022 Russian Federation  
Phone: +7 (923) 280-06-98.  
E-mail: vitali1983@mail.ru

---

### Образец цитирования:

Т.В. Поливанова, В.А. Вшивков «Цитокины крови у детей с эрозивным гастритом» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 947-952.  
doi: 10.46235/1028-7221-16789-BCI

© Поливанова Т.В., Вшивков В.А., 2024  
Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

### For citation:

T.V. Polivanova, V.A. Vshivkov "Blood cytokines in children with erosive gastritis", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 947-952.  
doi: 10.46235/1028-7221-16789-BCI

© Polivanova T.V., Vshivkov V.A., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16789-BCI

## BLOOD CYTOKINES IN CHILDREN WITH EROSIIVE GASTRITIS

Polivanova T.V., Vshivkov V.A.

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

**Abstract.** Aim: To evaluate the cytokine profile of blood serum in children with erosive gastritis depending on the activity of the inflammatory process, bacterial invasion of *H. pylori* and family predisposition to peptic ulcer disease. Gastroscopy was performed with the collection of biopsy material from the gastric mucosa in 168 children aged 7-17 years with gastroenterological complaints. Subsequently, a morphological examination of biopsy specimens confirmed the diagnosis of gastritis in all examined patients and determined *H. pylori* invasion. The content of cytokines in the blood serum (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, IL-1 $\beta$ , IFN $\alpha$ , TNF $\alpha$ ) was determined using the enzyme immunoassay method. When analyzing cytokine levels in schoolchildren infected with *H. pylori*, there were no differences in cytokine concentrations ( $p > 0.05$ ). While in uninfected children in the presence of erosive changes, a decrease in IL-2 content was noted ( $p = 0.026$ ). In individuals with a family history of peptic ulcer disease with erosive gastritis, an increase in the content of IL-8 was observed ( $p = 0.006$ ), which is known to play an important role in maintaining innate immunity. Whereas, in the absence of a family predisposition, schoolchildren with erosive gastritis showed a decrease in IL-2 ( $p = 0.027$ ), which is similar to the level of IL-2 in schoolchildren with erosive gastritis without *H. pylori* infection. IL-2 is considered an activator of the antitumor response and this property is being actively studied in patients with gastric cancer. In the context of these data, it can be assumed that in individuals with erosive gastritis, even without a family predisposition and *H. pylori* infection, inhibition of IL-2 synthesis is observed. What causes this influence is an open question. Thus, the variety of components of the cytokine profile involved in the regulation of the inflammatory process and the influencing negative factors create difficulties in assessing and, even more so, predicting the role and significance of changes in the content of a particular cytokine in the blood serum in children with erosive gastritis.

**Keywords:** cytokines, children, gastritis, erosion, *Helicobacter pylori*, peptic ulcer, family predisposition

### Введение

Гастрит с эрозиями характеризуется нарушением целостности слизистой оболочки желудка в виде образования эрозий и является достаточно частой патологией в детском возрасте. В развитии эрозивного гастрита особую значимость имеют факторы, способствующие формированию агрессивного желудочного содержимого, в первую очередь касающиеся его кислотности [1]. В частности, к этому относятся нарушения гормональной регуляции выработки соляной кислоты, и, прежде всего, это затрагивает такие гормоны, как ацетилхолин, гастрин и медиатор желудочной секреции гистамин [5].

Среди других факторов с выраженным негативным влиянием на риск развития эрозивного гастрита рассматривается инфекция *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) [9]. При этом чрезмерная стимуляция и выработка соляной кислоты приводит к нарушению слизистого барьера и повреждению слизистой желудка и воспалению. Одними из ведущих регуляторов данных процессов выступают цитокины, обеспечивающие поддержание на физиологическом уровне процессов регенерации и апоптоза. В этом контексте следует указать на семейную предрасположенность по язвенной болезни, которую характеризует, согласно научным

данным, высокая кислотная продукция в желудке, базирующаяся на морфо-функциональных особенностях желудка у данных лиц [12]. Активность гастрита также рассматривается ключевым фактором в патогенезе эрозивного гастрита, что сопряжено с нарушением процессов физиологической регенерации, которая во многом определяется наличием инфицирования *H. pylori*.

Учитывая мультифакториальность гастрита, сохраняется актуальность исследования механизмов регуляции и реализации про- и противовоспалительных эффектов цитокинов. Это позволит лучше понять патофизиологические процессы, приводящие к развитию эрозий в желудке.

Функциональное разнообразие цитокиновой сети в плане регуляции воспалительного процесса в слизистой оболочке желудка позволяет им выступать в качестве эффективных реагентов на повреждение, в том числе связанное с инфекционными патогенами [6, 8]. При этом обнажается функциональная несостоятельность того или иного звена, обеспечивающего физиологическое течение воспалительного процесса, в том числе затрагивающего иммунный ответ на инфекцию, процессы пролиферации. А при усилении воздействия агрессивных факторов на слизистую желудка в определенный момент требуется бо-

лее выраженный защитный ответ на системном уровне с привлечением всего организма.

**Цель** — оценить цитокиновый профиль сыворотки крови у детей с эрозивным гастритом в зависимости от активности воспалительного процесса, бактериальной инвазии *H. pylori* и семейной предрасположенности к язвенной болезни.

## Материалы и методы

Было оценено содержание цитокинов (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, IL-1 $\beta$ , IFN $\alpha$ , TNF $\alpha$ ) в сыворотке крови у школьников в возрасте 7-17 лет с гастритом. Исследование осуществлялось в два этапа.

На первом этапе скрининговым методом проведен подбор детей для углубленного исследования. Для этого использовались стандартные анкеты, которые содержали комплекс вопросов о наличии у ребенка гастроэнтерологических жалоб: диспепсические жалобы, абдоминальные боли с различной локализацией, изжога, нарушения стула и т. д. Критериями исключения детей из дальнейшего исследования являлись: 1. Возраст ребенка младше 7 и старше 17 лет; 2. Наличие острых воспалительных заболеваний в течение последнего месяца; 3. Наличие хронических заболеваний других органов в стадии обострения; 4. Функциональная недостаточность органов и систем организма; 5. Наличие аллергических заболеваний; 6) Отсутствие морфологических признаков гастрита; 7) Наличие язвенной болезни; 8) Наличие сведений об эрадикационной терапии *H. pylori* в течение последних 2 месяцев.

На втором этапе 168 детям с гастроэнтерологическими жалобами проведена эзофагогастродуоденоскопия с забором биопсийного материала из слизистой оболочки желудка. В дальнейшем, после соответствующей подготовки биоптатов морфологическим исследованием был подтвержден диагноз «гастрит». При анализе материала мы разделили всех обследованных детей на 2 группы: с эрозиями в желудке и без них.

Наличие и активность воспалительного процесса в слизистой оболочке желудка определяли морфологически с использованием световой микроскопии биопсийных срезов после окраски гематоксилин-эозином (Сиднейская классификация), базирующуюся на оценке интенсивности нейтрофильной инфильтрации эпителия и/или собственной пластинки. Подтверждение бактериальной инвазии *H. pylori* осуществлялось морфологическим методом — в биопсийных срезах после их окраски по Гимзе [4, 10].

Определение содержания цитокинов в сыворотке крови (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, IL-1 $\beta$ , IFN $\alpha$ , TNF $\alpha$ ) проводили методом иммуноферментного анализа с применением тест-

систем АО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Для этого производился забор крови у обследуемых объемом 5 мл, которую центрифугировали, отделяли сыворотку и хранили при температуре -20 °С до проведения методики в соответствии с инструкцией производителя.

Протокол исследования соответствует этическим принципам статьи 24 Конституции РФ и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. У всех участников исследования предварительно были получены письменные информированные согласия. В работе использовалось эндоскопическое оборудование Красноярского регионального центра коллективного пользования ФИЦ КНЦ СО РАН.

Анализ статистической значимости различий признаков проводили с помощью программы SPSS version 23.0 (IBM, Inc., США). Значимость различий признаков оценивали с использованием критерия Манна–Уитни. Результаты исследования представлены для выборок, не подчиняющихся нормальному закону распределения, медианой (Me) и интерквартильным интервалом (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>). Статистическая значимость оценивалась при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Анализируя показатели цитокинов, мы в целом не выявили существенных различий у детей с эрозиями и без них (табл. 1). Имелась лишь незначимая тенденция в снижении содержания в крови IL-2 у детей с эрозиями ( $p = 0,077$ ).

Аналогичным образом было проанализировано содержание цитокинов изучаемого профиля у школьников с эрозивным гастритом в зависимости от инфицирования *H. pylori* (табл. 2). Установлено, что среди инфицированных детей значимые отклонения концентраций цитокинов крови в зависимости от наличия эрозивных дефектов в желудке отсутствовали ( $p > 0,05$ ). Тем самым, очевидно, этот результат подчеркивает доминирующее влияние инфекции на течение воспалительного процесса в слизистой оболочке желудка, являясь как его триггером, так и влияя на его прогрессирование. В то время как у неинфицированных детей при наличии эрозивных изменений слизистой оболочки желудка отмечено снижение содержания IL-2 ( $p = 0,026$ ).

Учитывая научную догму о выраженном негативном влиянии инфекции *H. pylori* на течение воспалительного процесса в слизистой желудка, в том числе на риск формирования эрозий, мы предположили, что *H. pylori* может оказывать свое агрессивное воздействие на процесс в определенных условиях. В частности у лиц с особенностями морфо-функциональных характеристик желудка, предопределяемых генетическими механизмами, и заболевание может иметь регуляторную спец-

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ЭРОЗИВНЫМ ГАСТРИТОМ

TABLE 1. CONTENT OF CYTOKINES IN BLOOD SERUM IN CHILDREN WITH EROSIIVE GASTRITIS

Цитокины Cytokines	Эрозии+ Erosion+ (n = 26)			Эрозии- Erosion- (n = 142)			p
	Me	Q <sub>0,25</sub>	Q <sub>0,75</sub>	Me	Q <sub>0,25</sub>	Q <sub>0,75</sub>	
IL-2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,077
IL-4	1,1	0,4	1,9	1,3	0,6	1,9	0,682
IL-6	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,488
IL-8	16,8	0,1	83,2	16,4	0,1	82,8	0,973
IL-18	126,1	89,5	196,0	121,9	66,9	183,1	0,763
IL-1β	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,208
IFNα	0,1	0,1	1,7	0,1	0,1	1,5	0,833
TNFα	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,453
IL-10	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,696

Примечание. n – число детей; p – уровень значимости.

Note. n, number of children; p, level of significance.

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ЭРОЗИВНЫМ ГАСТРИТОМ И ПРИ НАЛИЧИИ *H. PYLORI*

TABLE 2. CONTENT OF CYTOKINES IN BLOOD SERUM IN CHILDREN WITH EROSIIVE GASTRITIS AND IN THE PRESENCE OF *H. PYLORI*

<i>H. pylori</i>	Цитокины Cytokines	Эрозии+ Erosion+			Эрозии- Erosion-			p
		Me	Q <sub>0,25</sub>	Q <sub>0,75</sub>	Me	Q <sub>0,25</sub>	Q <sub>0,75</sub>	
<i>H. pylori</i> + (n Эрозии+ = 13; n Эрозии- = 78) (n Erosion+ = 13; n Erosion- = 78)	IL-2	0,1	0,1	0,3	0,1	0,1	0,1	0,783
	IL-4	1,0	0,1	2,1	1,2	0,5	1,9	0,581
	IL-6	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,754
	IL-8	2,5	0,1	60,5	22,0	0,1	92,4	0,270
	IL-18	120,8	68,6	207,7	131,6	61,2	219,7	0,726
	IL-1β	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,257
	IFNα	0,1	0,1	1,5	0,1	0,1	1,5	0,812
	TNFα	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,562
	IL-10	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,925
<i>H. pylori</i> - (n Эрозии+ = 13; n Эрозии- = 64) (n Erosion+ = 13; n Erosion- = 64)	IL-2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,4	0,026
	IL-4	1,6	0,6	1,9	1,5	0,7	1,9	0,907
	IL-6	0,1	0,1	32,6	0,1	0,1	0,1	0,391
	IL-8	74,9	0,1	114,5	7,5	0,1	72,1	0,306
	IL-18	140,2	93,2	202,6	111,0	68,7	164,0	0,408
	IL-1β	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,442
	IFNα	0,1	0,1	1,7	0,1	0,1	1,3	0,928
	TNFα	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,647
	IL-10	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,797

Примечание. n – число детей; p – уровень значимости.

Note. n, number of children; p, level of significance.



**ТАБЛИЦА 3. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ЭРОЗИВНЫМ ГАСТРИТОМ ПРИ СЕМЕЙНОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ**

TABLE 3. THE CONTENT OF CYTOKINES IN BLOOD SERUM IN CHILDREN WITH EROSIIVE GASTRITIS WITH A FAMILY PREDISPOSITION TO PEPTIC ULCER DISEASE

Семейная предрасположенность к язвенной болезни Family predisposition to peptic ulcer disease	Цитокины Cytokines	Эрозии+ Erosion+			Эрозии- Erosion-			p
		Me	Q <sub>0,25</sub>	Q <sub>0,75</sub>	Me	Q <sub>0,25</sub>	Q <sub>0,75</sub>	
<b>Есть</b> (n Эрозии+ = 9; n Эрозии- = 58) Yes (n Erosion+ = 9; n Erosion- = 58)	IL-2	0,1	0,1	0,8	0,1	0,1	0,3	0,991
	IL-4	1,7	0,9	2,2	1,5	0,8	2,0	0,663
	IL-6	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,827
	IL-8	86,4	60,5	170,1	13,8	0,1	49,3	0,006
	IL-18	171,4	116,3	224,8	111,0	66,6	174,0	0,144
	IL-1β	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,485
	IFNα	0,4	0,2	2,2	0,5	0,1	1,6	0,440
	TNFα	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,575
<b>Нет</b> (n Эрозии+ = 17; n Эрозии- = 84) No (n Erosion+ = 17; n Erosion- = 84)	IL-2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,027
	IL-4	0,7	0,1	1,7	1,1	0,5	1,8	0,381
	IL-6	0,1	0,1	23,3	0,1	0,1	0,1	0,738
	IL-8	0,6	0,1	37,0	20,7	0,1	92,0	0,073
	IL-18	102,9	20,4	127,0	129,3	70,5	227,3	0,169
	IL-1β	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,239
	IFNα	0,1	0,1	0,9	0,1	0,1	0,7	0,728
	TNFα	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,649
IL-10	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,673	

Примечание. n – число детей; p – уровень значимости.

Note. n, number of children; p, level of significance.

ифику цитокиновой сети, что обнажает те или иные стороны функциональной несостоятельности системы.

Так, у лиц с семейным отягощением по язвенной болезни (табл. 3) при эрозивном гастрите наблюдалось увеличение содержания IL-8 (p = 0,006), который, как известно, выполняет важную роль в поддержании врожденного иммунитета [11]. Системное повышение IL-8 может отражать снижение иммунного ответа на местном уровне у лиц с семейной предрасположенностью к язвенной болезни. Тогда как в отсутствие семейной предрасположенности, у школьников с эрозивным гастритом отмечено снижение IL-2 (p = 0,027), что аналогично содержанию IL-2 у школьников с эрозивным гастритом без инфицирования *H. pylori* (табл. 2). IL-2 рассматривается активатором противоопухолевого ответа и это его свойство активно изучается у больных с раком желудка [3, 7]. Наряду с этим, есть экспериментальные исследования, показавшие, что колонизация слизистой желудка *H. pylori*, которая является фактором риска развития рака желудка и

язвенной болезни, сопряжена с ингибированием выработки IL-2. При этом в качестве субстрата, обеспечивающего данное негативное влияние на цитокиновый ответ организма на инфекцию рассматривается токсин VacA [2]. В контексте этих данных можно предположить, что у лиц с эрозивным гастритом даже в отсутствие влияния столь значимых факторов, как семейная предрасположенность и инфицирование *H. pylori*, наблюдается ингибирование синтеза IL-2. Что является причиной такого влияния – вопрос открытый.

## Заключение

Таким образом, многообразие составляющих цитокинового профиля, участвующих в регуляции воспалительного процесса, и воздействующих негативных факторов формируют трудности в оценке и тем более предсказании роли и значения изменения содержания конкретного цитокина в сыворотке крови у детей при эрозивном гастрите, который может отражать как физиологические, так и патологические процессы.

## Список литературы / References

1. Каспаров Э.В., Поливанова Т.В., Вшивков В.А. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь и эрозивно-язвенные поражения гастродуоденальной зоны у школьников Сибири различного возраста // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии, 2019. Т. 29, № 4. С. 22-29. [Kasparov E.V., Polivanova T.V., Vshivkov V.A. Gastroesophageal reflux disease and erosive-ulcerative lesions of the gastroduodenal zone in schoolchildren of various ages in Siberia. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii* = *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*, 2019, Vol. 29, no. 4, pp. 22-29. (In Russ.)]
2. Algood H.M., Torres V.J., Unutmaz D., Cover T.L. Resistance of primary murine CD4<sup>+</sup> T cells to Helicobacter pylori vacuolating cytotoxin. *Infect. Immun.*, 2007, Vol. 75, no. 1, pp. 334-341.
3. Cesana G.C., Romano F., Piacentini G., Scotti M., Brenna A., Bovo G., Vaghi M., Aletti G., Caprotti R., Kaufman H., Uggeri F. Low-dose interleukin-2 administered pre-operatively to patients with gastric cancer activates peripheral and peritumoral lymphocytes but does not affect prognosis. *Ann. Surg. Oncol.*, 2007, Vol. 14, no. 4, pp. 1295-1304.
4. Dixon M.F., Genta R.M., Yardley J.H., Correa P. Histological classification of gastritis and Helicobacter pylori infection: an agreement at last? The International Workshop on the Histopathology of Gastritis. *Helicobacter*, 1997, Vol. 2, no. 1, pp. 17-24.
5. Engevik A.C., Kaji I., Goldenring J.R. The physiology of the gastric parietal cell. *Physiol. Rev.*, 2020, Vol. 100, no. 2, pp. 573-602.
6. Harris P.R., Weber H.C., Wilcox C.M., Jensen R.T., Smith P.D. Cytokine gene profile in gastric mucosa in Helicobacter pylori infection and Zollinger-Ellison syndrome. *Am. J. Gastroenterol.*, 2002, no. 97, pp. 312-318.
7. Herman Mahečić D., Cigrovski Berković M., Zjačić-Rotkvić V., Čačev T., Kapitanović S., Ulamec M. Inflammation-related cytokines and their roles in gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms. *Bosn. J. Basic. Med. Sci.*, 2020, Vol. 20, no. 4, pp. 445-450.
8. Lambrecht B.N., Hammad H., Fahy J.V. The cytokines of asthma. *Immunity*, 2019, Vol. 50, no. 4, pp. 975-991.
9. Shahinyan T., Amaryan G., Tadevosyan A., Braegger C. Clinical, endoscopic, and histological characteristics of Helicobacter pylori positive and negative armenian children with recurrent abdominal pain and/or dyspepsia. *Georgian Med. News*, 2022, no. 324, pp. 71-78.
10. Sugano K., Tack J., Kuipers E.J., Graham D.Y., El-Omar E.M., Miura S., Haruma K., Asaka M., Uemura N., Malfertheiner P. Kyoto global consensus report on Helicobacter pylori gastritis. *Gut*, 2015, Vol. 64, no. 9, pp. 1353-1367.
11. Torina A., Villari S., Blanda V., Vullo S., La Manna M.P., Shekarkar Azgomi M., Di Liberto D., de la Fuente J., Sireci G. Innate immune response to tick-borne pathogens: cellular and molecular mechanisms induced in the hosts. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, Vol. 21, no. 15, 5437. doi: 10.3390/ijms21155437.
12. Tuerk E., Doss S., Polsley K. Peptic ulcer disease. *Prim. Care*, 2023, Vol. 50, no. 3, pp. 351-362.

---

### Авторы:

**Поливанова Т.В.** — д.м.н., главный научный сотрудник клинического отделения патологии пищеварительной системы у взрослых и детей, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», г. Красноярск, Россия

**Вшивков В.А.** — к.м.н., старший научный сотрудник клинического отделения патологии пищеварительной системы у взрослых и детей, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», г. Красноярск, Россия

### Authors:

**Polivanova T.V.**, PhD, MD (Medicine), Chief Research Associate, Clinical Department of Pathology of the Digestive System in Adults and Children, Research Institute for Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

**Vshivkov V.A.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Clinical Department of Pathology of the Digestive System in Adults and Children, Research Institute for Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

---

Поступила 31.03.2024

Отправлена на доработку 01.04.2024

Принята к печати 03.04.2024

---

Received 31.03.2024

Revision received 01.04.2024

Accepted 03.04.2024

# ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ИНДИКАТОРЫ РИСКА ПЕРЕХОДА ХРОНИЧЕСКИХ ГАСТРИТОВ В ЯЗВЕННУЮ БОЛЕЗНЬ ЖЕЛУДКА У ПОДРОСТКОВ

Шодиева М.С., Тешаев Ш.Ж., Наврузова Ш.И.

Бухарский государственный медицинский институт, г. Бухара, Республика Узбекистан

**Резюме.** Как известно, язвенная болезнь желудка (ЯБЖ) и язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки (ЯБДПК) – это хронические полиэтиологические заболевания, в механизме возникновения которых лежат сложные трансформации нервных, гипоталамо-гипофизарных, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковых и местных гастродуоденальных процессов, приводящих к изменению трофики в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки. В свою очередь, начинающийся язвенный дефект представляет собой источник раздражения интерорецепторов, поддерживающий нарушения нейрогормональной регуляции. Таким образом, возникающий «порочный круг» обуславливает хроническое течение язвенной болезни. За время изучения хронических заболеваний гастродуоденальной локализации, в том числе язвенной болезни, было предложено немало доктрин ее возникновения. Однако до сих пор остается недостаточно изученным вопрос о происхождении язвенной болезни, отрабатываются подходы, тактика ведения больных с эрозивно-язвенным поражением верхних отделов желудочно-кишечного тракта. Целью исследования явилась оценка иммунологических индикаторов, определяющих риск перехода хронического гастрита в язвенную болезнь желудка. В исследование были включены 120 детей в возрасте 14-17 лет, постоянно проживающие в Бухарской области Республики Узбекистан. С учетом важного значения *H. Pylori* в развитии ХГ определили больных в зависимости от ассоциации ХГ с *H. Pylori*. Для изучения цитокинов проводили анализы крови пациентов с определением титра антител (IgG и IgM) к *H. Pylori*, иммуноглобулины А, М, G в сыворотке крови, секреторный IgA в ротовой жидкости, IL-1 $\beta$ , IL-10, TNF $\alpha$ , VEGF в сыворотке крови пациентов. При этом забор крови проводили в периоды до начала и через 3 недели (21 день) после лечения. Таким образом, изучение значения иммунологических показателей крови в прогрессии ХГ в язвенную болезнь желудка диктует о необходимости разработки иммунологических индикаторов прогноза прогрессии ХГ в язвенную болезнь желудка у подростков. Повышение уровня TNF $\alpha$  свидетельствует о высоком риске развития язвенной болезни желудка в результате повреждения сосудов и нарушения местного кровообращения. В исследовании установленное повышение

## Адрес для переписки:

Тешаев Шухрат Жумаевич  
Бухарский государственный медицинский институт  
Республика Узбекистан, г. Бухара, ул. Гиждуван, 23.  
Тел.: +998 (93) 620-00-08.  
E-mail: doctor.ganieva@gmail.com

## Address for correspondence:

Shukhrat J. Tashaev  
Bukhara State Medical Institute  
23 Gijduvan St  
Bukhara  
Republic of Uzbekistan  
Phone: +998 (93) 620-00-08.  
E-mail: doctor.ganieva@gmail.com

## Образец цитирования:

М.С. Шодиева, Ш.Ж. Тешаев, Ш.И. Наврузова  
«Иммунологические индикаторы риска перехода  
хронических гастритов в язвенную болезнь желудка у  
подростков» // Российский иммунологический журнал,  
2024. Т. 27, № 4. С. 953-958.  
doi: 10.46235/1028-7221-16852-ИЮ

© Шодиева М.С. и соавт., 2024  
Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

## For citation:

M.S. Shodieva, Sh.J. Tashaev, Sh.I. Navruzova  
“Immunological indicators of the risk of the transition from  
chronic gastritis to gastric ulcer in adolescents”, Russian  
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii  
Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 953-958.  
doi: 10.46235/1028-7221-16852-ИЮ

© Shodieva M.S. et al., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16852-ИЮ

уровня IL-1 $\beta$  свидетельствует об активации синтеза провоспалительных цитокинов при ХГ, особенно при ХГ, ассоциированных с *H. Pylori*. Использование данных рекомендаций способствует мониторингу ХГ, повышению эффективности диагностики и правильному выбору метода лечения пациентов с ХГ, уменьшению смертности и инвалидности при этом.

*Ключевые слова:* хронический гастрит, язвенная болезнь желудка, иммунитет, подростки, индикатор

## IMMUNOLOGICAL INDICATORS OF THE RISK OF THE TRANSITION FROM CHRONIC GASTRITIS TO GASTRIC ULCER IN ADOLESCENTS

Shodieva M.S., Teshaev Sh.J., Navruzova Sh.I.

*Bukhara State Medical Institute, Bukhara, Republic of Uzbekistan*

**Abstract.** As is known, gastric ulcer (GCC) and duodenal ulcer (duodenal ulcer) are chronic, complex-etiology diseases, the mechanism of which is based on complex transformations of nervous, hypothalamic-pituitary, hypothalamic-pituitary-adrenal and local gastroduodenal processes that lead to a change in trophism in the mucous membrane of the stomach and duodenum. In turn, the incipient ulcerative defect is a source of irritation of the enteric receptors, supporting disorders of neurohormonal regulation. Thus, the resulting “vicious circle” causes the chronic course of peptic ulcer disease. During the study of chronic diseases of gastroduodenal localization, including peptic ulcer disease, many doctrines of its occurrence have been proposed. However, the issue of the origin of peptic ulcer disease still remains insufficiently studied; approaches and tactics for managing patients with erosive and ulcerative lesions of the upper gastrointestinal tract are being developed. The aim of the study was to evaluate immunological indicators that determine the risk of chronic gastritis turning into gastric ulcer. The study included 120 children aged 14-17 years, permanently residing in the Bukhara region of the Republic of Uzbekistan. Taking into account the importance of *H. Pylori* in the development of HCG, patients were distributed depending on the association of HCG with *H. Pylori*. To study cytokines, blood tests of patients were performed to determine the titer of antibodies (IgG and IdM) to *H. Pylori*, immunoglobulins A, M, G in blood serum, secretory IgA in oral fluid, IL-1 $\beta$ , IL-10, TNF $\alpha$ , VEGF in the serum of patients. At the same time, blood sampling was carried out in the periods before and 3 weeks (21 days) after treatment. Thus, the study of the value of immunological blood parameters in the progression of HCG to gastric ulcer disease dictates the need to develop immunological indicators for predicting the progression of HCG to gastric ulcer in adolescents. An increase in TNF $\alpha$  levels indicates a high risk of developing gastric ulcer as a result of vascular damage and impaired local circulation. In the study, an established increase in the level of IL-1 $\beta$  indicates activation of the synthesis of proinflammatory cytokines in HCG, especially in HCG associated with *H. Pylori*. The use of these recommendations contributes to the monitoring of HCG, improving the effectiveness of diagnosis and the correct choice of treatment for patients with HCG, reducing mortality and disability at the same time.

*Keywords:* chronic gastritis, gastric ulcer, immunity, adolescents, indicator

### Введение

Гастритические изменения представляют собой реакции слизистой оболочки желудка в ответ на различные эндогенные и экзогенные патогенные факторы. К основным изменениям, из которых складывается морфологическая картина хронического гастрита, относятся воспаление, атрофия, нарушение клеточного обновления, в том числе метаплазия и дисплазия [2].

Инфекция *H. Pylori* имеет глобальное значение и широко распространена, в том числе и в нашей стране, где по данным эпидемиологических исследований в различных регионах инфицированы более 65-92% взрослого населения [1, 4, 5, 6, 7].

Высокая частота *H. Pylori* определяет высокую частоту хронического гастрита [2].

За время изучения хронических заболеваний гастродуоденальной локализации, в том числе



язвенной болезни (ЯБ), было предложено немало доктрин ее возникновения. Однако до сих пор остается недостаточно изученным вопрос о происхождении ЯБ, отрабатываются подходы, тактика ведения больных с эрозивно-язвенным поражением верхних отделов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) [8].

Как известно, язвенная болезнь желудка (ЯБЖ) и язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки (ЯБДПК) – это хронические полиэтиологические заболевания, в механизме возникновения которых лежат сложные трансформации нервных, гипоталамо-гипофизарных, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковых и местных гастродуоденальных процессов, приводящих к изменению трофики в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки. В свою очередь начинающийся язвенный дефект представляет собой источник раздражения интерорецепторов, поддерживающий нарушения нейрогормональной регуляции. Таким образом, возникающий «порочный круг» обуславливает хроническое течение ЯБ [3].

**Цель исследования** – оценка иммунологических индикаторов, определяющих риск перехода хронического гастрита в язвенную болезнь желудка.

## Материалы и методы

В исследование были включены 120 детей в возрасте 14-17 лет, постоянно проживающие в Бухарской области Республики Узбекистан. С учетом важного значения *H. Pylori* в развитии ХГ распределили больных в зависимости от ассоциации ХГ с *H. Pylori*. Из всех больных для исследования отобрали 45 пациентов с *H. Pylori* ассоциированным ХГ (1-я группа), 45 больных с *H. Pylori* неассоциированным ХГ (2-я группа). В

качестве контроля были обследованы 30 здоровых детей 14-17 лет.

Для изучения цитокинов проводили анализы крови пациентов с определением титра антител (IgG и IgM) к *H. Pylori*, иммуноглобулины А, М, G в сыворотке крови, секреторный IgA в ротовой жидкости, IL-1 $\beta$ , IL-10, TNF $\alpha$ , VEGF в сыворотке крови пациентов. При этом забор крови проводили в периоды до начала и через 3 недели (21 день) после лечения.

Всем больным наряду с необходимыми функциональными (УЗИ, ФГС, рентгенография) было проведено исследование по изучению биохимических параметров крови, коагулограмма, иммуноглобулинов, цитокинов, факторов роста и повреждения в сыворотке крови.

Статистическая обработка результатов проведена при помощи программы Excel из пакета приложений Microsoft Office XP (Microsoft, США).

## Результаты и обсуждение

Комплексные исследования гуморальной системы иммунитета у детей с *H. Pylori* ассоциированным ХГ в период обострения заболевания показали дисбаланс гуморального звена иммунитета (табл. 1).

Анализ уровня IgM показал достоверное его повышение у пациентов 1-й группы в 3,8 раза против контроля –  $0,23 \pm 0,08$  г/л, что подтверждает обострение ХГ. У больных 2-й группы IgM был достоверно низкий по отношению значений пациентов 1-й группы ( $p < 0,05$ ) (рис. 1).

В ходе исследования установлен дефицит синтеза IgG, у больных 1-й группы снижен в 2,0 раза ( $p < 0,05$ ), у больных 2-й группы – в 1,39 раза. Установленное явление показывает состояние вторичного иммунодефицита у подростков с ХГ.

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ

TABLE 1. INDICATORS OF HUMORAL IMMUNITY IN PATIENTS

Показатели Indicators	Контрольная группа Control group n = 30	1-я группа 1 <sup>st</sup> group n = 45	2-я группа 2 <sup>nd</sup> group n = 45
IgA г/л IgA g/L	0,56 $\pm$ 0,05	0,40 $\pm$ 0,06*	0,50 $\pm$ 0,06
sIgA мг/л sIgA mg/L	2,30 $\pm$ 0,39	1,62 $\pm$ 0,29	1,93 $\pm$ 0,27
IgM г/л IgM g/L	0,23 $\pm$ 0,08	0,87 $\pm$ 0,24*	0,29 $\pm$ 0,05 <sup>^</sup>
IgG г/л IgG g/L	6,70 $\pm$ 0,95	3,30 $\pm$ 0,89*	4,80 $\pm$ 0,89

Примечание. \* – значения достоверны по отношению к контрольной группе ( $p < 0,05$ ). <sup>^</sup> – значения достоверны по отношению к 1 группе ( $p < 0,05$ ).

Note. \* , values are reliable relative to the control group ( $p < 0.05$ ). <sup>^</sup>, values are reliable relative to the 1<sup>st</sup> group ( $p < 0.05$ ).

ТАБЛИЦА 2. ЦИТОКИНЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ГАСТРИТАХ У ПОДРОСТКОВ

TABLE 2. CYTOKINES IN CHRONIC GASTRITIS IN ADOLESCENTS

Показатели в пг/мл Indicators pg/mL	Контрольная группа Control group n = 30	1-я группа 1 <sup>st</sup> group n = 45	2-я группа 2 <sup>nd</sup> group n = 45
IL-1β	2,70±0,96	19,4±3,4*	5,96±2,10 <sup>^</sup>
IL-10	24,96±2,60	8,7±2,1*	18,9±4,4 <sup>^</sup>
TNFα	9,0±2,5	56,2±8,5*	45,8±8,4*
VEGF-A	115,5±10,8	244,4±59,3*	157,5±46,9

Примечание. \* – значения достоверны по отношению к контролю (p < 0,05; 0,01; 0,001). ^ – значения достоверны по отношению к 1-й группе (p < 0,05; 0,01; 0,001).

Note. \*, values are valid in relation to the control (p < 0.05; 0.01; 0.001). ^, the values are reliable with respect to the 1<sup>st</sup> group (p < 0.05; 0.01; 0.001).

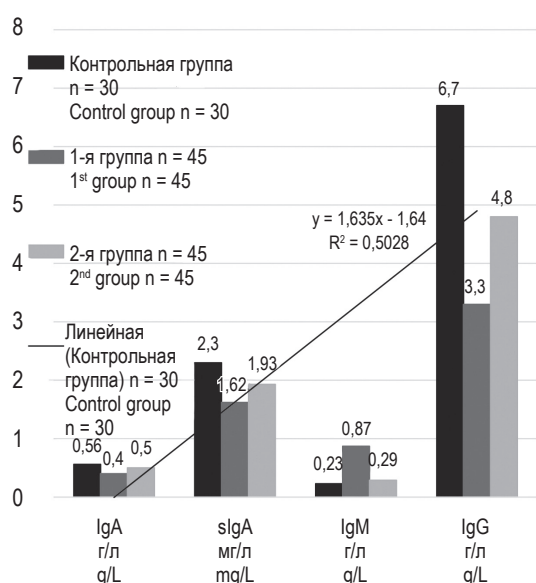


Рисунок 1. Показатели гуморального иммунитета при хронических гастритах у подростков

Figure 1. Indicators of humoral immunity in chronic gastritis in adolescents

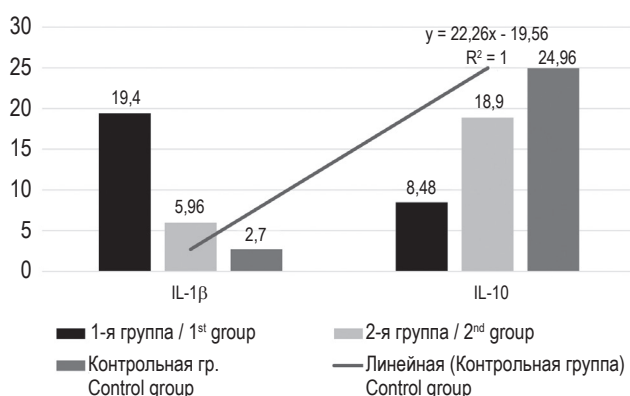


Рисунок 2. Надежность определения цитокинов при хронических гастритах у подростков

Figure 2. Reliability of cytokine determination in chronic gastritis in adolescents

Таким образом, изучение гуморального иммунитета при хронических гастритах у подростков позволило установить снижение уровня IgA при *H. Pylori*-ассоциированном ХГ у подростков, что объясняется наличием сопутствующих заболеваний органов дыхания и лямблиоза (24,4%). А также ХГ у подростков протекает на фоне дефицита IgG и снижения секреторного sIgA не зависимо от ассоциации с *Helicobacter pylori*.

Изучение цитокинов в сыворотке крови пациентов исследуемой группы показало 7-кратное повышение уровня IL-1β у пациентов 1-й группы (19,4±3,4 пг/мл) против контроля – 2,7±0,96 пг/мл, что носит значимость на уровне p < 0,05 (табл. 2).

У больных подростков 2-й группы IL-1β имеет тенденцию к повышению до 5,96±2,1 пг/мл против контроля. При этом сравнительная оценка показатели в зависимости от ассоциации с *H. Pylori* показала его повышение в 3,25 раза при наличии *H. Pylori* против показателей пациентов 2-й группы, p < 0,05.

Известно, что IL-1, IL-2, IL-5, IL-6, IL-8 и TNFα являются провоспалительными маркерами.

В исследовании установленное повышение уровня IL-1β свидетельствует об активации синтеза провоспалительных цитокинов при ХГ, особенно при ХГ, ассоциированных с *H. Pylori*.

При ХГ у подростков отмечается снижение уровня IL-10 в 2,9 раза у пациентов 1 группы, против контроля- 24,96±2,6 пг/мл (p < 0,05), в 2,2 раза против показателей 2 группы (p < 0,05) (рис. 2).

Установленное явление свидетельствует о влиянии *H. Pylori* на синтез цитокинов при этом.

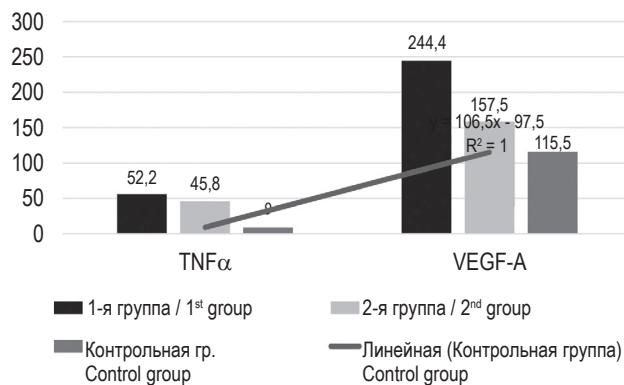
В ходе изучения цитокинов при ХГ у детей выявили также достоверное повышение уровня TNFα у пациентов с эрозивным ХГ не зависимо от ассоциации с *H. Pylori* (рис. 3).

В исследовании установлено повышение уровня TNF $\alpha$  в 6,3 раза у пациентов 1-й группы, в 5,0 раза у пациентов 2-й группы против контроля –  $9,0 \pm 2,5$  пг/мл, что свидетельствует о высоком риске развития язвенной болезни желудка в результате повреждения сосудов и нарушения местного кровообращения.

Для детального исследования причины прогрессирования ХГ в язвенную болезнь желудка у подростков изучали фактор сосудистого эндотелина-VEGF-A. Результаты показали его повышение в 2,2 раза у больных 1-й группы ( $p < 0,05$ ), в 1,36 раза у больных подростки 2-й группы, что подтверждает гипотезу о наибольшем повреждении сосудистого эндотелина при ХГ при ассоциации с *H. Pylori*.

## Заключение

Таким образом, изучение значения иммунологических показателей крови в прогрессии ХГ в язвенную болезнь желудка диктует о необходимости разработки иммунологических индикаторов прогноза прогрессии ХГ в язвенную болезнь желудка у подростков. Повышение уровня TNF $\alpha$  свидетельствует о высоком риске развития язвенной болезни желудка в результате повреждения сосудов и нарушения местного кровообращения. В исследовании установленное повышение уровня IL-1 $\beta$  свидетельствует об активации синтеза провоспалительных цитокинов при ХГ, особенно при ХГ, ассоциированных с *H. Pylori*. Использо-



**Рисунок 3. Надежность определения факторов некроза опухоли альфа и сосудистого эндотелина при хронических гастритах у подростков**

Figure 3. Reliability of determination of tumor necrosis factors alpha and vascular endothelin in chronic gastritis in adolescents

вание данных рекомендаций способствует мониторингу ХГ, повышению эффективности диагностики и правильному выбору метода лечения пациентов с ХГ, уменьшению смертности и инвалидности при этом.

## Благодарности

Работа выполнена в Бухарском государственном медицинском институте имени Абу Али ибн Сино Министерства здравоохранения Республики Узбекистан. Авторы благодарят д.м.н., профессора Ш.Ж. Тешаева за содействие в работе.

## Список литературы / References

- Герман С.В., Зыкова И.Е., Модестова А.В., Ермаков Н.В. Распространенность инфекции *H. Pylori* среди населения Москвы // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии, 2010. Т. 20, № 2. С. 25-30. [Herman S.V., Zyкова I.E., Modestova A.V., Ermakov N.V. The prevalence of *H. Pylori* infection among the population of Moscow. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii i koloproktologii = Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology and Coloproctology*, 2010, Vol. 20, no. 2, pp. 25-30. (In Russ.)]
- Ивашкин В.Т., Маев И.В., Лапина Т.Л. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации и ассоциации «Эндоскопическое общество РЭНДО» по диагностике и лечению гастрита, дуоденита // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии, 2021. Т. 31, № 4. С. 70-99. [Ivashkin V.T., Maev I.V., Lapina T.L. and clinical recommendations of the Russian Gastroenterological Association and the association “Endoscopic Society of RANDO” on the diagnosis and treatment of gastritis, duodenitis. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii i koloproktologii = Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology and Coloproctology*, 2021, Vol. 31, no. 4, pp. 70-99. (In Russ.)]
- Лысиков Ю.А., Горячева О.А., Цветкова Л.Н., Гуреев А.Н., Цветков П.М., Красавин А.В. Клинико-морфологические особенности язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у детей // Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Сперанского, 2011. Т. 90, № 2. С. 38-42. [Lysikov Yu.A., Goryacheva O.A., Tsvetkova L.N., Gureev A.N., Tsvetkov P.M., Krasavin A.V. Clinical and morphological features of duodenal ulcer in children. *Pediatriya. Zhurnal imeni G.N. Speranskogo = Pediatrics. G. Speransky Journal*, 2011, Vol. 90, no. 2, pp. 38-42 (In Russ.)]
- Рахманин Ю.А., Зыкова И.Е., Федичкина Т.П., Соленова Л.Г., Герман С.В., Модестова А.В., Кислицин В.А. Изучение территориального распределения инфицированности *Helicobacter pylori* трудоспособного населения г. Москвы в ходе диспансеризации производственных контингентов // Гигиена и санитария, 2013. Т. 92, № 5. С. 79-82. [Rakhmanin Yu.A., Zyкова I.E., Fedichkina T.P., Solenova L.G., German S.V., Modestova A.V., Kislitsin V.A. Study of the territorial distribution of *Helicobacter pylori* infection in the able-bodied population of Moscow during the medical examination of industrial contingents. *Gigiya i sanitariya = Hygiene and Sanitation*, 2013, Vol. 92, no. 5, pp. 79-82 (In Russ.)]

5. Решетников О.В., Курилович С.А., Кротов С.А., Кротова В.А. Хеликобактерная инфекция в сибирских популяциях // Бюллетень СО РАМН, 2010. Т. 30, № 2. С. 88-93. [Reshetnikov O.V., Kurilovich S.A., Krotov S.A., Krotova V.A. Helicobacter infection in Siberian populations. Byulleten SO RAMN = Bulletin of SB RAMS, 2010, Vol. 30, no. 2, pp. 88-93. (In Russ.)]

6. Сварваль А.В., Ферман Р.С., Жебрун А.Б. Изучение динамики превалентности инфекции, обусловленной *Helicobacter pylori*, среди различных возрастных групп населения Санкт-Петербурга в 2007-2011 годах // Инфекция и иммунитет, 2012. Т. 2, № 4. С. 741-746. [Svarval A.V., Ferman R.S., Zhebrun A.B. Studying the dynamics of the prevalence of infection caused by *Helicobacter pylori* among various age groups of the population of St. Petersburg in 2007-2011. Infection and immunity = Russian Journal of Infection and Immunity, 2012, Vol. 2, no. 4, pp. 741-746. (In Russ.)]

7. Цуканов В.В., Третьякова О.В., Амелчугова О.С., Каспаров Э.В., Родина Д.В., Васютин А.В. Распространенность атрофического гастрита тела желудка у населения г. Красноярск старше 45 лет // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии, 2012, Т. 22, № 4. С. 27-31. [Tsukanov V.V., Tretyakova O.V., Amelchugova O.S., Kasparov E.V., Rodina D.V., Vasyutin A.V. The prevalence of atrophic gastritis of the stomach body in the population of Krasnoyarsk over 45 years old. Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii i koloproktologii = Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology and Coloproctology, 2012, Vol. 22, no. 4, pp. 27-31. (In Russ.)]

8. Щербаков П.Л. Современные проблемы подростковой гастроэнтерологии // Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Сперанского, 2010. Т. 89, № 2. С. 6-11. [Shcherbakov P.L. Modern problems of adolescent gastroenterology. Peditriya. Zhurnal imeni G.N. Speranskogo = Pediatrics. G. Speransky Journal, 2010, Vol. 89, no. 2, pp. 6-11. (In Russ.)]

---

**Авторы:**

**Шодиева М.С.** — старший преподаватель кафедры педиатрии № 1, Бухарский государственный медицинский институт, г. Бухара, Республика Узбекистан

**Тешаев Ш.Ж.** — д.м.н., профессор, ректор Бухарского государственного медицинского института, г. Бухара, Республика Узбекистан

**Наврзובה Ш.И.** — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой педиатрии № 1, Бухарский государственный медицинский институт, г. Бухара, Республика Узбекистан

---

**Authors:**

**Shodieva M.S.**, Senior Lecturer, Department of Pediatrics No. 1, Bukhara State Medical Institute, Bukhara, Republic of Uzbekistan

**Teshaev Sh.J.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Rector, Bukhara State Medical Institute, Bukhara, Republic of Uzbekistan

**Navruzova Sh.I.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Pediatrics No. 1, Bukhara State Medical Institute, Bukhara, Republic of Uzbekistan

---

Поступила 01.04.2024

Отправлена на доработку 03.04.2024

Принята к печати 25.04.2024

---

Received 01.04.2024

Revision received 03.04.2024

Accepted 25.04.2024



## ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ УРОЦИТОКИНОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТАХ У ДЕТЕЙ

Наврузова Ш.И., Эргашева М.У.

Бухарский государственный медицинский институт, г. Бухара, Республика Узбекистан

**Резюме.** В современной клинической практике педиатра особую актуальность представляет проблема своевременного адекватного лечения хронического гломерулонефрита (ХГН) у детей, что обусловлено как высокой распространенностью заболевания, так и тяжестью его течения, сложностью терапии и неоднозначностью прогноза. Поражения органов мочевой системы у детей не только распространены, но и имеют тенденцию к росту, причем нередко в раннем возрасте. Ухудшение экологического фона, токсико-аллергическое воздействие лекарственных препаратов ведут к поражению в первую очередь почек, которые являются элиминирующим органом. Целью исследования явилось изучение уроцитокинов для оценки иммунного ответа у детей при ХГН в зависимости от ассоциации с цитомегаловирусной инфекцией. В исследование были включены 100 детей в возрасте 4-7 лет, постоянно проживающие в Бухарской области Республики Узбекистан. На момент исследования больные находились на плановом лечении в отделении детской нефрологии Бухарского областного детского многопрофильного медицинского центра. Всем детям были проведены общеклинические (общий анализ крови с лейкоформулой, общий анализ мочи, биохимический анализ крови с определением мочевины, креатинина и цистатина С, иммунологические (TNF $\alpha$ , IL-18, MCP-1, антитела класса IgM и IgG к цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ) в сыворотке крови, IL-1 $\beta$  и IL-17A в моче) методы обследования. Таким образом, было установлено, что концентрация цистатина С в сыворотке крови была обратно пропорциональна скорости клубочковой фильтрации в почках – при снижении функции почек у больных детей отмечалось двукратное повышение, т. е. накопление цистатина С в крови. Повышение концентрации IL-18 в сыворотке крови и IL-1 $\beta$  в моче относительно контрольной группы при ХГН явилось показателем выраженности аутоиммунной реакции, а относительно низкая концентрация цитокинов как в крови, так и в моче при ХГН с ЦМВИ указывала на подавление специфического противовирусного иммунитета ЦМВИ. Установлено, что повышение сывороточного MCP-1 в 1,4 раза в 1-й группе и в 2,9 раза во 2-й группе ХГН с ЦМВИ является индикатором вирусного поражения почек. Достоверно высокая концентрация IL-17A в моче при ХГН с ЦМВИ свидетельствовало о локальной продукции цитокина в почках и выступало в качестве индикатора прогноза исхода ХГН.

*Ключевые слова:* дети, гломерулонефрит, моча, цитокины, иммунитет, цитомегаловирус

### Адрес для переписки:

Эргашева Мухаррам Уктамовна  
Бухарский государственный медицинский институт  
Республика Узбекистан, г. Бухара, ул. Гиждуван, 23.  
Тел.: +998 (93) 620-00-08.  
E-mail: doctor.ganieva@gmail.com

### Address for correspondence:

Mukharram U. Ergasheva  
Bukhara State Medical Institute  
23 Gijduvan St  
Bukhara  
Republic of Uzbekistan  
Phone: +998 (93) 620-00-08.  
E-mail: doctor.ganieva@gmail.com

### Образец цитирования:

Ш.И. Наврузова, М.У. Эргашева «Диагностическое значение уроцитокинов при хронических гломерулонефритах у детей» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 959-966.  
doi: 10.46235/1028-7221-16860-TDV

© Наврузова Ш.И., Эргашева М.У., 2024  
Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

### For citation:

Sh.I. Navruzova, M.U. Ergasheva "The diagnostic value of cytokines in chronic glomerulonephritis in children", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 959-966.  
doi: 10.46235/1028-7221-16860-TDV

© Navruzova Sh.I., Ergasheva M.U., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16860-TDV

## THE DIAGNOSTIC VALUE OF CYTOKINES IN CHRONIC GLOMERULONEPHRITIS IN CHILDREN

Navruzova Sh.I., Ergasheva M.U.

*Bukhara State Medical Institute, Bukhara, Republic of Uzbekistan*

**Abstract.** In modern clinical practice of pediatricians, the problem of timely adequate treatment of chronic glomerulonephritis (CGN) in children is of particular relevance, due to both the high prevalence of the disease and the severity of its course, the complexity of therapy and the ambiguity of the prognosis. Lesions of the urinary system in children are not only common, but also tend to grow, and often at an early age. Deterioration of the environmental background, toxic and allergic effects of drugs lead to damage primarily to the kidneys, which are the eliminating organ. The aim of the study was to study urocytokines to assess the immune response in children with HCG, depending on the association with cytomegalovirus infection. The study included 100 children aged 4-7 years, permanently residing in the Bukhara region of the Republic of Uzbekistan. At the time of the study, the patients were undergoing routine treatment in the Department of Pediatric Nephrology of the Bukhara Regional Children's Multidisciplinary Medical Center. All children underwent general clinical (general blood test with leukoformula, general urine analysis, biochemical blood test with determination of urea, creatinine and cystatin C, immunological (TNF $\alpha$ , IL-18, MCP-1, IgM and IgG antibodies to cytomegalovirus infection (CMVI) in blood serum, IL-1 $\beta$  and IL-17A in urine) examination methods. Thus, it was found that the concentration of cystatin C in the blood serum was inversely proportional to the glomerular filtration rate in the kidneys – with a decrease in kidney function in sick children, a twofold increase was noted, that is, the accumulation of cystatin C in the blood. An increase in the concentration of IL-18 in serum and IL-1 $\beta$  in urine relative to the control group in CGN was an indicator of the severity of an autoimmune reaction, and a relatively low concentration of cytokines in both blood and urine in CGN with CMVI indicated suppression of the specific antiviral immunity of CMVI. It was found that an increase in serum MCP-1 by 1.4 times in group 1 and 2.9 times in group 2 of CGN with CMVI is an indicator of viral kidney damage. A significantly high concentration of IL-17A in urine in CGN with CMVI indicated local cytokine production in the kidneys and acted as an indicator of the prognosis of the outcome of CGN.

*Keywords: children, glomerulonephritis, urine, cytokines, immunity, cytomegalovirus*

### Введение

В современной клинической практике педиатра особую актуальность представляет проблема своевременного адекватного лечения хронического гломерулонефрита (ХГН) у детей, что обусловлено как высокой распространенностью заболевания, так и тяжестью его течения, сложностью терапии и неоднозначностью прогноза. Гломерулонефрит занимает второе место после врожденных и наследственных заболеваний почек среди причин развития почечной недостаточности и может приводить в последующем к инвалидизации уже в детском и подростковом возрасте [6].

Поражения органов мочевой системы у детей не только распространены, но и имеют тенденцию к росту, причем нередко в раннем возрасте. Ухудшение экологического фона, токсико-аллергическое воздействие лекарственных препаратов ведут к поражению в первую очередь почек, которые являются элиминирующим органом.

Подавляющее большинство заболеваний почек в старшем возрасте, а иногда и у взрослых, представляют собой пролонгированную патологию плода и новорожденного [2].

Проблема гломерулонефрита привлекает внимание исследователей в связи с продолжающимся ростом частоты данного заболевания у детей, тенденцией к прогрессирующему течению и неблагоприятным прогнозом вследствие развития терминальной стадии хронической почечной недостаточности – одной из частых причин ранней детской инвалидизации [5].

До настоящего времени гломерулонефрит остается важнейшей проблемой детской нефрологии. ХГН является одной из основных причин развития хронической почечной недостаточности среди приобретенных заболеваний у детей. Ряд исследователей считают, что гипертензия и протеинурия являются наиболее важными независимыми факторами риска прогрессирования заболеваний почек. К другим факторам, обуслов-

ливающим прогрессирование нарушения функции почек, относят дислипидемию, анемию и нарушение метаболизма липидов подчеркивают роль генетических факторов риска в прогрессировании хронических заболеваний почек. Вместе с тем вопросы о роли отдельных факторов риска в хронизации гломерулонефрита у детей остаются до конца не выясненными [4, 8].

ХГН возникает на фоне медленно прогрессирующего разрушения клубочков почки с прогрессирующей функциональной потерей почек. В некоторых случаях причиной является специфическое нападение на иммунную систему организма, но в большинстве случаев причина неизвестна. Обычно считается, что виновата еще не идентифицированная аномалия иммунной системы [2]. Одним из перспективных направлений в этом смысле является изучение иммуновоспалительных механизмов поражения почек, в частности определение роли провоспалительных и профиброгенных молекулярных медиаторов тканевого повреждения в процессах клеточной пролиферации и патогенезе фиброзно-склеротических изменений почечной ткани [1, 7].

Наиболее частым иммунопатогенетическим механизмом развития гломерулонефрита является иммунокомплексный, который встречается у 70-80% от общего числа больных гломерулонефритом [3].

Однако роль как этиологического фактора гломерулонефрита не ясна. Малоизучен вопрос о том, какие основные патогенетические механизмы определяют прогрессирование гломерулонефрита при персистирующей и латентной вирусной инфекции. Следует отметить, что для гломерулонефрита, ассоциированного с вирусной инфекцией, характерны высокая частота обострений, смешанный мочевого синдром в виде протеинурии, гематурии и резистентность к иммуносупрессивной терапии [5].

В связи с указанными доводами решение вышеуказанных проблем посредством выполнения запланированной научно-исследовательской работы является своевременным и актуальным.

**Цель исследования** — изучение уроцитоклинов для оценки иммунного ответа у детей при хроническом гломерулонефрите в зависимости от ассоциации с цитомегаловирусной инфекцией.

## Материалы и методы

В исследование были включены 100 детей в возрасте 4-7 лет, постоянно проживающие в Бухарской области Республики Узбекистан. Для сравнительной оценки цитокинов крови и мочи при хроническом гломерулонефрите (ХГН) больные были распределены следующим образом:

1-ю основную группу составили 35 больных детей с ХГН нефротической формы;

2-ю основную группу составили 35 больных детей с цитомегаловирусом (ЦМВ), ассоциированным ХГН нефротической формой.

Контрольную группу составили 30 здоровых детей соответствующего возраста.

На момент исследования больные находились на плановом лечении в отделении детской нефрологии Бухарского областного детского многопрофильного медицинского центра. Всем детям были проведены общеклинические (общий анализ крови с лейкоформулой, общий анализ мочи, биохимический анализ крови с определением мочевины, креатинина и цистатина С, иммунологические (TNF $\alpha$ , IL-18, MCP-1, антитела класса IgM и IgG к ЦМВ в сыворотке крови, IL-1 $\beta$  и IL-17A в моче) методы обследования.

## Результаты и обсуждение

Показатели крови у детей 1-й группы, в сравнительном аспекте характеризуются развитием анемии, снижением гемоглобина (Hb) до  $102,69 \pm 3,7$  г/л (максимальная концентрация — 112 г/л, минимальная — 90 г/л) Среднее содержание эритроцитов составила  $3,8 \pm 0,76 \times 10^{12}$ .

У детей 2-й группы средняя концентрация гемоглобина составила  $109,7 \pm 0,83$  г/л, эритроцитов —  $3,0 \pm 0,05 \times 10^{12}$ , что показывает тенденцию к снижению против данных 1-й группы.

Лейкоциты у больных 1-й группы показали тенденцию к повышению до  $6,39 \pm 2,0 \times 10^9$  г/л против контроля —  $4,7 \pm 0,4 \times 10^9$  г/л. Лейкоциты в периферической крови у больных 2-й группы достоверно повышены до  $6,8 \pm 0,3 \times 10^9$  г/л, чем в контроле —  $4,7 \pm 0,4 \times 10^9$  г/л,  $p < 0,05$ . Следовательно, установлено повышение лейкоцитов в периферической крови в 1,36 раза ( $> 6,4 \times 10^9$  г/л) при ассоциации ХГН с ЦМВ инфекцией,  $p < 0,05$  (рис. 1).

Другие параметры общего анализа крови в сравнительном аспекте значимых сдвигов не показали.

Биохимическая картина крови показала повышение уровня мочевины в крови у детей 1-й группы до  $7,2 \pm 2,5$  ммоль/л, до  $7,7 \pm 0,53$  ммоль/л у больных 2-й группы, против контроля —  $4,89 \pm 0,48$  ммоль/л ( $p < 0,05$ ) (рис. 2).

Креатинин при этом имеет тенденцию к повышению у детей 2-й группы до  $87,9 \pm 2,76$  ммоль/л, против показателей больных 1-й группы и контроля: до  $73,7 \pm 9,4$  ммоль/л и  $62,7 \pm 8,5$  ммоль/л ( $p < 0,05$ ) соответственно.

В настоящее время почечная недостаточность определяется как повреждение почек или снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) менее 60 мл/мин на  $1,73 \text{ м}^2$  в течение трех и бо-

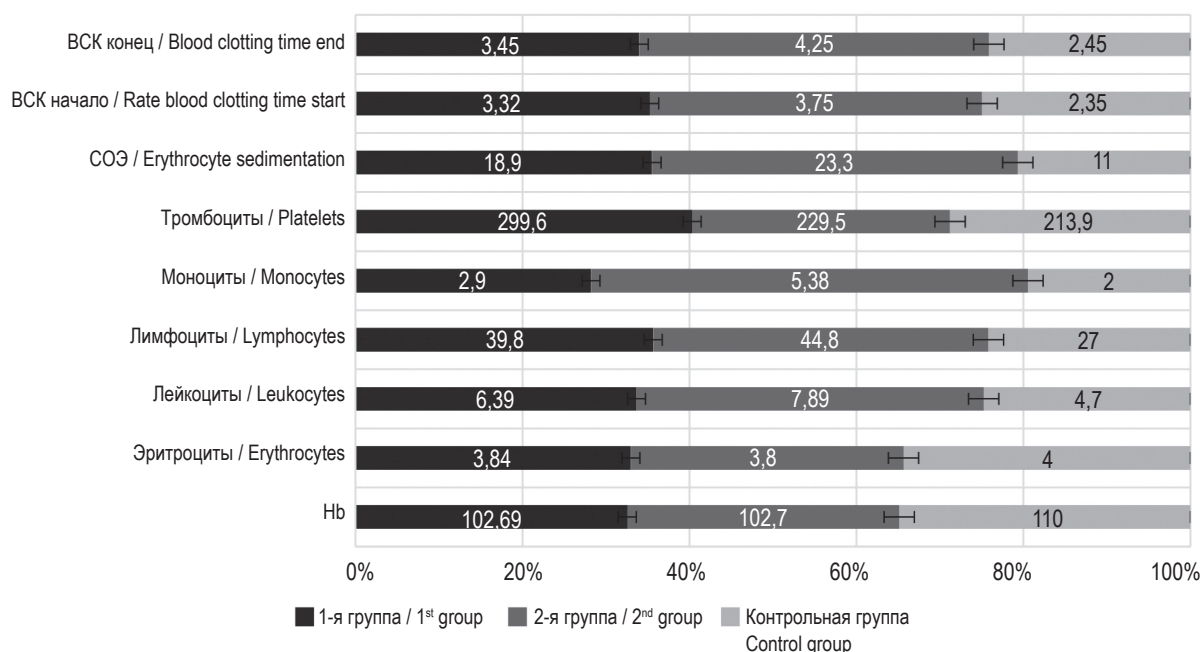


Рисунок 1. Параметры общего анализа крови у исследуемого контингента детей

Figure 1. Parameters of the general blood test in the studied contingent of children

лее месяцев, вне зависимости от наличия других признаков повреждения почек. СКФ является наиболее часто используемым критерием, применяемым для оценки функции почек. Уровень цистатина С в сыворотке обратно пропорционален скорости клубочковой фильтрации в поч-

ках – при снижении функции почек отмечается накопление цистатина С в крови.

В исследовании С-цистатин показал  $1,97 \pm 0,44$  мг/л у больных 1-й группы,  $2,1 \pm 0,09$  мг/л – у пациентов 2-й группы, против контроля –  $0,96 \pm 0,18$  мг/л ( $p < 0,005$ ).

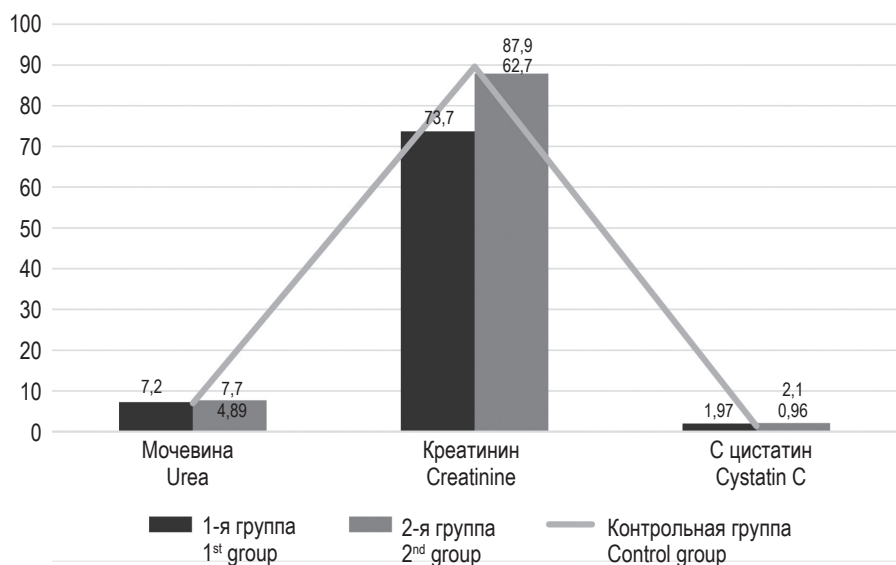


Рисунок 2. Показатели белкового обмена при гломерулонефритах у детей

Figure 2. Indicators of protein metabolism in glomerulonephritis in children



**ТАБЛИЦА 1. ЦИТОКИНЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТАХ У ДЕТЕЙ**

TABLE 1. CYTOKINES IN CHRONIC GLOMERULONEPHRITIS IN CHILDREN

Показатели (пг/мл) Indicators (pg/mL)	Контрольная группа (здоровые дети) Control group		1-я группа 1 <sup>st</sup> group		2-я группа 2 <sup>nd</sup> group	
	min-max	среднее average	min-max	среднее average	min-max	среднее average
<b>IL-18</b>	20,0-39,5	30,2±4,6	62,4-97,7	78,2±7,1*	51,8-84,0	63,10±1,50* ^
<b>TNFα</b>	10,4-37,1	20,30±5,15	14,3-87,1	45,6±15,5	19,0-90,9	41,2±3,7*
<b>MCP-1</b>	87,9-187,8	136,2±28,5	146,4-247,9	184,4±22,7	207,8-821,4	388,8±31,9* ^

Примечание.\* – достоверно по отношению к группе контроля (\* – p < 0,05); ^ – достоверно по отношению к 1-й группе (^ – p < 0,05).

Note. \*, reliable in relation to the control group (\* p < 0.05); ^, reliable in relation to the 1<sup>st</sup> group (^ p < 0.05).

Следовательно, полученные результаты общелaborаторных и биохимических показателей крови у детей с гломерулонефритами позволяют диагностировать нарушения функции почек с развитием хронической почечной недостаточности (ХПН).

Для сравнительной оценки значимости показателей иммунитета в прогнозе развития острой почечной недостаточности (ОПН) на фоне ХПН у детей проведено определение цитокинов в крови и мочи у отобранных для исследования больных детей и проведена сравнительная оценка для выявления особенности ХГН при ассоциации с ЦМВ-инфекцией.

В результате проведенной оценки состояния синтеза провоспалительных цитокинов у детей было установлено повышение IL-18 в 2,0 раза у детей 2-й группы против контроля – 30,2±4,6 пг/мл (p < 0,05), снижение в 1,2 раза против показателей 1-й группы – 78,2±7,1 пг/мл (p < 0,05) (табл. 1, рис. 3).

В нашем исследовании IL-18 имел наиболее высокие показатели в 1-й группе больных ХГН без ЦМВ, что превышало результаты здоровых детей в 2,6 раза (табл. 1). Как известно, IL-18 сдвигает баланс цитокинов в пользу клеточного иммунитета, однако наличие ЦМВИ, является

**ТАБЛИЦА 2. ЦИТОКИНЫ МОЧИ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТАХ У ДЕТЕЙ**

TABLE 2. URINE CYTOKINES IN CHRONIC GLOMERULONEPHRITIS IN CHILDREN

Показатели (пг/мл) Indicators (pg/mL)	Контрольная группа (здоровые дети) Control group		1-я группа 1 <sup>st</sup> group		2-я группа 2 <sup>nd</sup> group	
	min-max	среднее average	min-max	среднее average	min-max	среднее average
<b>IL-1β</b>	58,2-75,1	25,0±2,4	32,4-57,7	46,0±1,1*	18,4-47,1	33,2±1,4* ^
<b>IL-17A</b>	26,2-96,9	45,8±3,6	44,5-89,8	64,6± 2,4	55,3-102,4	81,7±3,3*

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

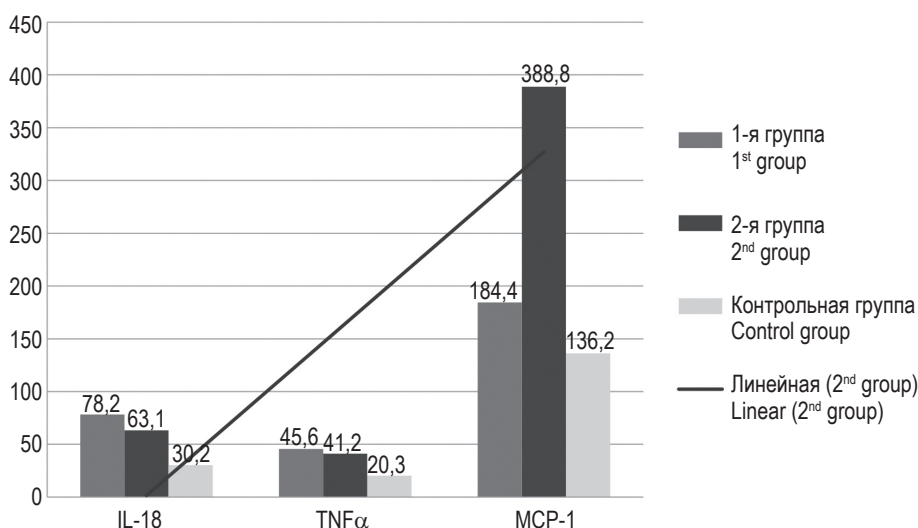


Рисунок 3. Цитокины сыворотки крови при хронических гломерулонефритах у детей

Figure 3. Serum cytokines in chronic glomerulonephritis in children

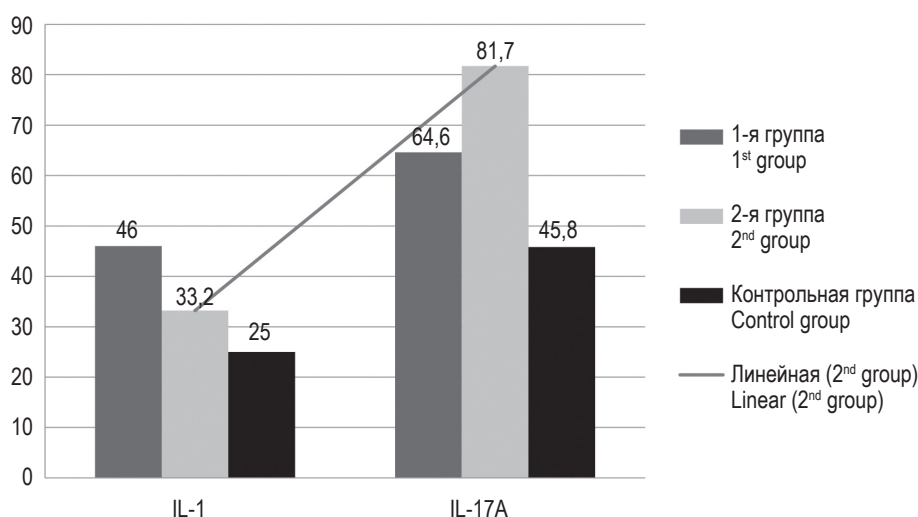


Рисунок 4. Цитокины мочи при хронических гломерулонефритах у детей

Figure 4. Urine cytokines in chronic glomerulonephritis in children

фактором угнетения всех звеньев иммунитета, в частности интерферонообразования.

TNF $\alpha$  в крови также был двукратно повышен в основных группах, что свидетельствовало о наличии активного воспалительного процесса.

MCP-1 был повышен в 1,4 раза в 1-й группе и в 2,9 раза во 2-й группе ХГН с ЦМВ, так как будучи наиболее мощным фактором хемотаксиса моноцитов в организме, а также Т-клеток памяти и дендритных клеток, к фокусам воспаления и продуцируется при повреждении тканей или внедрении инфекции. Именно данный механизм объясняет трехкратное повышение MCP-1

388,8 $\pm$ 31,9 пг/мл во 2-й группе, против контрольных значений 136,2 $\pm$ 28,5 пг/мл.

Таким образом, значительное повышение концентрации IL-18 в обеих основных группах является результатом аутоиммунной реакции при ХГН, а относительно низкая концентрация цитокина во 2-й группе указывает на подавление специфического противовирусного иммунитета ЦМВИ.

При изучении цитокинов мочи, IL-1 $\beta$  в 1-й группе был повышен в 1,8 раз относительно контрольной группы и в 1,3 раза – во 2-й группе ( $p < 0,05$ ). Данная тенденция была схожа с результатом IL-18 в крови, так как оба цитокина экспрессируются моноцитами и макрофагами,

также это объясняется тем, что синтез ИЛ-18 индуцируется ИЛ-1 $\beta$  (табл. 2, рис. 4).

ИЛ-17А был повышен относительно контроля  $45,8 \pm 3,6$  пг/мл в 1,4 раза в 1-й группе  $64,6 \pm 2,4$  пг/мл и в 1,8 раза во 2-й группе  $81,7 \pm 3,3$  пг/мл ХГН с ЦМВИ (табл. 2, рис. 4).

Таким образом, можно полагать, что концентрации экскретируемых с мочой цитокинов связаны с уровнями их продукции в почках. В результате иммунный ответ оказывается неэффективным, патоген не удаляется, и сохраняется практически на первоначальном уровне активность клеток врожденного иммунитета, продолжающих синтезировать провоспалительные цитокины ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-17А, в то время как у пациентов с благоприятным исходом снижаются до уровней здоровых лиц абсолютное и нормализованное значения ИЛ-17А, а также нормализованное значение ИЛ-1 $\beta$ .

## Заключение

1. Установлено, что концентрация цистатина С в сыворотке крови была обратно пропорциональна скорости клубочковой фильтрации в почках — при снижении функции почек у боль-

ных детей отмечалось двукратное повышение, т. е. накопление цистатина С в крови.

2. Повышение концентрации ИЛ-18 в сыворотке крови и ИЛ-1 $\beta$  в моче относительно контрольной группы при ХГН явилось показателем выраженности аутоиммунной реакции, а относительно низкая концентрация цитокинов как в крови, так и в моче при ХГН с ЦМВ указывала на подавление специфического противовирусного иммунитета ЦМВИ.

3. Установлено, что повышение сывороточного МСР-1 в 1,4 раза в 1-й группе и в 2,9 раза во 2-й группе ХГН с ЦМВ является индикатором вирусного поражения почек.

4. Достоверно высокая концентрация ИЛ-17А в моче при ХГН с ЦМВ свидетельствовала о локальной продукции цитокина в почках и выступала в качестве индикатора прогноза исхода ХГН.

## Благодарности

Работа выполнена в Бухарском государственном медицинском институте имени Абу Али ибн Сино Министерства здравоохранения Республики Узбекистан. Авторы благодарят д.м.н., профессора Ш.Ж. Тешаева за содействие в работе.

## Список литературы / References

1. Бегляров Р.О. Иммунологическая реактивность у детей с хроническим гломерулонефритом // Исследования и практика в медицине, 2018. Т. 5, № 1. С. 38-44. [Beglyarov R.O. Immunological reactivity in children with chronic glomerulonephritis. *Issledovaniya i praktika v meditsine = Research'n Practical Medicine Journal*, 2018, Vol. 5, no. 1, pp. 38-44. (In Russ.)]
2. Гармаш А.И., Николаенко С.А. Анализ причин почечной патологии у новорожденных детей // Материалы X Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум». [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://scienceforum.ru/2018/article/2018007903>. [Garmash A.I., Nikolaenko S.A. Analysis of the causes of renal pathology in newborn children. Proceedings of the X International Student Scientific Conference "Student Scientific Forum". [Electronic resource]. Access mode: <https://scienceforum.ru/2018/article/2018007903>. (In Russ.)]
3. Длин В.В., Чумакова О.В. Принципы терапии гломерулонефрита, ассоциированного с гепатитом В и гепатитом С-вирусной инфекцией у детей // Педиатрическая фармакология, 2003. № 2. С. 65-68. [Dlin V.V., Chumakova O.V. Principles of therapy for glomerulonephritis associated with hepatitis B and hepatitis C viral infection in children. *Pediatricheskaya farmakologiya = Pediatric Pharmacology*, 2003, no. 2, pp. 65-68. (In Russ.)]
4. Имаева Л.Р., Еникеева З.М., Ахмадеева Э.Н., Сираева Т.А. Факторы риска хронизации гломерулонефрита у детей // Медицинский вестник Башкортостана, 2011. Т. 6, № 5. С. 67-70. [Imaeva L.R., Enikeeva Z.M., Akhmadeeva E.N., Siraeva T.A. Risk factors for chronic glomerulonephritis in children. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana = Medical Bulletin of Bashkortostan*, 2011, Vol. 6, no. 5, pp. 67-70.
5. Лындин А.А. Герпесвирусная инфекция и ее роль в поражении почек // Российский вестник перинатологии и педиатрии, 2010. № 6. С. 69-76. [Lyndin A.A. Herpesvirus infection and its role in kidney damage. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*, 2010, no. 6, pp. 69-76. (In Russ.)].
6. Сахаталиева Р.Р. Хронический гломерулонефрит у детей и его лечение // Экономика и социум, 2021. № 1-2 (80). С. 399-403. [Sakhataliev A.R.R. Chronic glomerulonephritis in children and its treatment. *Ekonomika i sotsium = Economics and Society*, 2021, no. 1-2 (80), pp. 399-403. (In Russ.)]

7. Тюкавкина С.Ю., Лабушкина А.В., Оксенюк О.С. Роль toll-подобных рецепторов в иммунопатогенезе нефропатий // Журнал фундаментальной медицины и биологии, 2017. № 1. С. 17-26. [Tyukavkina S.Yu., Babushkina A.V., Oshenyuk O.S. The role of toll-like receptors in the immunopathogenesis of nephropathies. *Zhurnal fundamentalnoy meditsiny i biologii = Journal of Fundamental Medicine and Biology*, 2017, no. 1, pp. 17-26. (In Russ.)]

8. Wuhl E., Schaefer F. Therapeutic strategies to slow chronic kidney disease progression. *Pediatr. Nephrol.*, 2018, Vol. 23, pp. 705-716.

---

**Авторы:**

**Наврузова Ш.И.** – д.м.н., профессор, заведующая кафедрой педиатрии № 1, Бухарский государственный медицинский институт, г. Бухара, Республика Узбекистан

**Эргашева М.У.** – самостоятельный соискатель кафедры педиатрии № 1, Бухарский государственный медицинский институт, г. Бухара, Республика Узбекистан

**Authors:**

**Navruzova Sh.I.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Pediatrics No. 1, Bukhara State Medical Institute, Bukhara, Republic of Uzbekistan

**Ergasheva M.U.**, Independent Researcher, Department of Pediatrics No. 1, Bukhara State Medical Institute, Bukhara, Republic of Uzbekistan

---

Поступила 01.04.2024

Отправлена на доработку 04.04.2024

Принята к печати 23.04.2024

Received 01.04.2024

Revision received 04.04.2024

Accepted 23.04.2024

---



## **ВЗГЛЯД НА ИММУНОЛОГИЧЕСКОЕ МУЖСКОЕ БЕСПЛОДИЕ С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ СОХРАНЕНИЯ ГОМЕОСТАЗА СЕМЕННОЙ ЖИДКОСТИ**

**Минасова А.А.<sup>1</sup>, Савочкина А.Ю.<sup>1</sup>, Нохрин Д.Ю.<sup>2</sup>, Шарабакина К.А.<sup>1</sup>,  
Пашкина Н.В.<sup>3</sup>, Никушкина К.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

<sup>3</sup> Медицинский центр «Лотос», г. Челябинск, Россия

**Резюме.** Главным патогенетическим звеном иммунологического мужского бесплодия является выработка антиспермальных антител – иммуноглобулинов против антигенов сперматозоидов. За выработку антиспермальных антител ответственны иммунокомпетентные клетки – плазмоциты. В качестве DAMPs, инициирующих данный патологический процесс, помимо остальных выступают молекулы нуклеиновых кислот, попавших во внеклеточное пространство. Система клиренса биологических жидкостей устроена сложно. За утилизацию внеклеточной ДНК отвечают эндонуклеазы. Среди известных на сегодняшний день эндонуклеаз ДНКазы 1 является наиболее изученной. Ее концентрация в биологических жидкостях выше остальных эндонуклеаз. Нами впервые была определена концентрация ДНКазы 1 в семенной жидкости мужчин репродуктивного возраста. Концентрация ДНКазы 1 была сопоставлена с уровнем антиспермальных антител эякулята. Кроме того, определены связи между уровнем ДНКазы 1 и стандартными показателями спермограммы. В качестве материала для исследования использовался эякулят 44 условно здоровых мужчин репродуктивного возраста. С помощью спермиологического анализа определяли макроскопические и микроскопические параметры семенной жидкости, концентрацию дезоксирибонуклеазы-1 (ДНКазы 1) в материале определяли методом иммуноферментного анализа, наличие антиспермальных антител оценивали с использованием прямого метода диагностики – MAR-теста. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью аналитического программного обеспечения в пакете PAST v. 4.06. Референсные интервалы концентрации ДНКазы 1 рассчитывались с помощью программы MedCalc v. 17.4. Оценку связи между показателями спермограммы и концентрацией ДНКазы 1 производили с помощью расчета линейных ранговых коэффициентов корреляции Спирмена. В результате наше-

### **Адрес для переписки:**

Минасова Анна Александровна  
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный  
медицинский университет» Министерства  
здравоохранения РФ  
454092, Россия, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.  
Тел.: 8 (909) 068-45-28.  
E-mail: pandora\_anna@mail.ru

### **Address for correspondence:**

Anna A. Minasova  
South-Ural State Medical University  
64 Vorovsky St  
Chelyabinsk  
454092 Russian Federation  
Phone: +7 (909) 068-45-28.  
E-mail: pandora\_anna@mail.ru

### **Образец цитирования:**

А.А. Минасова, А.Ю. Савочкина, Д.Ю. Нохрин,  
К.А. Шарабакина, Н.В. Пашкина, К.В. Никушкина  
«Взгляд на иммунологическое мужское бесплодие  
с точки зрения сохранения гомеостаза семенной  
жидкости» // Российский иммунологический журнал,  
2024. Т. 27, № 4. С. 967-974.  
doi: 10.46235/1028-7221-16904-AVO

© Минасова А.А. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

### **For citation:**

A.A. Minasova, A.Yu. Savochkina, D.Yu. Nokhrin,  
K.A. Sharabakina, N.V. Pashkina, K.V. Nikushkina  
“A view of immunologic male infertility from the perspective of preserving  
seminal fluid homeostasis”, Russian Journal of Immunology/  
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4,  
pp. 967-974.  
doi: 10.46235/1028-7221-16904-AVO

© Minasova A.A. et al., 2024

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16904-AVO

го исследования была обнаружена отрицательная корреляция соотношения показателя ДНКазы 1 с такими параметрами эякулята, как время разжижения ( $r_s = -0,37$ ;  $p = 0,013$ ) и вязкость ( $r_s = -0,37$ ;  $p = 0,013$ ), а также уровнем антиспермальных антител класса А ( $r_s = -0,43$ ;  $p = 0,003$ ) и G ( $r_s = -0,33$ ;  $p = 0,027$ ), слизистым компонентом эякулята ( $r_s = -0,37$ ;  $p = 0,012$ ) и агглютинацией половых клеток мужчин ( $r_s = -0,33$ ;  $p = 0,029$ ).

Согласно полученным данным, оптимальный уровень ДНКазы 1 напрямую связан с качеством эякулята. Определение концентрации ДНКазы 1 может служить дополнительным диагностическим критерием при мужском иммунологическом бесплодии. Эти данные расширят представления о фертильном потенциале мужчины. Мы допускаем, что при проведении дальнейших исследований, стабилизация уровня ДНКазы 1 в мужском организме может также служить терапевтической мишенью при лечении иммунологического бесплодия.

*Ключевые слова:* дезоксирибонуклеаза 1, антиспермальные антитела, внеклеточная ДНК, иммунологическое бесплодие мужчин, спермограмма, DAMPs

## A VIEW OF IMMUNOLOGIC MALE INFERTILITY FROM THE PERSPECTIVE OF PRESERVING SEMINAL FLUID HOMEOSTASIS

Minasova A.A.<sup>a</sup>, Savochkina A.Yu.<sup>a</sup>, Nokhrin D.Yu.<sup>b</sup>,  
Sharabakina K.A.<sup>a</sup>, Pashkina N.V.<sup>c</sup>, Nikushkina K.V.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

<sup>b</sup> Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

<sup>c</sup> Medical Center "Lotos", Chelyabinsk, Russian Federation

**Abstract.** The basis of the pathogenesis of immunologic male infertility is the production of antisperm antibodies against sperm antigens by plasmocytes. Extracellular nucleic acids, among other antigens, are perceived as DAMPs. The clearance system for biological fluids is complex. Endonucleases are responsible for the utilization of extracellular DNA. Among endonucleases, DNase 1 is the most studied. Its concentration in biological fluids is higher than others. For the first time, we determined the concentration of DNase 1 in the seminal fluid of men of reproductive age. DNase 1 concentration values were compared with the level of antisperm antibodies in the ejaculate, after which the relationship between the enzyme level and standard spermogram parameters was determined. The material for the study was the ejaculate of 44 relatively healthy men of reproductive age. During spermological analysis, macroscopic and microscopic parameters of seminal fluid were determined, the concentration of deoxyribonuclease 1 (DNase 1) in the material was determined by enzyme immunoassay, and the presence of antisperm antibodies was assessed using a direct diagnostic method – the MAR test. Statistical processing of the obtained data was carried out using analytical software PAST v. 4.06. Reference intervals for DNase 1 concentrations were calculated using the MedCalc v. 17.4 program. The relationship between spermogram parameters and DNase 1 concentration was assessed by calculating Spearman's linear rank correlation coefficients. As a result, a negative correlation was found between the DNase 1 ratio and such ejaculate parameters as liquefaction time ( $r_s = -0.37$ ;  $p = 0.013$ ) and viscosity ( $r_s = -0.37$ ;  $p = 0.013$ ), as well as the level of antisperm antibodies A ( $r_s = -0.43$ ;  $p = 0.003$ ) and G ( $r_s = -0.33$ ;  $p = 0.027$ ), the mucous component of the ejaculate ( $r_s = -0.37$ ;  $p = 0.012$ ) and agglutination of male germ cells ( $r_s = -0.33$ ;  $p = 0.029$ ). According to the data obtained, the optimal level of DNase 1 is directly related to the quality of the ejaculate. Determination of DNase 1 concentration can serve as an additional diagnostic criterion for male immunological infertility. These data will expand our understanding of a man's fertile potential.

*Keywords:* deoxyribonuclease 1, antisperm antibodies, extracellular DNA, male immunologic infertility, spermogram, DAMPs

## Введение

Мужское бесплодие – патология репродуктивной функции, вызываемая сочетанием генетических факторов, факторов окружающей среды и образа жизни. Приблизительно в 40-50% случаев infertility в паре связана с мужским фактором [2, 6, 7]. На сегодняшний день известно, что частота иммунологического (аутоиммунного) мужского бесплодия составляет в различных популяциях от 5% до 15% [2].

Главным патогенетическим звеном иммунологического мужского бесплодия является выработка антиспермальных антител (АСАТ) – иммуноглобулинов против антигенов сперматозоидов. АСАТ синтезируются иммунными клетками при нарушении структурной целостности гематотестикулярного барьера (ГТБ), отделяющего на микроскопическом уровне кровь от эпителия тестикул, или повышении его проницаемости. Причиной повреждения ГТБ являются: мочеполовые инфекции, травмы яичка или хирургическое вмешательство, наличие анатомических нарушений (варикоцеле, обструкция или агенезия семявыносящих путей, крипторхизм, перекут яичка), воспалительные заболевания (эпидидимит, орхит, простатит) [1, 2].

При апоптозе сперматозоидов, находящихся на разных этапах своего развития, наличии инфекций, передающихся половым путем или повреждении клеток репродуктивного тракта мужчин, сопровождающихся нерегулируемым перевариванием клеточных компонентов, образуются побочные продукты деградации в виде внеклеточной ДНК (вкДНК).

Фрагменты вкДНК выполняют функцию стресс-сигнала, т. е. воспринимаются как молекулярный паттерн, ассоциированный с повреждением (damage-associated molecular patterns, DAMPs), запуская каскад иммунных реакций и формирование аутоантител [4].

В организме человека существует механизм, обеспечивающий клиренс биологических жидкостей от клеток с аномалиями структуры хроматина и избытка вкДНК. Основными ферментами, разрушающими вкДНК в крови и секретах, являются циркулирующие ДНКазы: ДНКаза 1, ДНКаза II3, и, в меньшей степени, эндонуклеаза G, индуцирующий апоптоз фактор (AIF), топоизомераза II. В эякуляте человека были обнаружены магний-чувствительные ДНКазы, обладающие способностью расщепления вкДНК на фрагменты, длина которых кратна 160-180 п.о., с

последующей фрагментацией вплоть до отдельных нуклеотидов. Среди всех членов своего семейства ДНКаза 1 обладает самым широким профилем экспрессии, она экспрессируется главным образом в экзокринных клетках пищеварительного тракта, в поджелудочной железе, слюнных и околоушных железах, но также обнаруживается в других секретах и жидкостях человеческого организма – в крови, моче и семенной жидкости. Вероятно, каталитическая активность ДНКазы 1, проявляющаяся как внутриклеточно, так и внеклеточно, является одним из звеньев, поддерживающих иммунологическую толерантность среды репродуктивного тракта мужчин. Нарушения функциональной активности данного фермента, снижение концентрации могут стать одним из ключевых патогенетических звеньев, способствующих ухудшению качества эякулята и снижению способности мужчины к оплодотворению.

**Целью настоящей работы** стало определение уровня ДНКазы 1 и поиск связи между концентрацией ДНКазы 1 и уровнем антиспермальных антител в семенной жидкости мужчин.

## Материалы и методы

Было проведено лабораторное исследование 44 образцов эякулята условно здоровых мужчин в возрасте от 18 до 49 лет, средний возраст которых составил  $34 \pm 0,9$  года. У лиц, включенных в исследование, отсутствовали клинические симптомы, которые характерны для острых инфекционных заболеваний. Все участники соответствовали общим критериям включения и исключения. Критерии включения: добровольное согласие на обследование в письменном виде, соответствие возрастному параметру, отсутствие хронических и перенесенных острых инфекционных заболеваний в течение последних трех месяцев, наличие периода полового воздержания от 3 до 5 дней, исключение приема алкоголя, лекарственных препаратов, массажа предстательной железы, перегревания, переохлаждения, переутомления за 2 недели до исследования. Критерии исключения: наличие выявленного вируса иммунодефицита человека, гепатита, туберкулеза, заболеваний урогенитального тракта инфекционной (в том числе папилломавирусная инфекция, урогенитальный трихомониаз, гонококковая инфекция, сифилис) и неинфекционной этиологии.

В соответствии со стандартами процедуры анализа эякулята Лабораторного руководства ВОЗ по исследованию и обработке спермы че-

ловека [8] после получения образцы спермы направляли на спермиологический анализ. После осуществлялся ПЦР-скрининг для исключения материала с ИППП (*Chlamidia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*), проводилась оценка уровня антиспермальных антител и определение концентрации фермента.

Для определения концентраций ДНКазы 1 в семенной жидкости использовали иммуноферментный анализ для количественного измерения фермента *in vitro* с помощью тест-системы ELISAKitforDeoxyribonucleaseI (DNASE1), пг/мл (Cloud-Clone Corp., США). Для определения антиспермальных антител (АСАТ) в эякуляте использовали наборы SpermMar Test IgG и SpermMar Test IgA (FertiPro N.V., Бельгия).

Полученные значения концентрации ДНКазы 1 были выражены в виде медианы (Me) и интерквартильного диапазона ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ ), показателя среднего арифметического с 95%-ным ДИ, а также минимального и максимального значения концентрации фермента.

Нами проведена прямая оценка референтных интервалов концентраций ДНКазы 1, в соответствии с руководством EP28-A3c Института клинических лабораторных стандартов (CLSI). График был создан с помощью программ TrX (version 2.0) и PAST (version 4.06) [3].

Оценку возможных связей между показателями спермиологического исследования и значениями концентрации ДНКазы 1 определяли, используя корреляционный анализ с расчетом линейных ранговых коэффициентов корреляции Спирмена. При уровне достоверности  $p < 0,05$  различия считали статистически значимыми. При интерпретации силы связей опирались на значения шкалы Чеддока.

## Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования было проведено изучение концентрации ДНКазы 1 семенной жидкости мужчин репродуктивного возраста. Среднее значение концентрации ДНКазы 1 составило 104,4 (55,24-153,61) пг/мл, показатель медианы ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ ) — 55,3 (41,7-73,5) пг/мл. Минимальное и максимальное значение концентрации ДНКазы 1 составило, соответственно, 3,0-852,3 пг/мл.

В настоящем исследовании нами предпринята попытка установить референтные интервалы (РИ) концентрации ДНКазы 1 семенной жид-

кости мужчин репродуктивного возраста. На сегодняшний день в литературных данных не представлены значения используемых контрольных интервалов концентрации дезоксирибонуклеаз в семенной жидкости мужчин, поэтому данный вопрос является актуальным. Нижние и верхние референтные границы (значения 2,5 и 97,5 процентов соответственно) для значений концентрации ДНКазы 1, а 90% ДИ для верхней и нижней границ каждого РИ. Полученные референтные интервалы концентраций ДНКаз в семенной жидкости мужчин фертильного возраста имели следующие значения: нижняя граница 11,1 (7,9-15,8), верхняя граница 408,9 (260,8-651,5). Графическое отображение РИ концентрации ДНКазы 1 представлено на рисунке 1.

В ходе оценки связей между уровнем ДНКазы 1 и показателями спермиологического исследования были выявлены коэффициенты корреляции, принимающие отрицательное значение, что свидетельствует о наличии обратной связи между показателями. Результаты корреляционного анализа представлены в таблице 1.

В целом корреляционный анализ отразил наличие слабой отрицательной корреляции соотношения показателя ДНКазы 1 и такими параметрами эякулята, как время разжижения ( $r_s = -0,37$ ;  $p = 0,013$ ) и вязкость ( $r_s = -0,37$ ;  $p = 0,013$ ), а также уровнем антиспермальных антител класса А ( $r_s = -0,43$ ;  $p = 0,003$ ) и G ( $r_s = -0,33$ ;  $p = 0,027$ ), слизистый компонент эякулята ( $r_s = -0,37$ ;  $p = 0,012$ ) и агглютинация половых клеток мужчин ( $r_s = -0,33$ ;  $p = 0,029$ ). Иными словами, в нашем исследовании определено, что при высокой концентрации ДНКазы 1 фиксируются более низкие уровни антиспермальных антител, эякулят характеризуется меньшей вязкостью, отмечается меньшее время для разжижения эякулята.

Анализируя полученные коэффициенты и их достоверность, можно сделать предположение, что коррелируют между собой показатели, которые отражают цепь событий одного процесса. Вероятно, оптимальное количество ДНКаз в семенной жидкости мужчин, в частности ДНКазы 1, обеспечивает поддержание генетического гомеостаза семенной жидкости. Сохранение гомеостаза обеспечивается за счет эффективной деградации внеклеточной ДНК. Нуклеиновые кислоты могут попадать во внеклеточное пространство семенной жидкости разными способами. Во-первых, при нарушении апоптоза сперматозоидов, на-



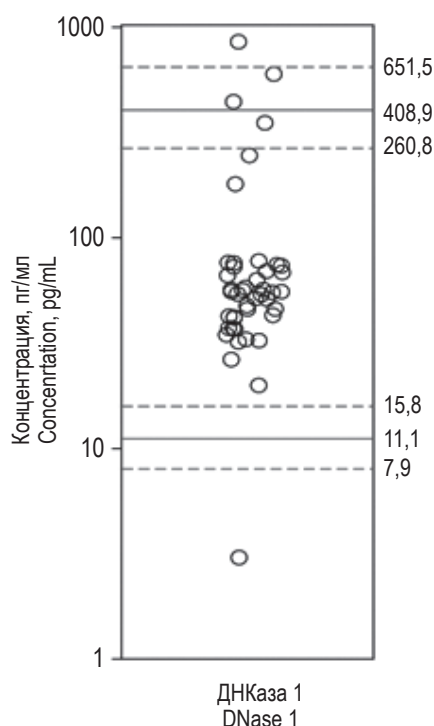
ТАБЛИЦА 1. КОЭФФИЦИЕНТЫ РАНГОВОЙ КОРРЕЛЯЦИИ  $r$  СПИРМЕНА МЕЖДУ ПЕРЕМЕННЫМИ СПЕРМИОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА И ЗНАЧЕНИЯМИ КОНЦЕНТРАЦИИ ДНКазы 1

TABLE 1. THE R SPEARMAN RANK CORRELATION COEFFICIENTS BETWEEN SPERM ANALYSIS VARIABLES AND DNAase 1 CONCENTRATION VALUES

Показатели спермограммы Spermogram values	ДНКазы 1 / DNAase 1	
	$r_s$	p
Возраст / Age	0,07	0,631
Воздержание / Abstinence	0,17	0,273
Цвет / Color	-0,12	0,447
Мутность / Turbidity	0,06	0,698
pH	0,16	0,305
Время разжижения / Liquification time	<b>-0,37</b>	<b>0,013</b>
Вязкость / Viscosity	<b>-0,37</b>	<b>0,013</b>
Объем эякулята / Ejaculate volume	0,02	0,900
Концентрация сперматозоидов Sperm concentration	-0,13	0,414
Общее количество сперматозоидов Total number of spermatozoa	-0,09	0,560
Прогрессивно-подвижные PR-сперматозоиды Progressive motile PR spermatozoa	0,08	0,598
Непрогрессивно-подвижные NP-сперматозоиды Non-progressive motile NP spermatozoa	-0,13	0,416
Общая подвижность (PR + NP) / General mobility	0,01	0,958
Неподвижные IM-сперматозоиды Immobile IM spermatozoa	-0,01	0,958
Агглютинация сперматозоидов Sperm agglutination	<b>-0,33</b>	<b>0,029</b>
Неспецифическая агрегация Non-specific aggregation	-0,18	0,254
Нормальные формы сперматозоидов Normal forms of spermatozoa	0,00	0,997
Патологические формы сперматозоидов Pathological forms of spermatozoa	0,03	0,839
Патология головки сперматозоидов Pathology of the sperm head	-0,01	0,949
Патология шейки сперматозоидов Pathology of the cervix of spermatozoa	-0,05	0,769
Патология хвоста сперматозоидов Pathology of the sperm tail	0,10	0,511
Клетки сперматогенеза / Spermato-genesis cells	-0,26	0,091
Лейкоциты в эякуляте / White blood cells in the ejaculate	0,08	0,612
Слизь в эякуляте / Mucus in the ejaculate	<b>-0,37</b>	<b>0,012</b>
Антиспермальные антитела класса А Antisperm antibodies of class A	<b>-0,43</b>	<b>0,003</b>
Антиспермальные антитела класса G Antisperm antibodies of class G	<b>-0,33</b>	<b>0,027</b>

Примечание. Выделенные полужирным значения соответствуют нагрузке > 0,3 по модулю (до 0,4 – слабая корреляция; 0,4-0,7 – средней силы; более 0,7 – сильная корреляция); различия статистически достоверны при  $p \leq 0,05$ , также выделены полужирным начертанием.

Note. Bolded values correspond to loading > 0.3 modulo (up to 0.4, weak correlation; 0.4-0.7, medium strength; more than 0.7, strong correlation); differences are statistically significant at  $p \leq 0.05$ , also shown in bold.



**Рисунок 1. Точечная диаграмма концентрации ДНКазы 1 в семенной жидкости с референсными интервалами**

**Примечание.** Сплошная линия – граница интервала, пунктир – 90%-ные ДИ для границы.

Figure 1. A dot diagram of the concentration of DNase 1 in seminal fluid with reference intervals

Note. The solid line is the border of the interval, the dotted line is 90% DI for the border.

ходящихся на разных этапах своего развития, происходит попадание фрагментов ДНК и РНК в экстрацеллюлярное пространство. Во-вторых, при наличии инфекций, передающихся половым путем, нуклеиновые кислоты возбудителей также оказываются во внеклеточном пространстве. Следующим источником внеклеточной ДНК являются собственные поврежденные клетки репродуктивного тракта мужчин [4]. Неэффективная деградация внеклеточной ДНК способствует накоплению данного продукта в мужских половых путях, который воспринимается иммунокомпетентными клетками организма как DAMPs. Это влечет за собой реализацию местного иммунного ответа, который выражается, в первую очередь, путем синтеза антиспермальных антител. Согласно полученным данным, оптимальный уровень ДНКазы 1 напрямую связан с качеством эякулята.

Определение концентрации ДНКазы 1 может служить дополнительным диагностическим критерием при мужском иммунологическом бесплодии. Эти данные расширят представления о фертильном потенциале мужчины.

Мы допускаем, что при проведении дальнейших исследований, стабилизация уровня ДНКазы 1 в мужском организме может также служить терапевтической мишенью при лечении иммунологического бесплодия.

## Список литературы / References

1. Божедомов В.А., Николаева М.А., Спорих Е.А., Рохликов И.М., Липатова Н.А., Ушакова И.В., Логинова Н.С., Сухих Г.Т. Этиопатогенез аутоиммунных реакций против сперматозоидов // Андрология и генитальная хирургия, 2012. № 4. С. 45-53. [Bozhedomov V.A., Nikolaeva M.A., Sporish E.A., Rokhlikov I.M., Lipatova N.A., Ushakova I.V., Loginova N.S., Sukhikh G.T. Etiopathogenesis of autoimmune reactions against sperm. *Andrologiya i genitalnaya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery*, 2012, no. 4. pp. 45-53. (In Russ.)]
2. Шевырин А.А. Современный взгляд на лечение нарушений мужской фертильной функции // РМЖ, 2018. № 12. С. 30-35. [Shevyrin A.A. Modern view on the treatment of male fertility disorders. *RMZh = Russian Medical Journal*, 2018, no. 12, pp. 30-35. (In Russ.)]
3. CLSI. Defining, establishing and verifying reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline; third edition CLSI document EP28-A3c; Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA, USA, 2008. Available at: <https://pdf4pro.com/view/ep28-a3c-defining-establishing-and-verifying-reference-7a58f8.html>.
4. Heil M., Vega-Muñoz I. Nucleic acid sensing in mammals and plants: facts and caveats. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.*, 2019, Vol. 345, pp. 225-285.
5. Keyel, P.A. Dnases in health and disease. *Dev. Biol.*, 2017, Vol. 429, no.1, pp. 1-11.
6. Podgrajsek R., Hodzic A., Stimpfel M., Kunej T., Peterlin B. Insight into the complexity of male infertility: a multi-omics review. *Syst. Biol. Reprod. Med.*, 2024, Vol. 70, pp. 73-90.

7. Tang Q., Chen Y., Wu W., Ding H., Xia Y., Chen D., Wang X. Idiopathic male infertility and polymorphisms in the DNA methyltransferase genes involved in epigenetic marking. *Sci. Rep.*, 2017, Vol. 7, 11219. doi: 10.1038/s41598-017-11636-9.

8. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, fifth edition. World Health Organization., 2010, p. 271. Available at: <https://fctc.who.int/publications/i/item/9789241547789>.

---

**Авторы:**

**Минасова А.А.** – к.б.н., старший научный сотрудник НИИ иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

**Савочкина А.Ю.** – д.м.н., доцент, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

**Authors:**

**Minasova A.A.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Research Institute of Immunology, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

**Savochkina A.Yu.**, PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Head, Department of Microbiology, Virology and Immunology, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

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

**Шарабакина К.А.** — старший лаборант НИИ иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

**Пашкина Н.В.** — врач — акушер-гинеколог, репродуктолог, Медицинский центр «Лотос», г. Челябинск, Россия

**Никושкина К.В.** — к.м.н., ведущий научный сотрудник НИИ иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

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

**Sharabakina K.A.**, Senior Laboratory Assistant, Research Institute of Immunology, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

**Pashkina N.V.**, Obstetrician-Gynecologist, Reproductologist, Medical Center "Lotos", Chelyabinsk, Russian Federation

**Nikushkina K.V.**, PhD (Medicine), Leading Research Associate, Research Institute of Immunology, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

---

Поступила 03.04.2024

Отправлена на доработку 04.04.2024

Принята к печати 23.04.2024

Received 03.04.2024

Revision received 04.04.2024

Accepted 23.04.2024



## ДЕНТАЛЬНАЯ ИМПЛАНТАЦИЯ У ПАЦИЕНТОВ С КОМОРБИДНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ: ДА ИЛИ НЕТ?

Лабис В.В.<sup>1</sup>, Исакина М.О.<sup>2</sup>, Козлов И.Г.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Научно-образовательный институт стоматологии имени А.И. Евдокимова ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Резюме.** Пациенты с коморбидной патологией — это, несомненно, пациенты группы риска, с персонализированным подходом к планированию и проведению хирургической реабилитации в стоматологии, в частности методами дентальной имплантации. Недостаточная оценка клинических проявлений системной патологии в стадии ремиссии с упущениями при сборе анамнеза и истории заболеваний, нередко приводит к тяжелым осложнениям хирургического профиля. Синдром Жильбера, генетически опосредованное заболевание, связанное с нарушением образования билирубина, ингибирует активность тромбоцитов, что увеличивает риск развития постоперационных воспалительных осложнений. Расширение показаний к применению дентальной имплантации у пациентов с ранее выявленными онкологическими заболеваниями и прошедшими не только хирургическое лечение, но и лучевую, а также химиотерапию, позволяет при определенных условиях не исключать данный современный метод стоматологической реабилитации. Синдром Жильбера как генетически опосредованное заболевание, проявляющееся снижением ферментативной активности печени и накоплением избыточного непрямого билирубина, характеризуется в том числе способностью отягощать течение других хронических заболеваний пациента. При обострениях, характеризующихся клинически в виде желтушности кожных покровов, склер и слизистых, отмечается наличие иммуносупрессии, что влечет за собой увеличение вероятности послеоперационных осложнений. Поводом к написанию данной публикации послужило обращение пациентки с синдромом Жильбера по поводу возможности проведения хирургического лечения хронических очагов инфекции с последующей реабилитацией методом дентальной имплантации и проведением реконструктивных костно-пластических операций. В данном клиническом случае мы столкнулись с наличием коморбидной патологии, что стало основанием к углубленному изучению орфанного заболевания в сочетании с синдромом Жильбера. При сочетанном варианте данной патологии с истинной полицитемией, являющейся миелопролиферативным заболеванием в стадии компенсации, важно отметить, что метод дентальной имплантации не может быть применен при комплексной стоматологической реабили-

### Адрес для переписки:

Лабис Варвара Владимировна  
Научно-образовательный институт  
стоматологии имени А.И. Евдокимова  
121601, Россия, Москва, Филевский б-р, 7, кв. 27.  
Тел.: 8 (962) 977-77-72.  
E-mail: Varvara2001@mail.ru

### Address for correspondence:

Varvara V. Labis  
A. Evdokimov Institute of Dentistry  
7 Filevsky Blvd, Apt 27  
Moscow  
121601 Russian Federation  
Phone: +7 (962) 977-77-72.  
E-mail: Varvara2001@mail.ru

### Образец цитирования:

В.В. Лабис, М.О. Исакина, И.Г. Козлов «Дентальная имплантация у пациентов с коморбидной патологией: да или нет?» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 975-980.  
doi: 10.46235/1028-7221-16924-DII

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

### For citation:

V.V. Labis, M.O. Isakina, I.G. Kozlov “Dental implantation in patients with comorbid diseases: yes or no?”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 975-980.  
doi: 10.46235/1028-7221-16924-DII

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16924-DII

тации пациента. Истинная полицитемия требует к себе особого внимания со стороны хирургов-стоматологов ввиду возникновения возможных серьезных осложнений в виде гематом, тромбозов или ДВС-синдрома. В данном случае пациент может быть отнесен к группе риска с абсолютным противопоказанием к проведению хирургического стоматологического вмешательства, в частности лечением с применением метода дентальной имплантации, несмотря на длительный срок ремиссии обоих заболеваний.

*Ключевые слова:* дентальная имплантация, синдром Жильбера, истинная полицитемия, коморбидная патология, иммунокомпрометированный пациент

## DENTAL IMPLANTATION IN PATIENTS WITH COMORBID DISEASES: YES OR NO?

Labis V.V.<sup>a</sup>, Isakina M.O.<sup>b</sup>, Kozlov I.G.<sup>b</sup>

<sup>a</sup> A. Evdokimov Institute of Dentistry, Russian University of Medicine, Moscow, Russian Federation

<sup>b</sup> I. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** Patients with multiple pathologies are a high-risk group, which requires a personalized approach to surgical rehabilitation in dentistry. Inadequate diagnosis of clinical manifestations when a patient is in remission often leads to severe surgical complications. However, modern methods of dental implantation and rehabilitation are possible even in patients with oncology, those who underwent surgical therapy, chemo- or radiotherapy. Gilbert syndrome, one of the risk factors for post-surgery inflammatory complications, is associated with defects in bilirubin metabolism. It inhibits platelet activity. It is a genetic disease leading to a loss of liver enzyme activity and the accumulation of indirect bilirubin that can aggravate the course of other diseases in patients. In acute stages, it is characterized by jaundice of the skin, eyes, and mucosa and is followed by immunosuppression and the post-surgical complications associated with it. A patient with Gilbert syndrome was administered for surgical treatment of a chronic infection and follow-up rehabilitation via dental implantation and reconstruction of the bone. In this case, we faced Gilbert syndrome in association with polycythemia (a myeloproliferative disease in the compensation stage). In such cases, dental implantation cannot be achieved in the complex dental rehabilitation process. Such diseases require special attention from dental surgeons due to possible complications (bleeding, thrombosis, or disseminated intravascular coagulation). In this specific case, the patient belongs to the risk group, and its history, although in remission, is still a contraindication for dental surgery and dental implantation.

*Keywords:* dental implantation, Gilbert's syndrome, true polycythemia, multiple pathology, immunocompromised patient

### Введение

Синдром Жильбера – наследственное заболевание, связанное с мутацией в промоторе гена уридиновой глюкокуронозилтрансферазы, проявляющееся снижением функциональной активности данного фермента и, как следствие, ведущее к избыточному накоплению непрямого билирубина [9].

Долгие годы данную патологию рассматривали как доброкачественную, не только с точки

зрения того, что она не ведет к фиброзированию печени, но и потому, что рядом исследований была доказана связь между носительством синдрома Жильбера и снижением риска различных возрастных заболеваний, в частности связанных с тромбообразованием, благодаря антиоксидантным свойствам билирубина [5, 7, 9]. Доказано, что умеренно повышенная концентрация непрямого билирубина ингибирует активность тромбоцитов в плазме через механизм, специфически

связанный с коллаген-индуцированной активацией тромбоцитов [8].

Но так ли безобиден синдром Жильбера, как это кажется на первый взгляд, и возможно ли проведение хирургических вмешательств, в частности дентальной имплантации у пациентов с данной системной патологией?

С недавнего времени данный диагноз можно подтвердить, не только основываясь на результатах физикального осмотра и лабораторного исследования иной патологии, но и с помощью генетического исследования.

При выявлении любого генетически детерминированного заболевания необходимо проявить настороженность и в отношении других возможных генетических мутаций у пациента. Синдром Жильбера не является исключением.

## Материалы и методы

В клинику кафедры пропедевтики хирургической стоматологии, НОИ стоматологии имени А.И. Евдокимова, «Российского университета медицины» обратился пациент (женщина, 64 лет) с целью проведения хирургической стоматологической реабилитации методом дентальной имплантации с необходимостью выполнения реконструктивных хирургических вмешательств по направленной костной регенерации. В анамнезе миелопролиферативное заболевание – истинная полицитемия, полный гематологический ответ. Jak2V617F (+). Синдром Жильбера.

Истинная полицитемия – это миелопролиферативное заболевание, характеризующееся нерегулируемой пролиферацией гемопоэтических стволовых клеток, приводящей к преобладающему увеличению массы эритроцитов, а также лейкоцитов и тромбоцитов [6, 11].

Данный диагноз был установлен в январе 2018 года на основании миелоидной пролиферации по трем росткам, обнаружении мутации гена Jak2V617F. Осуществлялась терапия гидроксимочевиной с последующим переходом на препараты интерферона-альфа. На проводимую терапию отмечался быстрый положительный ответ. Регулярный мониторинг показателей гемограммы с ноября 2019 года не выявлял значительных отклонений от референсных значений в отношении количества эритроцитов, лейкоцитов. Показатели гемоглобина и гематокрита оставались незначительно повышенными (на 2019 год, далее на фоне проводимой терапии данные показатели пришли к оптимальным значениям). На фоне проводимого лечения отме-

чалось значительное уменьшение тромбоцитов от исходных значений  $800 \times 10^9/\text{л}$  (январь 2018 года) до  $161 \times 10^9/\text{л}$  (ноябрь 2019 года),  $144 \times 10^9/\text{л}$  (ноябрь 2022 года), что было ниже значений референсных интервалов лабораторий, проводивших анализ.

В биохимическом анализе крови стабильно отмечалось умеренное повышение билирубина за счет непрямой фракции.

Расширение показаний к применению дентальной имплантации у пациентов с ранее выявленными онкологическими заболеваниями и прошедшими не только хирургическое лечение, но и лучевую, а также химиотерапию, позволяет при определенных условиях не исключать данный современный метод стоматологической реабилитации [1, 2].

Перед нами встал вопрос о возможности проведения хирургической реабилитации, а именно дентальной имплантации и реконструктивных операций с направленной костной регенерацией, у данной пациентки.

Согласно действующим клиническим рекомендациям (протоколам лечения) при диагнозе «полное отсутствие зубов», утвержденным Постановлением № 15 Совета Ассоциации общественных объединений «Стоматологическая Ассоциация России» от 30 сентября 2014 года к абсолютным противопоказаниям проведения дентальной имплантации являются: болезни сердечно-сосудистой системы в стадии декомпенсации; болезни крови и кроветворных органов (лимфогранулематоз, лейкозы, гемолитические анемии); психические расстройства и расстройства поведения; иммунопатологические заболевания и состояния (дефекты системы комплимента с выраженным снижением сопротивляемости организма, фагоцитарные расстройства, синдромы гуморальной недостаточности, гипоплазия тимуса и паразитовидных желез); некоторые болезни костно-мышечной системы и соединительной ткани (ревматические и ревматоидные процессы, врожденные остеопатии, костные дисплазии, состояния после лучевой и медикаментозной терапии); заболевания костной системы и другие патологические состояния, вызывающие нарушение трофики и ослабление регенерационной способности костной ткани (врожденные остеопатии, костные дисплазии, состояния после лучевой и медикаментозной терапии); болезни эндокринной системы, расстройства питания и нарушения обмена веществ (сахарный диабет

I типа, дисфункции щитовидной и паращитовидных желез, болезни гипофиза и надпочечников); злокачественные новообразования; туберкулез; СПИД; венерические болезни; некоторые болезни кожи (дерматозы и склеродермия), регулярный прием в анамнезе наркотических препаратов; лечение бисфосфонатами; а также ряд заболеваний при условии, что имплантация не разрешена соответствующим специалистом: врожденные пороки и протезирование клапанов сердца; некоторые болезни слизистой оболочки рта (хронический рецидивирующий афтозный стоматит, красная волчанка, пузырчатка, синдром Шегрена, синдром Бехчета); генерализованный пародонтит тяжелой степени [4].

К относительные противопоказания относятся: остеопороз; низкое содержание эстрогена у женщин; доброкачественные новообразования; хронические инфекционные болезни; вредные привычки (злоупотребление алкоголем и курением, наркомания); возраст до 18 лет; беременность и лактация; неудовлетворительная гигиена рта.

Несмотря на то, что заболевания крови являются абсолютным противопоказанием к стоматологическому хирургическому вмешательству, в литературе описано несколько случаев проведения хирургических манипуляций в полости рта у пациентов с истинной полицитемией:

При обзоре литературы было найдено два клинических случая, посвященных хирургическому стоматологическому лечению пациентов с истинной полицитемией.

Оба пациента находились на лечении. В первом случае проводилась экстракция зуба, операция прошла без осложнений. Во втором случае проводилась вестибулопластика при вторичном неглубоком преддверии, операция осложнилась значительными гематомами в подбородочной области на следующий день после проведения манипуляции. Гематомы сохранялись в течение 10 дней. Послеоперационных кровотечений из операционного поля не наблюдалось [10].

Синдром Жильбера, генетически опосредованное заболевание, связанное с нарушением образования билирубина, ингибирует активность тромбоцитов, что увеличивает риск развития постоперационных воспалительных осложнений.

Необходимо помнить о дисплазии соединительной ткани, характерной для синдрома Жильбера [3].

Важно отметить, что данное заболевание редко бывает «изолированным» и несет за собой необходимость в исключении ряда других

патологий, идущих следом, таких как: целиакия, заболевания желудочно-кишечного тракта, болезнь Вилсона, синдром Морфана, синдром Элерса–Данлоса, гемохроматоз, увеличения риска камнеобразования. При обострениях, характеризующихся клинически в виде желтушности кожных покровов, склер и слизистых отмечается наличие иммуносупрессии, что влечет за собой увеличение вероятности послеоперационных осложнений.

## Результаты и обсуждение

Напомним, что в описанном нами ранее клиническом случае истинная полицитемия сочетается с синдромом Жильбера. На основании лабораторных исследований, изученных в динамике, клинических проявлений у представленной пациентки, а также приведенной литературы можно сделать вывод о том, что синдром Жильбера может оказывать положительное воздействие на течение миелопролиферативного заболевания ввиду снижения риска тромбообразования за счет подавления активации тромбоцитов умеренно повышенной концентрацией непрямого билирубина [9].

В связи с коморбидностью патологии, высокими факторами риска срыва ремиссии заболеваний и абсолютным противопоказанием с точки зрения причастности к гематологическим заболеваниям истинной полицитемии данной пациентке было отказано в проведении хирургических вмешательств и рекомендовано ортопедическое лечение.

Таким образом, мы можем сделать вывод о том, что синдром Жильбера является довольно сложным и на сегодняшний момент малоизученным состоянием, которое может сопровождаться проявлением других генетически опосредованных аномалий. Поэтому необходимо проявлять настороженность в отношении данной группы пациентов и проводить им расширенное комплексное обследование перед возможными хирургическими вмешательствами.

Истинная полицитемия требует к себе особого внимания со стороны хирургов-стоматологов ввиду возможных серьезных осложнений в виде гематом, тромбозов или ДВС-синдрома.

## Заключение

Нами представлен уникальный клинический случай сочетания диагнозов истинной полицитемии и синдрома Жильбера, где взаимное влияние



данных патологий друг на друга представляется объектом для дальнейшего изучения. Несмотря на длительный срок ремиссии (10 лет) истинной полицитемии в сочетании с синдромом Жильбера, при наличии поддерживающей терапии, назначенной в гематологическом отделении ФГБУ

НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, данный факт исключает метод дентальной имплантации с проведением реконструктивных костно-пластических операций из комплексного плана лечения ввиду высокого риска срыва ремиссии коморбидной патологии.

## Список литературы / References

1. Аришкова В.В., Базилян Э.А., Тарба И.И. Лечение с использованием дентальных имплантатов с целью повышения качества жизни пациентов в стадии ремиссии онкологических заболеваний // Российская стоматология, 2022. Т. 15, № 1. С. 36-38. [Arishkova V.V., Bazikyan E.A., Tarba I.I. Treatment using dental implants in order to improve the quality of life of patients in remission of oncological diseases. *Rossiyskaya stomatologiya = Russian Dentistry*, 2022, Vol. 15, no. 1, pp. 36-38. (In Russ.)]
2. Базилян Э.А., Воложин Г.А., Аришкова В.В. Особенности проведения операции дентальной имплантации и динамики регенерации у пациентов, перенесших курсы лучевой и химиотерапии // Российская стоматология, 2018. Т. 11, № 1. С. 3-4. [Bazikyan E.A., Volozhin G.A., Arishkova V.V. Features of dental implantation surgery and regeneration dynamics in patients who underwent radiation and chemotherapy courses. *Rossiyskaya stomatologiya = Russian Dentistry*, 2018, Vol. 11, no. 1, pp. 3-4. (In Russ.)]
3. Дмитрачков В.В., Самохвал О.В., Юшко В.Д., Былинский Н.Н. Признаки недифференцированной дисплазии соединительной ткани у детей и подростков с синдромом Жильбера // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология, 2014. Вып. 105, № 5. С. 52. [Dmitrachkov V.V., Samokhval O.V., Yushko V.D., Bylinsky N.N. Signs of undifferentiated connective tissue dysplasia in children and adolescents with Gilbert's syndrome. *Ekspierimentalnaya i klinicheskaya gastroenterologiya = Experimental and Clinical Gastroenterology*, 2014, Iss. 105, no. 5, p. 52. (In Russ.)]
4. Клинические рекомендации (протоколы лечения) При диагнозе полное отсутствие зубов (полная вторичная адентия, потеря зубов вследствие несчастного случая, удаления, или локализованного пародонтита (Утверждены постановлением № 15 Совета Ассоциации общественных объединений «Стоматологическая Ассоциация России» от 30 сентября 2014 года). [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://gksp3kem.ru/wp-content/uploads/2022/04/7-%D0%9F%D0%9E%D0%9B%D0%9D%D0%90%D0%AF-%D0%90%D0%94%D0%95%D0%9D%D0%A2%D0%98%D0%AF-converted.pdf>. [Clinical recommendations (treatment protocols). When diagnosed with complete absence of teeth (complete secondary adentia, loss of teeth due to an accident, removal, or localized periodontitis (Approved by Resolution No. 15 of the Council of the Association of Public Associations "Dental Association of Russia" dated September 30, 2014). [Electronic resource]. Access mode: <https://gksp3kem.ru/wp-content/uploads/2022/04/7-%D0%9F%D0%9E%D0%9B%D0%9D%D0%90%D0%AF-%D0%90%D0%94%D0%95%D0%9D%D0%A2%D0%98%D0%AF-converted.pdf>. (In Russ.)]
5. Рейзис А.Р., Хохлова О.Н., Никитина Т.С. Синдром Жильбера: современные воззрения, исходы и терапия // Гастроэнтерология, 2012. № 3 (71). С. 42-45. [Reizis A.R., Khokhlova O.N., Nikitina T.S. Gilbert's syndrome: modern views, outcomes and therapy. *Gastroenterologiya = Gastroenterology*, 2012, no. 3 (71), pp. 42-45. (In Russ.)]
6. Boldrini V., Vannucchi A.M., Guglielmelli P. A safety evaluation of ruxolitinib for the treatment of polycythemia vera. *Expert. Opin. Drug Saf.*, 2024, Vol. 23, no. 1, pp. 1-7.
7. Horsfall L.J., Nazareth I., Pereira S.P., Petersen I. Gilbert's syndrome and the risk of death: a population-based cohort study. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2013, Vol. 28, no. 10, pp. 1643-1647.
8. Kundur A.R., Bulmer A.C., Singh I. Unconjugated bilirubin inhibits collagen induced platelet activation. *Platelets*, 2014, Vol. 25, no. 1, pp. 45-50.
9. Kundur A.R., Singh I., Bulmer A.C., Bilirubin, platelet activation and heart disease: a missing link to cardiovascular protection in Gilbert's syndrome? *Atherosclerosis*, 2015, Vol. 239, no. 1, pp. 73-84.
10. Neichev D., Cholakova R., Chenchev Iv. Oral surgical treatment of patients with polycythemia vera. Научни трудове на Съюза на учените – Пловдив. Серия Г: Медицина, фармация и дентална медицина, 2015.

C. 240-242. [Neichev D., Cholakova R., Chenchov Iv. Scientific papers of the Union of scientists – Plovdiv. Series D: Medicine, Pharmacy and Dentistry, 2015, pp. 240-242.

11. Stein B.L., Moliterno A.R., Tiu R.V. Polycythemia vera disease burden: contributing factors, impact on quality of life, and emerging treatment options. *Ann. Hematol.*, 2014, Vol. 93, no. 12, pp. 1965-1976.

---

**Авторы:**

**Лабис В.В.** — к.м.н., доцент кафедры пропедевтики хирургической стоматологии, Научно-образовательный институт стоматологии имени А.И. Евдокимова ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Исакина М.О.** — студентка 5-го курса КИДЗ им. Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Козлов И.Г.** — д.м.н., профессор ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Authors:**

**Labis V.V.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Propaedeutics of Surgical Dentistry, A. Evdokimov Institute of Dentistry, Russian University of Medicine, Moscow, Russian Federation

**Isakina M.O.**, 5<sup>th</sup> year student of the N. Filatov KIDZ, I. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

**Kozlov I.G.**, PhD, MD (Medicine), Professor, I. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

---

Поступила 03.04.2024

Отправлена на доработку 05.04.2024

Принята к печати 17.04.2024

---

Received 03.04.2024

Revision received 05.04.2024

Accepted 17.04.2024

## **ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ФАРМАКОДИНАМИКА ФИТОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ МЕТАБОЛИЧЕСКИМ ФЕНОТИПОМ ОСТЕОАРТРИТА**

**Ширинский И.В., Филатова К.Ю., Ширинский В.С.**

*Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал ФИЦ «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия*

**Резюме.** Актуальность проблемы определяется распространенностью метаболического фенотипа остеоартрита (МФОА) и неудовлетворительными методами его фармакотерапии как полиморбидного заболевания. Препараты куркумы обладают широким спектром биологической активности, их применение у больных МФОА может быть эффективным и снизить лекарственную нагрузку. В статье обобщены полученные за последние годы собственные данные, посвященные изучению эффективности и фармакодинамики применения препаратов куркумы у больных МФОА. Проведены два пилотных исследования, изучавшие эффективность и безопасность, парафармацевтиков, содержащих куркумин отечественного производства: «Эпигенорм антивир» (ЭА) и Куркумин. ЭА получали 23 человека в суточной дозе 1000 мг в течение 12 недель, куркумин фирмы «Эвалар» в дозе 1000 мг в течение 8 недель принимали 18 больных. Первичной конечной точкой в обоих исследованиях была оценка уровня боли по визуальной аналоговой шкале боли (ВАШ). Вторичная конечная точка – выраженности боли, нарушения функции и других симптомов ОА по шкале KOOS. После 12 недель приема ЭА у больных зарегистрирован выраженный анальгетический эффект: снижение уровня боли в 2,5 раза. Уменьшение уровня боли ассоциировалось с улучшением показателей повседневной и спортивной активности больного, качества жизни. Размер перечисленных эффектов был, по классификации Cohen, умеренным или высоким. Нежелательных (серьезных и несерьезных) явлений за все время приема ЭА у больных не отмечено. Клиническое улучшение было сопряжено со снижением содержания компонентов МС – холестерина липопротеинов низкой плотности, триглицеридов. Терапия вызывала уменьшение уровня системного воспаления, о чем свидетельствовали снижение концентрации TNF $\alpha$ , гистамина, IL-18, и С-реактивного белка, неоптерина. Статистически значимо увеличивалось содержание IL-10 и адипонектина. Во втором исследовании прием больными МФОА парафармацевтика куркумина в течение 4 недель вызывал анальгетический эффект, улучшал параметры повседневной активности и качества жизни. Клиническое улучшение на фоне приема куркумина было сопряжено со снижением уровня ряда провоспалительных цитокинов сыворотки, С-реактивного протеина и липидкорректирующим эффектом. Таким образом, результаты оценки эф-

### **Адрес для переписки:**

*Ширинский Иван Валерьевич  
Научно-исследовательский институт терапии  
и профилактической медицины  
630089, Россия, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова,  
175/1.  
Тел.: 8 (913) 018-61-16.  
E-mail: ivan.shirinsky@gmail.com*

### **Address for correspondence:**

*Ivan V. Shirinsky  
Research Institute of Therapy and Preventive Medicine  
175/1 Boris Bogatkov St  
Novosibirsk  
630089 Russian Federation  
Phone: +7 (913) 018-61-16.  
E-mail: ivan.shirinsky@gmail.com*

### **Образец цитирования:**

*И.В. Ширинский, К.Ю. Филатова, В.С. Ширинский  
«Эффективность и фармакодинамика фитотерапии у  
больных метаболическим фенотипом остеоартрита»  
// Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27,  
№ 4. С. 981-986.  
doi: 10.46235/1028-7221-16878-EAP*

*© Ширинский И.В. и соавт., 2024  
Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0*

### **For citation:**

*I.V. Shirinsky, K.Yu. Filatova, V.S. Shirinsky “Efficacy  
and pharmacodynamics of herbal medicine in patients with  
metabolic phenotype of osteoarthritis”, Russian Journal  
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024,  
Vol. 27, no. 4, pp. 981-986.  
doi: 10.46235/1028-7221-16878-EAP*

*© Shirinsky I.V. et al., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License*

**DOI:** 10.46235/1028-7221-16878-EAP

фективности, безопасности, фармакодинамики применения парафармацевтиков ЭА и Куркумина у больных МФОА в пилотных исследованиях свидетельствуют о многоцелевом действии вмешательств: обезболивающим, противовоспалительным, иммуномодулирующим, антиатерогенном. Выявленные свойства являются основанием для проведения более масштабных, контролируемых слепых, рандомизированных клинических испытаний.

*Ключевые слова: остеоартрит, метаболический синдром, остеоартрит ассоциированный с метаболическим синдромом, эффективность «Эпигенорм антивир», эффективность куркумина, фармакодинамика, болезнь-ориентированный подход*

## EFFICACY AND PHARMACODYNAMICS OF HERBAL MEDICINE IN PATIENTS WITH METABOLIC PHENOTYPE OF OSTEOARTHRITIS

Shirinsky I.V., Filatova K.Yu., Shirinsky V.S.

*Research Institute of Therapy and Preventive Medicine, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation*

**Abstract.** High prevalence of the metabolic phenotype of osteoarthritis (MPOA) and unsatisfactory methods of its treatment necessitate the development of novel therapeutic approaches for this phenotype of OA. Turmeric preparations have a wide range of biological activity; their use in patients with MPOA can be effective and reduce the drug burden. In the present paper, we review our own published research findings on the effectiveness and pharmacodynamics of turmeric preparations in patients with MPOA. In the two studies, we evaluated the effects of two curcumin-containing parapharmaceuticals: Epigenorm Antivir (EA) and Curcumin. Forty-one women with MFOA were included in both studies. Twenty-three patients received EA at a daily dose of 1000 mg for 12 weeks, and 18 patients received curcumin from Evalar at a dose of 1000 mg for 8 weeks. The endpoints for both studies were VAS pain, dysfunction and other symptoms of OA measured using the KOOS scale. After 12 weeks of EA treatment, there was a 2.5-fold decrease pain levels. The decrease in pain was associated with an improvement in the patient's daily and sports activities and quality of life. These effect sizes were classified as moderate to large according to Cohen. No adverse events were observed during the period of taking EA. Clinical improvement was associated with a decrease in the content of MS individual components: low-density lipoprotein cholesterol and triglycerides. The treatment caused a decrease in the level of systemic inflammation, as evidenced by a decrease in the concentration of TNF $\alpha$ , histamine, IL-18, C-reactive protein, and neopterin. The concentrations of IL-10 and adiponectin increased after treatment. In another study, treatment with curcumin for 4 weeks had an analgesic effect, improved measures of function and quality of life. Clinical improvement was associated with the reductions in serum levels of a number of proinflammatory cytokines, C-reactive protein, and lipids. Thus, the results of the pilot studies evaluating efficacy, safety, and pharmacodynamics of parapharmaceuticals EA and Curcumin in patients with MFOA indicate pleiotropic effects of the interventions. The findings provide a rationale for conducting larger, controlled, blind, randomized clinical trials.

*Keywords: osteoarthritis, metabolic syndrome, osteoarthritis associated with metabolic syndrome, effectiveness of Epigenorm Antivir, effectiveness of curcumin, pharmacodynamics, disease-oriented approach*

### Введение

Бремя остеоартрита (ОА) среди населения мира неуклонно растет из-за увеличения продолжительности жизни, числа людей с ожирением, других факторов риска [6]. ОА разнороден по своим клиническим характеристикам (фенотипы) и

патогенезу (эндотипы) и часто ассоциируется с сопутствующими заболеваниями, которые изменяют картину и тяжесть болезни, повышают риск неблагоприятных исходов [6]. Одним из распространенных фенотипов ОА является остеоартрит ассоциированный с метаболическим синдромом (ОАМС), который относится к полиморбидной



патологии, поскольку включает в себя висцеральное ожирение, сахарный диабет или гипергликемию, инсулинорезистентность, дислипидемию, гиперурикемию с артериальной гипертензией [1]. Лечение ОАМС, в случае болезнь-ориентированного подхода, представляет собой трудную задачу, поскольку неминуемо приводит к полипрагмазии с ее тяжелыми последствиями [10]. Для снижения лекарственной нагрузки предлагается пациент-ориентированный подход лечения полиморбидности [7], где фармакотерапия используется с применением препаратов обладающих многоцелевым действием (противовоспалительным иммуномодулирующим, анальгетическим, липидкорректирующим). Препараты куркумы обладают широким спектром биологической активности, действуя на клетки-мишени различных функциональных систем – иммунную, нервную и эндокринную [4, 5]. Эффективность и безопасность куркумы у больных ОА показана в рандомизированных, плацебо-контролируемых исследованиях [8, 9] и мета-анализе [12]. Однако исследования, посвященные оценке эффективности и безопасности куркумы, ее производных у больных с метаболическим субтипом ОА, влиянии препарата на составляющие МС, иммунофармакодинамику отсутствуют. Нами было проведено исследование оценки эффективности и безопасности, фармакодинамики использования куркумин содержащих парафармацевтиков у больных ОАМС [2, 3], в данной статье обобщены основные результаты ранее опубликованных работ.

## Материалы и методы

В оба исследования была включена 41 женщина с метаболическим синдромом, клиническими и рентгенологическими признаками ОА коленного сустава [2, 3]. Диагноз ОА коленного сустава устанавливался согласно критериям Американской коллегии ревматологов (ACR) 1986 г., МС соответственно рекомендациям Всероссийского научного общества кардиологов [2, 3].

Дизайн исследований – пилотные исследования «до – после».

Пациенты – больные ОА (гонартроз) в сочетании с метаболическим синдромом, которые получали комбинированный, отечественный, куркуминсодержащий парафармацевтик «Эпигенорм антивир» (ЭА) в суточной дозе 1000 мг в течение 12 недель (23 человека) и куркумин фирмы «Эвалар» в дозе 1000 мг в течение 8 недель (18 человек). Основным критерий включения – показатели уровня боли и здоровья по ВАШ более 50 мм [2, 3].

Первичная конечная точка – оценка уровня боли по визуальной аналоговой шкале (ВАШ). Вторичная конечная точка – выраженность боли, нарушение функции и других симптомов ОА, которые проводились по шкале KOOS (Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score) [11]. Уровень системного воспаления и цитокинов определяли с помощью определения содержания TNF $\alpha$ , IL-6, IL-10, IL-18 (АО «Вектор-Бест», Россия), адипонектина (Abcam, Великобритания), СРБ (АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн», Россия) в сыворотке периферической крови с помощью стандартных наборов для ИФА соответственно инструкций фирм производителей. Антитела к коллагену 2 (CoL2Ab) в сыворотке крови оценивали с использованием набора фирмы MyBioSource. com., содержание неоптерина с помощью набора фирмы IBL International, гистамина – набора фирмы LDN, концентрацию липидов определяли стандартным методом [2, 3].

### Статистический анализ

Описательная статистика средней арифметической и стандартным отклонением. Различия между средними величинами оценивалось с помощью парного t-критерия Стьюдента. Интерпретация размера эффекта по Cohen: 0,2 – малый, 0,5 – умеренный, 0,8 – большой [2, 3].

## Результаты и обсуждение

Все пациентки были пожилого возраста страдающие, согласно критериям экспертов ВОЗ избыточным весом, с длительностью заболевания ОА и гипертонической болезнью более 7 лет. Установлено, что терапия ЭА в течение 12 недель приводит к выраженному анальгетическому эффекту, о чем свидетельствуют снижение в 2,5 раза уровня боли, оцениваемой по ВАШ, а также по субшкале боли KOOS. Снижение уровня боли ассоциируется с улучшением показателей повседневной и спортивной активности больного, качества жизни. Важно отметить, что размер перечисленных эффектов был, по классификации Cohen, умеренным или высоким. У всех наблюдавшихся больных за 12 недель лечения не зарегистрировано ни одного эпизода гипертонического криза и терапия гипотензивными препаратами не претерпела изменений. Нежелательных (серьезных и несерьезных) явлений за все время приема ЭА у больных не отмечено [2].

При исследовании фармакодинамики было установлено снижение в разы содержания в сыворотке ПК показателя системного воспаления С-реактивного протеина, статистически значимо уменьшилась концентрация провоспалительных цитокинов – TNF $\alpha$ , IL-18, медиатора тучных клеток гистамина, показателя активности кле-

точного иммунитета неоптерина. В то же время содержание цитокинов с противовоспалительной активностью адипонектина и IL-10 увеличилось. Помимо этого, установлено значимое снижение в сыворотке ПК уровня общего холестерина, холестерина ЛПНП, триглицеридов [2].

При оценке эффективности и безопасности применения парафармацевтика Куркумина, отечественной фирмы «Эвалар» установлено, что он вызывает анальгетический эффект, улучшает параметры повседневной активности и качества жизни. Клиническое улучшение сопряжено со снижением уровня ряда провоспалительных цитокинов сыворотки ПК, С-реактивного протеина и липидкорректирующим эффектом [3].

## Заключение

Известно, что пациенты с МС, ОА имеют высокий риск развития сердечно-сосудистых болезней, инвалидности и преждевременной смерти. Эти факты определяют необходимость формирования новой стратегии лечения, предусматривающей терапию не отдельно МС и ОА (болезнь-ориентированный подход), а предупреждение возникновения и лечение сопутствующих болезней (пациент-ориентированный подход). Результаты оценки эффективности, безопасности, фар-

макодинамики применения парафармацевтиков ЭА и Куркумина у больных ОАМС в пилотных исследованиях свидетельствуют о многоцелевом действии вмешательств: обезболивающем, противовоспалительном, иммуномодулирующем, антиатерогенном. Важно отметить, что выявленные свойства куркуминсодержащих парафармацевтиков свидетельствуют о их влиянии не только на проявления ОА, но и МС. Установленные эффекты дают основания для проведения более масштабных, контролируемых слепых, рандомизированных клинических испытаний, с целью получения доказательных данных об эффективности и безопасности приема парафармацевтиков на основе куркумы больными МФОА, сведений о возможности снижения числа принимаемых препаратов и прямых затрат на терапию.

### Финансирование

Набор материала и анализ полученных результатов осуществлялись за счет средств, направленных на выполнение государственного задания НИИФКИ, тема 0415-2021-0001. Окончательный анализ результатов, подготовка и написание данной статьи проводились за счет средств, направленных на выполнение государственного задания НИИТПМ – филиал ИЦиГ, тема FWNR-2024-0002.

## Список литературы / References

1. Алексеева Л.И., Таскина Е.А., Кашеварова Н.Г., Шарапова Е.П., Аникин С.Г., Стребкова Е.А., Короткова Т.А., Раскина Т.А., Зонова Е.В., Оттева Э.Н. Остеоартрит коленных суставов и метаболический синдром: новые подходы к терапии // Научно-практическая ревматология, 2018. Т. 56, № 2. С. 157-163. [Alekseeva L.I., Taskina E.A., Kashevarova N.G., Sharapova E.P., Anikin S.G., Strebkova E.A., Korotkova T.A., Raskina T.A., Zonova E.V., Otteva E.N. Knee osteoarthritis and metabolic syndrome: new approaches to therapy. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*, 2018, Vol. 56, no. 2, pp. 157-163. (In Russ.)]
2. Ширинский В.С., Калиновская Н.Ю., Филатова Е.Ю., Ширинский И.В. Комбинированная терапия больных с метаболическим фенотипом остеоартрита: поисковое исследование // Медицинская иммунология, 2020. Т. 22, № 5. С. 933-942. [Shirinsky V.S., Kalinovskaya N.Yu., Filatova E.Yu., Shirinsky I.V. Combination treatment of patients with metabolic phenotype of osteoarthritis: an exploratory study. *Meditinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2020, Vol. 22, no. 5, pp. 933-942. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-СТО-2046.
3. Ширинский И.В., Ширинский В.С., Филатова К.Ю. Эффективность и безопасность куркумина у пациентов с метаболическим фенотипом остеоартрита: пилотное исследование // Медицинская иммунология, 2023. Т. 25, № 5. С. 1099-1102. [Shirinsky I.V., Shirinsky V.S., Filatova K.Yu. Efficacy and safety of curcumin in patients with metabolic phenotype of osteoarthritis: A pilot study. *Meditinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2023, Vol. 25, no. 5, pp. 1099-1102. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-EAS-2771.
4. Boyanapalli S.S., Tony Kong A.N. "Curcumin, the king of spices": epigenetic regulatory mechanisms in the prevention of cancer, neurological, and inflammatory diseases. *Curr. Pharmacol. Rep.*, 2015, Vol. 1, pp. 129-139.
5. Buhrmann C., Mobasheri A., Busch F., Aldinger C., Stahlmann R., Montaseri A., Shakibaei M. Curcumin modulates nuclear factor kappa B-mediated inflammation in human tenocytes in vitro: role of the phosphatidylinositol 3-kinase. Akt pathway. *J. Biol. Chem.*, 2011, Vol. 286, no. 32, pp. 28556-28566.

6. Englund M. Osteoarthritis, part of life or a curable disease? A bird's-eye view. *J. Intern. Med.*, 2023, Vol. 293, no. 6, pp. 681-693.
7. Jackson G.L., Powers B.J., Chatterjee R., Bettger J.P., Kemper A.R., Hasselblad V., Dolor R.J., Irvine R.J., Heidenfelder B.L., Kendrick A.S., Gray R, Williams JW. The patient centered medical home. A systematic review. *Ann. Intern. Med.*, 2013, Vol. 5, no. 158 (3), pp. 169-178.
8. Madhu K., Chanda K., Saji M.J. Safety and efficacy of Curcuma longa extract in the treatment of painful knee osteoarthritis: a randomized placebo-controlled trial. *Inflammopharmacology*, 2013, Vol. 21, no. 2, pp. 129-136.
9. Nakagawa Y., Mukai S., Yamada S., Matsuoka M., Tarumi E., Hashimoto T., Tamura C., Imaizumi A., Nishihira J., Nakamura T. Short-term effects of highly-bioavailable curcumin for treating knee osteoarthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled prospective study. *J. Orthop. Sci.*, 2014, Vol. 19, pp. 933-939.
10. PLOS Medicine Editors. Multimorbidity: Addressing the next global pandemic. *PLoS Med.*, 2023, Vol. 20, no. 4, e1004229. doi: 10.1371/journal.pmed.1004229
11. Roos E.M., Roos H.P., Lohmander L.S., Ekdahl C., Beynnon B.D. Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) – development of a self-administered outcome measure. *J. Orthop. Sports Phys. Ther.*, 1998, no. 28, pp. 88-96.
12. Zhao J., Liang G., Zhou G., Kunhao Y., Weiyi L. Efficacy and safety of curcumin therapy for knee osteoarthritis: A Bayesian network meta-analysis. *J. Ethnopharmacol.*, 2024, Vol. 321, 117493. doi: 10.1016/j.jep.2023.117493.

---

**Авторы:**

**Ширинский И.В.** – д.м.н., ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией изучения мультиморбидности ревматических заболеваний, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал ФИЦ «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия

**Authors:**

**Shirinsky I.V.**, PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Head of the Laboratory for Studying Multimorbidity of Rheumatic Diseases, Research Institute of Therapy and Preventive Medicine, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

**Филатова К.Ю.** — младший научный сотрудник лаборатории изучения мультиморбидности ревматических заболеваний, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины — филиал ФИЦ «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия

**Ширинский В.С.** — д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории изучения мультиморбидности ревматических заболеваний, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины — филиал ФИЦ «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия

**Filatova K.Yu.**, Junior Research Associate, Laboratory for Studying Multimorbidity of Rheumatic Diseases, Research Institute of Therapy and Preventive Medicine, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

**Shirinsky V.S.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Leading Research Associate, Laboratory for Studying Multimorbidity of Rheumatic Diseases, Research Institute of Therapy and Preventive Medicine, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

---

Поступила 02.04.2024  
Отправлена на доработку 03.04.2024  
Принята к печати 23.04.2024

---

Received 02.04.2024  
Revision received 03.04.2024  
Accepted 23.04.2024



# СПЕЦИФИЧЕСКАЯ АНТИТОКСИЧЕСКАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ: ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В МЕДИЦИНСКОЙ ПРАКТИКЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

**Козлов В.К.**

*ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия*

**Резюме.** Обобщены результаты использования в медицинской практике подходов и средств антитоксической иммунотерапии: пассивного переноса различных вариантов специфических к токсичным соединениям антител, вакцинации – специфической активной иммунизации вакцинами, несущими детерминанты иммунохимической специфичности целевых токсичных соединений. Практическая эффективность известных подходов пассивного переноса и вакцинации связана со способностью специфических антител, связывая обладающие выраженной токсичностью целевые биоактивные соединения, изменять доступность в организме соответствующих структур-мишеней и при наличии достаточного количества специфичных антител, обладающих высокой связывающей способностью к целевым соединениям, нейтрализовать их токсичность. В медицинской практике широко используют для пассивного переноса полиспецифичные гетерологичные антисыворотки или гамма-глобулиновую фракцию антисывороток (крайне редко моноклональные антитела узкой специфичности) в качестве противоядий при лечении пострадавших с целью предотвращения летальных исходов и обширных некрозов мягких тканей в месте укуса ядовитых змей и насекомых. Активная иммунизация – вакцинация соответствующими антигенными препаратами должна создавать у иммунизированных лиц состояние гуморального иммунитета с соответствующими характеристиками специфичного к целевому соединению антителообразования. При попадании в проиммунизированный организм целевого токсичного соединения также возможна нейтрализация его токсичности. Наиболее успешный опыт использования принципов активной иммунизации в качестве технологии специфической антитоксической терапии связан с практикой использования анатоксинов к токсинемическим инфекциям. Рассмотрены конкретные практические приемы, использованные для достижения эффективности возможных подходов специфической антитоксической иммунотерапии в форме пассивного переноса специфических антител или их фрагментов: для борьбы с летальными инфекциями, в патогенезе которых значимы токсические эффекты бактериальных экзотоксинов; при лечении пострадавших от укусов змей и насекомых, от воздействия ядов морских организмов, токсинов водорослей и растений; при лечении тяжелых интоксикаций некоторыми низкомолекулярными ядовитыми веществами – дигоксином, колхицином, трициклическими антидепрессантами. Рассмотрены также наиболее успешные опыты использования принципов активной иммунизации в качестве технологии специфической антитоксической терапии, основанные на применении в качестве вакцин анатоксинов со специфичностью к дифтерии, столбняку, ботулизму, холере, брюшно-

**Адрес для переписки:**

*Козлов Виктор Константинович  
ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии  
имени академика С.Н. Голикова Федерального  
медико-биологического агентства»  
192019, Россия, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1.  
Тел.: 8 (911) 775-98-39.  
E-mail: kvk52@mail.ru*

**Address for correspondence:**

*Viktor K. Kozlov  
S. Golikov Scientific and Clinical Center of Toxicology,  
Federal Medical and Biological Agency  
1 Bekhterev St  
St. Petersburg  
192019 Russian Federation  
Phone: +7 (911) 775-98-39.  
E-mail: kvk52@mail.ru*

**Образец цитирования:**

*В.К. Козлов «Специфическая антитоксическая  
иммунотерапия: использование в медицинской  
практике и перспективы» // Российский  
иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 987-994.  
doi: 10.46235/1028-7221-16946-SAT*

© Козлов В.К., 2024

*Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0*

**For citation:**

*V.K. Kozlov “Specific anti-toxic immunotherapy: use  
in medical practice and perspectives”, Russian Journal  
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024,  
Vol. 27, no. 4, pp. 987-994.  
doi: 10.46235/1028-7221-16946-SAT*

© Kozlov V.K., 2024

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

**DOI: 10.46235/1028-7221-16946-SAT**

му тифу, дизентерии, газовой гангрене и другим токсинемическим инфекциям. Достаточно высокая иммуногенность анатоксинов с возможностью активации как конституционного, так и адаптивного иммунитета стала основанием для их использования в качестве макромолекулярных носителей гаптен-аналогов наркотических веществ — перспективного направления в наркологии, при реализации которого создан ряд экспериментальных молекулярных и комбинированных вакцин опиатов, метамфетамина, кокаина, никотина. Этот вариант практических усилий в медицине может расцениваться как новое направление специфической антитоксической иммунотерапии — вариант борьбы с наркотической зависимостью путем вакцинации наркозависимых лиц.

*Ключевые слова: антитоксическая иммунотерапия, современные актуальные подходы, пассивный перенос специфических сывороток, пассивный перенос иммуноглобулинов, пассивный перенос фрагментов специфических антител, анатоксины токсинемических инфекций как вариант борьбы путем вакцинации с летальными интоксикациями, вакцины с гаптенами-аналогами низкомолекулярных психоактивных соединений как путь специфической антитоксической иммунотерапии, перспективы борьбы с наркозависимостью от опиатов, перспективы борьбы с наркозависимостью от амфетаминов, перспективы борьбы с наркозависимостью от кокаина, перспективы борьбы с наркозависимостью от никотина, перспективы борьбы с наркозависимостью от холинэргических соединений*

## SPECIFIC ANTI-TOXIC IMMUNOTHERAPY: USE IN MEDICAL PRACTICE AND PERSPECTIVES

Kozlov V.K.

*S. Golikov Scientific and Clinical Center of Toxicology, Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation*

**Abstract.** The results of use of approaches and means of antitoxic immunotherapy in medical practice are summarized: passive transfer of various variants of antibodies specific to toxic compounds, vaccination — specific active immunization with vaccines carrying determinants of the immunochemical specificity of target toxic compounds. The practical effectiveness of the known approaches of passive transfer and vaccination is associated with the ability of specific antibodies, by binding target bioactive compounds with pronounced toxicity, to change the availability of corresponding structures in the body-targets and, in the presence of a sufficient number of specific antibodies with high binding ability to the target compounds, neutralize their toxicity. In medical practice, polyspecific heterologous antisera or the gamma globulin fraction of antisera (extremely rare monoclonal antibodies of narrow specificity) are widely used for passive transfer as antidotes in the treatment of victims in order to prevent deaths and extensive necrosis of soft tissues at the site of the bite of poisonous snakes and insects. Active immunization — vaccination with appropriate antigenic drugs should create in immunized individuals a state of humoral immunity with the corresponding characteristics of antibody formation specific to the target compound. When a target toxic compound enters an immunized organism, it is also possible to neutralize its toxicity. The most successful experience in using the principles of active immunization as a technology for specific antitoxic therapy is associated with the practice of using toxoids for toxinemic infections. Specific practical techniques used to achieve the effectiveness of possible approaches to specific antitoxic immunotherapy in the form of passive transfer of specific antibodies or their fragments are considered: to combat lethal infections in the pathogenesis of which the toxic effects of bacterial exotoxins are significant; when treating victims of snake and insect bites, exposure to poisons of marine organisms, algae and plant toxins; in the treatment of severe intoxication with certain low molecular weight toxic substances: digoxin, colchicine, tricyclic antidepressants. The most successful experiences of using the principles of active immunization as a technology for specific antitoxic therapy, based on the use of toxoids with specificity for diphtheria, tetanus, botulism, cholera, typhoid fever, dysentery, gas gangrene and other toxinemic infections, are also considered. The fairly high immunogenicity of toxoids with the possibility of activating both constitutional and adaptive immunity has become the basis for their use as macromolecular carriers of hapten analogues of narcotic substances — a promising direction in drug addiction, in the implementation of which a number of experimental molecular and combined vaccines of opiates, methamphetamine, cocaine, and nicotine. This variant of practical efforts in medicine can be regarded as a new direction of specific antitoxic immunotherapy — an option to combat drug addiction by vaccinating drug addicts.

*Keywords: antitoxic immunotherapy, modern current approaches, passive transfer of specific sera, immunoglobulins, fragments of specific antibodies, toxoids of toxinemic infections as an option to combat lethal intoxications by vaccination, vaccines with hapten analogues of low molecular weight psychoactive compounds as a way of specific antitoxic immunotherapy, prospects for combating drug addiction to opiates, amphetamines, cocaine, nicotine, cholinergic compounds*

Известно, что при определенных условиях специфические антитела способны участвовать в нейтрализации высокомолекулярных биологически активных соединений. Эти факты являются смыслом проведения специфической антитоксической иммунотерапии, основанной на реализации на практике двух принципиальных возможностей — пассивной иммунотерапии, предусматривающей введение в том или ином виде специфических к целевому токсиканту антител, и активной иммунотерапии, предусматривающей использование соответствующих вакцинных препаратов со специфичностью к целевому токсиканту.

Антитоксические эффекты антител при пассивном переносе (как технология специфической антитоксической иммунотерапии) впервые были установлены лауреатами Нобелевской премии (впервые присужденной за открытия в области физиологии и медицины) Е. Bering и S. Kitasato (1890) [1]. Полученные от животных-доноров содержащие антитела к дифтерийному и столбнячному токсинам антисыворотки были использованы данными клиническими специалистами для лечения тяжелых клинических случаев столбняка и дифтерии у людей. Пассивная иммунизация антисыворотками оказалась успешной, и до сих пор очищенные различными методами специфические гетерологичные иммуноглобулины широко применяют при лечении инфекционных болезней (в особенности у детей с кишечными инфекциями), в патогенезе которых значимы токсические эффекты продуцируемых токсогенными штаммами возбудителей бактериальных экзотоксинов, а также для специфической иммунопрофилактики столбняка при загрязненных ранах. Обсуждаются (более того, в этом направлении проводятся углубленные научные исследования) возможности пассивной иммунизации (введение пациентам гетерологичных антисывороток, человеческих иммуноглобулиновых препаратов) в нейтрализации самого опасного токсина белковой природы — ботулинического токсина при отравлениях этим ядом потерпевших [2]. Случаи отравления токсином ботулизма редки, однако протекают крайне тяжело и до сих пор встречаются в медицинской практике. Причинами являются: пищевые отравления загрязненными спорами грамположительных анаэробных спорообразующих микроорганизмов — *Clostridium botulinum*, атипичных штаммов других видов рода *Clostridium* (например, таких как *Clostridium butyricum* и *Clostridium baratii*) [3], случаи младенческого ботулизма из-за кишечной колонизации спорами этих грампозитивных микроорганизмов, случаи ятрогенного ботулизма, в основном связанных с учащающейся прак-

тикой использования в косметике поддельных и плохо откалиброванных ботулотоксинов, случаев ингаляционного ботулизма у работников лабораторий в результате случайных выбросов спор с ботулиническим токсином в виде аэрозоля и у наркоманов после интраназального употребления загрязненного спорами кокаина и раневом ботулизме после инъекций наркотиков [2].

Сегодня в медицинской практике также широко используют полиспецифичные гетерологичные антисыворотки или гамма-глобулиновую фракцию антисывороток (крайне редко — моноклональные антитела узкой специфичности) в качестве противоядий при лечении пострадавших от укусов ядовитых змей и насекомых, а также пострадавших от воздействия ядов морских кишечно-полостных и моллюсков, токсинов водорослей и растений. При лечении пострадавших с целью предотвращения летальных исходов и обширных некрозов мягких тканей в месте укуса или локального воздействия токсиканта многократно и в достаточных количествах вводят парентерально (чаще внутривенно) антисыворотки и иммуноглобулиновые препараты (в основном гетерологичные поли-, а не моноспецифические) против ядов змей (гадюковые змеи, аспиды) и насекомых (ядовитые пауки родов *Latrodectus* [семейство *Theridiidae*, в частности различные виды каракуртов], *Ctenus*, *Dendryphantes* и отдельные виды ядовитых пауков [например коричневый паук-отшельник]).

Яды всех перечисленных биообъектов, как правило, имеют сложный состав, а их токсичность обусловлена относительно высокомолекулярными белками или пептидами со свойствами нейро-, кардио-, гемо- и цитотоксинов, а также ферментов [4]. Вклад в токсичность вносят и другие, содержащиеся в этих биотоксинах субстанции — кининоподобные вещества, гистаминолибераторы, ингибиторы ферментов, коагулянты и антикоагулянты.

В настоящее время известно более 100 иммунных противоядий подобного типа, и эти биопрепараты активно совершенствуются с использованием современных биотехнологий для уменьшения побочных явлений их применения. Отсутствие существенного прогресса этого направления иммунотерапии связано с крайне высокой ценой современных биотехнологий и их продуктов. Поэтому наиболее широко в качестве противоядий против змей используются имеющие побочные эффекты, но более дешевые гетерологичные антисыворотки от крупных животных — доноров антител.

Комментируя эффективность этого направления антитоксической иммунотерапии, необходимо заметить, что яды змей являются слож-

носоставными и многокомпонентными ядами. Ядовитым началом секретлируемых змеями веществ являются высокоактивные ферменты и токсичные белки, обладающие относительно большой молекулярной массой и высокой иммуногенностью, что имеет следствием возможность получения от животных-доноров (обычно лошадей или коз) специфических антисывороток или препаратов иммуноглобулинов. Очевидно, что возможность использования антител со специфичностью к ядам определенного типа с задачей нейтрализации их активности при острых (в том числе летальных) отравлениях путем пассивной иммунизации пострадавших гетерологичными антисыворотками или гамма-глобулинами сыворотки — объективно установленный факт.

Попытки реализации аналогичного подхода применительно к другим биологически активным и лекарственным соединениям (в большинстве своем низкомолекулярным) для нейтрализации их токсических эффектов не оказались столь успешными. При изучении возможности их реализации установлено, что предварительно полученные от животных доноров специфические (поликлональные) или же от линий иммунных клеток-продуцентов (моноклональные) антитела при их использовании путем пассивной иммунизации в качестве иммуноглобулиновых препаратов или очищенных антител могут изменять биологические эффекты и распределение в организме целевых соединений: морфина и барбитуратов, производных фенотиазина, фентанила, фенциклидина, дигоксина, колхицина, атропиноподобных холиноблокаторов, ингибиторов холинэстеразы [5, 6, 7, 8]. При этом нейтрализующие активность низкомолекулярных токсикантов эффекты специфических антител являются лишь одним из вариантов их активности, возможны и другие эффекты использования антител, в частности увеличение продолжительности токсических или фармакологических эффектов низкомолекулярных лигандов и изменение спектра их биологической активности [7, 8].

Для некоторых низкомолекулярных лекарственных соединений проводимые разработки вышли за рамки экспериментальных исследований и сегодня иммунные противоядия применяются в клинической практике для борьбы с тяжелыми интоксикациями дигоксином, дигитоксином, колхицином и трициклическими антидепрессантами [10, 11, 12]. Например, гетерологичные Fab-фрагменты антител, специфичные к сердечному гликозиду дигоксину, успешно использованы для лечения летальных отравлений людей, включая детей, дигоксином, а также дигитоксином [12, 13, 14, 15] и рядом других структурно родственных соединений (например, летальных отравле-

ний кардиотоксинами олеандра и ядовитой жабы *Bufo spallanzani*). Эффективность технологии лечения летальных интоксикаций препаратами наперстянки подтверждена результатами многоцентровых клинических исследований [13].

Таким образом, сегодня специфическая анти-токсическая иммунотерапия — это одно из перспективных направлений иммунотоксикологии, в котором применяют иммунные молекулы, прежде всего, препараты специфических иммуноглобулинов и их фрагментов в качестве противоядий.

Принципиальная возможность использования принципов вакцинации — активная иммунизация как технология специфической анти-токсической иммунотерапии для борьбы с интоксикациями высоко- и низкомолекулярными ядами, лекарствами, наркотиками и возможность модификации их биологической (фармакологической) активности при использовании данного подхода установлена достаточно давно. Наиболее успешный опыт использования принципов активной иммунизации в качестве технологии специфической анти-токсической терапии связан с практикой использования анатоксинов.

Анатоксины — это биопрепараты, содержащие экзотоксины бактерий, которые лишены токсических свойств экзотоксинов, но сохранили их специфическую антигенность и иммуногенность. Фактически анатоксины являются молекулярными вакцинами, используемыми для профилактики риска заболеваемости и лечения хронических форм инфекций (столбняк, ботулизм, дифтерия, холера, брюшной тиф, дизентерия, токсинемическая стафилококковая инфекция), возбудители которых секретруют высокоактивные экзотоксины — столбнячный нейротоксин (тетаноспазмин), ботулинический нейротоксин (ботулотоксин), дифтерийный экзотоксин, экзотоксин *Cl. perfringens* и экзотоксины других спорообразующих бактерий рода *Clostridium*, холерный экзотоксин (холероген — СТ), экзотоксин сибирезвенной палочки (*Bacillus anthracis*), цитотоксины бактерий рода *Shigella* (токсин Шига, другие Шига-подобные токсины), мембранно- и цитотоксические (стафилолизины, эксфолиативные токсины, лейкоцидин Пантона–Валентина, относящийся к экзотоксинам *S. aureus*). При этих токсинемических инфекциях для профилактики и в процессе лечения используют активную иммунизацию соответствующими анатоксинами или же активную иммунизацию комплексными вакцинами, в состав которых входят анатоксины [16, 17, 18]. Для иммунизации против токсинемических инфекций с целью увеличения их иммуногенности обычно применяют анатоксины, адсорбированные на гидрате окиси алюми-



ния и фосфате алюминия в качестве адъювантов (например, в российскую комбинированную вакцину «Пентаксим» входят адсорбированные дифтерийный, столбнячный и коклюшный анатоксины).

В медицинской практике нашли также применение: очищенный адсорбированный дифтерийный анатоксин, очищенный адсорбированный столбнячный анатоксин, очищенный адсорбированный стафилококковый анатоксин, адсорбированный дифтерийно-столбнячный анатоксин (АДС и АДС-М). Столбнячный и дифтерийный анатоксины входят в состав ассоциированной вакцины АКДС, холероген-анатоксин входит в состав холерной вакцины. Концентрированный адсорбированный анаэробный полианатоксин, включающий столбнячный анатоксин, несколько типов гангренозного и ботулинического анатоксинов (всего 7 антигенов) и обладающий хорошими иммуногенными свойствами, был разработан в СССР и внедрен в медицинскую практику в далеком 1959 году. Применяется также брюшнотифозная вакцина с секста(тетра)анатоксином. Эта вакцина содержит О- и Vi-антигены брюшнотифозных бактерий и очищенные анатоксины возбудителей столбняка, газовой гангрены и ботулизма.

Достаточно высокая иммуногенность анатоксинов с возможностью активации как конституционного, так и адаптивного иммунитета стала основанием для их использования в качестве макромолекулярных носителей гаптен-аналогов наркотических веществ — перспективного направления в наркологии, при реализации которого создан ряд экспериментальных молекулярных и комбинированных вакцин опиатов, метамfetамин, кокаина, никотина [19], которые в настоящее время могут быть расценены как новое направление специфической антитоксической иммунотерапии — вариант борьбы с наркотической зависимостью путем вакцинации наркозависимых лиц.

Практически все наркотические вещества в той или иной степени способны вызывать болезненное пристрастие к их использованию — наркотическую зависимость. Расстройства, связанные с употреблением психоактивных веществ, существенно, а в ряде случаев критично влияют на центральную нервную систему (ЦНС) наркозависимых лиц. Постоянный прием наркотических веществ вызывает патологические изменения в ЦНС, которые при их прогрессии приводят к летальному исходу, суициду или же к смерти в результате передозировки наркотиков [20]. Как наркотики наиболее опасны психоактивные соединения группы опиатов (природный опий, морфин и его производные, например, метил-

морфин — кодеин, героин), кокаин, амфетамины (амфетамин, метамфетамин), LSD, некоторые синтетические психотропные вещества (дизайнерские наркотики) и никотин.

Так как частота рецидивов наркомании достаточно высока, поиск новых подходов к лечению и профилактике страдающих болезненной зависимостью от наркотиков в настоящее время особенно актуален. Перспективы разработки новых подходов видят в возможностях активной иммунизации — вакцинации соответствующими конъюгированными антигенами и пассивной иммунизации — введении специфических сывороток или препаратов специфических антител различным контингентам наркозависимых лиц. Иммунопрофилактика наркоманий, или вакцинация от наркотической зависимости расценивается как перспективное направление в наркологии, имеющее важное практическое значение и до сих пор не потерявшее актуальность [21, 22, 23, 24, 25, 26, 27].

Практическим смыслом этого методологического подхода является предупреждение дальнейших рецидивов зависимости (вторичная профилактика наркомании) путем вакцинации. В принципе вакцинация может обеспечить долговременный эффект, эффективна в отсутствии мотивации пациента на лечение, не имеет тех побочных эффектов в отношении ЦНС, которые характерны для общепринятых фармакотерапевтических методов лечения наркоманий [25]. Дополнительные перспективы имеет введение препаратов антител (например, гуманизированных моноклональных антител) — пассивная иммунизация для борьбы с летальными передозировками наркотиков [25, 28].

Как активная, так и пассивная иммунизации возможны, и их эффективность испытывается в отношении наркотиков различной структуры и разной биологической активности (опиаты, в частности героин; кокаин, метамфетамин, никотин и фенциклидин) [24, 25, 26, 27], но данные методологические подходы являются строго специфичными, т. е. их необходимо реализовывать к каждой группе наркотических препаратов. Следует особо подчеркнуть, что разные наркотические вещества имеют различную химическую структуру биоактивной молекулы, а следовательно, различаются иммунодоминантностью и иммунохимической специфичностью гаптен-аналогов в составе конъюгированных антигенов — молекулярных вакцин наркотиков [19]. Различной будет и специфичность образующихся при иммунизации подобными вакцинами антител.

Вероятно, профилактика путем активной иммунизации вакцинами наркотиков имеет

перспективы стать самым эффективным медицинским способом искоренения наркотической зависимости. Однако реализация данного способа профилактики представляет собой достаточно сложную техническую задачу. Данное направление исследований сформировалось на основе изучения способности специфических антител при активной и пассивной иммунизации модифицировать фармакологические эффекты биоактивных лигандов, изменяя пути и скорость их биораспределения в организме, а также метаболизм [5, 6, 7, 8, 22, 23, 24, 29, 30, 31, 32, 33, 34]. Продемонстрированные в экспериментах на животных при активной иммунизации конъюгатами опиатов возможность существенной модификации биораспределения опиатов в организме животных и изменение периода их полувыведения послужили основанием для предположения об эффективном связывании наркотиков *in vivo* специфичными антителами с изменением характера их фармакологической активности, что и было частично подтверждено экспериментально [35]. Изменение концентрации лиганда в плазме активно иммунизированных соответствующими конъюгатами крыс и уменьшение накопления действующего лиганда в ткани головного мозга было экспериментально показано для другого вызывающего зависимость психоактивного вещества – никотина [30].

Результаты этих исследований позднее вылились в значительные практические усилия по созданию вакцин к наркотическим веществам: опиатам, метамфетамину, кокаину, никотину [29, 33, 34, 35]. На основе обладающих достаточной иммуногенностью конъюгированных антигенов с доминантными эпитопами гаптенов-аналогов наркотических веществ удалось создать экспериментальные образцы вакцин, пригодные для иммунизации людей с целью вторичной профилактики и борьбы с наркотической зависимостью [36, 37].

Очевидно, что при активной иммунизации (вакцинации) конъюгатами с гаптенами-аналогами наркотиков отобранных в исследование контингентов наркозависимых лиц будет активироваться система иммунитета с развитием гуморального иммунного ответа и продукцией специфичных к гаптенам-аналогам антител. При образовании по ходу развития гуморального иммунного ответа достаточного количества специфических антител и достижении их высокого сродства к целевому наркотику может быть обеспечена достаточно высокая связывающая способность этих антител, что приведет к связыванию циркулирующего в кровотоке наркоти-

ческого вещества. Наркотик не достигнет локализованных в ЦНС структур-мишеней, эффект активации которых и является основой формирования наркотической зависимости.

Успех иммунологического подхода к инактивации наркотика путем активной иммунизации зависит от многих параметров. Например, возможность обеспечения *in vivo* достаточной концентрации образующихся при гуморальном иммунном ответе специфичных антител определяется иммуногенностью используемой вакцины. В то время как высокое сродство антител к целевому соединению – аффинность антител и сила связывания наркотика в иммунном комплексе в большей степени будет определяться структурой гаптена-аналога в составе используемого для иммунизации конъюгированного антигена. Следовательно, возрастания сродства (специфичности) к целевому лиганду образующихся в процессе вакцинации сывороточных иммуноглобулинов можно добиться, моделируя структуру применяемых для вакцинации конъюгированных антигенов, в частности путем использования в образцах вакцин различных по строению гаптенов-аналогов. Возможна модификация структуры не только гаптенной детерминанты, но и строения всей молекулы конъюгированного антигена – дизайна конъюгата: молекулярная масса носителя, эпитопная плотность гаптена, длина и тип химической связи между гаптеном и носителем. Наконец, возможно управлять характеристиками гуморального иммунного ответа (например, продолжительностью и интенсивностью ответа к различным частям комплексной антигенной молекулы), используя различные схемы иммунизации животных конъюгированными антигенами [19].

После получения обнадеживающих экспериментальных данных по эффективности активной иммунизации на следующем этапе независимыми группами исследователей в клинических условиях была изучена эффективность вакцин различных наркотиков с привлечением для проведения клинических испытаний (I, II, III фазы) суммарно внушительного числа наркоманов-добровольцев [25, 26, 38]. Наилучшие результаты вакцинации были достигнуты при клинических испытаниях вакцин, предполагаемых к использованию в отношении никотиновой зависимости (III фаза клинических испытаний) [25]. Испытанные образцы вакцин продемонстрировали ограниченную эффективность. Явный позитивный эффект иммунизации отмечен максимум у трети испытуемых, и ни одна из испытанных вак-

цин до сих пор не одобрена к использованию по назначению [22, 25, 26].

Пригодные для реального клинического использования и эффективные образцы вакцин опиатов, кокаина или метамфетамина до сих пор

не созданы, а полученные образцы экспериментальных вакцин находятся в процессе предклинических и одиночных клинических исследований (II фаза клинических испытаний) [25].

## Список литературы / References

1. Гамалея Н.Б., Берзина А.Г. Вакцины от наркотиков – новое перспективное направление профилактики злоупотребления психоактивными веществами // Наркология, 2011. Т. 10. С. 70-83. [Gamaley N.B., Berzina A.G. Drug vaccines – a new promising direction for the prevention of psychoactive substance abuse. *Narkologiya = Narcology*, 2011, Vol. 10, pp. 70-83. (In Russ.)]
2. Голиков С.Н., Гурьянов Г.А., Козлов В.К. Специфические антитела – модуляторы эффектов физиологически активных веществ и ксенобиотиков. Основные феномены // Успехи современной биологии, 1986. Т. 102, № 25. С. 193-206. [Golikov S.N., Guryanov G.A., Kozlov V.K. Specific antibodies are modulators of the effects of physiologically active substances and xenobiotics. Basic phenomena. *Uspekhi sovremennoy biologii = Advances in Modern Biology*, 1986, Vol. 102, no. 25, pp. 193-206. (In Russ.)]
3. Голиков С.Н., Гурьянов Г.А., Козлов В.К. Специфические антитела – модуляторы эффектов физиологически активных веществ и ксенобиотиков: механизмы осуществления антителами функции модуляторов // Вестник АМН СССР, 1988. Т. 3. С. 86-93. [Golikov S.N., Guryanov G.A., Kozlov V.K. Specific antibodies are modulators of the effects of physiologically active substances and xenobiotics: mechanisms for the implementation of modulator functions by antibodies. *Vestnik AMN SSSR = Bulletin of the Academy of Medical Sciences of the USSR*, 1988, Vol. 3, pp. 86-93. (In Russ.)]
4. Головки А.И., Ивницкий Ю.Ю., Иванов М.Б., Рейнюк В.Л., Козлов В.К. О биологической активности дизайнерских наркотиков из группы синтетических опиоидов // Успехи современной биологии, 2020. Т. 140, № 5. С. 464-477. [Golovko A.I., Ivnitsky Yu.Yu., Ivanov M.B., Reinyuk V.L., Kozlov V.K. On the biological activity of designer drugs from the group of synthetic opioids. *Uspekhi sovremennoy biologii = Advances in Modern Biology*, 2020, Vol. 140, no. 5, pp. 464-477. (In Russ.)]
5. Козлов В.К., Беспалов А.Я., Кашуро В.А. Искусственные конъюгированные антигены с гаптенами-аналогами психоактивных веществ и токсикантов: алгоритмы моделирования молекулярной структуры гаптенных эпитопов алкалоидов при конструировании иммуногенных антигенов // Medline.ru (Российский биомедицинский журнал), 2023. Т. 24, № 1. С. 870-920. [Kozlov V.K., Bepalov A.Ya., Kashuro V.A. Artificial conjugated antigens with hapten analogues of psychoactive substances and toxicants: algorithms for modeling the molecular structure of hapten epitopes of alkaloids in the design of immunogenic antigens. *Medline.ru (Rossiyskiy biomeditsinskiy zhurnal) = Medline.ru (Russian Biomedical Journal)*, 2023, Vol. 24, no. 1, pp. 870-920. (In Russ.)]
6. Медуницын Н.В. Вакцинология. М.: Триада X, 1999. 272 с. [Medunitsyn N.V. *Vaccinology*]. Moscow: Triada X, 1999. 272 p.
7. Abd El-Aziz T.M., Soares A.G., Stockand J.D. Snake venoms in drug discovery: valuable therapeutic tools for life saving. *Toxins (Basel)*, 2019, Vol. 11, no. 10, 564. doi: 10.3390/toxins11100564.
8. Antman E.M., Wenger T.L., Butler V.P. Jr., Haber E., Smith T.W. Treatment of 150 cases of life-threatening digitalis intoxication with digoxin-specific Fab antibody fragments. Final report of multicenter study. *Circulation*, 1990, Vol. 81, no. 6, pp. 1744-1752.
9. Bering E., Kitasato S. Uber das zustandekominen der diphterie immunitet und der tetanus-immunitet bei thieren. *Dtsch. Med. Wochenshr.*, 1890, Vol. 16, pp. 113-114.
10. Bloom B.T., Bushell M.J. Vaccines against drug abuse – Are we there yet? *Vaccines*, 2022, Vol. 10, no. 6, 860. doi: 10.3390/vaccines10060860.
11. Bonese K.F., Wainer B.H., Fitch F.W., Rothberg R.M., Schuster C.R. Changes in heroin self-administration by a rhesus monkey after morphine immunization. *Nature*, 1974, Vol. 252, no. 5485, pp. 708-710.
12. Carrera M.R., Ashley J.A., Parsons I.H., Wirsching P., Koob G.F., Janda K.D. Suppression of psychoactive effects of cocaine by active immunization. *Nature*, 1995, Vol. 378, no. 6558, pp. 727-730.
13. Carrera M.R., Ashley J.A., Zhou B., Wirsching P., Koob G.F., Janda K.D. Cocaine vaccines: antibodies protection against relapse in a rat model. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, Vol. 97, no. 11, pp. 6202-6206.
14. Chan B.S., Buckley N.A. Digoxin-specific antibody fragments in the treatment of digoxin toxicity. *Clin. Toxicol.*, 2014, Vol. 52, no. 8, pp. 824-836.
15. Flanagan R.J., Jones A.L. Fab antibody fragments: some applications in clinical toxicology. *Drug Saf.*, 2004, Vol. 27, no. 14, pp. 1115-1133.
16. Hicks M.J., De P.B., Rosenberg J.B., Davidson J.T., Moreno A.Y., Janda K.D., Wee S., Koob G.F., Hackett N.R., Kaminsky S.M., Worgall S., Toth M., Mezey J.G., Crystal R.G. Cocaine analog coupled to disrupted adenovirus: a vaccine strategy to evoke high-titer immunity against addictive drugs. *Mol. Ther.*, 2011, Vol. 19, no. 3, pp. 612-619.
17. Hieda Y., Keyler D.E., Ennifar S., Fattom A., Pentel P.R. Vaccination against nicotine during continued nicotine administration in rats: immunogenicity of the vaccine and effects on nicotine distribution to brain. *Int. J. Immunopharmacol.*, 2000, Vol. 22, no. 10, pp. 809-819.



18. Hieda Y., Keyler D.E., Vandevort J.T., Kane J.K., Ross C.A., Raphael D.E., Niedbalas R.S., Pentel P.R. Active immunization alters the plasma nicotine concentration in rats. *J. Pharm. Exper. Ther.*, 1997, Vol. 283, no. 3, pp. 1076-1081.
19. Hossain M.K., Davidson M., Kypreos E., Feehan J., Muir J.A., Nurgali K., Apostolopoulos V. Immunotherapies for the treatment of drug addiction. *Vaccines*, 2022, Vol. 10, no. 11, 1778. doi: 10.3390/vaccines10111778.
20. Jia P., Wang Y., Yu M., Wu J., Yang R., Zhao Y., Zhou L. An organophosphorus hapten used in the preparation of monoclonal antibody and as an active immunization vaccine in the detoxication of soman poisoning. *Toxicol Lett.*, 2009, Vol. 187, no. 1, pp. 45-51.
21. Johnson J.K., Cerasoli D.M., Lenz D.E. Role of immunogen design in induction of soman-specific monoclonal antibodies. *Immunol Lett.*, 2005, Vol. 96, no. 1, pp. 121-127.
22. Kinsey B.M., Jackson D.C., Orson F.M. Anti-drug vaccines to treat substance abuse. *Immunol. Cell Biol.*, 2009, Vol. 87, no. 4, pp. 309-314.
23. Kovac M., Kostanyan L., Mesaros N., Kuriyakose S., Varman M. Immunogenicity and safety of a second booster dose of an acellular pertussis vaccine combined with reduced antigen content diphtheria-tetanus toxoids 10 years after a first booster in adolescence: An open, phase III, non-randomized, multi-center study. *Hum. Vaccin. Immunother.*, 2018, Vol. 14, no. 8, pp. 1977-1986.
24. Lee J.C., Janda K.D. Immunopharmacotherapeutic advancements in addressing methamphetamine abuse. *RSC Chem Biol.*, 2020, Vol. 2, no. 1, pp. 77-93.
25. Li Q-Q., Sun C-Y., Luo Y-X., Xue Y-X., Zhu W.-L., Shi H.-S., Zhai H.-F., Shi J., Lu L. A morphine/heroin vaccine with new hapten design attenuates behavioral effects in rats. *J. Neurochem.*, 2011, Vol. 119, pp. 1271-1281.
26. Martell B.A., Orson F.M., Poling J.T., Mitchell E., Rossen R.D., Gardner T., Kosten T.R. Cocaine vaccine for the treatment of cocaine dependence: a randomized double-blind placebo controlled efficacy trial. *Arch. Gen Psychiatry*, 2009, Vol. 66, no. 10, pp. 1116-1123.
27. Paula S., Tabet M.R., Farr C.D., Norman A.B., Ball W.J. Jr. Three-dimensional quantitative structure-activity relationship modeling of cocaine binding by a novel human monoclonal antibody. *J. Med. Chem.*, 2004, Vol. 47, pp. 133-142.
28. Peck M.W., Smith T.J., Anniballi F., Austin J.W., Bano L., Bradshaw M., Cuervo P., Cheng L.W., Derman Y., Dorner B.G., Fisher A., Hill K.K., Kalb S.R., Korkeala H., Lindström M., Lista F., Lúquez C., Mazuet C., Pirazzini M., Popoff M.R., Rossetto O., Rummel A., Sesardic D., Singh B.R., Stringer S.C. Historical perspectives and guidelines for botulinum neurotoxin subtype nomenclature. *Toxins (Basel)*, 2017, Vol. 9, no. 1, 38. doi: 10.3390/toxins9010038.
29. Pentel P.R., Malin D.H., Ennifar S., Hieda Y., Keyler D.E., Lake J.R., Milstein J.R., Basham L.E., Coy R.T., Moon J.W., Naso R., Fattom A. A nicotine conjugate vaccine reduces nicotine distribution to brain and attenuates its behavioral and cardiovascular effects in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2000, Vol. 65, no. 1, pp. 191-198.
30. Pichichero M.E. Protein carriers of conjugate vaccines: characteristics, development, and clinical trials. *Hum. Vaccin. Immunother.*, 2013, Vol. 9, no. 12, pp. 2505-2523.
31. Rasetti-Escargueil C., Popoff M.R. Antibodies and vaccines against botulinum toxins: Available measures and novel approaches. *Toxins (Basel)*, 2019, Vol. 11, no. 9, 528. doi: 10.3390/toxins11090528.
32. Roberts D.M., Gallapathy G., Dunuwille A., Chan B.S. Pharmacological treatment of cardiac glycoside poisoning. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 2016, Vol. 81, no. 3, pp. 488-495.
33. Stowe G.N., Vendruscolo L.F., Edwards S., Schlosburg J.E., Misra K.K., Schulteis G., Mayorov A.V., Zakhari J.S., Koob G.F., Janda K.D. A vaccine strategy that induced protective immunity against heroin. *J. Med. Chem.*, 2011, Vol. 54, no. 14, pp. 5195-5204.
34. Sullivan J.B. Immunotherapy in the poisoned patient. Overview of present applications and future trends. *Med. Toxicol.*, 1986, Vol. 1, no. 1, pp. 47-60.
35. Wee S., Hicks M.J., De P.B., Rosenberg J.B., Moreno A.Y., Kaminsky S.M., Janda K.D., Crystal R.G., Koob G.F. Novel cocaine vaccine linked to a disrupted adenovirus gene transfer vector blocks cocaine psychostimulant and reinforcing effects. *Neuropsychopharmacology*, 2012, Vol. 37, no. 5, pp. 1083-1091.
36. Wenger T.L., Butler V.P. Jr., Haber E., Smith T.W. Treatment of 63 severely digitalis-toxic patients with digoxin-specific antibody fragments. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1985, Vol. 5, no. 5, Suppl. A, pp. 118A-123A.
37. Woolf A.D., Wenger T., Smith T.W., Lovejoy F.H. The use of digoxin-specific Fab fragments for severe digitalis intoxication in children. *N. Engl. J. Med.*, 1992, Vol. 326, no. 26, pp. 1739-1744.
38. Zalewska-Kaszubska J. Is immunotherapy an opportunity for effective treatment of drug addiction? *Vaccine*, 2015, Vol. 33, no. 48, pp. 6545-6551.

**Автор:**

Козлов В.К. — д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимической токсикологии и фармакологии ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия

**Author:**

Kozlov V.K., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Biochemical Toxicology and Pharmacology, S. Golikov Scientific and Clinical Center of Toxicology, Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation

Поступила 08.04.2024

Отправлена на доработку 10.04.2024

Принята к печати 12.04.2024

Received 08.04.2024

Revision received 10.04.2024

Accepted 12.04.2024



## ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНА VDR rs731236 И rs2228570 ВЛИЯЮТ НА УРОВЕНЬ ВИТАМИНА D У ЛИЦ КАЛИНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Бограя М.М., Вульф М.А., Сафиуллина Л.А., Паскидов Д.В.,  
Шнар В.А., Газатова Н.Д., Михайлова Л.В., Литвинова Л.С.

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

**Резюме.** Витамин D является важным микроэлементом, участвующим в многочисленных биологических процессах. Помимо поддержания здоровья костей, оказывает протекторное действие на сердечно-сосудистую систему, поджелудочную железу и жировую ткань. Около 50% населения мира страдают дефицитом или недостаточностью витамина D. Распространенность данных состояний значительно выше у людей с ожирением, независимо от возраста и места проживания.

Наличие полиморфизмов в гене VDR (рецептор витамина D) способно объяснить индивидуальные особенности в концентрации витамина D 25(OH) в сыворотке крови. Особый интерес представляет влияние полиморфизмов rs731236 и rs2228570 на уровень витамина. Так, полиморфизм VDR rs731236 – это синонимичная замена, тогда как полиморфизм rs2228570 – не синонимичная замена.

В статье исследованы полиморфизмы гена VDR rs2228570 (Т/С), rs731236 (Т/С) и выявлены их взаимосвязи с уровнем витамина D в крови у лиц Калининградской области с различным индексом массы тела (ИМТ). Материалом для исследования была венозная кровь, взятая утром натощак у 232 человек (средний возраст 50±13,5 лет, 103 мужчины и 129 женщин). Содержание витамина D в крови оценивали методом ИФА, полиморфизмы гена VDR – методом ПЦР.

У лиц с ИМТ > 30 кг/м<sup>2</sup> регистрировались изменения липидного профиля и печеночных проб. Уровень витамина D не зависел от ИМТ лиц, принявших участие в исследовании. Выявлены значимые изменения уровней витамина D в крови, в зависимости от распределения генотипов гена VDR. Уровень витамина D был выше у лиц с генотипом СС относительно генотипов ТТ и СТ полиморфизма rs2228570 и не зависел от ИМТ. Тогда как наличие полиморфизма rs731236 в гене VDR связано с ИМТ. Так, при ожирении уровень витамина D снижен только у лиц с генотипом ТТ полиморфизма rs731236, но не у лиц с генотипами СС и ТС.

**Ключевые слова:** витамин D, рецепторы витамина D, ожирение, сахарный диабет 2 типа, полиморфизмы

### Адрес для переписки:

Литвинова Лариса Сергеевна  
ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный  
университет имени Иммануила Канта»  
236001, Россия, г. Калининград, ул. Гайдара, б.  
Тел.: 8 (401) 259-55-95 (доб. 6134).  
E-mail: larisalitinova@yandex.ru

### Address for correspondence:

Larisa S. Litvinova  
Immanuel Kant Baltic Federal University  
6 Gaidar St  
Kaliningrad  
236001 Russian Federation  
Phone: +7 (401) 259-55-95 (acc. 6134).  
E-mail: larisalitinova@yandex.ru

### Образец цитирования:

М.М. Бограя, М.А. Вульф, Л.А. Сафиуллина,  
Д.В. Паскидов, В.А. Шнар, Н.Д. Газатова,  
Л.В. Михайлова, Л.С. Литвинова «Полиморфизмы  
гена VDR rs731236 и rs2228570 влияют на уровень  
витамина D у лиц Калининградской области»  
// Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27,  
№ 4. С. 995-1000.  
doi: 10.46235/1028-7221-16881-VGP

© Бограя М.М. и соавт., 2024  
Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

### For citation:

M.M. Bograya, M.A. Vulf, L.A. Safiullina, D.V. Paskidov,  
V.A. Shnar, N.D. Gazatova, L.V. Mikhailova, L.S. Litvinova  
“VDR gene polymorphisms rs731236 and rs2228570 affect  
vitamin D levels in people of the Kaliningrad region”, *Russian  
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii  
Zhurnal*, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 995-1000.  
doi: 10.46235/1028-7221-16881-VGP

© Bograya M.M. et al., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16881-VGP

# VDR GENE POLYMORPHISMS rs731236 AND rs2228570 AFFECT VITAMIN D LEVELS IN PEOPLE OF THE KALININGRAD REGION

Bograya M.M., Vulf M.A., Safiullina L.A., Paskidov D.V., Shnar V.A., Gazatova N.D., Mikhailova L.V., Litvinova L.S.

*Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation*

**Abstract.** Vitamin D is an essential micronutrient that is involved in numerous biological processes. It not only keeps bones healthy, but also has a protective effect on the cardiovascular system, the pancreas and fatty tissue. Around 50% of the world's population suffers from vitamin D deficiency or insufficiency. The prevalence of these diseases is significantly higher in obese people, regardless of age and place of residence. The presence of polymorphisms in the VDR gene (vitamin D receptor) can explain individual differences in the concentration of vitamin D 25(OH) in blood serum. Of particular interest are the effects of the polymorphisms rs731236 and rs2228570 on vitamin levels. Thus, the VDR polymorphism rs731236 is a synonymous substitution, whereas the polymorphism rs2228570 is a non-synonymous substitution. The article investigated the polymorphisms of the VDR gene rs2228570 (T/C), rs731236 (T/C) and determined their association with blood vitamin D levels in people from the Kaliningrad region with different body mass index (BMI). The material for the study was venous blood taken in the morning on an empty stomach from 232 people (mean age  $50 \pm 13.5$  years, 103 men and 129 women). The vitamin D content in the blood was determined by ELISA and the polymorphisms of the VDR gene were analyzed by PCR.

In individuals with a BMI  $> 30$  kg/m<sup>2</sup>, changes in the lipid profile and liver function tests were recorded. The vitamin D level did not depend on the BMI of the study participants. Significant changes in blood vitamin D levels were found depending on the distribution of the VDR genotype. Vitamin D levels were higher in individuals with the CC genotype than in the TT and CT genotypes of the rs2228570 polymorphism and did not depend on BMI. In contrast, the presence of the rs731236 polymorphism in the VDR gene is associated with BMI. In obesity, vitamin D levels are therefore only reduced in people with the TT genotype of the rs731236 polymorphism, but not in people with the CC and TC genotype.

*Keywords: vitamin D, vitamin D receptors, obesity, type 2 diabetes, polymorphisms*

Данное исследование поддержано из средств программы стратегического лидерства «Приоритет 2030» БФУ им. И. Канта и гранта FZWM-2024-0012.

## Введение

Известно, что повышенные уровни витамина D связаны со снижением риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [3], диабет 2-го типа (СД2) [7] и ожирение [6]. 25(OH)D является основным метаболитом витамина D, и его содержание в крови считается индикатором запаса витамина D в организме. Из-за относительно длительного периода полувыведения (2-3 недели), уровни витамина в крови изменяются незначительно, что отражает оптимальное сочетание витамина D, который поступил с пищей и синтезировался в коже [5]. Поскольку уровни 1,25(OH)<sub>2</sub>D в крови в 1000 раз ниже, чем уровни 25(OH)D, измерение 1,25(OH)<sub>2</sub>D значительно сложнее [5]. Дефицит витамина D широко распространен во всем мире и ассоциирован с неблагоприятными последствиями для организма.

Биологическое действие витамина осуществляется через ядерный рецептор витамина D (VDR), который экспрессируется в большинстве клеток нашего организма, в том числе в клетках иммунной системы [2]. Витамин D является липофильной молекулой, которая способна проходить через клеточную мембрану и связывать VDR в ядре. Комплекс витамин D-VDR способен образовывать гетеродимер с ретиноидным рецептором X (RXR), впоследствии связываясь со специфическими последовательностями ДНК в промоторной области генов, чувствительных к витамину D, контролируя транскрипцию этих генов [6, 8].

В различных этнических группах показано разнонаправленное влияние полиморфизма rs731236 (T/C) и rs2228570 (T/C) на уровень витамина D. Полиморфизм rs2228570 располагается в кодирующей области гена VDR, является однонуклеотидной несинонимичной заменой и сдвигает рамку считывания, укорачивая белок на 3 аминокислоты в N-конце. Полиморфизм VDR rs731236 представляет собой частую (в среднем 34% среди разных популяций) синонимичную

замену, которая не приводит к замене аминокислоты в белке VDR.

В связи с вышесказанным целью данного исследования явился поиск взаимосвязи полиморфизмов гена VDR rs2228570 и rs731236 с уровнем витамина D у лиц Калининградской области с различным индексом массы тела (ИМТ).

## Материалы и методы

В исследовании приняли участие 232 человека, проживающие на территории Калининградской области (средний возраст  $50 \pm 13,5$  лет, 103 мужчины и 129 женщин). Лица, принявшие участие в исследовании, были ранжированы по ИМТ: ИМТ < 30 кг/м<sup>2</sup> (32%) и ИМТ > 30 кг/м<sup>2</sup> (68%). Исследуемые группы сопоставимы по возрасту и полу. Материалом для исследования явилась венозная кровь, полученная утром натощак. Антропометрическая и клиническая характеристика пациентов представлена в таблице 1.

Анализ биохимических показателей в сыворотке крови проводили на автоматическом биохимическом анализаторе Furuno SA-180 (Furuno Electric Company, Япония) с использованием тест-систем DiaSys (DiaSys Diagnostic Systems, Holzheim, Германия). Выделение геномной ДНК из цельной крови выполняли с помощью набора ДНК-ЭКСТРАН-1 (ООО «НПФ Синтол», Россия). Определение полиморфизма rs2228570, rs731236 в гене VDR осуществлялось методом ПЦР в реальном времени (набор NP-473-100, набор NP-639-100 соответственно) (ООО «НПФ Синтол», Россия). Детекция содержания витамина D в сыворотке крови была выполнена методом ИФА (EuroImmuno, Германия).

Статистическая обработка данных проведена в программе GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, США). Различия между уровнями витамина D у пациентов с разными генотипами были оценены с помощью однофакторного дисперсионного анализа. Разница в частотах аллелей между группами была оценена с помощью критерия  $\chi^2$ .

Информированное согласие было подписано всеми пациентами. Исследование проводилось в соответствии с рекомендациями Хельсинкской декларации.

## Результаты и обсуждение

В результате комплексного анализа было выявлено, что у лиц с ИМТ > 30 кг/м<sup>2</sup> регистрировалось повышение активности ферментов печени (аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы) и показателей липидного обмена и уровень ЩФ, относительно лиц с ИМТ < 30 кг/м<sup>2</sup> (табл. 1).

Обратная взаимосвязь избыточной массы тела и уровня витамина D находит подтверждение в многочисленных исследованиях [1], однако при-

чинно-следственные взаимосвязи до сих пор не ясны.

В проведенном нами исследовании не обнаружено значимых различий в содержании витамина D у лиц с различным ИМТ (табл. 1). Однако распределение лиц внутри групп, в зависимости от генотипа (ТТ, ТС, СС) гена VDR, позволило выявить значимые отличия в концентрации витамина D у лиц с различным ИМТ. Так, у лиц с генотипом ТТ полиморфизма rs731236 гена VDR уровень витамина D в крови был снижен при ожирении ( $p = 0,0011$ ) относительно лиц с ИМТ (рис. 1). У лиц с генотипом СС, напротив, выявлено повышение уровня витамина D в крови при ИМТ  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup> ( $p = 0,0007$ ) (рис. 1). Следует отметить, что ранжирование всех пациентов в зависимости от распределения генотипов полиморфизма rs731236 гена VDR, позволило выявить весьма интересные особенности. Так, уровень витамина D в крови людей с рецессивным генотипом (СС) был выше, по сравнению с лицами с гетерозиготным генотипом (ТС), в независимости от ИМТ ( $p = 0,0046$ ) (рис. 1).

Синонимичная замена rs731236 приводит к замене нуклеотида в белок-кодирующей последовательности мРНК VDR. Данное изменение может приводить к эпигенетическим сдвигам: возможно, вследствие изменения нуклеотида Т на С формируется сайт посадки для микроРНК (на данный момент, неизвестной). Образованная связь между измененной мРНК VDR и микроРНК подавляет трансляцию белка VDR, приводя к снижению эффективности контакта между VDR и витамином D, повышая уровень последнего в крови. Мы предполагаем, что потенциальную микроРНК следует искать среди микроРНК, уровень которых возрастает при ожирении.

Результаты исследования полиморфизма rs2228570 гена VDR у лиц, ранжированных по ИМТ, показали, что уровень витамина D значимо не изменяется у лиц с генотипами ТТ, ТС и СС. Распределение всех пациентов на генотипы выявило значимо более высокие уровни витамина D в крови пациентов с генотипом СС, в сравнении с пациентами с генотипом ТТ ( $p = 0,0105$ ) и генотипом ТС ( $p = 0,0134$ ) (рис. 2).

Далее, все пациенты были поделены на 4 группы по уровню витамина D: 1) норма (> 30 нг/мл) 38 пациентов; 2) недостаток (20-30 нг/мл), 71 пациент; 3) дефицит (10-20 нг/мл), 97 пациентов; 4) острый дефицит (< 10 нг/мл), 28 пациентов. Распределение частот аллелей Т и С в группах было следующим: 1) Т = 44%, С = 56%; 2) Т = 55%, С = 45%; 3) Т = 64%, С = 36%; 4) Т = 60%, С = 40%. Обнаружена значимая разница в частотах аллелей между пациентами с нормальным уровнем витамина D и пациентами как с дефицитом ( $p = 0,0050$ ), так и острым дефицитом ( $p = 0,0240$ ) анализа (рис. 2). Возможно, рецепторы пациентов с генотипом СС связывают

ТАБЛИЦА 1. КЛИНИЧЕСКИЕ И ЛАБОРАТОРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП

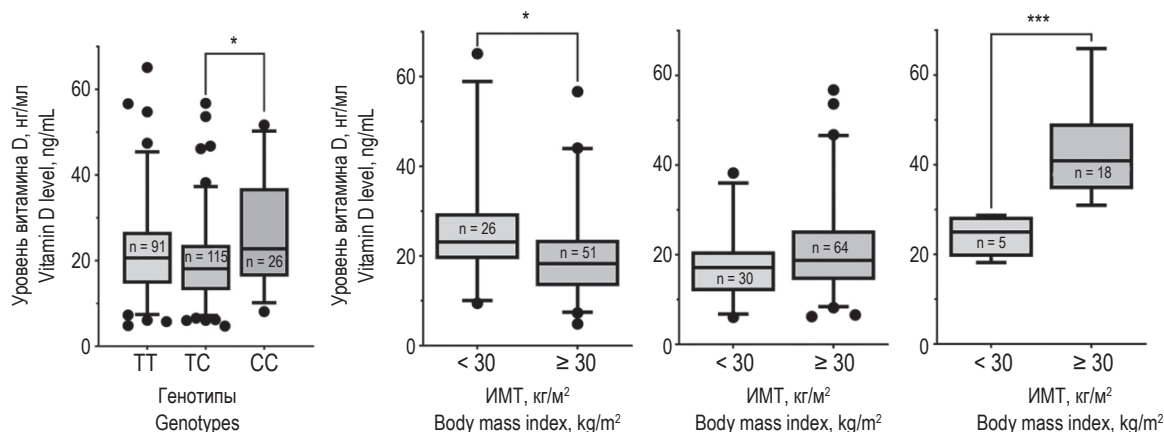
TABLE 1. CLINICAL AND LABORATORY CHARACTERISTICS OF THE STUDY GROUPS

Показатели Indicators	ИМТ < 30 кг/м <sup>2</sup> BMI < 30 kg/m <sup>2</sup> n = 62	ИМТ > 30 кг/м <sup>2</sup> BMI > 30 kg/m <sup>2</sup> n = 180	p-значение p-values
ИМТ, кг/м <sup>2</sup> BMI, kg/m <sup>2</sup>	24,95±3,42	44,50±9,23	< 0,0001 <sup>1</sup>
Возраст, лет Age, years	52,57±15,37	50,14±12,96	0,2754 <sup>1</sup>
Пол (мужчины / женщины) Sex (men, women)	69,35% / 30,65%	35,29% / 64,71%	< 0,001 <sup>2</sup>
Наличие СД 2 типа (отсутствие, НТГ, наличие) Type 2 diabetes (absent, impaired glucose tolerance)	93,44% / 0% / 6,56%	40,16% / 12,30% / 47,54%	< 0,001 <sup>2</sup>
Наличие ГБ (отсутствие / наличие) Hypertension (absent, hypertension)	73,33% / 26,67%	22,52% / 77,48%	< 0,001 <sup>2</sup>
ОКС (острый коронарный синдром) (отсутствие / наличие) ACS (acute coronary syndrome) (absent, heart failure)	37,10% / 62,90%	90,37% / 9,63%	< 0,001 <sup>2</sup>
25(OH)D, нг/мл 25(OH)D, ng/mL	22,03±10,93	20,84±10,67	0,7337
Пропорция генотипов по полиморфизму rs731236 (ТТ / ТС / СС) Proportion of genotypes by polymorphism rs731236 (TT / TC / CC)	44,83% / 46,55% / 8,62%	37,36% / 50,57% / 12,07%	0,492 <sup>2</sup>
Пропорция генотипов по полиморфизму rs2228570 (ТТ / ТС / СС) Proportion of genotypes by polymorphism rs2228570 (TT / TC / CC)	20,69% / 63,79% / 15,52%	35,23% / 43,75% / 21,02%	0,016 <sup>2</sup>
Холестерин, ммоль/л Cholesterol, mmol/L	4,86±1,23	5,32±1,14	0,0177 <sup>1</sup>
Липопротеины высокой плотности ммоль/л HDL, mmol/L	1,25±0,73	1,16±0,34	0,4147 <sup>1</sup>
Липопротеины низкой плотности, LDL, ммоль/л	3,01±0,90	3,17±0,81	0,27661
Индекс атерогенности усл. ед. Atherogenic Index, units	3,51±1,26	3,87±1,55	0,1345 <sup>1</sup>
Триглицериды, ммоль/л Triglycerides, mmol/L	1,57±0,81	1,84±0,93	0,0604 <sup>1</sup>
Аспаратаминотрансфераза, ммоль/л Aspartate aminotransferase, mmol/L	19,11±8,81	28,72±33,32	0,0123 <sup>1</sup>
Аланинаминотрансфераза, ммоль/л Alanine aminotransferase, mmol/L	15,20±8,63	27,19±38,70	0,0051 <sup>1</sup>
Щелочная фосфатаза, ед/л Alkaline phosphatase, u/L	140,81±55,68	167,42±56,21	0,0555 <sup>1</sup>
Креатинин, мкмоль/л Creatinine, μmol/L	89,04±18,13	87,02±21,51	0,6641 <sup>1</sup>
Мочевина, ммоль/л Urea, mmol/L	6,28±1,84	6,05±1,60	0,5720 <sup>1</sup>

Примечание. <sup>1</sup> – анализ проведен через непарный t-тест Стьюдента. <sup>2</sup> – анализ проведен через критерий хи-квадрат.

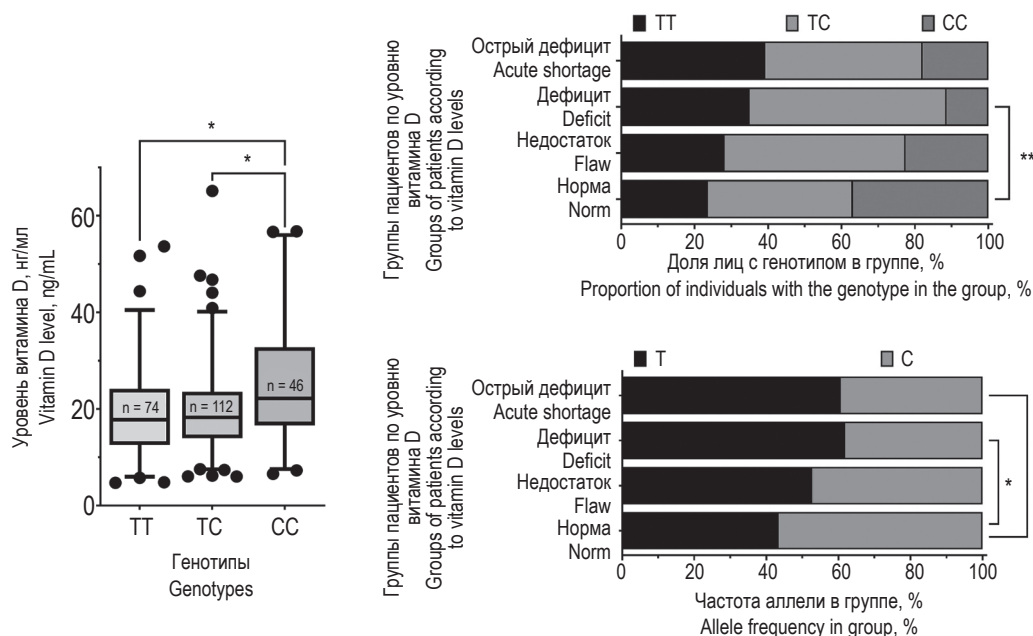
Note. <sup>1</sup>, analysis was carried out using an unpaired Student's t-test. <sup>2</sup>, analysis was carried out using the  $\chi^2$  test.





**Рисунок 1. Уровень витамина D у лиц Калининградской области в зависимости от распределения генотипов полиморфизма rs731236 гена VDR и в зависимости от ИМТ**

Figure 1. Vitamin D level in people of the Kaliningrad region depending on the distribution of genotypes of the rs731236 polymorphism of the VDR gene and depending on BMI



**Рисунок 2. Уровень витамина D у лиц Калининградской области в зависимости от распределения генотипов и частот аллелей полиморфизма rs2228570 гена VDR**

Figure 2. Vitamin D levels in individuals in the Kaliningrad region depending on the distribution of genotypes and allele frequencies of the rs2228570 polymorphism of the VDR gene

витамин D менее эффективно, чем аналогичные у лиц с генотипом TT, что объясняет более высокий уровень витамина в крови.

## Заключение

Таким образом, низкий уровень витамина D характерен только для людей с ожирением и генотипом TT в полиморфизме гена VDR rs731236. В дальнейшем планируется изучение связи метаболитов витамина D с полиморфизмом rs731236, экспрессии, продукции и микроРНК-регуляции белка VDR. В настоящий момент не представляется возможным осуществить поиск микроРНК к

мутантной последовательности гена VDR в силу ограничения функционала используемых баз данных.

Уровень витамина D в крови гомозигот с полиморфизмом rs2228570 гена VDR (генотип CC) выше, чем у гомозигот без полиморфизма (генотип TT) и гетерозигот (генотип TC). Мы предполагаем, что рецепторы пациентов с генотипом C/C связывают витамин D менее эффективно, снижая его усвоение в организме и способствуя повышению его в циркуляции.

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

## Список литературы / References

1. Carlberg C. Current understanding of the function of the nuclear vitamin D receptor in response to its natural and synthetic ligands. *Recent Results Cancer Res.*, 2003, Vol. 164, pp. 29-42.
2. Christakos S., Dhawan P., Verstuyf A., Verlinden L., Carmeliet G. Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiol. Rev.*, 2016, Vol. 96, pp. 365-408.
3. Herrmann M., Farrell C.L., Pusceddu I., Fabregat-Cabello N., Cavalier E. Assessment of vitamin D status – a changing landscape. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2017, Vol. 55, no. 1, pp. 3-26.
4. Jenkins D.J.A., Spence J.D., Giovannucci E.L., Kim Y.I., Josse R.G., Vieth R. Supplemental vitamins and minerals for cardiovascular disease prevention and treatment: JACC focus seminar. *J Am. Coll. Cardiol.*, 2021, Vol. 77, no. 4, pp. 423-436.
5. Sergeev I.N., Vitamin D. Status and vitamin D-dependent apoptosis in obesity. *Nutrients*. 2020, Vol., 12, no. 5, 1392. doi: 10.3390/nu12051392.
6. Soto J.R., Anthias C., Madrigal A., Snowden J.A. Insights into the role of vitamin D as a biomarker in stem cell transplantation. *Front. Immunol.*, 2020, Vol. 11, 966. doi: 10.3389/fimmu.2020.00966.
7. Tobias D.K., Luttmann-Gibson H., Mora S., Danik J., Bubes V., Copeland T., LeBoff M.S., Cook N.R., Lee I.M., Buring J.E., Manson J.E. Association of body weight with response to vitamin D supplementation and metabolism. *JAMA Netw. Open*, 2023, Vol. 6, no. 1, e2250681. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2022.50681.
8. Zhang Y., Tan H., Tang J., Li J., Chong W., Hai Y. Effects of vitamin D supplementation on prevention of type 2 diabetes in patients with prediabetes: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care*, 2020, Vol. 43, no. 7, pp. 1650-1658.

### Авторы:

**Бограя М.М.** — младший научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ОНК «Институт медицины и наук о жизни» ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

**Вульф М.А.** — к.б.н., старший научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ОНК «Институт медицины и наук о жизни» ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

**Сафиуллина Л.А.** — аспирант ОНК «Институт медицины и наук о жизни» ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

**Паскидов Д.В.** — студент ОНК «Институт медицины и наук о жизни» ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

**Шнар В.А.** — студент ОНК «Институт медицины и наук о жизни» ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

**Газатова Н.Д.** — к.б.н., заведующая лабораторией экспериментальных исследований препаратов крови, ОНК «Институт медицины и наук о жизни» ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

**Михайлова Л.В.** — к.м.н., доцент, заведующая кафедрой терапии ОНК «Институт медицины и наук о жизни» ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

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

### Authors:

**Bograya M.M.**, Junior Research Associate, Centre of Immunology and Cell Biotechnology Institute of Medicine and Life Sciences, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

**Vulf M.A.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Centre of Immunology and Cell Biotechnology Institute of Medicine and Life Sciences, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

**Safullina L.A.**, Postgraduate Student, Institute of Medicine and Life Sciences, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

**Paskidov D.V.**, Student, Institute of Medicine and Life Sciences, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

**Shnar V.A.**, Student, Institute of Medicine and Life Sciences, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

**Gizatova N.D.**, PhD (Biology), Head, Laboratory of Experimental Studies of Blood Products, Institute of Medicine and Life Sciences, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

**Mikhailova L.V.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Head, Department of Therapy Institute of Medicine and Life Sciences, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

**Litvinova L.S.**, PhD, MD (Medicine), Head, Centre of Immunology and Cell Biotechnologies, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Поступила 03.04.2024

Отправлена на доработку 04.04.2024

Принята к печати 25.04.2024

Received 03.04.2024

Revision received 04.04.2024

Accepted 25.04.2024

# ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЛЕГКИХ С ПОСТВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ ПНЕВМОФИБРОЗОМ

Евсеева Г.П., Книжникова Е.В., Абдулина Н.О., Пичугина С.В., Чайка М.С.

Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства – Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Хабаровск, Россия

**Резюме.** Одной из причин развития хронических форм заболеваний легких и пневмофиброза как патологического исхода этого воспаления может быть недостаточность иммунного ответа, ключевая позиция в котором принадлежит нейтрофильным гранулоцитам. Учитывая важность и возобновившийся интерес к нейтрофилам как к инструментам дерегуляции иммунитета, приводящей к прогрессированию фиброзного процесса у детей с ХНЗЛ, это является актуальной проблемой.

Цель исследования – изучение фагоцитарной активности нейтрофилов крови как важного компонента врожденного иммунитета у пациентов с ХНЗЛ.

Обследовано 70 детей с ХНЗЛ с очаговым или сегментарным поствоспалительным пневмофиброзом. Из них 27 детей с прогрессированием ППФ (основная группа) и 43 ребенка с ППФ без прогрессирования процесса (группа сравнения). Контролем послужили показатели 23 здоровых ребенка, сопоставимые по полу и возрасту. Исследования проводили в период клинической ремиссии. Определяли фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН), фагоцитарное число (ФЧ), спонтанный и стимулированный НСТ-тест. Рассчитывался индекс стимуляции НСТ-теста (НСТст-НСТсп). Определение мембранного потенциала митохондрий проводили на цитометре BD FACS Calibur (США) (BD Pharmigen, США).

ФЧ у детей с ХНЗЛ с прогрессированием ПФ было достоверно снижено как по сравнению с пациентами группы сравнения, так и с контрольной группой. ФАН у детей с ХНЗЛ в обеих группах хотя и была в пределах нормативных величин, тем не менее была ниже, чем в группе контроля. Активность спонтанного НСТ-теста у детей основной группы была в 1,7 раза выше, чем у детей в группе сравнения, и в 3 раза выше, чем у детей из группы контроля. Однако индекс стимуляции в основной группе был достоверно ниже, чем в группе контроля. Выявлено увеличение доли клеток с пониженным мембранным потенциалом митохондрий гранулоцитов у детей основной группы по сравнению с группой

## Адрес для переписки:

Евсеева Галина Петровна  
Научно-исследовательский институт охраны  
материнства и детства  
680022, Россия, г. Хабаровск,  
ул. Воронежская, 49, корп. 1.  
Тел.: 8 (914) 771-13-01.  
E-mail: evseewa@yandex.ru

## Address for correspondence:

Galina P. Evseeva  
Research Institute of Maternity and Childhood Protection  
49 Voronezhskaya St, Bldg 1  
Khabarovsk  
680022 Russian Federation  
Phone: +7 (914) 771-13-01.  
E-mail: evseewa@yandex.ru

## Образец цитирования:

Г.П. Евсеева, Е.В. Книжникова, Н.О. Абдулина, С.В. Пичугина, М.С. Чайка «Фагоцитарная активность нейтрофильных гранулоцитов крови у детей с хроническими неспецифическими заболеваниями легких с поствоспалительным пневмофиброзом» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 1001-1008.  
doi: 10.46235/1028-7221-16811-PAO

© Евсеева Г.П. и соавт., 2024  
Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

## For citation:

G.P. Evseeva, E.V. Knizhnikova, N.O. Abdulina, S.V. Pichugina, M.S. Chaika “Phagocytic activity of neutrophil blood granulocytes in children with chronic non-specific lung diseases with post-inflammatory pneumofibrosis”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 1001-1008.  
doi: 10.46235/1028-7221-16811-PAO

© Evseeva G.P. et al., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16811-PAO

контроля. У детей с ХНЗЛ с прогрессированием процессов фиброобразования развиваются типичные для воспалительной реакции изменения функционально-метаболической активности нейтрофилов периферической крови, характеризующиеся повышением кислородзависимой и снижением фагоцитарной активности клеток.

*Ключевые слова:* хроническая бронхолегочная патология, дети, нейтрофил, фагоцитоз, митохондрии, пневмофиброз

## PHAGOCYTTIC ACTIVITY OF NEUTROPHIL BLOOD GRANULOCYTES IN CHILDREN WITH CHRONIC NON-SPECIFIC LUNG DISEASES WITH POST-INFLAMMATORY PNEUMOFIBROSIS

Evseeva G.P., Knizhnikova E.V., Abdulina N.O., Pichugina S.V., Chaika M.S.

*Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Khabarovsk, Russian Federation*

**Abstract.** One of the reasons for the development of chronic forms of lung diseases and pneumofibrosis as a pathological outcome of this inflammation may be an insufficient immune response. The key position belongs to neutrophilic granulocytes. Given the importance and renewed interest in neutrophils as tools for regulating immunity, leading to the progression of the fibrous process in children with CKD is an urgent problem. The purpose of the study was to study the phagocytic activity of blood neutrophils as an important component of innate immunity in patients with CNLD. Seventy children with CNLD with focal or segmental post-inflammatory pulmonary fibrosis were examined. Of these, 27 were children with progression of PPF (main group) and 43 children with PPF without progression (comparison group). The controls were the indicators of 23 healthy children, comparable by gender and age. The studies were carried out during clinical remission. The phagocytic activity of neutrophils (PHAN), phagocytic number (PN), spontaneous and stimulated NBT test were determined. The stimulation index of the NBT test (NBTst-NBTsp) was calculated. The mitochondrial membrane potential was determined using a BD FACS Calibur cytometer (USA) (BD Pharmigen, USA).

PN in children with chronic heart disease with progressive PF was significantly reduced in comparison with patients in the comparison group and with the control group. The PHAN in children with CKD in both groups was within the standard values, however, it was lower than in the control group. The activity of the spontaneous HBT test in children of the main group was 1.7 times higher than in children in the comparison group and 3 times higher than in children from the control group. However, the stimulation index in the main group was significantly lower than in the control group. An increase in cells with a reduced membrane potential of granulocyte mitochondria was revealed in children of the main group compared with the control group. Children with CKD with the progression of fibrosis processes develop changes in the functional and metabolic activity of peripheral blood neutrophils typical for an inflammatory reaction, characterized by an increase in oxygen-dependent and a decrease in phagocytic cell activity.

*Keywords:* chronic bronchopulmonary pathology, children, neutrophil, phagocytosis, mitochondria, pulmonary fibrosis

### Введение

Хронические неспецифические заболевания легких (ХНЗЛ) у детей остаются актуальной проблемой педиатрии и пульмонологии [4]. ХНЗЛ характеризуются рецидивирующими инфекциями, приводящими к длительно текущему воспалительному процессу в легких, который может

приводить к разрастанию соединительной ткани в легких и приводить к прогрессированию необратимого фиброзного процесса [7]. Известно, что в процессе фиброгенеза принимают участие несколько типов клеток и сигнальных механизмов, которые при активации увеличивают секрецию медиаторов воспаления [10].



Одной из причин развития хронических форм заболеваний легких и пневмофиброза как патологического исхода этого воспаления может быть недостаточность иммунного ответа, ключевая позиция в котором принадлежит нейтрофильным гранулоцитам (НГ). Активация НГ необходима для обеспечения первой линии защиты против бактериальных, вирусных и грибковых патогенов посредством реализации своей фагоцитарной функции, однако в последние годы представления о роли нейтрофилов в реализации врожденного и адаптивного иммунитета значительно расширены [2]. При воспалительном процессе в легких к пораженной области привлекаются нейтрофилы, которые проявляют фагоцитарную активность, которая является многостадийным процессом, включающим в себя хемотаксис, захват объекта с последующим образованием фаголизосомы и протеолитическую деградацию поглощенного объекта. Нарушения на различных этапах фагоцитарных реакций приводят к развитию многочисленных патологических состояний. Поэтому от адекватной реализации физиологических функций НГ зависит постоянство иммунного гомеостаза [14].

За острым нейтрофильным воспалением следует фаза разрешения, важная для тканевого гомеостаза. Если эти механизмы не работают, нейтрофилы вызывают хроническое воспаление, характеризующееся высвобождением окислителей и протеаз и приводящее к повреждению тканей, но в последнее время их также рассматривают как важных участников восстановления тканей [11]. Хотя роль нейтрофилов в остром воспалении довольно хорошо установлена, их роль в хронических заболеваниях, повреждении тканей и репарации только начала изучаться [13].

Нейтрофилы живут недолго и в обычных условиях после выполнения своих функций в очаге воспаления погибают. Естественная гибель происходит благодаря процессу программированной гибели клеток – апоптозу, что позволяет предотвратить выход цитотоксического содержимого нейтрофилов в окружающие ткани и своевременно устранять погибшие клетки тканевыми макрофагами [8]. Поэтому данные, касающиеся апоптотической активности нейтрофилов и их функциональной активности, можно рассматривать как один из механизмов, позволяющих контролировать воспалительные реакции. Нарушения механизмов, регулирующих апоптоз иммунных клеток, могут являться центральным патогенетическим фактором в инициации и (или) персистенции воспаления [6].

Одним из путей нарушения механизмов апоптоза НГ является нарушение изменения активности и функций митохондрий, проницаемости

мембраны митохондрий, что ведет к митохондриальной дисфункции, поэтому считают, что снижению мембранного потенциала митохондрий (МПП) является одним из основных показателей инициации митохондриального пути запуска апоптоза [5]. Во время воспаления продолжительность жизни нейтрофила увеличивается, гибель его откладывается для борьбы с инфекцией и воспалением, и эти активированные НГ, продуцирующие активные формы кислорода протеазы выходят из сосудистого русла в ткани, может привести к стойкому повреждению тканей [12].

Учитывая важность и возобновившийся интерес к нейтрофилам как к инструментам регуляции иммунитета, связанным с заболеванием легких при ХНЗЛ, это является своевременной проблемой, которую следует решать [15]. Однако данных о вкладе активности фагоцитоза в патогенез воспалительных реакций у детей с ХНЗЛ с поствоспалительным пневмофиброзом известно мало. В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение фагоцитарной активности нейтрофилов крови как важного компонента врожденного иммунитета у пациентов с ХНЗЛ.

## Материалы и методы

В работу включены наблюдения 70 детей с ХНЗЛ (из них 52,7% – дети с врожденными пороками развития легких (ВПРЛ), 32,7% – с хроническим бронхитом (ХБ) и 14,5% – с бронхолегочной дисплазией (БЛД)) с очаговым или сегментарным поствоспалительным пневмофиброзом (ППФ), находящихся под наблюдением в Хабаровском филиале ДНЦ ФПД – НИИ ОМиД. Из них 27 детей с прогрессированием ППФ (основная группа) и 43 ребенка с ППФ без прогрессирования процесса (группа сравнения). Средний возраст детей составил  $6,9 \pm 0,5$  года. Контролем послужили показатели 23 практически здоровых детей, сопоставимых по полу и возрасту. Исследования проведены с учетом требований Хельсинкской декларации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования» с поправками 2013 года и нормативными документами «Правила надлежащей клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом № 200 от 01.04.2016 МЗ РФ. Дизайн исследования одобрен решением Этического комитета Хабаровского филиала ДНЦ ФПД – НИИ ОМиД, получено информированное согласие родителей и/или законных представителей каждого ребенка на включение в изучаемую группу. В динамике наблюдения пациентам выполнялось клинико-лабораторное обследование согласно рекомендо-

ваным стандартам оказания помощи пациентам с бронхолегочной патологией. Пневмофиброз диагностировался с использованием мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ) с программой виртуальной бронхоскопии и внутривенным болюсным контрастированием (по показаниям) на томографе Toshiba Aquilion 64 с техпараметрами: 100 кВ и 120 мАс, коллимацией 64 0,5 мм, временем оборота трубки 0,35 сек., с обработкой на рабочей станции Vitrea с программным обеспечением для ВБ. Критерием внесения случая в основную группу были: 1. Уменьшение объема форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ) по данным спирометрии на 5-10% по сравнению с данными предшествующего обследования, что сопровождалось нарастанием клинических проявлений основного заболевания и/или усугублением изменений, зафиксированных на мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ) легких. 2. Понижение показателя ФЖЕЛ менее чем на 5% относительно предыдущей оценки, в сочетании с прогрессирующим увеличением зон поражения легочной ткани, обнаруженным при МСКТ, и усилением симптоматики. 3. Наличие значительных фибротических изменений в структуре легочной паренхимы, выявленных с помощью МСКТ, при этом ФЖЕЛ менее 70% от нормы, что отражало исходно высокий уровень поражения легких [1].

Исследования проводили в период клинической ремиссии. Функционально-метаболическую активность нейтрофилов оценивали по общепринятой методике, определяя фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН) как процент фагоцитов, способных к активному захвату частиц латекса и фагоцитарное число (ФЧ), отражающее количество частиц, поглощенных одним фагоцитом. Метаболический потенциал и способность клетки к завершению фагоцитоза оценивали в спонтанном и стимулированном НСТ-тесте. Рассчитывался фагоцитарный резерв стимуляции НСТ-теста (НСТст-НСТсп). Определение мембранного потенциала митохондрий проводили на цитометре BD FACS Calibur (США) (BD Pharmigen, США).

Статистическая обработка материала проведена с применением пакета статистических программ Statistica 10.0. Описание выборки проводили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 1-го и 3-го квартилей ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ ). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по критерию Манна-Уитни. Исследование взаимосвязи проводили с использованием коэффициента корреляции Спирмена. Для исследования связей между признаками, выделенными при

классификации объектов, был проведен факторный анализ методом главных компонент. Критическая величина уровня значимости принята равной 0,05.

## Результаты и обсуждение

Показатели фагоцитарной активности и фагоцитарного числа нейтрофилов, теста восстановления в нейтрофилах нитросинего тетразолия (НСТ-теста) в спонтанном и стимулированном частицами латекса вариантах, с расчетом индекса стимуляции представлены в таблице 1.

Фагоцитарное число (ФЧ) (среднее количество микробов, поглощенных одним нейтрофилом крови, в норме составляющее 5–10 поглощенных микробных частиц) у детей с ХНЗЛ с прогрессированием ПФ было достоверно снижено как по сравнению с пациентами группы ХНЗЛ без прогрессирования ПФ ( $p < 0,05$ ), так и с контрольной группой ( $p < 0,001$ ). Фагоцитарная активность нейтрофилов (ФАН) у детей с ХНЗЛ в обеих группах хотя и была в пределах нормативных величин, тем не менее была ниже, чем в группе контроля ( $p < 0,05$ ).

Отмечено существенное повышение активности спонтанного НСТ-теста у детей основной группы, которое было в 1,7 раза выше, чем у детей в группе сравнения ( $p < 0,05$ ) и в 3 раза выше, чем у детей из группы контроля ( $p < 0,001$ ). Стимулированный НСТ-тест был также выше у больных с ХНЗЛ, более выраженный у пациентов с нарастанием процессов ППФ по сравнению с контролем ( $p < 0,001$ ). Однако индекс стимуляции, характеризующий кратность возрастания НСТ-теста при антигенном раздражении в основной группе, был ниже (-3 (-7 – +3) против 8 (4,2-9,6),  $p < 0,001$ ) в контрольной группе, что свидетельствует о снижении метаболического потенциала фагоцитов при ХНЗЛ и несовпадение сроков клинической и метаболической ремиссии.

Результаты факторного анализа показателей функционально-метаболическую активность нейтрофилов у детей с ХНЗЛ выделил главные факторы, которые служат внутренней характеристикой процессов фагоцитоза у обследованных детей: индекс стимуляции НСТ-теста (весовой коэффициент 0,85) и уровень фагоцитарной активности крови (весовой коэффициент 0,72).

Определено увеличение доли клеток с пониженным мембранным потенциалом митохондрий гранулоцитов у детей основной группы по сравнению с группой контроля ( $31,5\% \pm 6,9$  и  $2,2\% \pm 0,4$  соответственно,  $p < 0,001$ ), т. е. при воспалительном процессе в легких значительно увеличивается число НГ, отражающих процессы инициации митохондриального пути запуска

**ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЛЕГКИХ, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

TABLE 1. INDICATORS OF FUNCTIONAL ACTIVITY OF NEUTROPHIL GRANULOCYTES IN THE BLOOD IN CHILDREN WITH CHRONIC NONSPECIFIC LUNG DISEASES, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Показатель Indicator	Основная группа Main group n = 27	Группа сравнения Comparison group n = 43	Контрольная группа Control group n = 23
НСТ сп., усл. ед. NBT reduction test, conventional units	54 (46-63) <sup>Δ, **</sup>	31 (27,3-42,0)**	18 (16-23)
НСТ ст., усл. ед. NBT stimulated test, conventional units	57 (42-71) <sup>Δ, **</sup>	36 (20,7-59,0)**	22 (19-32)
ФЧ сп, ед. Phagocytic number reduction test, units	3,3 (3,09-3,80) <sup>Δ, **</sup>	5,6 (3,92-6,40)**	9 (7,5-14,0)
ФЧ ст, ед. Phagocytic number stimulated test, units	4,7 (4,6-5,4) <sup>Δ, **</sup>	4,7 (4,6-5,4)**	13 (14,2-16,0)
ФАН сп., % Phagocytic activity of neutrophils reduction. %	45 (35,7-50,0)*	45,6 (16,3-63,0)*	51,2 (46-67)
ФАН ст., % Phagocytic activity of neutrophils stimulated, %	47 (38-50)*	37,1 (19-50)*	53,6 (44-70)

Примечание. \* –  $p < 0,05$  по отношению к группе «контроль»; \*\* –  $p < 0,001$  по отношению к группе «контроль».  
<sup>Δ</sup> –  $p < 0,05$  по отношению к основной группе; <sup>ΔΔ</sup> –  $p < 0,001$  по отношению к основной группе.

Note. \*,  $p < 0.05$  in relation to the control group; \*\*,  $p < 0.001$  in relation to the control group. <sup>Δ</sup>,  $p < 0,05$  in relation to the main group; <sup>ΔΔ</sup>,  $p < 0,001$  in relation to the main group.

апоптоза. Корреляционный анализ выявил статистически значимую отрицательную взаимосвязь между долей гранулоцитов со сниженным МПМ и фагоцитарным резервом индексом стимуляции НСТ-теста ( $r_s = -0,31$ ,  $p < 0,05$ ) и положительную с ФЧ сп ( $r_s = 0,35$ ,  $p < 0,05$ ) и ФЧст ( $r_s = 0,34$ ,  $p < 0,05$ ).

Таким образом, у детей с ХНЗЛ с прогрессирующим процессом фиброобразования развиваются типичные для воспалительной реакции изменения функционально-метаболической активности нейтрофилов периферической крови, характеризующиеся повышением кислородзависимой и снижением фагоцитарной активности клеток.

Нейтрофилы, как жизненно важные регуляторы, связывающие врожденную и адаптивную иммунные системы, являются обоюдоострым оружием в иммунном ответе легких, включающем такие механизмы, как фагоцитоз, дегрануляция, образование внеклеточных ловушек нейтрофильных клеток, секреция экзосом, высвобождение цитокинов и хемокинов и аутофа-

гия. Хотя нейтрофилы служат сильными защитниками от внеклеточных патогенов, нейтрофилы и их компоненты могут запускать различные каскады, ведущие к воспалению и фиброгенезу, одним из таких механизмов может быть нарушение оксидативного метаболизма фагоцитов цельной крови. Ранее, на примере детей с ВПРЛ, нами выявлено снижение функционального резерва гранулоцитов на фоне гиперпродукции этими клетками супероксид-анион- и гидроксил-радикалов [3]. Когда фагоцитоз неэффективен, нейтрофилы, в ответ на раздражители, высвобождают лизосомальные ферменты и протеазу. При этом повторяющееся воспаление и повреждение тканей может способствовать ремоделированию и фиброгенезу легочной ткани.

## Заключение

Сохранение функции нейтрофилов необходимо для полного устранения воспалительного процесса в легких. Более высокий уровень на-

пряженности фагоцитарной активности у детей при ХНЗЛ, по-видимому, объясняется тем, что в этой ситуации иммунная система продолжает бороться с патогенами, что поддерживает воспалительный процесс на некотором компенсированном уровне. По-видимому, появление синдрома напряженности характеризует активацию не только иммунной, но и других систем организма, определяющих гомеостаз. Условия, в которых ре-

ализуется воспаление при ХНЗЛ, может сопровождаться сниженной микроциркуляцией в легких, что приводит к развитию гипоксии и появлению условий персистенции и активизации анаэробной флоры, снижению возможностей местного иммунитета и репаративных процессов. Коррекция этих нарушений является основной целью мероприятий по профилактике и лечению детей с ХНЗЛ.

## Список литературы / References

1. Ананьева Л.П., Авдеев С.Н., Тюрин И.Е., Лиля А.М., Загребнева А.И., Маслянский А.Л., Терпигорев С.А., Степаныч И.В., Лашина Е.Л., Васильева О.С., Лукина О.С., Першина Е.С., Клименко А.А., Шостак Н.А., Насонов Е.Л. Хронические фиброзирующие интерстициальные заболевания легких с прогрессирующим фенотипом // *Научно-практическая ревматология*, 2020. Т. 58, № 6. С. 631-636. [Ananieva L.P., Avdeev S.N., Tyurin I.E., Lila A.M., Zagrebneva A.I., Maslyanskiy A.L., Terpigorev S.A., Stepanyan I.V., Lashina E.L., Vasilieva O.S., Lukina O.S., Pershina E.S., Klimenko A.A., Shostak N.A., Nasonov E.L. Chronic fibrosing interstitial lung disease with progressive phenotype. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*, 2020, Vol. 58, no. 6, pp. 631-636. (In Russ.)]
2. 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 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. Евсеева Г.П., Лебедево О.А., Супрун С.В., Яковлев Е.И., Кудерова Н.И., Книжникова Е.В., Телепнева Р.С., Пивкина Т.В. Оценка мембранного потенциала митохондрий гранулоцитов у детей с хроническими воспалительными заболеваниями легких // *Якутский медицинский журнал*, 2020. Т. 72, № 4. С. 10-13. [Evseeva G.P., Lebed'ko O.A., Suprun S.V., Yakovlev E.I., Kuderova N.I., Knizhnikova E.V., Telepneva R.S., Pivkina T.V. Estimation of the mitochondria membrane potential of granulocytes in children with chronic inflammatory diseases of the lungs. *Yakutskiy meditsinskiy zhurnal = Yakut Medical Journal*, 2020, Vol. 72, no. 4, pp. 10-13. (In Russ.)]
4. Козлов В.К., Лебедево О.А., Пичугина С.В., Сиротина-Карпова М.С., Евсеева Г.П., Гандуров С.Г. Актуальные вопросы хронических неспецифических заболеваний легких у детей // *Вопросы практической педиатрии*, 2019. Т. 14, № 3. С. 22-31. [Kozlov V.K., Lebedko O.A., Pichugina S.V., Sirotina-Karpova M.S., Evseeva G.P., Gandurov S.G. Relevant problems of chronic obstructive pulmonary diseases in children. *Voprosy prakticheskoy pediatrii = Clinical Practice in Pediatrics*, 2019, Vol. 14, no. 3, pp. 22-31. (In Russ.)]
5. Кудрявцев И.В., Головкин А.С., Зурочка А.В., Хайдуков С.В. Современные методы и подходы к изучению апоптоза в экспериментальной биологии // *Медицинская иммунология*, 2012, Т. 14, № 6. С. 461-482. [Kudriavtsev I.V., Golovkin A.S., Zurochka A.V., Khaidukov S.V. Modern technologies and approaches to the study of apoptosis in experimental Biology. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, Vol. 14, no. 6, pp. 461-482. (In Russ.)]
6. 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 1 // *Инфекция и иммунитет*, 2017. Т. 7, № 3. С. 219-230. [Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Chudilova G.A., Lomtatidze L.V., Kovaleva S.V., Evglevsky A.A., Nguyen T.D.L. The new look at neutrophilic granulocytes: rethinking old dogmas. Part 1. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2017, Vol. 7, no. 3, pp. 219-230. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2017-3-219-230.
7. Хоринко А.В., Амарантов Д.Г., Косарева П.В. Роль нарушения клеточно-матриксных взаимодействий в патогенезе прогрессирования фиброза легких // *Журнал анатомии и гистопатологии*, 2016. Т. 5, № 3. С. 84-89. [Khorinko A.V., Amarantov D.G., Kosareva P.V. The role of the disorders of cell matrix interactions in the pathogenesis of pulmonary fibrosis progression. *Zhurnal anatomii i gistopatologii = Journal of Anatomy and Histopathology*, 2016, Vol. 5, no. 31, pp. 84-89. (In Russ.)]
8. Шен С.-Ф., Гуан В.-С., Ду Дж.-Ф., Пузырева Л.В. Нарушение апоптоза нейтрофилов при сепсисе // *Инфекция и иммунитет*, 2018. Т. 8, № 2. С. 119-126. Shen X.-F., Guan W.-X., Du J.-F., Puzyreva L.V. Disturbance



of an apoptosis of neutrophils at a sepsis. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2018, Vol. 8, no. 2, pp. 119-126. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2018-2-119-126.

9. Bakalović G., Bokonjić D., Mihajlović D., Čolić M., Mališ V., Drakul M., Tomić S., Jojić I., Rakočević S., Popović D., Kozić L., Vasiljević M., Bekić M., Mašić S., Ljuboja O. Dysfunctions of neutrophils in the peripheral blood of children with cystic fibrosis. *Biomedicines*, 2023, Vol. 11, no. 6, 1725. doi: 10.3390/biomedicines11061725.

10. Barkas G.I., Daniil Z., Kotsiou O.S. The role of small airway disease in pulmonary fibrotic diseases. *J. Pers. Med.*, 2023, Vol. 13, no. 11, 1600. doi: 10.3390/jpm13111600.

11. Castanheira F.V.S., Kubes P. Neutrophils and NETs in modulating acute and chronic inflammation. *Blood*, 2019, Vol. 133, no. 20, pp. 2178-2185.

12. Ding L., Yang J., Zhang Ch., Zhang X., Gao P. Neutrophils modulate fibrogenesis in chronic pulmonary diseases. *Front. Med.*, 2021, Vol. 8, 616200. doi: 10.3389/fmed.2021.616200.

13. Kruger Ph., Saffarzadeh M., Weber A.N.R., Rieber N., Radsak M., von Bernuth H., Benarafa Ch., Roos D., Skokowa J., Hartl D. Neutrophils: between host defence, immune modulation, and tissue injury. *PLoS Pathog.*, 2015, Vol. 11, no. 3, e1004651. doi: 10.1371/journal.ppat.1004651.

14. Mantovani A., Cassatella M.C., Costantini C., Jaillon S. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2011, Vol. 11, pp. 519-531.

15. Marteyn B.S., Burgel P.R., Meijer L., Witko-Sarsat V. Harnessing neutrophil survival mechanisms during chronic infection by *Pseudomonas aeruginosa*: novel therapeutic targets to dampen inflammation in cystic fibrosis. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2017, Vol. 7, 243. doi: 10.3389/fcimb.2017.00243.

---

**Авторы:**

**Евсеева Г.П.** — д.м.н., заместитель директора по научной работе, главный научный сотрудник группы медико-экологических проблем здоровья матери и ребенка, Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства — Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Хабаровск, Россия

**Книжников Е.В.** — очный аспирант, Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства — Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Хабаровск, Россия

**Authors:**

**Evseeva G.P.**, PhD, MD (Medicine), Deputy Director on Scientific Work, Chief Research Associate, Group of Health and Environmental Problems of Mother and Child Health, Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Khabarovsk, Russian Federation

**Knizhnikova E.V.**, Postgraduate Student, Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Khabarovsk, Russian Federation

**Абдулина Н.О.** — очный аспирант, Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства — Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Хабаровск, Россия

**Пичугина С.В.** — к.м.н., старший научный сотрудник группы клинической иммунологии и эндокринологии, врач-пульмонолог, Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства — Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Хабаровск, Россия

**Чайка М.С.** — научный сотрудник группы клинической иммунологии и эндокринологии, врач-педиатр, Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства — Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Хабаровск, Россия

**Abdulina N.O.**, Postgraduate Student, Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Khabarovsk, Russian Federation

**Pichugina S.V.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Group of Clinical Immunology and Endocrinology, Pulmonologist, Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Khabarovsk, Russian Federation

**Chaika M.S.**, Research Associate, Group of Clinical Immunology and Endocrinology, 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 01.04.2024

Принята к печати 04.04.2024

---

Received 31.03.2024

Revision received 01.04.2024

Accepted 04.04.2024

# ПАРАДИГМА ВОЗМОЖНОСТЕЙ, ВЕДУЩИХ К ФОРМИРОВАНИЮ АУТОИММУННОГО И ИНФЕКЦИОННОГО ФЕНОТИПОВ ОБЩЕВАРИАБЕЛЬНОЙ ИММУННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Сизякина Л.П., Андреева И.И., Данилова Д.И.

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,  
г. Ростов-на-Дону, Россия

**Резюме.** Термин переменный в определении общей переменной иммунной недостаточности (ОВИН) связан с гетерогенностью генетической природы и клинической манифестации этого варианта первичного иммунодефицита. Снижение функции В-лимфоцитов развивается в результате дисрегуляции иммунных процессов, природа которых различна в зависимости от генетической поломки. Расшифровка механизмов или выявление биомаркеров клинической гетерогенности может иметь значение в своевременной диагностике и прогнозе течения ОВИН. Цель проведенного исследования – выявить отличительные признаки в параметрах врожденного и адаптивного иммунного ответа пациентов с инфекционной и аутоиммунной манифестацией ОВИН в условиях ремиссии и при клинической манифестации. Обследовано 15 пациентов, 11 женщин и 4 мужчины, средний возраст  $39,7 \pm 11,7$  лет, разделенные на две подгруппы в зависимости от клинической верификации: инфекционный фенотип (10 человек, средний возраст  $41,6 \pm 11,71$  лет) и аутоиммунный фенотип (5 человек, средний возраст  $35,8 \pm 9,8$  лет). В условиях отсутствия клинических признаков активации аутоиммунной патологии либо обострения хронических инфекционных процессов точкой приложения отличительных значений стали моноциты периферической крови. Было показано увеличение количества моноцитов, экспрессирующих TLR9, у пациентов с аутоиммунной клинической верификацией ОВИН. Отличия параметров иммунного статуса больных, проведенного в период обострения/активации клинической манифестации, состояли в снижении относительного содержания и абсолютного количества Т-регуляторных лимфоцитов, повышении количества моноцитов, содержащих TLR9, TLR2 и HLA-DR у пациентов с аутоиммунным фенотипом по отношению к подгруппе с инфекционной манифестацией. Полученные данные отражают вовлеченность иммунорегуляторного потенциала иммунной системы в клиническую манифестацию первичного иммунодефицита даже в условиях проводимой патогенетической заместительной терапии. Доказательством изложенного положения служит снижение иммуносупрессии при аутоиммунной манифестации за счет уменьшения

## Адрес для переписки:

Андреева Ирина Ивановна  
ФГБОУ ВО «Ростовский государственный  
медицинский университет»  
344022, Россия, г. Ростов-на-Дону,  
Нахичеванский пер., 29.  
Тел.: 8 (863) 263-44-41; 8 (919) 892-47-34.  
E-mail: iai3012@rambler.ru

## Address for correspondence:

Irina I. Andreeva  
Rostov State Medical University  
29 Nakhichevan Lane  
Rostov-on-Don  
344022 Russian Federation  
Phone: +7 (863) 263-44-41; +7 (919) 892-47-34.  
E-mail: iai3012@rambler.ru

## Образец цитирования:

Л.П. Сизякина, И.И. Андреева, Д.И. Данилова  
«Парадигма возможностей, ведущих к формированию  
аутоиммунного и инфекционного фенотипов  
общевариабельной иммунной недостаточности»  
// Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27,  
№ 4. С. 1009-1016.  
doi: 10.46235/1028-7221-16690-ТРО

© Сизякина Л.П. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

## For citation:

L.P. Sizyakina, I.I. Andreeva, D.I. Danilova “The paradigm  
of possibilities leading to the formation of autoimmune and  
infectious phenotypes of common variable immune deficiency”,  
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii  
Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 1009-1016.  
doi: 10.46235/1028-7221-16690-ТРО

© Sizyakina L.P. et al., 2024

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16690-ТРО

количества периферических Т-регуляторных клеток и меньшей доли клеток моноцитарного ряда, относящихся к М2-супрессивной категории. Также обращает на себя внимание усиление потенциала первичного реагирования на паттерны различной природы при аутоиммунной манифестации за счет увеличения количества моноцитов, экспрессирующих Toll-подобные рецепторы различной специфичности. Представленные результаты не только отражают патогенетическую роль указанных факторов в клинической манифестации аутоиммунной патологии, но и могут быть предложены в качестве диагностического и прогностического показателя различия клинических фенотипов ОВИН.

*Ключевые слова:* общая переменная иммунная недостаточность, аутоиммунный фенотип, инфекционный фенотип, иммунная дисрегуляция

## THE PARADIGM OF POSSIBILITIES LEADING TO THE FORMATION OF AUTOIMMUNE AND INFECTIOUS PHENOTYPES OF COMMON VARIABLE IMMUNE DEFICIENCY

Sizyakina L.P., Andreeva I.I., Danilova D.I.

Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

**Abstract.** The term variable in the definition of CVID is associated with the heterogeneity of the genetic nature and clinical manifestation of this variant of PI. Deciphering of the mechanisms or identifying biomarkers of clinical heterogeneity may be important in the timely diagnosis and prognosis of the course of CVID. The purpose of the study was to identify distinctive features in the parameters of the innate and adaptive immune response of the patients with infectious and autoimmune manifestations of CVID in remission and clinical manifestation. Fifteen patients, 11 women and 4 men with an average age  $39.7 \pm 11.7$  years were examined, and they were divided into two subgroups depending on clinical verification: infectious phenotype (10 people) and autoimmune phenotype (5 people). In the absence of clinical signs of activation of autoimmune pathology or exacerbation of chronic infectious processes, peripheral blood monocytes became the application point of distinctive values. An increase in the number of TLR9-expressing monocytes has been shown in patients with autoimmune clinical verification of CVID. The differences in the parameters of the immune status of patients conducted during the period of clinical manifestation consisted of a decrease in the relative content and absolute number of T regulatory lymphocytes, and an increase in the number of monocytes containing TLR9, TLR2 and HLA-DR in patients with an autoimmune phenotype relative to the subgroup with infectious manifestation. The data obtained reflect the involvement of the immunoregulatory potential of the immune system in the clinical manifestation of primary immunodeficiency, even under the conditions of pathogenetic substitution therapy. The evidence of the stated position is a decrease in immunosuppression in autoimmune manifestation due to a decrease in the number of peripheral T-regulatory cells and a smaller proportion of monocyte cells belonging to the M2 suppressive category. Attention is also drawn to the increased potential of primary response to patterns of various nature in autoimmune manifestation due to an increase in the number of monocytes expressing Toll-like receptors of various specificity. The presented results can be proposed as a diagnostic and prognostic indicator of the difference in clinical phenotypes of CVID.

*Keywords:* common variable immune deficiency, autoimmune phenotype, infectious phenotype, immune dysregulation

### Введение

Общая переменная иммунная недостаточность (ОВИН) представляет собой совокупность синдромов гипогаммаглобулинемии, возникающих в результате различных генетических дефектов [6, 15]. ОВИН встречается с частотой от двух до четырех человек на каждые 100 000 населения,

нет предрасположенности к какой-либо этнической принадлежности или полу, отсутствует четкая привязка к конкретному генетическому дефекту, нет единого клинического или лабораторного признака, патогномичного для ОВИН. Термин переменный в определении этого вида ПИД связан с гетерогенностью генетической природы и клинической манифестации. Клини-



ческая картина включает не только повышенную восприимчивость к инфекциям дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта, но аутоиммунные, лимфопролиферативные заболевания, повышенный риск некоторых злокачественных новообразований [4, 11]. Применяемые в настоящее время критерии постановки диагноза, к которым относят стойкую гипогаммаглобулинемию, отсутствие изогемагглютининов и антительного ответа на вакцинацию не служат предикторами эффективности патогенетической терапии, не связаны с возможностью прогноза развития осложнений и варианта клинического течения [3]. В научной литературе накапливаются данные, подтверждающие, что снижение функции В-лимфоцитов, приводящие к основному лабораторному критерию ОВИН — гипогаммаглобулинемии, развиваются в результате дисрегуляции иммунных процессов, природа которых различна в зависимости от исходной генетической поломки. Различный иммунопатогенез гипогаммаглобулинемии, очевидно, и определяет вариабельность клинической симптоматики. В настоящее время признано, что наиболее частым вариантом верификации ОВИН, после инфекционного, является аутоиммунная патология, на долю которой приходится до 30% пациентов [2, 8, 12]. Расшифровка механизмов или выявление биомаркеров такой клинической гетерогенности может иметь значение в своевременной диагностике и прогнозе течения ОВИН.

**Цель проведенного исследования** — выявить отличительные признаки в параметрах врожденного и адаптивного иммунного ответа пациентов с инфекционной и аутоиммунной манифестацией ОВИН в условиях ремиссии и при клинической манифестации

## Материалы и методы

Группу составили 15 пациентов, 11 женщин и 4 мужчины. Средний возраст  $39,7 \pm 11,7$  лет, возраст возникновения первых клинических проявлений  $25 \pm 10$  лет, возраст, в котором был верифицирован диагноз, —  $32,6 \pm 12,4$  лет. Диагноз выставлен на основании клинических рекомендаций Российской Ассоциации Аллергологов и Клинических иммунологов для диагностики первичных иммунодефицитов гуморального звена и соответствовал критериям Международного союза иммунологических обществ (<https://council.science>). У десяти пациентов основным клиническим проявлением был инфекционный фенотип синопульмональной локализации. Средний возраст в этой подгруппе пациентов с ОВИН  $41,6 \pm 11,71$  лет. У 5 человек ведущими

клиническими симптомами ОВИН были болезнь Крона (1 человек), гемолитическая анемия (1 человек), аутоиммунная тромбоцитопения (1 человек), аутоиммунный гепатит (2 человека). Средний возраст больных в этой подгруппе составил  $35,8 \pm 9,8$  лет. Все пациенты находились под диспансерным наблюдением, получали регулярную заместительную терапию внутривенными иммуноглобулинами (ВВИГ) в дозе 0,4 г/кг. Представлены результаты обследования, полученные перед очередной трансфузией ВВИГ в период ремиссии либо при стационарном лечении в условиях обострения или активации клинической манифестации ОВИН. От всех участников получено добровольное информированное согласие на проведение исследований. В комплекс иммунологического обследования помимо стандартных тестов, характеризующих уровень сывороточных иммуноглобулинов и количественный состав субпопуляций лимфоцитов периферического кровотока, вошли показатели функционального состояния иммунокомпетентных клеток. Методом проточной цитофлуориметрии (Cytomics FC 500, США) оценивали мембранные либо внутриклеточные маркеры (CD16; CD14; CD282; CD284; CD289; CD3; HLA-DR; CD4; CD25; CD8; CD19; Foxp3; Granzym B;) с использованием соответствующих моноклональных антител производства Beckman Coulter. Статистические расчеты выполнялись в R (версия 3.2, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Средние значения показателей представлены в виде Медиан [Нижний квартиль; Верхний квартиль]. Сравнение медиан количественных показателей в группах проводилось с помощью теста Манна–Уитни. Различия признавались статистически значимыми на уровне  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Результаты сопоставительно анализа данных, полученных при обследовании пациентов с ОВИН в период стандартного скринингового обследования накануне очередной трансфузии ВВИГ, в условиях отсутствия клинических признаков активации аутоиммунной патологии либо обострения хронических инфекционных процессов, представлены в таблице 1. Из этих данных следует, что все показатели, характеризующие количественный и функциональный потенциал Т- и В-лимфоцитов, натуральных киллеров, сывороточных иммуноглобулинов, не имеют статистически значимых различий между группами. Точкой приложения отличительных значений стали моноциты периферической крови. Так, было показано увеличение относительного

количества моноцитов, экспрессирующих TLR4, при аутоиммунном фенотипе, однако в пересчете на абсолютное количество циркулирующих в кровотоке клеток, эти отличия нивелировались. В то же время количество моноцитов, экспрессирующих внутриклеточный рецептор первичного распознавания CpG-последовательностей ДНК TLR9 статистически значимо выше у пациентов с аутоиммунной клинической верификацией ОВИН. Эти отличия весьма существенны и в относительном, и в абсолютном исчислении.

Таким образом, выявленный отличительный признак устойчивого повышения количества CD14<sup>+</sup>CD289<sup>+</sup> моноцитов представляет несомненный интерес с патогенетической точки зрения в связи с наличием литературных данных о возможном участии TLR9 в формировании аутоиммунного воспаления за счет способности реагировать на DAMP-компоненты распада собственных клеток [5, 14].

Результаты исследования параметров иммунного статуса больных, проведенного в период обострения/активации основной клинической манифестации, имеют более выраженный спектр отличительных признаков между группами в зависимости от фенотипа ОВИН (табл. 2). Эти отличия затрагивают параметры адаптивного иммунного ответа, отражающие регуляторный потенциал Т-клеточного звена. Так, при активации аутоиммунной клиники по сравнению с обострением хронических инфекций меньшее относительное число CD4<sup>+</sup>Т-лимфоцитов экспрессирует рецептор для IL-2. Кроме того, снижено не только относительное содержание, но и абсолютное количество Т-регуляторных лимфоцитов. Все остальные статистически значимые различия между группами сосредоточены на показателях клеток моноцитарного ряда. Так же как и в условиях клинической ремиссии, у пациентов с аутоиммунитетом параметры TLR9<sup>+</sup>-моноцитов превышают соответствующие данные группы сравнения как в относительных, так и абсолютных значениях. Кроме того, при активации аутоиммунной манифестации ОВИН больше моноцитов, экспрессирующих TLR2, а также моноцитов, несущих на своей поверхности HLA-DR и обладающих способностью к презентации антигена и синтезу провоспалительных медиаторов, нежели у пациентов с обострением хронических инфекций.

Полученные данные, безусловно, заслуживают внимания, так как отражают вовлеченность иммунорегуляторного потенциала иммунной системы в клиническую манифестацию первичного иммунодефицита даже в условиях прово-

димой патогенетической заместительной терапии. Доказательством изложенного положения служит снижение иммуносупрессии при аутоиммунной манифестации за счет уменьшения количества периферических Т-регуляторных клеток и меньшей доли клеток моноцитарного ряда, относящихся к M2-супрессивной категории. Также обращает на себя внимание усиление потенциала первичного реагирования на паттерны различной природы при аутоиммунной манифестации за счет увеличения количества моноцитов, экспрессирующих Toll-подобные рецепторы различной специфичности. Следует отметить, что в научной литературе публикации, направленные на сравнительную характеристику иммунных параметров при инфекционном и аутоиммунном фенотипе ОВИН, в большей степени направлены на изучение показателей В-лимфоцитов [1, 7]. При анализе клеточного звена иммунного ответа имеются противоречивые данные – от полного отсутствия отличительных признаков до доказательства заинтересованности дисрегуляторных процессов [9, 10]. Полученные нами результаты согласуются с имеющимися данными и показывают наличие или отсутствие различий в зависимости от степени выраженности клинической манифестации ОВИН: в условиях клинической ремиссии практически лишь один признак показал статистически значимое отличие. С другой стороны, этот показатель, а именно: увеличение количества TLR9<sup>+</sup> моноцитов – имеет патогенетическую связь с инициацией аутоиммунного воспаления, и факт увеличения CD14<sup>+</sup>CD289<sup>+</sup> моноцитов у пациентов с аутоиммунным фенотипом даже в условиях клинической ремиссии может служить диагностическим и прогностическим маркером данного варианта клинической манифестации. Выявленные нами отличительные признаки у пациентов при активации/обострении соответствующего фенотипа ОВИН, связанные с количеством Т-регуляторных лимфоцитов, согласуются с недавними исследованиями закономерности экспрессии генов изолированной популяции Т-регуляторных клеток у пациентов с ОВИН, показавшими различия на уровне генов между пациентами с аутоиммунизацией и без нее [13]. Безусловного внимания с точки зрения последующих наблюдений и накопления данных служит и показатель количества моноцитов, лишенных экспрессии HLA второго класса CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup> в связи со способностью этой субпопуляции моноцитов супрессировать иммунные процессы.

**ТАБЛИЦА 1. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ АДАПТИВНОГО И ВРОЖДЕННОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У ПАЦИЕНТОВ С АУТОИММУННОЙ ИЛИ ИНФЕКЦИОННОЙ МАНИФЕСТАЦИЕЙ ОВИН В УСЛОВИЯХ КЛИНИЧЕСКОЙ РЕМИССИИ, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

**TABLE 1. COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF INDICATORS OF ADAPTIVE AND INNATE IMMUNE RESPONSE IN PATIENTS WITH AUTOIMMUNE OR INFECTIOUS MANIFESTATIONS OF CVID IN CLINICAL REMISSION, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

Показатели Indicators	Аутоиммунный фенотип Autoimmune phenotype	Инфекционный фенотип Infectious phenotype
CD3 <sup>+</sup> (%)	85 (74,5-89,0)	88 (78,0-90,5)
CD3 <sup>+</sup> (abs)	1,13 (0,95-1,35)	1,2 (1,03-1,39)
CD3 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> (%)	2,4 (1,9-3,0)	2,5 (2,1-3,3)
CD3 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> (abs)	0,034 (0,023-0,050)	0,038 (0,029-0,051)
CD3 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> (%)	10 (5,75-14,10)	9 (6,0-11,1)
CD3 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> (abs)	0,14 (0,068-0,180)	0,13 (0,077-0,170)
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> (%)	39,5 (26,5-48,5)	39,5 (28-49)
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> (abs)	0,53 (0,35-0,71)	0,54 (0,39-0,73)
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> (%) <sup>*</sup>	2,55 (2,0-3,4)	2,8 (2,0-3,5)
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> (abs)	0,037 (0,024-0,054)	0,039 (0,026-0,055)
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> FoxP3 <sup>+</sup> (%)	1,35 (1-2)	1,2 (0,7-1,9)
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> FoxP3 <sup>+</sup> (abs)	0,02 (0,011-0,031)	0,017 (0,009-0,027)
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> (%)	44 (26,5-60,0)	42 (31,0-54,5)
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> (abs)	0,53 (0,38-0,82)	0,58 (0,43-0,77)
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> Gr <sup>+</sup> (%)	28 (18,0-49,5)	30 (21-43)
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> Gr <sup>+</sup> (abs)	0,35 (0,25-0,57)	0,42 (0,3-0,6)
CD3 <sup>+</sup> CD19 <sup>+</sup> (%)	5,5 (0,1-11,5)	2 (0,1-7)
CD3 <sup>+</sup> CD19 <sup>+</sup> (abs)	0,061 (0,0016-0,2000)	0,027 (0,0015-0,0980)
IgA (г/л) / IgA (g/L)	0,44 (0,30-1,67)	0,4 (0,24-0,60)
IgM (г/л) / IgM (g/L)	0,6 (0,4-0,7)	0,6 (0,40-0,76)
IgG (г/л) / IgG (g/L)	7,29 (5,55-9,26)	8 (6,05-9,33)
CD3 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> (%)	6 (4-8)	6 (4,0-8,5)
CD3 <sup>+</sup> CD16 (abs)	0,091 (0,046-0,130)	0,086 (0,046-0,130)
CD3 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> Gr <sup>+</sup> (%)	3 (1,75-5,00)	2 (1-5)
CD3 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> Gr (abs)	0,039 (0,017-0,080)	0,031 (0,015-0,075)
CD14 <sup>+</sup> CD282 <sup>+</sup> (%)	73,5 (59,5-83,5)	70,5 (52-80)
CD14 <sup>+</sup> CD282 <sup>+</sup> (abs)	0,25 (0,17-0,32)	0,24 (0,18-0,31)
CD14 <sup>+</sup> CD284 <sup>+</sup> (%)	33,5 (21-50)	*28 (18,5-42,5)
CD14 <sup>+</sup> CD284 <sup>+</sup> (abs)	0,11 (0,072-0,170)	0,094 (0,058-0,160)
CD14 <sup>+</sup> CD289 <sup>+</sup> (%)	10 (9-12)	*4,2 (2,3-10,0)
CD14 <sup>+</sup> CD289 <sup>+</sup> (abs)	0,034 (0,026-0,045)	*0,017 (0,0086-0,0330)
CD14 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> (%)	79 (64-87)	73,2 (58-84)
CD14 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> (abs)	1,11 (0,74-1,35)	1,05 (0,75-1,30)

Примечание. \* – различия статистически значимы при p < 0,05, согласно U-критерию Манна-Уитни.

Note. \* – the differences are statistically significant at p < 0.05 according to the U Mann-Whitney criterion.

**ТАБЛИЦА 2. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ АДАПТИВНОГО И ВРОЖДЕННОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У ПАЦИЕНТОВ ПРИ КЛИНИЧЕСКОЙ АКТИВАЦИИ АУТОИММУННОЙ ИЛИ ИНФЕКЦИОННОЙ МАНИФЕСТАЦИИ ОВИН**

TABLE 2. COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF INDICATORS OF ADAPTIVE AND INNATE IMMUNE RESPONSE IN PATIENTS WITH CLINICAL ACTIVATION OF AUTOIMMUNE OR INFECTIOUS MANIFESTATIONS OF COVID

Показатели Indicators	Аутоиммунный фенотип Autoimmune phenotype	Инфекционный фенотип Infectious phenotype
CD3 <sup>+</sup> (%)	88 (84-91)	87 (82-91)
CD3 <sup>+</sup> (abs)	1,24 (0,95-1,39)	1,17 (0,98-1,44)
CD3 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> (%)	3,5 (3,1-4,2)	3,5 (2,1-5,2)
CD3 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> (abs)	0,05 (0,039-0,058)	0,049 (0,031-0,075)
CD3 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> (%)	10 (7-14)	10 (7-14)
CD3 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> (abs)	0,15 (0,082-0,190)	0,15 (0,10-0,19)
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> (%)	39 (30-53)	33 (27-41)
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> (abs)	0,48 (0,38-0,78)	0,43 (0,34-0,69)
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> (%) <sup>*</sup>	2,4 (1,8-2,8)	*2,8 (2,1-3,3)
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> (abs)	0,032 (0,024-0,040)	0,039 (0,028-0,055)
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> FoxP3 <sup>+</sup> (%)	0,7 (0,6-1,0)	*1,05 (0,6-2,0)
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> FoxP3 <sup>+</sup> (abs)	0,011 (0,0078-0,0140)	*0,015 (0,0071-0,0280)
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> (%)	39 (30-59)	50 (42-55)
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> (abs)	0,59 (0,39-0,83)	0,63 (0,55-0,80)
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> Gr <sup>+</sup> (%)	30 (21-46)	39,5 (23-48)
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> Gr <sup>+</sup> (abs)	0,45 (0,29-0,66)	0,53 (0,33-0,66)
CD3 <sup>+</sup> CD19 <sup>+</sup> (%)	2 (0-4)	1,1 (0-8)
CD3 <sup>+</sup> CD19 <sup>+</sup> (abs)	0,018 (0,000-0,061)	0,011 (0,0-0,1)
IgA (г/л) / IgA (g/L)	0,32 (0,2-0,5)	0,31 (0,16-0,43)
IgM (г/л) / IgM (g/L)	0,56 (0,40-0,75)	0,6 (0,4-0,7)
IgG (г/л) / IgG (g/L)	3,7 (1,68-8,76)	4,58 (2,00-6,88)
CD3 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> (%)	5 (3-11)	6 (4-8)
CD3 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> (abs)	0,063 (0,04-0,15)	0,079 (0,055-0,12)
CD3 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> Gr <sup>+</sup> (%)	3 (1-8)	2 (1-5)
CD3 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> Gr <sup>+</sup> (abs)	0,042 (0,016-0,110)	0,035 (0,016-0,067)
CD14 <sup>+</sup> CD282 <sup>+</sup> (%)	80 (74-85)	*61,5 (44-72)
CD14 <sup>+</sup> CD282 <sup>+</sup> (abs)	0,26 (0,20-0,35)	*0,2 (0,13-0,28)
CD14 <sup>+</sup> CD284 <sup>+</sup> (%)	35 (23-56)	28,5 (18-46)
CD14 <sup>+</sup> CD284 <sup>+</sup> (abs)	0,11 (0,075-0,200)	0,099 (0,062-0,160)
CD14 <sup>+</sup> CD289 <sup>+</sup> (%)	9 (7-11)	*3,1 (2,1-8,0)
CD14 <sup>+</sup> CD289 <sup>+</sup> (abs)	0,028 (0,021-0,038)	*0,012 (0,0073-0,0270)
CD14 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> (%)	84 (65-90)	*63,5 (50-76)
CD14 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> (abs)	1,14 (0,85-1,32)	*0,86 (0,60-1,21)

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.



## Заключение

Снижение количества моноцитов с фенотипом CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup> в циркуляции так же, как и снижение числа Т-регуляторных лимфоцитов, не только отражает патогенетическую роль осла-

бления иммуносупрессии в клинической манифестации аутоиммунной патологии, но и может быть предложено в качестве диагностического и прогностического показателя различия клинических фенотипов ОВИН.

## Список литературы / References

1. Сизякина Л.П., Андреева И.И., Харитоновна М.В. В-2 лимфоциты и баланс про и противовоспалительных цитокинов при инфекционном и аутоиммунном фенотипах общей варибельной иммунной недостаточности // Медицинский вестник Юга России, 2023. Т. 14, № 4. С. 17-21. [Sizyakina L.P., Andreeva I.I., Kharitonova M.V. B-2 lymphocytes and the balance of pro and anti-inflammatory cytokines in infectious and autoimmune phenotypes of common variable immune deficiency. *Meditsinskiy vestnik Yuga Rossii = Medical Bulletin of the South of Russia*, 2023, Vol. 14, no. 4, pp. 17-21. (In Russ.)]
2. Agarwal S., Cunningham-Rundles C. Autoimmunity in common variable immunodeficiency. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2019, Vol. 123, no. 5, pp. 454-460.
3. Bonilla F.A., Barlan I., Chapel H., Costa-Carvalho B.T., Cunningham-Rundles C., de la Morena M.T., Espinosa-Rosales F.J., Hammarström L., Nonoyama S., Quinti I., Routes J.M., Tang M.L.K., Warnatz K. International Consensus Document (ICON): Common Variable Immunodeficiency Disorders. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.*, 2016, Vol. 4, no. 1, pp. 38-59.
4. Filion C.A., Taylor-Black S., Maglione P.J., Radigan L., Cunningham-Rundles C. Differentiation of Common Variable Immunodeficiency From IgG Deficiency. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.*, 2019, Vol. 7, no. 4, pp. 1277-1284.
5. Galicia G., Gommerman J.L. Plasmacytoid dendritic cells and autoimmune inflammation. *Biol. Chem.*, 2014, Vol. 395, no. 3, pp. 335-346.
6. Ghafoor A., Joseph S.M. Making a Diagnosis of Common Variable Immunodeficiency: A Review. *Cureus*, 2020, Vol. 12, no. 1, e6711. doi: 10.7759/cureus.6711.
7. Haymore B.R., Mikita C.P., Tsokos G.C. Common variable immune deficiency (CVID) presenting as an autoimmune disease: role of memory B cells. *Autoimmun. Rev.*, 2008, Vol. 7, no. 4, pp. 309-312.
8. Leonardi L., Lorenzetti G., Carsetti R., Ferrari S., di Felice A., Cinicola B., Duse M. Rare TACI mutation in a 3-year-old boy with CVID phenotype. *Front. Pediatr.*, 2019, no. 7, 418. doi: 10.3389/fped.2019.00418.
9. López-Herrera G., Segura-Méndez N.H., O'Farril-Romanillos P., Nuñez-Nuñez M.E., Zarate-Hernández M.C., Mogica-Martínez D., Yamazaki-Nakashimada M.A., Staines-Boone A.T., Santos-Argumedo L., Berrón-Ruiz L. Low percentages of regulatory T cells in common variable immunodeficiency (CVID) patients with autoimmune diseases and its association with increased numbers of CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup> T and CD21<sup>low</sup> B cells. *Allergol. Immunopathol.*, 2019, Vol. 47, no. 5, pp. 457-466.
10. Mormile I., Punziano A., Riolo C.A., Granata F., Williams M., de Paulis A., Spadaro G., Rossi F.W. Common variable immunodeficiency and autoimmune diseases: a retrospective study of 95 adult patients in a single tertiary care center. *Front. Immunol.*, 2021, no. 12, 652487. doi: 10.3389/fimmu.2021.652487.
11. Nepesov S., Aygun F.D., Firtina S., Cokugras H., Camcioglu Y. Clinical and immunological features of 44 common variable immunodeficiency patients: the experience of a single center in Turkey. *Allergol. Immunopathol.*, 2020, Vol. 48, no. 6, pp. 675-685.
12. Remiker A., Bolling K., Verbsky J. Common variable immunodeficiency. *Med. Clin. North. Am.*, 2024, Vol. 108, no. 1, pp. 107-121.
13. Rutkowska-Zapała M., Grabowska-Gurgul A., Lenart M., Szaflarska A., Kluczevska A., Mach-Tomalska M., Baj-Krzyworzeka M., Siedlar M. Gene signature of regulatory T cells isolated from children with selective IgA deficiency and common variable immunodeficiency. *Cells*, 2024, Vol. 3, no. 5, 417. doi: 10.3390/cells13050417.

14. Saber M.M., Monir N., Awad A.S., Elsherbiny M.E., Zaki H.F. TLR9: A friend or a foe. *Life Sci.*, 2022, no. 307, 120874. doi: 10.1016/j.lfs.2022.120874.
15. Tangye, S.G., Al-Herz, W., Bousfiha A., Cunningham-Rundles C., Franco J.L., Holland S.M., Klein C., Morio T., Oksenhendler E., Picard C., Puel A., Puck J., Seppänen M.R.J., Somech R., Su H.C., Sullivan K.E., Torgerson T.R., Meys I. Human inborn errors of immunity: 2022 update on the classification from the international union of immunological societies expert committee. *J. Clin. Immunol.*, 2022, no. 42, pp. 1473-1507.

---

**Авторы:**

**Сизякина Л.П.** — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой клинической иммунологии и аллергологии, директор НИИ клинической иммунологии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

**Андреева И.И.** — д.м.н., доцент, профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

**Данилова Д.И.** — к.м.н., ассистент кафедры персонализированной и трансляционной медицины ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

---

**Authors:**

**Sizyakina L.P.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Clinical Immunology and Allergology, Director, Research Institute of Clinical Immunology, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

**Andreeva I.I.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Clinical Immunology and Allergology, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

**Danilova D.I.**, PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Personalized and Translational Medicine, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

---

Поступила 28.03.2024  
Отправлена на доработку 30.03.2024  
Принята к печати 03.04.2024

---

Received 28.03.2024  
Revision received 30.03.2024  
Accepted 03.04.2024

## НОВОЕ ИММУНОФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ БИСОЕДИНЕНИЕ

Забокрицкий Н.А.

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

**Резюме.** Тематика заявленной публикации посвящена актуальным вопросам экспериментального изучения нового биосоединения, в основе которого предлагаются консорциум биологически активных композитных соединений — биологически активных веществ (метабиотиков), продуцируемых штаммами 59Т и 60Т сапрофитных микроорганизмов рода *Bacillus subtilis*. Штаммы сенной палочки представляются весьма перспективными для конструирования гепатопротекторов — новых лекарственных кандидатов — в создании и разработке нового фармакологического класса гепатопротекторов. На сегодняшний день весьма эффективными соединениями являются продуцируемые биологически активные вещества — метаболиты бактериального происхождения, на основе которых представляется целесообразным создание нового класса препаратов — метабиотиков. Отсутствие в таких соединениях вегетативных пробиотических клеток позволит снизить дополнительную иммунную нагрузку на организм. В ранее проведенных исследованиях были показаны безопасность и гепатопротективное действие вышеуказанных биологически активных соединений. Сочетанное применение данных соединений обеспечивает потенцированный фармакологический эффект. В связи с этим представлялось целесообразным в условиях моделирования четыреххлористым углеродом токсического поражения печени провести экспериментальную оценку иммуностропного действия биологически активных веществ (БАВ) на лабораторных животных с целью подтверждения влияния на клеточные факторы иммунитета. Целью исследования была изучить влияние сочетанного применения БАД, продуцируемых микроорганизмами сенной палочки на показатели клеточного иммунитета у лабораторных животных с острым токсическим гепатитом. Экспериментальную модель токсического поражения воспроизводили на белых лабораторных крысах при внутривенном многократном введении четыреххлористого углерода. Препаратом сравнения был зарегистрированный гепатопротекторный препарат — урсосан. Оценка иммуностропного действия проводили по таким факторам, как: фагоцитарная активность макрофагов и нейтрофилов (ФА), НСТ-тест, количественная оценка антителообразующих клеток, Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов. В результате выполненных исследований получены достоверные данные об увеличении количества Т- и В-лимфоцитов, антителообразующих клеток, а также повышении ФА, что подтверждает модуляцию звеньев клеточного иммунитета в условиях острого токсического поражения печени. Полученные данные позволяют рекомендовать изучаемое биосоединение для создания новых лекарственных кандидатов микробиологического происхождения гепатопротекторных средств с иммуностропным действием.

**Ключевые слова:** клеточный иммунитет, иммуностропная активность, метаболиты, сенная палочка, гепатопротекторы

### Адрес для переписки:

Забокрицкий Николай Александрович  
ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии»  
Уральского отделения Российской академии наук  
620049, Россия, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106.  
Тел.: 8 (922) 110-11-14.  
E-mail: pharmusma@rambler.ru

### Address for correspondence:

Nikolai A. Zabokritskiy  
Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch,  
Russian Academy of Sciences  
106 Pervomaiskaya St  
Ekaterinburg  
620049 Russian Federation  
Phone: +7 (922) 110-11-14.  
E-mail: pharmusma@rambler.ru

### Образец цитирования:

Н.А. Забокрицкий «Новое иммунофармакологическое биосоединение» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 1017-1020.  
doi: 10.46235/1028-7221-16763-ANI

© Забокрицкий Н.А., 2024  
Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

### For citation:

N.A. Zabokritskiy "A novel immunopharmacological biocompound", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 1017-1020.  
doi: 10.46235/1028-7221-16763-ANI

© Zabokritskiy N.A., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16763-ANI

# A NOVEL IMMUNOPHARMACOLOGICAL BIOCOMPOUND

Zabokritskiy N.A.

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

**Abstract.** The publication is devoted to topical issues of experimental study of new biocompounds, based on the creation of a consortium of biological composite compounds – biological active substances (metabiotics) produced by strains 59T and 60T of saprophytic compounds of the genus *Bacillus subtilis*. These strains are very promising for the creation of hepatopictics, new medicinal substances, in the creation and development of a new pharmacological class of hepatoprotectors. Previous studies have shown the safety and hepatoprotective effect of biologically active drugs. It is worth noting that the very effective compounds are the produced biologically active substances – metabolites of bacterial origin, on the basis of which it seems appropriate to create a new class of drugs – metabiotics. The absence of vegetative probiotic cells in such compounds will reduce the additional immune load on the body. The combined use of these compounds provides a potentiated pharmacological effect. In this regard, it seemed appropriate, under the conditions of modeling toxic liver damage by carbon tetrachloride, to conduct an experimental assessment of the immunotropic effect of biologically active substances (BAS) on laboratory animals in order to confirm the effect on cellular factors of immunity. The purpose of the study was to study the effect of the combined use of dietary supplements produced by *Bacillus subtilis* microorganisms on indicators of cellular immunity in laboratory animals with toxic liver damage. Acute toxic hepatitis was reproduced in white laboratory rats with repeated intragastric administration of carbon tetrachloride. The comparison drug was a registered hepatoprotective drug – ursosan. The immunotropic effect was assessed using factors such as: phagocytic activity of macrophages and neutrophils (FA), NBT test, quantitative assessment of antibody-forming cells, T and B lymphocytes. As a result of the studies performed, reliable data were obtained on an increase in the number of T and B lymphocytes, antibody-forming cells, as well as an increase in FA, which confirms the activation of all parts of cellular immunity in conditions of acute toxic liver damage. The data obtained allow us to recommend the studied biocompound for the creation of new drug candidates of microbiological origin, hepatoprotective agents with immunotropic effects.

*Keywords: cellular immunity, immunotropic activity, metabolites, Bacillus subtilis, hepatopictae, hepatoprotectors*

Работа выполнена в рамках госзадания 122020900136-4.

## Введение

На сегодняшний день хорошо известно, что медицинские иммунобиологические препараты (МИП) являются достаточно эффективными иммуностропными средствами для лечения и коррекции иммунопатологических состояний [1, 2]. Известно, что одной из распространенных фармакологических групп, принадлежащих к МИП, являются пробиотики, эубиотики и метабиотики [3, 4]. Так, отечественными и зарубежными исследователями отдается предпочтение метабиотикам при разработке новых лекарственных кандидатов [4, 5, 6]. Именно отсутствие вегетативных пробиотических клеток позволяет снизить антигенную нагрузку в условиях иммунорекции. При этом фармакологическая активность и эффективность метабиотиков не уступает пробиотикам.

Целесообразно отметить, что сегодня активно ведется поиск новых направлений использования метабиотиков, например, иммунопротекторов, иммунокорректоров, гепатопротекторов, иммуномодуляторов и др. [8]. В проведенных нами ранее исследованиях гепатопиктов – перспективных

биологически активных соединениях, продуцируемых микроорганизмами сенной палочки, было установлено гепатопротективные свойства. Кроме того, метаболиты штаммов 59Т и 60Т проявляли свойства индуктора -интерферона. В связи с этим, представляется целесообразным выполнить исследования по оценке иммуностропных свойств на показатели клеточного иммунитета метаболитов данных штаммов в условиях острого токсического повреждения печени.

**Цель исследования** – изучить влияние сочетанного применения БАД, продуцируемых микроорганизмами сенной палочки на показатели клеточного иммунитета у лабораторных животных с токсическим поражением печени.

## Материалы и методы

Объектом исследования являлся комплекс метаболитов (БАД) сенной палочки штаммов 59Т и 60Т в равных частях. Комплекс БАД получали в соответствии с общепринятыми и имеющимися в научной литературе методами [7]. С помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии оценивали количественное и качественное содержание биологически активных веществ, следующей рецептуры: белковый комплекс и полисахаридный комплекс 210-320 мг·г<sup>-1</sup>; свобод-



ные аминокислоты и протеины – 110-190 мг·г<sup>-1</sup>; гексозамин – 50-60 мг·г<sup>-1</sup>; пуриновые и пиримидиновые основания (аденин 21-22 мг·г<sup>-1</sup>; гуанин 3-4 мг·г<sup>-1</sup>; цитозин 3-4 мг·г<sup>-1</sup>; тимин 4-6 мг·г<sup>-1</sup>; урацил 14-16 мг·г<sup>-1</sup>); витаминоподобные вещества и витамины: пиридоксин 2,0 мг·г<sup>-1</sup>; рибофлавин 2,2 мг·г<sup>-1</sup>; ферментные комплексы: активность протеолитических ферментов 800-890 ед·г<sup>-1</sup>; активность амилолитических ферментов 900-950 ед·г<sup>-1</sup>; антибиотики и антибиотикоподобные соединения 0,09-0,4%; другие соединения < 5%.

Воспроизведение модели острого токсического поражения печени осуществляли на лабораторных животных – белых крысах линии Wistar. В течение двухнедельного срока интрагастрально белым лабораторным животным вводили четыреххлористый углерод (40% раствор расчета 2,0 дг·кг<sup>-1</sup>). Критерием оценки острого гепатита были общий, биохимический анализ периферической крови и гистоморфологическое исследование.

Все животные в эксперименте были разделены на 6 групп, по 8 лабораторных животных в каждой. Первой группе назначали исследуемый БАД. Вторая группа получала метаболиты штамма сенной палочки 59Т. Третьей группе вводили метаболиты штамма сенной палочки 60Т. Четвертая группа получала препарат сравнения – урсосан. Пятая группа – контроль – острый токсический гепатит без лечения. Шестая группа – интактные животные. Лечение назначалось в течение 7 дней с момента возникновения острого гепатита. Наблюдение за подопытными животными осуществляли в течение 30 суток.

Оценку иммунотропного действия проводили по таким показателям, как: фагоцитарная активность макрофагов и нейтрофилов в НСТ-тесте, количественная оценка АОК по методу Эрне и Каннигема, Т- и В-лимфоцитов в Е-РОК тесте.

Статистическая обработка полученных данных выполняли с использованием пакетов компьютерных программ Microsoft Office Excel 2019 и Statistica 23.0. Применен метод дисперсионного анализа (ANOVA). Нормальность распределения полученных данных оценивали по методу Колмогорова–Смирнова. Использовали параметрический критерий Фишера в зависимости от нормальности распределения данных, также непараметрический W-критерий Вилкоксона при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Результаты исследований свидетельствуют о повышении всех исследуемых показателей клеточного иммунитета с воспроизведенной моделью острого токсического гепатита во всех группах в сравнении с интактными животными. При этом поглотительная активность в НСТ тесте нейтро-

филов увеличилась в 2,2 раза, ФА нейтрофилов возросла в 3,8 раза –  $59,2 \pm 0,36$  опт. ед. Отмечалось повышение Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов пости в 2,5 раза  $0,62 \pm 0,11 \times 10^6 \times \text{см}^{-3}$  и  $0,51 \pm 0,09 \times 10^6 \times \text{см}^{-3}$ , количество АОК в 3 раза –  $0,214 \pm 0,047 \times 10^6 \times \text{см}^{-3}$ . Кроме того, отмечали увеличение всех исследуемых показателей у V группы, по сравнению с интактными.

Данные проведенных экспериментальных исследований показывают, что уже на 4-е сутки эксперимента в I-III группах лабораторных животных, получавших биологически активные вещества, наблюдалось существенное, по сравнению с группой III (препарат сравнения), увеличение поглотительной активности нейтрофилов в НСТ тесте в 14, 7 и 5 раз, повышение ФА нейтрофилов периферической крови в 7,4, 6,1 и 5,2 раза соответственно, увеличение количества Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов в 4,2, 3,0 и 2,8 раз. Кроме того, отмечали повышение АОК в 2,2 раза во всех трех группах.

На 9-е сутки эксперимента отмечали повышение количества Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов, а также показателя АОК без изменения ФА и поглотительной активности нейтрофилов.

В последующие сроки проведения эксперимента, а именно на 15-е и 30-е сутки наблюдения, полученные данные свидетельствовали о положительной динамике нормализации всех показателей клеточного иммунитета у подопытных животных в группах I, II, III. При этом более выраженные показатели (в 2,4 раза) отмечали в группе изучаемого БАД по сравнению с группами II и III. Более существенные отличия в 3,6 раза были по сравнению с группой IV, получавшей препарат сравнения.

## Заключение

В результате проведенных исследований установлено воздействие четыреххлористого углерода на увеличение всех показателей клеточного иммунитета на ранние сроки, что подтверждается повышением количества Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов, данными НСТ теста и увеличением количества АОК.

Таким образом, на основании выполненных исследований можно сделать заключение о потенцированном действии изучаемого БАД (метаболиты двух штаммов) по сравнению с метаболитами от одного из штаммов и препаратом сравнения. В связи с этим, целесообразно в качестве будущего лекарственного кандидата рекомендовать именно сочетанное использование консорциума метаболитов двух штаммов сенной палочки.

## Список литературы / References

1. Ардатская М.Д., Столярова Л.Г., Архипова Е.В., Филимонова О.Ю. Метабиотики как естественное развитие пробиотической концепции // Рецепт, 2019. Т. 2, № 22. С. 291-298. [Ardatskaya M.D., Stolyarova L.G., Arkhipova E.V., Filimonova O.Yu. Metabiotics as a natural development of a probiotic concept. *Retsept = Recipe*, 2019, Vol. 2, no. 22, pp. 291-298. (In Russ.)]
2. Забокрицкий Н.А. Оценка иммуностропного действия пробиотика бацилакт в составе трансдермальных терапевтических систем // Российский иммунологический журнал, 2017. Т. 11, № 2 (20). С. 126-129. [Zabokritskiy N.A. Preclinical evaluation of immunotropic action of probiotics bacilact transdermal therapeutic system. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2017, Vol. 11, no. 2 (20), pp. 126-129. (In Russ.)]
3. Забокрицкий Н.А. Принципиальные направления научных исследований по обоснованию и разработке новых иммунобиологических препаратов // Экспериментальная и клиническая фармакология, 2018. Т. 81. С. 85-86. [Zabokritskiy N.A. Principal directions of scientific research on the justification and development of new immunobiological drugs. *Ekspperimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya = Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology*, 2018, Vol. 81, pp. 85-86. (In Russ.)]
4. Забокрицкий Н.А., Сарапульцев П.А. Экспериментальное обоснование возможности создания нового метаболического препарата // Российский иммунологический журнал, 2018. Т. 21, № 3. С. 295-300. [Zabokritskiy N.A., Sarapultsev P.A. Experimental justification of the possibility of creating the new metabolic drug. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2018, Vol. 21, no. 3 pp. 295-300. (In Russ.)] doi: 10.31857/S102872210002398-2.
5. Забокрицкий Н.А. Фармакологическая оценка иммуностропной активности нового гелевого метабита на факторы клеточного и гуморального иммунитета при экспериментальном моделировании термических ожогов кожи // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 2. С. 125-132. [Zabokritskiy N.A. Pharmacological assessment of immunotropic activity of new gel metabiotic on cellular and humoral immunity in experimental modeled thermal skin burns. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2020, Vol. 23, no. 2, pp. 125-132. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-314-PAO.
6. Забокрицкий Н.А. Изучение цитопротекторных свойств метаболитов штамма *Bacillus subtilis* В-9909 на культуре выделенных гепатоцитов // Вестник уральской медицинской академической науки, 2022. Т. 19, № 3. С. 203-209. [Zabokritskiy N.A. Experimental evaluation of the cytoprotective effect of probiotic metabolites of *Bacillus subtilis* В-9909 strain on the culture of isolated hepatocytes. *Vestnik uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki = Journal of Ural Medical Academic Science*, 2022, Vol. 19, no. 3, pp. 125-132. (In Russ.)]
7. Лабинская А.С., Блинкова Л.П., Ещина А.С., Булаева Г.В., Вертиев Ю.В., Винокуров А.Е., Горобец О.Б., Дарбева О.С., Жиленков Е.Л., Зверьков Д.А., Иванова С.М., Иванова Т.С., Корн М.Я., Кривопалова Н.С., Лукин И.Н., Мельникова В.А., Нехорошева А.Г., Романова Ю.М., Сидоренко С.В., Скаженник В.Ю., Скала Л.З., Трухина Г.М. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований. СПб.: Лань, 2016. 588 с. [Labinskaya A.S., Blinkova L.P., Eshina A.S., Bulaeva G.V., Vertiev Yu.V., Vinokurov A.E., Gorobets O.B., Darbeeva O.S., Zhilenkov E.L., Zverkov D.A., Ivanova S.M., Ivanova T.S., Korn M.Ya., Krivopalova N.S., Lukin I.N., Melnikova V.A., Nekhorosheva A.G., Romanova Yu.M., Sidorenko S.V., Skazenik V.Yu., Skala L.Z., Trukhina G.M. General and Sanitary Microbiology with the Technique of microbiological research]. St. Petersburg: Lan, 2016. 588 p.
8. Lee N.K., Paik H.D., Kim W.S. *Bacillus* strains as human probiotics: characterization, safety, microbiome, and probiotic carrier. *Food Sci. Biotechnol.*, 2019, Vol. 28, no. 5, pp. 1297-1305.

---

**Автор:**

**Забокрицкий Н.А.** — д.м.н., доцент, старший научный сотрудник лаборатории иммунофизиологии и иммунофармакологии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

**Author:**

**Zabokritskiy N.A.**, PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Senior Research Associate, Laboratory of Immunophysiology and Immunopharmacology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation

---

Поступила 30.03.2024

Отправлена на доработку 01.04.2024

Принята к печати 23.04.2024

---

Received 30.03.2024

Revision received 01.04.2024

Accepted 23.04.2024

## ОЦЕНКА ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ РОССИЙСКИХ ГРИППОЗНЫХ ВАКЦИН В ЭПИДЕМИЧЕСКИЕ СЕЗОНЫ 2018-2021 ГОДОВ

Ерофеева М.К.<sup>1</sup>, Бузицкая Ж.В.<sup>1</sup>, Шахланская Е.В.<sup>1</sup>, Писарева М.М.<sup>1</sup>,  
Стукова М.А.<sup>1</sup>, Лиознов Д.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** Оценка эффективности гриппозных вакцин в каждый эпидемический по гриппу сезон позволяет разрабатывать меры, направленные на снижение заболеваемости, госпитализации и смертности от гриппа. Эпидемиологическую эффективность нескольких отечественных вакцин против гриппа оценивали в Санкт-Петербурге в эпидемические сезоны 2018-2021 годов. Под наблюдением находились 6912 участников мужского и женского пола в возрасте 18-23 лет в период с 2018 по 2021 год. Для иммунизации использовали гриппозные вакцины Совигрипп<sup>®</sup>, Гриппол<sup>®</sup> Плюс, Ультрикс<sup>®</sup> и Ультрикс Квадри<sup>®</sup>. В 2018-2019 годах, когда вакцинные штаммы полностью соответствовали циркулирующим вирусам гриппа, профилактическая вакцинация привела к снижению случаев заболевания гриппом в 2,7-7,1 раза. Защитная эффективность вакцин против гриппа и острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) составила 52,4%, а эффективность против гриппа после лабораторного подтверждения методом ПЦР достигла 73,0%. В эпидемический сезон 2019-2020 годов, когда циркулирующие вирусы и вакцинные штаммы не полностью совпадали, заболеваемость гриппом и ОРЗ благодаря вакцинации снизилась в два раза; общая эффективность вакцины против гриппа и ОРВИ составила 50,0%. Наиболее эффективными оказались вакцины Гриппол<sup>®</sup> Плюс, Ультрикс<sup>®</sup> и Ультрикс Квадри<sup>®</sup>, продемонстрировавшие общую эффективность 70,6-75,0% и эффективность 65,5-83,5% против гриппа типа А и В. В эпидемический сезон 2020-2021 гг. не удалось получить данные о профилактической эффективности гриппозных вакцин в связи с пандемией COVID-19, которая повлияла на сезонную структуру ОРВИ и привела к значительным изменениям в частоте заболеваний, вызванных такими вирусами, как вирус гриппа, респираторно-синцитиальный вирус и риновирус.

### Адрес для переписки:

Ерофеева Мариана Константиновна  
ФГБУ «Научно-исследовательский институт  
гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства  
здравоохранения РФ  
197376, Россия, Санкт-Петербург,  
ул. Проф. Попова, 15/17.  
Тел.: 8 (812) 499-15-37.  
E-mail: mariana.erofeeva@influenza.spb.ru

### Address for correspondence:

Mariana K. Erofeeva  
Smorodintsev Research Institute of Influenza  
15/17 Prof. Popov St  
St. Petersburg  
197376 Russian Federation  
Phone: +7 (812) 499-15-37.  
E-mail: mariana.erofeeva@influenza.spb.ru

### Образец цитирования:

М.К. Ерофеева, Ж.В. Бузицкая, Е.В. Шахланская,  
М.М. Писарева, М.А. Стукова, Д.А. Лиознов «Оценка  
профилактической эффективности российских  
гриппозных вакцин в эпидемические сезоны 2018-2021  
годов» // Российский иммунологический журнал, 2024.  
Т. 27, № 4. С. 1021-1028.  
doi: 10.46235/1028-7221-16731-EOT

© Ерофеева М.К. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

### For citation:

M.K. Erofeeva, Zh.V. Buzitskaya, E.V. Shakhlan'skaya,  
M.M. Pisareva, M.A. Stukova, D.A. Lioznov "Evaluation  
of the preventive effectiveness of russian influenza vaccines  
in the epidemic seasons of 2018-2021", Russian Journal  
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024,  
Vol. 27, no. 4, pp. 1021-1028.  
doi: 10.46235/1028-7221-16731-EOT

© Erofeeva M.K. et al., 2024

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16731-EOT

В наших наблюдениях отсутствовало выделение вирусов гриппа у участников исследования. Полученные результаты согласуются с оценками экспертов ВОЗ, согласно которым современные гриппозные вакцины снижают заболеваемость гриппом среди взрослых на 70–90%, если вакцинные штаммы совпадают с циркулирующими штаммами вируса.

*Ключевые слова:* грипп, ОРВИ, вакцина, профилактика, эффективность, диагностика, ПЦР

## EVALUATION OF THE PREVENTIVE EFFECTIVENESS OF RUSSIAN INFLUENZA VACCINES IN THE EPIDEMIC SEASONS OF 2018-2021

Erofeeva M.K.<sup>a</sup>, Buzitskaya Zh.V.<sup>a</sup>, Shakhenskaya E.V.<sup>a</sup>,  
Pisareva M.M.<sup>a</sup>, Stukova M.A.<sup>a</sup>, Lioznov D.A.<sup>a, b</sup>

<sup>a</sup> Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>b</sup> First St. Petersburg Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** Monitoring the effectiveness of influenza vaccines annually enables the development of measures aimed at decreasing influenza incidence, hospitalization, and mortality rates. The epidemiological effectiveness of several Russian domestic influenza vaccines was evaluated in St. Petersburg in the 2018-2021 epidemic seasons. Male and female participants (N = 6912) aged 18-23 were monitored from 2018 to 2021. Sovigripp, Grippol Plus, Ultrix, and Ultrix Quadri inactivated influenza vaccines were used for immunization. In 2018-2019, when the vaccine strains fully matched the circulating influenza viruses, prophylactic vaccination resulted in a 2.7 to 7.1-fold reduction in influenza cases. The protective effectiveness of the vaccines against influenza and acute respiratory infections (ARIs) totalled 52.4%, reaching 73.0% effectiveness against influenza after laboratory confirmation. In the epidemic season 2019-2020, when the circulating viruses and vaccine strains did not fully match, the incidence of influenza and ARIs reduced twice due to vaccination; the total vaccine effectiveness against influenza and ARIs amounted to 50.0%. The Grippol Plus, Ultrix, and Ultrix Quadri vaccines proved to be the most effective, demonstrating a total effectiveness of 70.6%-75.0% and a 65.5%-83.5% effectiveness against influenza A and B. In the 2020-2021 epidemic season, no data on the preventive effectiveness of the influenza vaccines could be obtained due to the outbreak of COVID-19 and the absence of detectable influenza virus shedding in the study participants. The results obtained are consistent with WHO experts' estimates which indicate that modern influenza vaccines reduce the incidence of influenza in adults by 70-90% if the vaccine strains match the circulating virus strains.

*Keywords:* influenza, acute respiratory viral infections, vaccine, prevention, effectiveness, diagnosis, PCR

### Введение

Профилактика гриппа имеет огромное значение для общества. Общеизвестно, что профилактическая вакцинация является наиболее эффективным способом борьбы с инфекционными заболеваниями, особенно передающимися воздушно-капельным путем. Ключевым критерием качества вакцины против гриппа является ее профилактическая эффективность, которая зависит от соответствия антигенных свойств вакцины и эпидемических штаммов, типа вакцины, антигенной нагрузки, биоактивности, способа вве-

дения и схемы вакцинации [17]. Многие исследователи сходятся во мнении, что вакцинацию необходимо проводить, даже если вакцинные и циркулирующие штаммы гриппа не полностью антигенно идентичны, хотя при этом эффективность вакцины может быть различной [7, 8, 12, 15]. Вместе с тем, для оценки эффективности гриппозных вакцин немаловажное значение имеет и тот факт, как протекает эпидемический процесс в конкретный осенне-зимний сезон – в виде моноинфекции или в сочетанном виде, какова активность циркуляции гриппозных вирусов.



Развитие эпидемии также зависит от количества вакцинированных против вируса людей в городе, поселке или целой стране. В последнее время отмечен неуклонный рост количества людей, вакцинируемых против гриппа в Российской Федерации. Так, в 2017 году было привито 46,6% от общей численности населения (более 67,4 миллионов человек), в 2018 году – 49%, в 2019 году – 50,5%, наивысший показатель достигнут в 2020 году – 59%.

Широкое распространение нового варианта коронавируса SARS-CoV-2 в начале 2020 г. повлияло на сезонную структуру гриппа и других ОРВИ в 2020-2021 гг. во всем мире. Так, были выявлены значительные изменения в частоте заболеваний наиболее ожидаемыми и распространенными острыми респираторными инфекциями, вызванными такими вирусами, как вирус гриппа, респираторно-синцитиальный вирус и риновирус. Было зарегистрировано существенное снижение доли случаев гриппа и увеличение доли заражения риновирусом [13].

Ежегодный мониторинг эффективности противогриппозных вакцин позволяет разработать меры, направленные на снижение заболеваемости гриппом, госпитализации и смертности от него за счет более рационального подхода к вакцинации различных возрастных групп. Кроме того, это позволяет получить данные, необходимые для пропаганды ежегодной вакцинации различных групп населения. В настоящее время в России зарегистрированы и производятся трехвалентные и четырехвалентные гриппозные вакцины. Это позволяет проводить вакцинацию всех социальных групп, включая группы риска, и ежегодно увеличивать число привитых. Поэтому необходимо постоянно отслеживать и анализировать изменения эффективности противогриппозных вакцин в каждом сезоне.

**Целью исследования** являлась оценка профилактической эффективности российских гриппозных инактивированных вакцин в течение трех последовательных эпидемических сезонов.

## Материалы и методы

Исследование проводили в рамках государственного проекта «Оценка уровня коллективного иммунитета и эпидемиологической эффективности вакцин против гриппа в Российской Федерации». Проведение работы было ежегодно одобрено Локальным этическим комитетом НИИ гриппа им. А.В. Смородинцева.

В Санкт-Петербурге в период с 2018 по 2021 гг. под нашим наблюдением находились 6912 молодых людей от 18 лет до 23 лет, обучавшихся в

высшем учебном заведении и находившихся в тесном контакте при ежедневных учебных занятиях и проживании в общежитии. Ежегодно участники исследования в период с октября по ноябрь 2018 г., 2019 г. и 2020 г. получали одну из отечественных инактивированных гриппозных вакцин, всего было привито 4829 человек, контрольная группа не получивших вакцину составила 2083 человека.

Для иммунизации использовали два типа вакцин – субъединичные и расщепленные. К первой группе относятся: вакцина Гриппол® Плюс, содержащая 5 мкг гемагглютинаина каждого из штаммов вирусов гриппа подтипов А (H1N1 и H3N2) и В и 500 мкг адьюванта «Полиоксидоний» производства НПО «Петровакс Фарм», и вакцина Совигрипп®, содержащая 5 мкг гемагглютинаина вируса гриппа подтипа А, 11 мкг вируса гриппа типа В и 500 мкг адьюванта «Совидон» производства НПО «Микроген». В качестве расщепленных вирусных вакцин использовали трехвалентную вакцину Ультрикс® и четырехвалентную Ультрикс Квадри®, содержащие по 15 мкг гемагглютинаина вирусов гриппа подтипов А (H1N1 и H3N2) и В, производства ООО «ФОРТ». Штаммовый состав вакцин соответствовал рекомендациям ВОЗ для каждого эпидемического по гриппу сезона.

Вакцинацию проводили сотрудники прививочной бригады вуза совместно с сотрудниками НИИ гриппа. Вакцины вводились стандартным способом, внутримышечно, в соответствии с инструкцией по применению. Прививали только тех участников исследования, у которых в день вакцинации не было признаков заболевания и противопоказаний к вакцинации.

Эффективность профилактической вакцинации оценивалась путем расчета индекса и коэффициента эффективности на основе сравнения интенсивности заболевания в группах вакцинированных и невакцинированных. Использовали следующие формулы:

ИЭ – индекс эффективности:  $ИЭ = R_k/R_o$ ,

где:  $R_k$  – показатель заболеваемости в контрольной группе,  $R_o$  – показатель заболеваемости в опытной группе, КЭ – показатель защищенности:  $КЭ = (ИЭ - 1) / ИЭ \times 100$ .

Для подтверждения клинического диагноза было проведено селективное RT-PCR исследование носоглоточных мазков, взятых у заболевших участников в начале заболевания. Мазки помещали в пробирку с универсальной транспортной средой (Соран, Италия) и доставляли в лабораторию. ПЦР-диагностику проводили в лаборатории молекулярной вирусологии НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева МЗ РФ.

Результаты исследования анализировали с помощью программы STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc., США). Количественные переменные представлены как среднее арифметическое  $\pm$  стандартное отклонение. Сравнение количественных переменных проводилось с помощью t-теста Стьюдента. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

В сезоне 2018-2019 гг. в России была зарегистрирована эпидемия гриппа, которая началась в начале января и продолжалась до конца марта 2019 г. и характеризовалась средней интенсивностью. Эпидемия продолжалась в течение 10-11 недель, доминирующими этиологическими агентами были вирусы гриппа А(Н1N1) pdm09 и А(Н3N2). В Санкт-Петербурге этиологию заболевания изучали в Федеральном центре гриппа и ОРВИ, подразделении НИИ гриппа имени А.А. Смородинцева МЗ РФ. При анализе образцов от пациентов с ОРВИ вирус А(Н1N1) был выделен в качестве этиологического агента в 33,2% случаев, а вирус А(Н3N2) — в 28,8% случаев, что свидетельствует о смешанном характере эпидемии и примерно одинаковой частоте циркуляции возбудителей гриппа типа А. Все выявленные вирусы гриппа А(Н1N1) pdm09 были тесно связаны с современным вакцинным штаммом А/Мичиган/45/2015, вирусы А(Н3N2) — с современным вакцинным штаммом А/Сингапур/INFIMH-16-0019/2016. Вирусы гриппа типа В практически не циркулировали, в отличие от последнего эпидемического сезона 2017-2018 годов, когда преобладали вирусы гриппа типа В (51,1%).

Молодые люди в возрасте от 18 до 23 лет были привиты одной из гриппозных вакцин: Совигрипп®, Гриппол® Плюс или Ультрикс®. Охват вакцинацией составил 73,5% участников в исследуемом сообществе. Студенты находились в тесном контакте, что повышало вероятность перекрестного инфицирования вирусами гриппа и ОРВИ. В течение 5 дней после иммунизации у вакцинированных наблюдались местные и общие реакции легкой степени тяжести, частота возникновения которых статистически не различалась между тремя исследуемыми группами участников. В большинстве случаев наблюдались боль, гиперемия и отек в месте инъекции. Было отмечено несколько случаев тошноты и головной боли после вакцинации. Все нежелательные явления были преходящими, длились не более 2-3 дней, исчезали без применения лекарств и не влияли на повседневную жизнь участников,

что подтверждает безопасность использованных гриппозных вакцин [1].

Анализ заболеваемости среди групп вакцинированных и невакцинированных лиц показал, что общий индекс эффективности (ИЭ) для трех вакцин составил 2,1. Показатель защищенности (КЭ) от гриппа и ОРВИ (суммарно) для вакцины Совигрипп® составил 37,5%, для вакцины Гриппол® Плюс — 58,3%, для вакцины Ультрикс® — 73,7%, а суммарно для трех вакцин — 52,4%. После лабораторного подтверждения гриппа А методом ПЦР показатели и коэффициенты противэпидемической эффективности вакцин увеличились и составили для вакцины Совигрипп® 2,7% и 63,0%, для вакцины Гриппол® Плюс — 4,0% и 75,0%, для вакцины Ультрикс® — 7,1% и 85,9%.

Таким образом, в период эпидемического подъема в сезон 2018-2019 гг., вызванного вирусами А(Н1N1) pdm09 и А(Н3N2), при полном совпадении вакцинных и циркулирующих штаммов и в условиях охвата вакцинацией 50,8% населения Санкт-Петербурга в нашем наблюдении продемонстрирована высокая профилактическая эффективность и высокий профиль безопасности отечественных гриппозных вакцин [1].

В следующем эпидемическом сезоне 2019-2020 гг. при высоком охвате прививками против гриппа населения Санкт-Петербурга (55,1%) отмечался незначительный подъем заболеваемости гриппом. При анализе этиологии заболеваний было показано преобладание вирусов гриппа А(Н1N1) pdm09, которые соответствовали вакцинному штамму, и вирусов типа В, которые отличались от штамма, введенного в состав вакцин, также активно циркулировали риновирусы и аденовирусы. В этих условиях уровень заболеваемости гриппом и ОРВИ в группе вакцинированных снизился на 50%. Наиболее выраженный профилактический эффект показали вакцины Гриппол® Плюс, Ультрикс® и Ультрикс Квадри®, общая эффективность которых составила от 70,6% до 75,0%, а эффективность с учетом лабораторной коррекции против вирусов гриппа А и В — от 65,5% до 83,5% [2].

Эпидемиологическая ситуация в сезон 2020-2021 гг. отличалась от предыдущих лет эпидемическим распространением коронавирусной инфекции COVID-19, максимальным за последние годы охватом вакцинацией против гриппа населения Санкт-Петербурга — 61,7%, полным отсутствием выделения вирусов гриппа, преобладанием риновирусов, особенно у детей, метапневмовирусов и сезонных коронавирусов. Можно предположить, что определенную роль

в изменении структуры ОРВИ могли сыграть и предпринятые санитарно-гигиенические меры по предотвращению распространения и инфицирования SARS-CoV-2 (социальное дистанцирование, использование одноразовых медицинских масок, дезинфекция общественных помещений, усиление мер личной гигиены) [5, 10, 14]. В этот период исследования среди учащихся от 18 до 23 лет не было зарегистрировано ни одного случая заболевания, вызванного вирусом гриппа. Данные результаты наблюдали как в группе вакцинированных лиц, так и в группе невакцинированных. В связи с этим оценить эффективность вакцин в предупреждении случаев заболевания гриппом в период эпидемического сезона 2020-2021 гг. не представлялось возможным.

Вакцинация представляет собой эффективный способ сдерживания эпидемий гриппа. С момента появления в 40-х годах прошлого века, вакцины против сезонного гриппа спасли бесчисленное количество жизней и ограничили распространение пандемий. Современные лицензированные вакцины против гриппа содержат либо инактивированные (ИГВ), либо живые аттенуированные вирусы гриппа (ЖГВ). Большинство инактивированных вакцин состоят из расщепленных вирусов (сплит-вакцины) или отдельных антигенов гриппа (субъединичные вакцины). Для обеспечения формирования более выраженного и длительного специфического иммунитета в состав вакцин включают адъюванты [16]. Данное исследование посвящено оценке эффективности ИГВ, некоторые из них содержат адъювант, все ИГВ вводятся путем инъекции через кожу. Мы оценили влияние вакцинации от гриппа в течение трех последовательных сезонов на снижение числа заболеваний ОРВИ у взрослых молодых людей, используя данные ПЦР по расшифровке этиологии заболевания. Полученные данные свидетельствуют о том, что среди молодых людей организованного коллектива вакцинация любой из имеющихся российских вакцин обеспечивает снижение заболеваемости гриппом на 70-86% при условии совпадения вакцинных и циркулирующих штаммов в высокий эпидемический сезон по гриппу.

Защитная эффективность имеющихся в настоящее время гриппозных вакцин зависит от антигенного соответствия между циркулирующими вирусами и вакцинными штаммами. Штаммовый состав гриппозных вакцин обновляют ежегодно, так как вирусы гриппа продолжают эволюционировать и ускользают от естественного иммунитета. Иммуный статус индивида также оказывает влияние на эффективность вакцинации,

например молодые и пожилые люди имеют разную восприимчивость к вирусу и последующим осложнениям гриппозной инфекции [4, 11, 14]. Растущий объем данных, полученный в подобных исследованиях, позволяет сделать выводы, что переменные характеристики индивидуума, такие как возраст, пол, беременность и иммунологический анамнез, играют важную роль в изменении эффективности вакцин против гриппа. Таким образом, лучшее понимание характеристик вакцинируемых, которые влияют на иммунитет, индуцированный противогриппозной вакциной, может помочь повысить эффективность существующих сезонных и будущих универсальных противогриппозных вакцин за счет оптимизации применения различных типов вакцины у разных групп населения, дозировки и использования адъюванта [6]. Отчеты об исследованиях эффективности вакцинации гриппозными вакцинами должны включать эту дополнительную информацию, чтобы специалисты могли оценить возможность обобщения результатов исследования за пределами конкретного сезона и изучаемой местности. ВОЗ призывает исследователей делиться своими необработанными анонимными данными изучения эффективности вакцинации на индивидуальном уровне [3]. Это в значительной степени поможет объединению результатов.

Ожидается, что полученный нами в течение трех эпидемических сезонов опыт оценки эффективности вакцин расширит наши знания о воздействии вакцинальных кампаний против гриппа на заболеваемость населения и облегчит понимание различий в эффективности противогриппозных вакцин от сезона к сезону у различных групп населения, в частности более широкомасштабные исследования с полными наборами данных, такими как те, которые были собраны в рамках инициативы I-MOVE в Европе [9] смогут помочь в выборе тактик вакцинации, подходящих для разных категорий вакцинируемых.

## Заключение

Россия обеспечена достаточным набором современных гриппозных вакцин с высоким профилем безопасности и профилактической эффективности. Наше исследование показало, что при совпадении вакцинных штаммов с циркулирующими штаммами современные гриппозные вакцины снижают заболеваемость гриппом среди взрослых на 70-90%. Полученные данные согласуются с оценками Всемирной организации здравоохранения.

Исследование проводили в соответствии с руководящими принципами Хельсинкской декларации, получены одобрения локального Комитета по этике Научно-исследовательского института гриппа им. Смородинцева (протокол

№ 131 от 10.10.2018; № 145 от 04.10.2019; № 157 от 28.09.2020).

**Заявление об информированном согласии**

Информированное согласие было получено от всех испытуемых, участвовавших в исследовании.

## Список литературы / References

1. Ерофеева М.К., Стукова М.А., Шахланская Е.В., Бузицкая Ж.В., Максакова В.Л., Крайнова Т.И., Чиркина Т.М., Писарева М.М., Лиознов Д.А. Оценка профилактической эффективности гриппозных вакцин в эпидемический сезон 2018-2019 гг. в Санкт-Петербурге // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2020. Т. 19, № 5. С. 76-83. [Erofeeva M.K., Stukova M.A., Shakhlan'skaya E.V., Buzitskaya Zh.V., Maksakova V.L., Krainova T.I., Chirkina T.M., Pisareva M.M., Lioznov D.A. Evaluation of the preventive effectiveness of influenza vaccines in St. Petersburg. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2020, Vol. 19, no. 5, pp. 76-83 (In Russ.)]
2. Ерофеева М.К., Стукова М.А., Шахланская Е.В., Бузицкая Ж.В., Максакова В.Л., Крайнова Т.И., Писарева М.М., Попов А.Б., Позднякова М.Г., Лиознов Д.А. Оценка профилактической эффективности гриппозных вакцин // Эпидемиология и вакцинопрофилактика, 2021. Т. 20, № 5. С. 52-60. [Erofeeva M.K., Stukova M.A., Shakhlan'skaya E.V., Buzitskaya Zh.V., Maksakova V.L., Krainova T.I., Pisareva M.M., Popov A.B., Pozdnyakova M.G., Lioznov D.A. Evaluation of the preventive effect of influenza vaccines during the epidemic season 2019-2020 in St. Petersburg. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2021 Vol. 20, no. 5, pp. 52-60. (In Russ.)]
3. Bond H.S., Sullivan S.G., Cowling B.J. Regression approaches in the test-negative study design for assessment of influenza vaccine effectiveness. *Epidemiol. Infect.*, 2016, Vol. 144, no. 8, pp. 1601-1611.
4. Centers for disease control and prevention. Seasonal influenza vaccine effectiveness, 2004-2018. Available at: <https://www.cdc.gov/flu/vaccines-work/past-seasons-estimates> (CDC, 2019).
5. Chou R., Dana T., Jungbauer R., Weeks C., McDonagh M.S. Masks for prevention of respiratory virus infections, including SARS-CoV-2, in health care and community settings: a living rapid review. *Ann. Intern. Med.*, 2020, Vol. 173, no. 7, pp. 542-555.
6. Dhakal S., Klein S.L. Host Factors impact vaccine efficacy: implications for seasonal and universal influenza vaccine programs. *J Virol.*, 2019, Vol. 93, no. 21, e00797-19. doi: 10.1128/JVI.00797-19.
7. Ghendon Y. Vaccination against influenza viruses: status. *Viral vaccines. Advances in biotechnological processes. Ed. Mirrahi E.*, 1990, 14, pp. 159-201.
8. Flannery B., Chung J.R., Belongia E.A., McLean H.Q., Gaglani M., Murthy K., Zimmerman R.K., Nowalk M.P., Jackson M.L., Jackson L.A., Monto A.S., Martin E.T., Foust A., Sessions W., Berman L., Barnes J.R., Spencer S. Fry A.M. Interim estimates of 2017-18 seasonal influenza vaccine effectiveness – United States, February 2018. *MMWR*, 2018, Vol. 67, no. 6, pp. 180-185.
9. I-MOVE Project. I-MOVE Europe. Accessed July 31, 2021. Available at: <https://www.imoveflu.org/>.
10. Lee J.K., Bullen C., Amor Y., Bush S.R. Institutional and behaviour-change interventions to support COVID-19 public health measures: a review by the Lancet Commission Task Force on public health measures to suppress the pandemic. *Int. Health*, 2021, Vol. 13, no. 5, pp. 399-409.
11. Lewnard J.A., Cobey S. Immune history and influenza vaccine effectiveness. *Vaccines*, 2018, Vol. 6, 28. doi: 10.3390/vaccines6020028.
12. Nichol K. Efficacy / clinical effectiveness of inactivated influenza virus vaccines in adults. *Textbook of Influenza Eds Nicholson K., Webster R., Hay A. Blackwell Sci.*, 1998, pp. 358-372.
13. Nowak M.D., Sordillo E.M., Gitman M.R., Paniz-Mondolfi A.E. Co-infection in SARS-CoV-2 infected Patients: Where Are Influenza Virus and Rhinovirus/Enterovirus? *J. Med. Virol.*, 2021, Vol. 92, no. 10, pp. 1699-1700.
14. Osterholm M.T., Kelley N.S., Sommer A., Belongia E.A. Efficacy and effectiveness of influenza vaccines: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.*, 2012, Vol. 12, no. 1, pp. 36-44.
15. Rolfes M.A., Flannery B., Chung J., O'Halloran A., Garg S., Belongia E.A., Gaglani M., Zimmerman R., Jackson M.L., Monto A.S., Alden N.B., Anderson E., Bennett N.M., Billing L., Eckel S., Kirley P.D., Lynfield R., Monroe M.L., Spencer M., Spina N., Talbot H.K., Thomas A., Torres S., Yousey-Hindes K., Singleton J., Patel M.,



Reed C., Fry A.M. Effects of influenza vaccination in the United States during the 2017-2018 influenza season. *Clin. Infect. Dis.*, 2019, Vol. 69, no. 11, pp. 1845-1853.

16. Soema P.C., Kompier R., Amorij J.P., Kersten G.F. Current and next generation influenza vaccines: Formulation and production strategies. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2015, Vol. 94, pp. 251-263.

17. Wei C.J., Crank M.C., Shiver J., Graham B.S., Mascola J.R., Nabel G.J. Next-generation influenza vaccines: opportunities and challenges. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2020, Vol. 19, no. 4, pp. 239-252.

---

**Авторы:**

**Ерофеева М.К.** — д.м.н., руководитель лаборатории испытаний новых средств защиты от вирусных инфекций ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Бузицкая Ж.В.** — к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории векторных вакцин ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Шахланская Е.В.** — научный сотрудник лаборатории испытаний новых средств защиты от вирусных инфекций, ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Authors:**

**Erofeeva M.K.**, PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory of Trials of Novel Remedies for Antiviral Protection, Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation

**Buzitskaya Zh.V.**, PhD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Vectors Vaccines, Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation

**Shakhlanskaya E.V.**, Research Associate, Laboratory of Trials of Novel Remedies for Antiviral Protection, Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation

**Писарева М.М.** — к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Pisareva M.M.**, PhD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Molecular Biology, Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation

**Стукова М.А.** — к.м.н., заведующая лабораторией векторных вакцин ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Stukova M.A.**, PhD (Medicine), Head, Laboratory of Vector Vaccines, Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation

**Люзнов Д.А.** — д.м.н., директор ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения РФ; заведующий кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Lioznov D.A.**, PhD, MD (Medicine), Director, Smorodintsev Research Institute of Influenza; Head, Department of Infectious Diseases and Epidemiology, First St. Petersburg Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

---

Поступила 29.03.2024  
Отправлена на доработку 31.03.2024  
Принята к печати 02.04.2024

---

Received 29.03.2024  
Revision received 31.03.2024  
Accepted 02.04.2024

## МОБИЛЬНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ПРЕОДОЛЕНИИ АНТИПРИВИВОЧНОГО СКЕПСИСА

Алешина Л.В.<sup>1</sup>, Гамова И.В.<sup>1</sup>, Гирча А.Ю.<sup>1</sup>, Беликова А.В.<sup>2</sup>,  
Алешин Д.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского»  
Министерства здравоохранения РФ, г. Саратов, Россия

<sup>2</sup> Поволжский институт управления имени П.А. Столыпина – филиал ФГБОУ ВО «Российская академия  
народного хозяйства и государственной службы при Президенте Российской Федерации», г. Саратов, Россия

**Резюме.** Несмотря на значительные успехи в области клинической медицины, инфекционные заболевания и вопросы их профилактики остаются ведущей проблемой современности. Низкая грамотность населения в вопросах иммунизации в сочетании с высокой активностью антипрививочного движения создают нездоровый скепсис в отношении иммунопрофилактики и риски возникновения эпидемий.

В работе использованы теоретический анализ литературы, методика анонимного анкетирования студентов медицинских и немедицинских специальностей, методы статистической и биоинформатической обработки данных, современные интернет-технологии: платформа социальной сети «ВКонтакте» и программа создания чат-бота Senler. Проведенный анализ приверженности к вакцинации студентов медицинских и немедицинских специальностей показал, что позитивно относятся к профилактическим мерам сохранения здоровья от 65,8% до 96,2% респондентов; от 1,9% до 6% считают, что болезнь проще лечить, чем предупредить, и почти 30% опрошенных не задумываются о вопросах профилактики и болезнях в целом, считая себя молодыми. Почти 10% студентов немедицинских специальностей (1-я группа) считают вакцинацию бесполезной, 8,4% – опасной для иммунитета, 18,3% ничего не знают о прививках и не могут сопоставить пользу вакцинации с риском инфекционной патологии. С целью формирования медицинской грамотности населения, в том числе в стратегических вопросах сохранения здоровья нации коллективом авторов был разработан и внедрен через социальную сеть «ВКонтакте» чат-бот «Вакцина и точка», содержащий актуальные сведения о вакцинах, способах, кратности и возрастных особенностях их применения. Чат-ботом за месяц работы воспользовалось 156 человек, отметив его высокую информационную ценность, мотивирующую к вакцинации.

Анализ приверженности к вакцинации студентов медицинских и немедицинских специальностей показал недостаточный уровень доверия к отечественной профилактической медицине, что формирует нездоровое отношение к вакцинопрофилактике. Недостаточный охват населения вакцинацией создает реальные угрозы распространения инфекционных заболеваний на популяционном уровне.

### Адрес для переписки:

Алешина Любовь Валерьевна  
ФГБОУ ВО «Саратовский государственный  
медицинский университет имени В.И. Разумовского»  
Министерства здравоохранения РФ  
410028, Россия, г. Саратов, ул. Провиантская, 22.  
Тел.: 8 (8452) 49-43-15 (доб. 167), 22-38-19.  
E-mail: Lubov-sk@mail.ru

### Address for correspondence:

Lyubov V. Aleshina  
V. Razumovsky Saratov State Medical University  
22 Proviant'skaya St  
Saratov  
410028 Russian Federation  
Phone: +7 (8452) 49-43-15 (acc. 167), 22-38-19.  
E-mail: Lubov-sk@mail.ru

### Образец цитирования:

Л.В. Алешина, И.В. Гамова, А.Ю. Гирча, А.В. Беликова,  
Д.В. Алешин «Мобильные технологии в преодолении  
антипрививочного скепсиса» // Российский  
иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4.  
С. 1029–1034.  
doi: 10.46235/1028-7221-16888-UOM

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

### For citation:

L. V. Aleshina, I. V. Gamova, A. Yu. Girsha, A. V. Belikova,  
D. V. Aleshin "Use of mobile communication technology  
to overcome vaccine skepticism", Russian Journal  
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024,  
Vol. 27, no. 4, pp. 1029–1034.  
doi: 10.46235/1028-7221-16888-UOM

© Aleshina L. V. et al., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License  
DOI: 10.46235/1028-7221-16888-UOM

Разработанный и внедренный в реальную практику чат-бот «Вакцина и точка» является эффективным инструментом повышения знаний соотечественников о реальных возможностях защиты от основных вакциноуправляемых инфекций и дополнительной попыткой преодоления антипрививочного скепсиса.

*Ключевые слова:* вакцинация, антипрививочный скепсис, мобильные технологии, инфекции, приверженность, вакцинопрофилактика

## USE OF MOBILE COMMUNICATION TECHNOLOGY TO OVERCOME VACCINE SKEPTICISM

Aleshina L.V.<sup>a</sup>, Gamova I.V.<sup>a</sup>, Girsha A.Yu.<sup>a</sup>, Belikova A.V.<sup>b</sup>,  
Aleshin D.V.<sup>b</sup>

<sup>a</sup> V. Razumovsky Saratov State Medical University, Saratov, Russian Federation

<sup>b</sup> P. Stolypin Povolzhsky Institute of Management, Branch of the Russian Presidential Academy of National Economy and Public Administration, Saratov, Russian Federation

**Abstract.** Despite significant advances in clinical medicine, infectious diseases and their prevention remain the leading problem of our time. Low literacy of the population regarding immunization, combined with high activity of the anti-vaccination movement, creates unhealthy skepticism about immunoprophylaxis and the risks of epidemics.

The work uses theoretical analysis of literature, methods of anonymous questionnaires of students of medical and non-medical specialties, methods of statistical and bioinformatics data processing, and modern internet technologies: the platform of the social network “Vkontakte” and the program for creating a chatbot “Senler”.

The analysis of commitment to vaccination of medical and non-medical students showed that 65.8% to 96.2% of respondents have a positive attitude to preventive health measures. From 1.9% to 6% believe the disease is easier to treat than to prevent, and almost 30% of respondents do not think about prevention and diseases in general, considering themselves young. Almost 10% of non-medical students (1 group) consider vaccination useless, 8.4% dangerous for immunity, 18.3% know nothing about vaccinations and cannot compare the benefits of vaccination with the risk of infectious pathology. In order to form medical literacy of the population, including in strategic issues of preserving the health of the nation, the team of authors developed and implemented through the social network “Vkontakte” chatbot “Vaccine and point” containing up-to-date information about vaccines, methods multiplicity and age features of their use. People [n = 156] used the chatbot during the month of work, noting its high informational value, motivating to vaccination.

Analysis of commitment to vaccination of students of medical and non-medical specialties showed an insufficient level of trust in domestic preventive medicine, which forms an unhealthy attitude to vaccine prevention. Insufficient vaccine coverage creates real threats to the spread of infectious diseases at the population level. Developed and implemented in real practice, the “Vaccine and point” chatbot is an effective tool for increasing the knowledge of compatriots about the real possibilities of protection against the main vaccine-controlled infections and an additional attempt to overcome anti-vaccination skepticism.

*Keywords:* vaccination, anti-vaccination skepticism, mobile technologies, infections, commitment, vaccine-based prophylaxis

## Введение

Инфекции остаются главной причиной смертности людей. Несмотря на успехи в области клинической медицины, проблема инфекционных заболеваний является достаточно сложной во всех без исключения странах мира [5]. На сегодня

шний день единственным эффективным способом профилактики инфекция остается вакцинация.

Невзирая на бесспорные достижения вакцинопрофилактики в снижении инфекционной заболеваемости, в обществе нарастает скептическое отношение к вакцинации в целом (сомне-



ния родителей в эффективности и безвредности иммунизации детей, недоверие к вакцинам, отказ от отдельных/всех вакцин, изменение сроков и схемы иммунизации).

Антипрививочный скепсис препятствует реализации государственных программ иммунизации, ставя под угрозу жизнь и здоровье всего населения страны. Под влиянием активистов антипрививочного движения, посредством личных блогов и публикаций в социальных сетях, столь распространенных сейчас в сети Интернет, немалая часть нашего общества субъективно переоценивает риски побочных реакций и осложнений от вакцинации [4]. Низкая грамотность населения в вопросах иммунизации, вместе с высокой активностью антипрививочного движения снижают доверие к вакцинопрофилактике, а значит создают риски возникновения эпидемий. Особенно влияет на формирование негативного отношения к вакцинации населения мнение медицинского сообщества. В «допандемийное время» в медицинских вузах РФ (Иркутск, Рязань, Ханты-Мансийский АО, Тюмень, Ставропольский край, Санкт-Петербург) проводились работы по изучению отношений к вакцинопрофилактике медицинских работников, студентов 5-6 курсов лечебного и педиатрического факультетов. В ряде исследований показано, что только 2/3 респондентов уверены в эффективности и безопасности вакцинопрофилактики. Более четверти опрошенных противники вакцинации беременных от сезонных инфекций почти 50% врачей со значительным медицинским стажем имеют низкую мотивацию работы с родителями, отказывающихся от вакцинации, четверть респондентов-медиков не прививают своих родственников [1, 2, 3]. Пандемия коронавирусной инфекции особенно разделила представителей разных медицинских специальностей на два лагеря: сторонников и противников вакцинации, повергнув обывателей в пучину сомнений о целесообразности специфической защиты. И только слаженная работа профессионалов в области практической медицины вместе с непрерывной, корректной деятельностью СМИ и органов управления здравоохранения позволили сначала стабилизировать эпидемиологический процесс, а затем и повернуть его вспять. Сегодня сохраняется жизненная необходимость обсуждать ценности иммунопрофилактики ежедневно, повышать уровень медицинской грамотности населения, обеспечивая приверженность к вакцинации. **Целью данного исследования** послужило обоснование необходимости и создание эффективного инструмента повышения приверженности населения к вакцинопрофилактике. Для достижения поставленной цели проведен анализ отношения

медицинских работников и лиц немедицинских специальностей к вопросам вакцинопрофилактики, предложен инструмент для повышения приверженности населения к иммунизации.

## Материалы и методы

В работе использованы теоретический анализ литературы, методика анонимного анкетирования граждан, методы статистической и биоинформатической обработки данных, а также современные интернет-технологии: платформа социальной сети «ВКонтакте» и программа создания чат-бота Senler.

## Результаты и обсуждение

Анализ приверженности к вакцинопрофилактике у лиц немедицинских специальностей проводился на основании данных анонимного анкетирования студентов Поволжского института управления им. П.А. Столыпина – группа 1, изучение отношения медицинских работников к вакцинации осуществлялось путем анонимного анкетирования студентов медицинского вуза СГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России – группа 2, в качестве инструмента для повышения приверженности населения к иммунизации разработан и внедрен чат-бот «Вакцина и точка».

В ходе анкетирования обращает внимание, что 68,5% респондентов 1-й группы и 72,3% 2-й группы недовольны системой здравоохранения РФ, считая зарубежную медицину гораздо качественнее. Несмотря на полный охват населения страны программой обязательного медицинского страхования, только 61,7% респондентов 1-й группы и 84,8% 2-й группы пользуется полисом ОМС, 33,3% опрошенных 1-й группы и 7,6% 2-й группы получают различные виды медицинской помощи за счет личных средств и только 5% (группа 1) и 7,7% (группа 2) пользуются услугами дополнительного медицинского страхования. Обращаться за медицинской помощью граждан заставляет в первую очередь необходимость в выдаче листка нетрудоспособности, и уже потом назначение правильного лечения и страх развития осложнений. Констатирована крайне низкая приверженность к врачебной консультации в случае заболеваемости ОРВИ, почти 30% опрошенных обеих групп никогда не обращаются при респираторных инфекциях к специалистам и 41,6% (1-я группа) и 51,4% (2-я группа) предпочитают лечиться самостоятельно или прибегают к советам родственников, при этом 79,2% (группа 1) и 43,8% (группа 2) респондентов имеют хронические заболевания. Из всех лиц с хроническими заболеваниями – 4% в первой группе и 1% во второй группе пользуются льготным лекарствен-

ным обеспечением, из них только 1,5% довольны качеством и объемом медицинской помощи. В вопросах профилактики хронических заболеваний, в том числе инфекционных, мнение респондентов разделилось: почти 6% (1-я группа) и 1,9% (2-я группа) считают, что болезнь проще лечить, чем предупредить, 65,8% (1-я группа) и 96,2% (2-я группа) – позитивно относятся к профилактическим мерам, почти 30% (1-я группа) и 1,9% (2-я группа) респондентов не задумываются о вопросах профилактики и болезнях в целом, считая себя молодыми. Почти 10% респондентов 1-й группы считают вакцинацию бесполезной, а 8,4% – опасной для иммунитета, 18,3% ничего не знают о прививках и не могут сопоставить пользу вакцинации с риском инфекционной патологии. Только 63,9% анкетированных уверены в пользе вакцинации и планируют прививать себя и своих детей. В отношении вакцинации от гриппа почти 58% респондентов 1-й группы и 45,7% 2-й группы высказываются негативно, 19,6% (1-я группа) и 14,3% (2-я группа) из них считают современные вакцины некачественными, 27,5% (1-я группа) и 9,6% (2-я группа) боятся осложнений, 8% не прививаются по совету знакомого врача, и только 36% (1-я группа) и 48,6% (2-я группа) регулярно делают прививку от гриппа. Почти четверть респондентов 1-й группы и 11% будущих врачей поддерживают антивакцинальное движение. Используемая в пандемию практика введения QR-кода нашла позитивный отклик только у около 20% в обеих группах анкетированных, при этом почти 45% остались к ней безразличны, а 40% считают данную меру нарушением своих прав. 40% респондентов 1-й группы считают, что повышение доверия к медицине в обществе возрастет после повышения качества образования медиков, 16,4% будут позитивнее относиться к системе здравоохранения при большей доступности получения консультативной помощи в поликлиниках, а 35,8% – после повышения доступности бесплатной диагностической помощи населению. Только 7,5% считают важным популяризировать в СМИ профессиональные достижения медиков и новые открытия в медицине.

Антивакцинальное лобби буквально развернула военные действия на поле социальных сетей, распространяя негативную информацию о поствакцинальных осложнениях. Слухи о теории заговора привлекает большее количество граждан, чем научные факты доказательной медицины, поэтому число людей, опасющихся делать прививки, множится в геометрической прогрессии. Государственные интересы проигрывают борьбу в интернете. В настоящее время активизируется работа профильных ведомств на официальных платформах, публикуются обоснованные

научные данные и ответы на вопросы, но количество активных подписчиков на государственных аккаунтах не так велико. Например информационный ресурс «стопкоронавирус.рф» в период пандемии насчитывал только 1 990 218 подписчиков: всего 1,36% от числа всех жителей РФ. При этом всего 100 блогеров-антипрививочников, ведущих собственные телеграмм-каналы, имеют общее количество подписчиков от 700 000 до 1 260 000 человек.

Антипрививочное движение, развернутое на просторах интернета – общественная проблема. Так, исследование лондонского Центра противодействия сетевой ненависти (CCDH) показало, что из 812 тысяч антипрививочных постов, размещенных в соц. сетях за полтора месяца, с 01.02.2021 по 16.03.2021 – абсолютная дезинформационная ложь [7].

По нашему мнению, необходимо государственное регулирование создания подобных аккаунтов на платформах социальных сетей. Кроме того, одной из важных задач государства является формирование медицинской культуры населения, в том числе в стратегических вопросах сохранения здоровья нации.

Для реализации данных задач и достижения поставленной цели исследование коллективом авторов был разработан и внедрен через социальную сеть «Вконтакте» чат-бот «Вакцина и точка», содержащий актуальную информацию о вакцинах, способах и кратности их применения, а также возрастных особенностях вакцинопрофилактики от основных вакциноуправляемых инфекций. Чат-ботом за месяц воспользовалось 156 человек, отметив его высокую информационную ценность, мотивирующую к вакцинации.

Согласно государственной стратегии развития иммунопрофилактики инфекционных болезней, основными направлениями развития системы информирования населения, повышения профессионального уровня и расширения квалификации медицинских работников по вопросам иммунопрофилактики являются: разработка и реализация комплекса информационно-коммуникативных мероприятий по вопросам специфической профилактики инфекционных заболеваний и внедрение комплекса мер, направленных на повышение социальной ответственности родителей (законных представителей) в целях снижения необоснованных отказов от проведения профилактических прививок детям; разработка и внедрение механизмов повышения приверженности населения вакцинопрофилактике инфекционных болезней; разработка специальных интерактивных образовательных модулей по вопросам иммунопрофилактики инфекционных болезней для разных категорий медицинских

работников и обеспечение возможности их обучения в режиме непрерывного медицинского и фармацевтического образования [6]. Использование современных мобильных технологий для

распространения актуальной информации о вакцинопрофилактике представляет собой удобный и надежный способ повышения приверженности к вакцинации.

## Список литературы / References

1. Гирина А.А., Петровский Ф.И., Заплатников А.Л. Приверженность врачей-педиатров иммунопрофилактике инфекционных болезней: современное состояние проблемы // РМЖ. Мать и дитя, 2020. Т. , № 4. С. 290-294. [Girina A.A., Petrovski F.I., Zaplatnikov A.L. Pediatricians adherence to immunoprophylaxis of infectious diseases: current state of the problem. *RMZh. Mat i ditya = Russian Journal of Woman and Child Health*, 2020, Vol. 3, no. 4, pp. 290-294. (In Russ.)]
2. Дмитриев А.В., Федина Н.В., Ткаченко Т.Г., Гудков Р.А., Петрова В.И., Филимонова Т.А. Приверженность вакцинации различных слоев населения: результаты анкетирования // Детские инфекции, 2019. Т. 18, № 4. С. 32-37. [Dmitriev A.V., Fedina N.V., Tkachenko T.G., Gudkov R.A., Petrova V.I., Filimonova T.A. Adherence to vaccination for various populations: survey results. *Detskie infektsii = Children Infections*, 2019, Vol. 18, no. 4, pp. 32-37. (In Russ.)]
3. Кригер Е.А., Самородова О.В., Рогушина Н.Л., Борисова Т.А. Отношение родителей к вакцинации детей и факторы, связанные с отказом от прививок // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского, 2016. Т. 95, № 2. С. 91-95. [Krieger E.A., Samorodova O.V., Rogushina N.L., Borisova T.A. Parents' attitudes to vaccination of children and factors of vaccinations refuse. *Pediatriya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo = Pediatrics. G. Speransky Journal*, 2016, Vol. 95, no. 2, pp. 91-95. (In Russ.)]
4. Мац А.Н., Антипрививочный скепсис как социально-психологический феномен // Эпидемиология и вакцинопрофилактика, 2014. № 5 (78). С. 111-114. [Matz A.N., Cheprasova E.V. Anti-Vaccine Skepticism as a Social and Psychological Phenomenon. *Epidemiologiya i vaktinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2014, no. 5 (78), pp. 111-114. (In Russ.)]
5. Пономарев С.И., Яковлев С.А. Инфекционные заболевания как медико-социальная проблема // Синергия, 2017. № 1. С. 110-118. [Ponomarev S.I., Yakovlev S.A. Infectious diseases as a medical-social problem. *Sinergiya = Synergy*, 2017, no. 1, pp. 110-118. (In Russ.)]
6. Распоряжение Правительства РФ от 18.09.2020 N 2390-р «Об утверждении Стратегии развития иммунопрофилактики инфекционных болезней на период до 2035 года». Согласно утвержденной Стратегии распоряжение Правительства РФ от 29.03.2021 N 774-Р. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://static.government.ru/media/files/Zz7brckXMkAQTZHTA6ixAxlY4lhYBEeM.pdf> (Дата обращения: 01.04.2024). [Order of the Government of the Russian Federation dated September 18, 2020 N 2390-r "On approval of the Strategy for the development of immunoprevention of infectious diseases for the period until 2035." According to the approved Strategy, order of the Government of the Russian Federation dated March 29, 2021 N 774-R. [Electronic resource]. Access mode: <http://static.government.ru/media/files/Zz7brckXMkAQTZHTA6ixAxlY4lhYBEeM.pdf> (Date of application April 1, 2024).

---

### Авторы:

**Алешина Л.В.** — 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

**Гамова И.В.** — к.м.н., доцент, заведующая кафедрой клинической иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения РФ, г. Саратов, Россия

**Гирча А.Ю.** — студентка 5-го курса педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения РФ, г. Саратов, Россия

### Authors:

**Aleshina L.V.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Clinical Immunology and Allergology, V. Razumovsky Saratov State Medical University, Saratov, Russian Federation

**Gamova I.V.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Head, Department of Clinical Immunology and Allergology, V. Razumovsky Saratov State Medical University, Saratov, Russian Federation

**Girsha A.Yu.**, 5<sup>th</sup> year Student, Pediatric Faculty, V. Razumovsky Saratov State Medical University, Saratov, Russian Federation

**Беликова А.В.** — к.филос.н. декан факультета государственного и муниципального управления, Поволжский институт управления имени П.А. Столыпина — филиал ФГБОУ ВО «Российская академия народного хозяйства и государственной службы при Президенте Российской Федерации», г. Саратов, Россия

**Алешин Д.В.** — магистрант факультета магистратуры и аспирантуры, Поволжский институт управления имени П.А. Столыпина — филиал ФГБОУ ВО «Российская академия народного хозяйства и государственной службы при Президенте Российской Федерации», г. Саратов, Россия

**Belikova A.V.**, PhD (Philosophy), Associate Professor, Dean, Public and Municipal Administration Faculty, P. Stolypin Povolzhsky Institute of Management, Branch of the Russian Presidential Academy of National Economy and Public Administration, Saratov, Russian Federation

**Aleshin D.V.**, Graduate Student, Faculty of Graduate and Postgraduate Studies, P. Stolypin Povolzhsky Institute of Management, Branch of the Russian Presidential Academy of National Economy and Public Administration, Saratov, Russian Federation

---

Поступила 02.04.2024  
Отправлена на доработку 04.04.2024  
Принята к печати 25.04.2024

---

Received 02.04.2024  
Revision received 04.04.2024  
Accepted 25.04.2024



## РЕЗУЛЬТАТЫ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ПОДРОСТКОВ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

**Андреева Н.П.**

ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», г. Чебоксары, Чувашская Республика, Россия

**Резюме.** Заболеваемость новой коронавирусной инфекцией требует анализа течения последней у пациентов с аллергическими заболеваниями. Пациенты с atopическими аллергическими заболеваниями остаются недостаточно изученными в отношении особенностей течения как основного аллергического заболевания, так и инфекционных процессов, обусловленных вирусами и бактериями. Эпителиальные клетки бронхов при бронхиальной астме имеют недостаточный ответ на интерфероны, что дает возможность предположить, что при заражении SARS-CoV-2 может подавляться спонтанное увеличение экспрессии ангиотензинпревращающего фермента, что в конечном итоге уменьшает тяжесть заболевания, но в то же время делает пациентов с аллергическими atopическими заболеваниями чувствительными к другим вирусным инфекциям. Полученные результаты свидетельствуют о статистически значимых различиях формирования антител anti-RBD IgG к SARS-CoV-2 между группой подростков с бронхиальной астмой, получивших вакцинацию против новой коронавирусной инфекции и не привитых против нее. В течение периода наблюдения через 6 месяцев среди не получивших иммунизацию детей наблюдается статистически значимый прирост титра anti-RBD IgG к SARS-CoV-2 вследствие перенесенной новой коронавирусной инфекции. Клинические показатели свидетельствовали о благоприятном течении atopического процесса и контроле обострений бронхиальной астмы у подростков, получивших вакцинацию и против новой коронавирусной инфекции и против гриппа, в то время как не получившие вакцинацию против данных вирусных инфекций имели обострения бронхиальной астмы, обусловленные респираторной инфекцией. Также среди пациентов с бронхиальной астмой, получивших вакцинацию против гриппа, не отмечено случаев гриппа А и обострений бронхиальной астмы на фоне респираторных инфекций. В этой связи вакцинация против гриппа является важным мероприятием по поддержанию контроля обострений астмы. Обращает внимание отсутствие среди подростков, получивших вакцинацию, констатации заболевания новой коронавирусной инфекцией в течение года после иммунизации. В то же время, через 6 месяцев после вакцинации против новой коронавирусной инфекции мы наблюдали у подростков, не получивших вакцинации статистически значимое увеличение уровня антител, которое свидетельствовало о нали-

---

### Адрес для переписки:

Андреева Наталья Петровна  
ФГБОУ ВО «Чувашский государственный  
университет имени И.Н. Ульянова»  
428015, Россия, Чувашская Республика,  
г. Чебоксары, Московский пр., 15.  
Тел.: 8 (903) 358-27-02.  
E-mail: NataliUTT@yandex.ru

### Address for correspondence:

Natalia P. Andreeva  
Chuvash State University  
15 Moskovsky Ave  
Cheboksary, Chuvash Republic  
428015 Russian Federation  
Phone: +7 (903) 358-27-02.  
E-mail: NataliUTT@yandex.ru

---

### Образец цитирования:

Н.П. Андреева «Результаты вакцинации против новой коронавирусной инфекции у подростков с аллергическими заболеваниями» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 1035-1040.  
doi: 10.46235/1028-7221-16755-TRO

© Андреева Н.П., 2024  
Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

### For citation:

N.P. Andreeva "The results of vaccination against novel coronavirus infection in adolescents with allergic diseases", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 1035-1040.  
doi: 10.46235/1028-7221-16755-TRO

© Andreeva N.P., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License  
DOI: 10.46235/1028-7221-16755-TRO

ции высокой вируснейтрализующей активности. Вакцинация против новой коронавирусной инфекции у пациентов с бронхиальной астмой может рассматриваться как возможная.

*Ключевые слова:* коронавирусная инфекция, грипп, подростки, вакцинация, астма, атопия

## THE RESULTS OF VACCINATION AGAINST NOVEL CORONAVIRUS INFECTION IN ADOLESCENTS WITH ALLERGIC DISEASES

Andreeva N.P.

*Chuvash State University, Cheboksary, Chuvash Republic, Russian Federation*

**Abstract.** Novel coronavirus infection requires analyzing its course in patients with allergic diseases. Patients with atopic allergic diseases remain insufficiently studied with regard to the peculiarities of the course of both the underlying allergic disease and infectious processes caused by viruses and bacteria. Epithelial cells in bronchial asthma do not respond sufficiently to interferons, suggesting that SARS-CoV-2 infection may suppress spontaneous upregulation of angiotensin-converting enzyme expression, which ultimately reduces disease severity, but at the same time makes patients with allergic atopic diseases susceptible to other viral infections. The results obtained indicate statistically significant differences in the formation of anti-RBD IgG antibodies to SARS-CoV-2 between the group of adolescents with bronchial asthma vaccinated against a new coronavirus infection and those not vaccinated against it. During the follow-up period after 6 months, a statistically significant increase in anti-RBD IgG titer to SARS-CoV-2 due to novel coronavirus infection was observed among the unimmunized children. Clinical parameters indicated a favorable course of atopic process and control of bronchial asthma exacerbations in adolescents who received vaccination against both new coronavirus infection and influenza, while those who did not receive vaccination against these viral infections had bronchial asthma exacerbations due to respiratory infection. Also among patients with bronchial asthma who received influenza vaccination, there were no cases of influenza A and bronchial asthma exacerbations due to respiratory infections. In this regard, influenza vaccination is an important intervention to maintain control of asthma exacerbations. It is noteworthy that no new coronavirus infection was reported among vaccinated adolescents within a year after immunization. At the same time, 6 months after vaccination against a new coronavirus infection, we observed a statistically significant increase in antibody levels in unvaccinated adolescents, indicating the presence of high viral neutralizing activity. Vaccination against novel coronavirus infection in patients with bronchial asthma may be considered a possibility.

*Keywords:* coronavirus infection, influenza, adolescents, vaccination, asthma, atopy

### Введение

В мире наблюдается рост аллергических заболеваний. В период 2010–2022 гг. динамика заболеваемости бронхиальной астмой (БА) взрослого населения имела выраженный тренд на увеличение с 55,4 в 2010 году до 74,3 в 2022 году. Заболеваемость БА детского населения в 2010–2022 гг. устойчиво ежегодно снижалась с 156,3 на 100 тыс. детского населения до 91,0 [1]. В период 2021 г. наблюдалось наименьшие значения заболеваемости (85,5 в 2021 г.) В 2022 г. в России с диагнозом БА числилось 1,591 млн больных (1,569 млн на 2021 г.), из них подростков 15–17 лет – 84 тыс. (5,2%) [2, 4].

Заболеваемость новой коронавирусной инфекцией требует анализа течения последней у пациентов с аллергическими заболеваниями. Известно, что ангиотензинпревращающий фермент-2 (АПФ-2) стимулируется интерфероном (ИФН), и его уровень повышается при воздействии вирусных инфекций. При этом эпителиальные клетки бронхов при БА имеют недостаточный ответ на ИФН при вирусной инфекции, что дает возможность предположить, что при заражении SARS-CoV-2 может подавляться спонтанное увеличение экспрессии АПФ-2, что в конечном итоге уменьшает тяжесть заболевания, но в то же время делает пациентов с аллергическими

атопическими заболеваниями чувствительными к другим вирусным инфекциям. Так, до 80% причиной всех вирус-индуцированных обострений астмы у взрослых и детей старшего возраста являются риновирусы, около 15% вызывают обострений обусловлено вирусами гриппа. При этом симптомы астмы у подростков появляются в течение первых двух суток заболевания и сохраняются до 2 недель. Вакцинация против новой коронавирусной инфекции и гриппа способствует пресечению распространения соответственно и SARS-CoV-2 и гриппа [5].

В июне 2021 г. ВОЗ рекомендовала проводить вакцинацию несовершеннолетних, а в декабре 2021 г. Министерство здравоохранения России внесло в календарь профилактических прививок по эпидемическим показаниям вакцину для подростков против коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2. Согласно приказу Минздрава России от 20.12.2021 г. № 1122н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок, календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям и порядка проведения профилактических прививок» дети и подростки отнесены по эпидемическим показаниям в третью группу приоритета, как подлежащие обязательной вакцинации против коронавирусной инфекции.

Это определило **цель исследования**: проанализировать результаты иммунизации подростков с атопической бронхиальной астмой против гриппа и новой коронавирусной инфекции.

## Материалы и методы

Проведено одноцентровое когортное проспективное сплошное исследование результатов вакцинации против гриппа и новой коронавирусной инфекции подростков с атопической бронхиальной астмой. Исследование проводили в феврале-декабре 2022 г. С целью соблюдения этических норм исследование прошло экспертизу, протокол № 15 от локального этического комитета АУ «Института усовершенствования врачей» Минздрава Чувашии.

Критерии включения: возраст от 15 до 17 лет, заявление родителей / законных представителей на проведение иммунизации против SARS-CoV-2, бронхиальная астма легкого персистирующего или среднетяжелого течения вне обострения.

Критерии исключения: тяжелые аллергические реакции в анамнезе, гиперчувствительность к какому-либо компоненту вакцины или вакцине, содержащей аналогичные компоненты, наличие обострения бронхиальной астмы.

## Объект исследования

Под наблюдением находился 61 подросток, прикрепленный. Обследуемых разделили на 2 группы.

Контрольные точки: 1-й, 2-й, 3-й, 7-й, 14-й, 21-й, 22-й, 23-й, 28-й, 42-й дни – осмотр/обзвон детей в раннем поствакцинальном периоде, мониторинг состояния детей и подростков с заполнением анкеты, включающей информацию о жалобах после вакцинации общих, местных и дополнительные данные (контакт с больными НКВИ, исследование общего анализа крови, уровня в крови общего иммуноглобулина Е у детей с атопическими заболеваниями в анамнезе и др.); 2 и 6 месяцев – осмотр/обзвон с оценкой состояния: оценка физикальных данных, лабораторное обследование (общий анализ крови, исследование крови на общий иммуноглобулин Е у детей с атопическими заболеваниями в анамнезе, исследования нейтрализующих антител класса G после вакцинации). В I группе проведена вакцинация комбинированной векторной вакциной для профилактики коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2 в 2 этапа с интервалом в 21 день в январе-апреле 2022 года, затем против гриппа субъединичной квадριвалентной инактивированной адъювантной вакциной в декабре-январе 2022-2023 года, 28 человек, средний возраст  $16,4 \pm 1,17$  лет. Во II группе не проведена вакцинация против коронавирусной инфекции, не проведена вакцинация против гриппа в сезон 2022-2023 года, 38 человек, средний возраст  $16,8 \pm 1,04$  года.

Для вакцинации использована комбинированная векторная вакцина для профилактики коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2. У подростков использовали оригинальный единственный препарат всем участникам, соответственно исследование эквивалентности не проводили. Вакцинацию проводили в 2 этапа: вначале вводили компонент I в дозе 0,5 мл. На 21-й день вводили компонент II в дозе 0,5 мл. Препарат вводили внутримышечно в верхнюю треть наружной поверхности плеча, а при невозможности – в латеральную широкую мышцу бедра.

Вакцина против коронавирусной инфекции: состав на 1 дозу: компонент I содержит: Действующее вещество: рекомбинантные аденовирусные частицы 26-го серотипа, содержащие ген белка S вируса SARS-CoV-2, в количестве  $(2,0 \pm 1,5) \times 10^{10}$  частиц. Вспомогательные вещества: трис(гидроксиметил)аминометан – 1,21 мг, натрия хлорид – 2,19 мг, сахароза – 25,0 мг, полисорбат 80 – 250 мкг, магния хлорида гексаги (спирт этиловый) 95% – 2,5 мкл, вода для инъек-

ций – до 0,5 мл. Компонент II содержит: Действующее вещество: рекомбинантные аденовирусные частицы 5-го серотипа, содержащие ген белка S вируса SARS-CoV-2, в количестве  $(2,0 \pm 1,5) \times 10^{10}$  частиц.

Вакцина против гриппа субъединичная квадριвалентная инактивированная адьювантная. Состав: антиген вируса гриппа типа А ( $H_1N_1$ ) с содержанием гемагглютинаина 5 мкг антиген вируса гриппа типа А ( $H_3N_2$ ) с содержанием гемагглютинаина 5 мкг антиген вируса гриппа типа В (линия Yamagata) с содержанием гемагглютинаина 5 мкг антиген вируса гриппа типа В (линия Victoria) с содержанием гемагглютинаина 5 мкг азоксимера бромид (полиоксидоний®; субстанция-лиофилизат) 500 мкг.

Методы: проведено количественное определение anti-RBD антител класса IgG к SARS-CoV-2 (нейтрализующие AT IgG к RBD домену S-белка, количественные (Architect, Abbott, США), референсные значения более 3500 AU/мл – высокая вируснейтрализующая активность; менее 3500 AU/мл – вируснейтрализующая активность низкая; метод количественный; исследуемый материал – сыворотка крови).

#### Статистика

Обработку результатов исследования проводили с применением программного пакета прикладных программ Microsoft Excel 2016. При сравнении средних величин рассчитывали t-критерий Стьюдента. Результаты качественных признаков выражены в абсолютных числах с указанием долей (%). Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Проведен ретроспективный анализ заболеваемости респираторными инфекциями в течение периода наблюдения (2023). В 1-й группе (28 человек) в течение 2 лет наблюдение более двух эпизодов ОРИ в год отмечено у 2 (7,2%) подростков, грипп В у одного (3,6%) человека, COVID-19 не отмечен, внебольничной пневмонии не было. Во 2-й (контрольной) группе в течение 2 лет наблюдения более двух эпизодов ОРИ в год отмечено у 16 (42,1%) подростков, грипп А отмечен у 5 (13,2%) подростков, грипп В отмечен у 2 (5,3%) подростков, заболевших COVID-19 – 5 человек (13,2%), внебольничная пневмония у 3 (7,8%) подростков в контрольной группе. При этом в сезон подъема заболеваемости респираторными инфекциями в 2022-2023 году обострения бронхиальной астмы на фоне респираторной инфекции наблюдали в 1-й группе у 2 подростков (16,7%) – обострения не потребовали госпитализации в стационар. Во

второй группе в аналогичный период обострения бронхиальной астмы на фоне респираторной инфекции наблюдали у 16 подростков (42,1%). У 10 пациентов (26,3%) обострения бронхиальной астмы потребовали госпитализации в стационар (5 человек с сопутствующим заболеванием грипп А и 5 подростков с сопутствующим диагнозом пневмония), из них у 2 человек с сопутствующим диагнозом пневмония обострения бронхиальной астмы были среднетяжелые и требовали проведения интенсивной терапии в первые два дня госпитализации.

У 28 человек через 1 и 6 месяцев после начала вакцинации проведено количественное определение титра anti-RBD IgG к SARS-CoV-2. При этом дети из 1-й группы, получившие вакцинацию против новой коронавирусной инфекции (12 человек), имели титр anti-RBD IgG к SARS-CoV-2 через 1 мес. после вакцинации  $45\,760,3 \pm 2796,54$  AU/мл и через 6 мес после вакцинации  $50109,3 \pm 8347,54$  AU/мл ( $p < 0,9$ ), статистически значимого падения уровня антител не было. Подростки из 2-й группы, не получившие вакцинации против новой коронавирусной инфекции (16 человек) имели титр anti-RBD IgG к SARS-CoV-2 через 1 мес. после вакцинации  $10350,0 \pm 6895,28$  AU/мл и через 6 мес. после вакцинации  $24309,1 \pm 895,28$  AU/мл ( $p < 0,05$ ), наблюдалось статистически значимое увеличение уровня антител. В то же время и через 1 мес. и через 6 мес. после вакцинации против новой коронавирусной инфекции мы наблюдали статистически значимую разницу в формировании поствакцинального (вероятно, гибридного) иммунитета между привитыми и не привитыми против новой коронавирусной инфекции: соответственно через 1 мес. титр anti-RBD IgG к SARS-CoV-2 в 1-й группе  $45\,760,3 \pm 2796,54$  AU/мл и во 2-й группе  $10350,0 \pm 6895,28$  AU/мл ( $p < 0,0004$ ), через 6 мес. в 1-й группе  $50109,3 \pm 8347,54$  AU/мл и во 2-й группе  $24309,1 \pm 895,28$  AU/мл ( $p < 0,02$ ).

Рост аллергических заболеваний, особенности течения атопического процесса у подростков диктует поиск методов расширения комплекса мероприятий, направленных на специфическую профилактику инфекций, позволяющий более эффективно контролировать течение заболевания. Ограничениями проведенного нами исследования являются одноцентровой характер проведения исследования, малый объем выборки.

Результаты проведенной нами иммунизации у данной категории детей свидетельствуют о формировании поствакцинального иммунитета у детей с аллергической патологией, получивших вакцинацию против новой коронавирусной инфекции и иммунитета после возможно перене-



сенной новой коронавирусной инфекции в анамнезе у не получивших вакцинацию, при этом мы наблюдали статистически значимую разницу в пользу более высокого титра anti-RBD IgG к SARS-CoV-2 у привитых по отношению к непривитым подросткам с бронхиальной астмой. Иммунологические показатели свидетельствовали о статистически значимом нарастании через 6 месяцев среди не получивших иммунизацию детей титра anti-RBD IgG к SARS-CoV-2 вследствие перенесенной новой коронавирусной инфекции.

Клинические показатели свидетельствовали о благоприятном течении atopического процесса и контроле обострений бронхиальной астмы у подростков, получивших вакцинацию и против новой коронавирусной инфекции и против гриппа, в то время как не получившие вакцинацию против данных вирусных инфекций имели обострения бронхиальной астмы, обусловленные респираторной инфекцией.

## Заключение

В настоящее время наблюдается тенденция к увеличению количества случаев заболевания у детей, требующих стационарного лечения (в том числе в условиях отделений интенсивной терапии и реанимации). Увеличение длительности вирусывыделения у пациентов с новой коронавирусной инфекцией ставят перед медицинским сообществом новые задачи, связанные с необходимостью дальнейшего наблюдения за клинико-эпидемиологическими особенностями новой коронавирусной инфекции в условиях сезонных подъемов заболеваемости другими респираторными инфекциями в популяции [3].

Полученные результаты свидетельствуют о статистически значимых различиях формирования антител anti-RBD IgG к SARS-CoV-2 между группой подростков с бронхиальной астмой, получивших вакцинацию против новой корона-

русной инфекции и не привитых против нее. В течение периода наблюдения через 6 месяцев среди не получивших иммунизацию детей наблюдается статистически значимый прирост титра anti-RBD IgG к SARS-CoV-2 вследствие перенесенной новой коронавирусной инфекции. Клинические показатели свидетельствовали о благоприятном течении atopического процесса и контроле обострений бронхиальной астмы у подростков, получивших вакцинацию и против новой коронавирусной инфекции и против гриппа, в то время как не получившие вакцинацию против данных вирусных инфекций имели обострения бронхиальной астмы, обусловленные респираторной инфекцией. Также среди пациентов с бронхиальной астмой, получивших вакцинацию против гриппа, не отмечено случаев гриппа А и обострений бронхиальной астмы на фоне респираторных инфекций. Обращает внимание отсутствие среди подростков, получивших вакцинацию констатации заболевания новой коронавирусной инфекцией в течение года после иммунизации. В то же время через 6 месяцев после вакцинации против новой коронавирусной инфекции мы наблюдали у подростков, не получивших вакцинации статистически значимое увеличение уровня антител, которое свидетельствовало о наличии высокой вируснейтрализующей активности.

В этой связи вакцинация против гриппа является мероприятием по поддержанию достаточных показателей контроля обострений астмы. Вакцинация против новой коронавирусной инфекции у пациентов с бронхиальной астмой может рассматриваться как возможная.

## Благодарности

Автор выражает слова благодарности сотрудникам БУ «Городская детская клиническая больница» Минздрава Чувашии, внесшим значительный вклад в проведение данного исследования.

## Список литературы / References

1. Антонов Н.С., Сахарова Г.М., Русакова Л.И., Салагай О.О. Динамика заболеваемости болезнями органов дыхания среди населения Российской Федерации в 2010-2022 гг. // *Медицина*, 2023. Т. 11, № 3. С. 1-17. [Antonov N.S., Sakharova G.M., Rusakova L.I., Salagai O.O. Dynamics of the incidence of respiratory diseases among the population of the Russian Federation in 2010-2022. *Meditina = Medicine*, 2023, Vol. 11, no. 3, pp. 1-17. (In Russ.)]
2. Горячкина Л.А., Ненашева Н.М., Тотикова М.Ч., Шмелева Н.В. Особенности бронхиальной астмы у подростков мужского пола // *Пульмонология*, 2008. № 2. С. 15-19. [Goryachkina L.A., Nenasheva N.M., Totikova M.Ch. Shmeleva N.V. Features of bronchial asthma in male adolescents. *Pulmonologiya = Pulmonology*, 2008, no. 2, pp. 15-19. (In Russ.)]
3. Тарасова А.А., Костинов М.П., Квасова М.А. Вакцинация детей против новой коронавирусной инфекции и тактика иммунизации у пациентов с хроническими заболеваниями // *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*, 2021. Т. 100, № 6. С. 15-22. [Tarasova A.A., Kostinov M.P., Kvasova M.A. Vaccination of children

against new coronavirus infection and immunization tactics in patients with chronic diseases. *Pediatrics. G. N. Speransky Journal*, 2021, Vol. 100, no. 6, pp. 15-22. (In Russ.)

4. ФГБУ «ЦНИИОИЗ» Минздрава России – Главная страница. (n.d.). Retrieved February 9, 2024. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://mednet.ru/>. [FSBI “TSNIIOIZ” of the Ministry of Health of the Russian Federation – Home page. (n.d.)]. Retrieved February 9, 2024. [Electronic resource]. Access mode: <https://mednet.ru/>.

5. Salmeron S., Liard R., Elkharrat D., Asthma severity and adequacy of management in accident and emergency departments in France: A prospective study. *Lancet*, 2001, Vol. 358, no. 9282, pp. 629-635.

---

**Автор:**

*Андреева Н.П.* – к.м.н., доцент кафедры организации здравоохранения и информационных технологий ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», г. Чебоксары, Чувашская Республика, Россия

**Author:**

*Andreeva N.P.*, PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Healthcare Organization and Information Technologies in Medicine, Chuvash State University, Cheboksary, Chuvash Republic, Russian Federation

Поступила 29.03.2024

Отправлена на доработку 03.04.2024

Принята к печати 25.04.2024

Received 29.03.2024

Revision received 03.04.2024

Accepted 25.04.2024

## НОВАЯ КОНЦЕПЦИЯ ПРОФИЛАКТИКИ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Борисов А.Г.<sup>1</sup>, Тихонова Е.П.<sup>2</sup>, Костромина Р.А.<sup>2</sup>,  
Анисимова Е.Н.<sup>1</sup>, Садовский И.С.<sup>1</sup>, Бронникова Е.П.<sup>1</sup>,  
Перетятко О.В.<sup>1</sup>, Савченко А.А.<sup>1</sup>

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

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

**Резюме.** Медицинский персонал и члены семей пациентов с острыми респираторными заболеваниями (ОРЗ) во время эпидемий или пандемий подвергаются повышенному риску инфицирования.

Целью исследования явилась оценка эффективности применения IFN $\alpha$ -2b для профилактики ОРВИ у лиц, находящихся в очаге инфекции (медицинский персонал и члены их семей).

Обследованы 31 больной ОРЗ и 117 человек из их окружения. Обследуемые проходили клинический осмотр и лабораторные исследования, включающие клинический анализ крови и определение содержания основных популяций и субпопуляций лимфоцитов в крови. Лица, контактирующие с больными ОРЗ, были разделены на три группы: лица, получавшие препарат «Гриппферон» в лечебной дозе в течение 7 дней; лица, получавшие препарат «Гриппферон» в профилактической дозе в течение 7 дней; лица, контактирующие с больными ОРЗ, но не получавшие препарат «Гриппферон».

При оценке состояния иммунной системы установлено, что наиболее частым типом реакции иммунитета у больных и их окружения была активация врожденного иммунитета (в 48,39% и 66,67% соответственно). В то же время иммунодефицит в группе больных ОРЗ выявлялся значительно чаще, чем у лиц, контактирующих с ними. Кроме того, у больных был чаще установлен моноцитоз (в 1,4 раза), Т-лимфоцитопения (в 2,1 раза) и увеличение количества регуляторных Т-лимфоцитов (в 7,6 раза). Более чем у 50% обследованных в обеих группах выявлялось увеличение количества НК-клеток в крови. Обследование лиц, контактирующих с больными ОРЗ, через 7 дней применения препарата «Гриппферон» в разных дозах позволило установить, что наиболее низкая частота симптомов ОРВИ была установлена в группе, получавшей IFN в лечебной дозе. В группе, получавшей IFN в профилактической дозе, частота симптомов ОРВИ выявлялась почти у 40% обследованных. Более 80% лиц из группы, не получавшие препарат «Гриппферон», имели симптомы ОРВИ через неделю контакта с больными ОРЗ.

Таким образом, в качестве новой концепции профилактики ОРЗ предлагается применение IFN в лечебных дозах в период эпидемии для лиц, контактирующих с больными.

**Ключевые слова:** острые респираторные инфекции, профилактика, IFN $\alpha$ -2b, медицинский персонал, очаг инфекции, иммунитет

### Адрес для переписки:

Борисов Александр Геннадьевич  
Научно-исследовательский институт  
медицинских проблем Севера  
660022, Россия, г. Красноярск,  
ул. Партизана Железняка, 3г.  
Тел.: 8 (929) 355-29-39.  
E-mail: 2410454@mail.ru

### Address for correspondence:

Alexander G. Borisov  
Research Institute of Medical Problems of the North  
3g Partizan Zheleznyak St  
Krasnoyarsk  
660022 Russian Federation  
Phone: +7 (929) 355-29-39.  
E-mail: 2410454@mail.ru

### Образец цитирования:

А.Г. Борисов, Е.П. Тихонова, Р.А. Костромина,  
Е.Н. Анисимова, И.С. Садовский, Е.П. Бронникова,  
О.В. Перетятко, А.А. Савченко «Новая концепция  
профилактики острых респираторных инфекций»  
// Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27,  
№ 4. С. 1041-1048.  
doi: 10.46235/1028-7221-16850-NCF

© Борисов А.Г. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

### For citation:

A.G. Borisov, E.P. Tikhonova, R.A. Kostromina,  
E.N. Anisimova, I.S. Sadowsky, E.P. Bronnikova,  
O.V. Peretyatko, A.A. Savchenko “New concept for  
the prevention of acute respiratory infections”, *Russian Journal  
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal*, 2024,  
Vol. 27, no. 4, pp. 1041-1048.  
doi: 10.46235/1028-7221-16850-NCF

© Borisov A.G. et al., 2024

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16850-NCF

## NEW CONCEPT FOR THE PREVENTION OF ACUTE RESPIRATORY INFECTIONS

**Borisov A.G.<sup>a</sup>, Tikhonova E.P.<sup>b</sup>, Kostromina R.A.<sup>b</sup>, Anisimova E.N.<sup>a</sup>, Sadowsky I.S.<sup>a</sup>, Bronnikova E.P.<sup>a</sup>, Peretyatko O.V.<sup>a</sup>, Savchenko A.A.<sup>a</sup>**

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

<sup>b</sup> *V. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation*

**Abstract.** Medical personnel and family members of patients with acute respiratory diseases (ARD) are at increased risk of infection during epidemics or pandemics. In this regard, it is necessary to develop and implement accessible preventive measures. The aim of the study was to evaluate the effectiveness of the use of IFN $\alpha$ -2b for the prevention of acute respiratory viral infections in persons located at the source of infection (medical personnel and members of their families).

Patients (n = 31) with acute respiratory infections and 117 people from their environment (family members in constant contact with patients) were examined. The subjects underwent a clinical examination and laboratory tests a clinical blood test and a study of the content of the main populations and subpopulations of lymphocytes in the blood. Persons in contact with ARD patients were divided into three groups: persons who received the drug "Grippferon" for 7 days; persons who received the drug "Grippferon" in a prophylactic dose for 7 days; persons in contact with patients with ARD but who have not received the drug "Grippferon".

When assessing the state of the immune system, it was found that the most common type of immune reaction in patients and their people around was activation of innate immunity (48.39% and 66.67%, respectively). At the same time, immunodeficiency in the group of patients with ARD was detected much more often than in persons in contact with them. In addition, patients were more likely to have monocytosis (1.4 times), T lymphocytopenia (2.1 times) and an increase in the number of regulatory T lymphocytes (7.6 times). More than 50% of those examined in both groups showed an increase in the number of NK cells in the blood. An examination of persons in contact with patients with ARD after 7 days of using the "Grippferon" in different doses revealed that the lowest frequency of acute respiratory viral infections symptoms was found in the group receiving IFN at a therapeutic dose. In the group receiving IFN in a prophylactic dose, the frequency of acute respiratory viral infection (ARVI) symptoms was detected in almost 40% of those examined. More than 80% of people from the group who did not receive the "Grippferon" had symptoms of ARVI after a week of contact with patients with ARD.

Thus, the use of IFN in therapeutic doses during the epidemic for persons in contact with patients is proposed as a new concept for the prevention of ARD.

*Keywords: acute respiratory infections, prevention, IFN $\alpha$ -2b, medical staff, focus of infection, immunity*

### Введение

Основной причиной острых респираторных заболеваний (ОРЗ) у людей являются респираторные вирусные инфекции, такие как вирус гриппа, респираторно-синцитиальный вирус, метапневмовирус человека, вирус парагриппа, риновирус и коронавирус человека и другие [1, 3]. Их особенностью является способность к быстрому распространению среди населения, что связано с воздушно-капельным механизмом пе-

редачи и появлением новых штаммов вирусов [4, 12]. Все эти факторы представляют угрозу не только здоровью населения, но и здравоохранению, приводя к социально-экономическому ущербу и способствуя возникновению эпидемий и пандемий. Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) также могут сопровождаться развитием вторичной бактериальной инфекции (внебольничной пневмонии, синуситы, бронхоолиты), острого респираторного дистресс-синдрома, ко-



торые часто имеют тяжелое клиническое течение и могут привести к неблагоприятному исходу [1, 7]. В частности, на примере COVID-19 было показано, что не исключается появление внелегочных осложнений, в том числе сердечно-сосудистых заболеваний [4]. Наличие сопутствующей патологии (ожирение и хронические заболевания легких и сердца, неврологические заболевания, метаболические нарушения), повышает риск неблагоприятного исхода после ОРВИ [3, 13].

Особому риску во время эпидемий или пандемий подвергаются работники здравоохранения, что связано с работой в людных местах и тесным контактом с инфицированными пациентами [12]. Следовательно, необходима разработка и внедрение доступных профилактических мероприятий, когда существующие методы лечения и вакцины не могут обеспечить полную, немедленно доступную защиту людям, находящимся в тесном контакте с источником инфекции в период наибольшего выделения вируса в окружающую среду.

Известно, что интерфероны (IFN) I типа обладают выраженной противовирусной активностью [1, 5]. На сегодняшний день, препараты IFN уже используются при лечении больных с различными вирусными инфекциями [10, 14]. Однако в качестве препаратов профилактики, особенно для лиц, контактирующих с больными ОРВИ, IFN еще не применяются.

Целью исследования явилась оценка эффективности применения интерферона альфа-2b для профилактики ОРВИ у лиц, находящихся в очаге инфекции (медицинский персонал и члены их семей).

На базе клиники НИИ медицинских проблем Севера (Федеральный научный центр «Красноярский научный центр» Сибирского отделения РАН) и инфекционного отделения КГБУЗ «Красноярская межрайонная клиническая больница скорой медицинской помощи имени Н.С. Карповича» г. Красноярск были обследованы 31 больной ОРЗ (врачи и медсестры, 21 женщина и 10 мужчин, средний возраст  $45,3 \pm 15,2$ ) и 117 человек из их окружения (члены семей, постоянно контактирующих с больными, 77 женщин и 40 мужчин, средний возраст  $44,7 \pm 15,9$  лет). Все участники соответствовали критериям включения: подписанное добровольное согласие, отсутствие противопоказаний к применению препарата «Гриппферон» для группы, получающей профилактику IFN (индивидуальная непереносимость препаратов IFN и компонентов, входящих в состав препарата, тяжелые формы аллергических заболеваний), отсутствие в анамнезе участия в клиническом испытании других лекарственных препаратов, в том числе препаратов IFN и индукторов IFN не менее чем за 30 дней до включения в настоящее исследование, намере-

ние на время участия не принимать других лекарственных препаратов для профилактики гриппа и ОРВИ. Больные ОРЗ были обследованы в острый период заболевания, в период постановки диагноза. Все 117 человек, контактирующих с больными (Окружение), были обследованы дважды. В начале исследования – совместно с группой больных ОРЗ. Все обследуемые в этот период проходили клинический осмотр, термометрию, анкетирование на выявление симптомов респираторной инфекции и заполняли комплексный опросник оценки состояния здоровья. Для всех обследуемых проводился клинический анализ крови и исследование содержания основных популяций и субпопуляций лимфоцитов в крови. Затем лица, контактирующие с больными ОРЗ (Окружение), были разделены на три группы: Группа 1 – лица, получавшие препарат «Гриппферон» (спрей назальный 500 МЕ, 10 мл) в лечебной дозе (по 3 дозы (1500 МЕ) в каждый носовой ход 5 раз в день) в течение 7 дней; Группа 2 – лица, получавшие препарат «Гриппферон» в профилактической дозе (по 3 дозы (1500 МЕ) в каждый носовой ход 2 раза в день) в течение 7 дней; Группа 3 – лица, контактирующие с больными ОРЗ, но не получавшие препарат «Гриппферон». Через 7 дней все лица, контактирующие с больными ОРЗ, проходили повторный клинический осмотр, термометрию и анкетирование.

Все обследуемые подписывали информированное добровольное согласие на участие в исследовании. Исследование проведено с разрешения Этического комитета Федерального исследовательского центра «Красноярский научный центр СО РАН» (протокол № 4 от 08.02.2019 г.) и соответствовало требованиям Хельсинкской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека».

Исследование фенотипа лейкоцитов в развернутом анализе крови осуществляли на гематологическом анализаторе Sysmex ХЕ-5000 (Sysmex Inc., США). По соотношению абсолютного количества лимфоцитов и общих лейкоцитов в крови определяли тип реакции иммунитета [1].

Исследование популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов крови проводили методом проточной цитометрии при использовании прямой иммунофлуоресценции с применением моноклональных антител (Beckman Coulter, США), меченных FITC (fluorescein isothiocyanate), PE или RD1 (phycoerythrin), ECD (phycoerythrin-Texas Red-X), PC5 (phycoerythrin-cyanin 5) и PC7 (phycoerythrin-cyanin 7) в следующих панелях: CD45-FITC/CD56-RD1/CD19-ECD/CD3-PC5/HLA-DR-PC7, CD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5 и CD62L-FITC/CD127-PE/CD3-ECD/CD25-PC5/CD4-PC7. Распределение антител по каналам флуоресценции проводили в

соответствие с принципами формирования панелей для многоцветных цитофлуориметрических исследований [2]. Пробоподготовку осуществляли по стандартной методике. Лизис эритроцитов проводили по безотмывочной технологии с использованием реагента VersLyse (Beckman Coulter, США). Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре Navios (Beckman Coulter, США) центра коллективного пользования КНЦ СО РАН. В каждой пробе анализировали не менее 50 000 лимфоцитов.

По результатам исследования в пакете электронных таблиц MS Excel 2010 была сформирована база данных, на основе которой с помощью пакетов прикладных программ Statistica 8 (StatSoft, США, 2007) производился статистический анализ. Сравнимые выборки описывали в процентах и абсолютных значениях. Достоверность различий между группами обследованных лиц осуществляли по точному критерию Фишера (Fisher's exact test).

В острый период ОРЗ у всех лиц, контактирующих с больными (члены семьи), симптомы ОРЗ не выявлялись (табл. 1). При оценке состояния иммунной системы по развернутому ана-

лизу крови и результатам проточной цитометрии в этот период обследования установлено, что наиболее частым типом реакции иммунитета у больных и их окружения была активация врожденного иммунитета (в 48,39% и 66,67% соответственно). В то же время иммунодефицит в группе больных ОРЗ выявлялся значительно чаще (в 2,7 раза по частоте), чем у лиц, контактирующих с ними. Кроме того, у больных был чаще установлен моноцитоз (в 1,4 раза), Т-лимфоцитопения (в 2,1 раза) и увеличение количества регуляторных Т-лимфоцитов (в 7,6 раза). Необходимо отметить, что более чем у 50% обследованных в обеих группах выявлялось увеличение количества НК-клеток в крови.

В целом состояние крови и иммунитета у больных ОРЗ отражают наличие острого инфекционного процесса. В частности, моноцитоз и Т-лимфоцитопения часто выявляются при вирусных инфекциях [1, 11]. Регуляторные Т-клетки являются ключевыми в контроле развития гипериммунных состояний. Считается, что их количество возрастает на заключительных этапах иммунного ответа [1, 6]. Однако в нашем исследовании, увеличение количества регуля-

ТАБЛИЦА 1. ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕННЫХ СИМПТОМОВ У БОЛЬНЫХ ОРЗ И У ИХ ОКРУЖЕНИЯ (АБС.%)

TABLE 1. FREQUENCY OF IDENTIFIED SYMPTOMS IN PATIENTS WITH ARD AND PEOPLE AROUND THEM (ABS.%)

Симптомы Symptoms	Больные Patients, n = 31	Окружение People around n = 117	p
Усталость Fatigue	31/100,0	0/0	< 0,001
Головная боль Headache	25/80,65	0/0	< 0,001
Высокая температура Heat	20/64,52	0/0	< 0,001
Ринорея Rhinorrhoea	28/90,32	0/0	< 0,001
Больное горло Sore throat	30/96,77	0/0	< 0,001
Кашель Cough	15/48,39	0/0	< 0,001
Одышка Dyspnea	3/9,68	0/0	0,008
Миалгия Myalgia	12/38,71	0/0	< 0,001
Тошнота или рвота Nausea or vomiting	5/16,13	0/0	< 0,001
Диарея Diarrhea	3/9,68	0/0	0,008

Примечание. Достоверность различий по частоте симптомов между группами обследованных осуществлялась по точному критерию Фишера.

Note. The significance of differences in the frequency of symptoms between the groups of patients was carried out using Fisher's exact test.

**ТАБЛИЦА 2. КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ ОРЗ И ИХ ОКРУЖЕНИЯ (АБС.%)**

TABLE 2. CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS WITH ACUTE RESPIRATORY INFECTIONS AND PEOPLE AROUND THEM (ABS.%)

Признаки иммунной дисфункции Signs of immune dysfunction	Больные Patients n = 31	Окружение People around n = 117	p
Активация врожденного иммунитета Activation of innate immunity	15/48,39	78/66,67	0,093
Активация адаптивного иммунитета Activation of adaptive immunity	6/19,35	24/20,51	1,000
Ареактивность Areactivity	2/6,45	4/3,42	0,606
Иммунодефицит Immunodeficiency	8/25,81	11/9,40	0,030
Моноцитоз Monocytosis	24/77,42	63/53,85	0,023
Т-лимфоцитопения T lymphocytopenia	17/54,84	31/26,50	0,005
Диспропорция между Т-хелперами и цитотоксическими Т-клетками Disproportion between T helper cells and cytotoxic T cells	11/35,48	43/36,75	1,000
Увеличение количества регуляторных Т-клеток Increasing the number of regulatory T cells	6/19,35	3/2,56	0,003
Увеличение количества НК-клеток Increased number of NK cells	18/58,06	65/55,56	0,841

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

торных Т-лимфоцитов было обнаружено более чем у 19% больных ОРЗ. Следовательно, инфекционный процесс в данном случае мог развиваться уже на фоне высокого уровня клеток с иммуносупрессорной функцией. Тем более что в группе клинически здоровых лиц, контактирующих с больными ОРЗ, повышенное содержание регуляторных Т-клеток было выявлено в 2,56% случаев.

НК-клетки (Natural Killer) являются ключевыми клетками врожденного иммунитета, осуществляющие функцию противовирусной защиты [1, 8]. Количество лимфоцитов данной популяции повышается в самом начале инфекционного процесса. Также необходимо отметить, что под действием IFN функциональная активность НК-клеток значительно возрастает [1, 3]. В исследовании Lee A.J. и соавт. (2019) показано, что на фоне вирусной инфекции IFN прямыми и опосредованными (вовлекая провоспалительные моноциты) стимулирует функциональную

активность НК-клеток [9]. Однако в нашем исследовании повышенное содержание НК-клеток установлено практически на равном уровне как у больных ОРЗ, так и у клинически здоровых лиц их окружающих. При этом моноцитоз и повышенное количество НК-клеток было выявлено более чем у половины обследованных в группе «Окружение». Можно предположить, что часть обследованных из группы, контактирующих с больными ОРЗ, в начальный период исследования уже инфицированы респираторными вирусами, в связи с чем с помощью лабораторных методов (анализ крови и проточная цитометрия) у них наблюдаются самые ранние признаки иммунного реагирования, но при отсутствии клинических признаков заболевания.

Обследование всех трех группы лиц, контактирующих с больными ОРЗ, через 7 дней применения препарата «Гриппферон» в разных дозах позволило установить следующее. Наиболее низ-

**ТАБЛИЦА 3. ЧАСТОТА СИМПТОМОВ ОРЗ У ЛИЦ, ПОЛУЧАВШИХ ЛЕЧЕБНУЮ (ГРУППА 1) И ПРОФИЛАКТИЧЕСКУЮ ДОЗЫ IFN (ГРУППА 2), А ТАКЖЕ НЕ ПОЛУЧАВШИХ ПРЕПАРАТ (АБС.%)**

TABLE 3. FREQUENCY OF ARD SYMPTOMS IN INDIVIDUALS WHO RECEIVED THERAPEUTIC (GROUP 1) AND PROPHYLACTIC DOSES OF IFN (GROUP 2), AS WELL AS THOSE WHO DID NOT RECEIVE THE DRUG (ABS.%)

Симптомы Symptoms	Группа 1 Group 1 n = 47	Группа 2 Group 2 n = 38	Группа 3 Group n = 32	p
Проявления ОРВИ, в т. ч. Manifestations of ARVI, incl.	2/4,26	15/39,47	26/81,25	$p_{1/2} < 0,001$ $p_{1/3} < 0,001$ $p_{2/3} < 0,001$
Усталость Fatigue	1/2,13	15/39,47	25/78,13	$p_{1/2} < 0,001$ $p_{1/3} < 0,001$ $p_{2/3} = 0,061$
Головная боль Headache	1/2,13	11/28,95	20/62,50	$p_{1/2} < 0,001$ $p_{1/3} < 0,001$ $p_{2/3} = 0,008$
Высокая температура Heat	0/0	3/7,89	15/46,88	$p_{1/2} = 0,085$ $p_{1/3} < 0,001$ $p_{2/3} < 0,001$
Ринорея Rhinorrhea	2/4,26	12/31,58	25/78,13	$p_{1/2} = 0,002$ $p_{1/3} < 0,001$ $p_{2/3} < 0,001$
Больное горло Sore throat	2/4,26	11/28,95	26/81,25	$p_{1/2} < 0,001$ $p_{1/3} < 0,001$ $p_{2/3} < 0,001$
Кашель Cough	0/0	5/13,16	14/43,75	$p_{1/2} = 0,015$ $p_{1/3} < 0,001$ $p_{2/3} = 0,004$
Одышка Dyspnea	0/0	0/0	2/6,25	$p_{1/2} = 1,000$ $p_{1/3} = 0,161$ $p_{2/3} = 0,205$
Миалгия Myalgia	0/0	1/2,63	9/28,13	$p_{1/2} = 0,447$ $p_{1/3} < 0,001$ $p_{2/3} = 0,004$
Тошнота и/или рвота и/или диарея Nausea and/or vomiting and/or diarrhea	0/0	0/0	5/15,63	$p_{1/2} = 1,000$ $p_{1/3} = 0,009$ $p_{2/3} = 0,017$

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

кая частота симптомов ОРВИ была установлена в группе 1 (получавшие IFN в лечебной дозе) (табл. 3). Наиболее часто у лиц данной группы выявлялась ринорея и больное горло. В группе 2 (получавшие IFN в профилактической дозе) частота симптомов ОРВИ выявлялась почти у 40% обследованных. Наиболее частыми симптомами в этой группе были усталость и ринорея. Более 80% лиц из группы 3 (не получавшие препарат «Гриппферон») имели симптомы ОРВИ через неделю контакта с больными ОРЗ.

Таким образом, при обследовании пациентов с ОРЗ в острый период заболевания и здоровых людей, контактирующих с ними, установлено,

что у больных на фоне проявления основных симптомов ОРВИ состояние иммунной системы характеризуется Т-лимфоцитопенией (более чем у половины пациентов), моноцитозом (более чем у 70% больных) и иммунодефицитом (у каждого четвертого). При этом у лиц, контактирующих с больными ОРЗ, при отсутствии клинических симптомов ОРВИ также выявляются изменения в иммунной системе, позволяющие предположить развитие начальных этапов инфекционного процесса (активация врожденного иммунитета и увеличение количества НК-клеток более чем у половины из обследованных). После применения препарата «Гриппферон» обнаружено, что



минимальная частота проявления ОРВИ была только у лиц, получавших IFN в лечебных дозах (4,26%), тогда как при применении профилактических доз симптомы ОРВИ выявлялись почти у 40% обследованных. Соответственно, мы предлагаем новую концепцию профилактики ОРЗ,

которая заключается в применении лечебных доз IFN в период эпидемии для лиц, контактирующих с больными (врачи, члены семей), что позволит сохранить здоровье у контактирующих и значительно снизить распространение инфекции в эпидемический период.

## Список литературы / References

1. Козлов В.А., Тихонова Е.П., Савченко А.А., Кудрявцев И.В., Андропова Н.В., Анисимова Е.Н., Головкин А.С., Демина Д.В., Здзитовецкий Д.Э., Калинина Ю.С., Каспаров Э.В., Козлов И.Г., Корсунский И.А., Кудлай Д.А., Кузьмина Т.Ю., Миноранская Н.С., Продеус А.П., Старикова Э.А., Черданцев Д.В., Чесноков А.Б., Шестерня П.А., Борисов А.Г. Клиническая иммунология. Практическое пособие для инфекционистов. Красноярск: Поликор, 2021. 563 с. [Kozlov V.A., Tikhonova E.P., Savchenko A.A., Kudryavtsev I.V., Andronova N.V., Anisimova E.N., Golovkin A.S., Demina D.V., Zdzitovetsky D. E., Kalinina Yu.S., Kasparov E.V., Kozlov I.G., Korsunsky I.A., Kudlai D.A., Kuzmina T.Yu., Minoranskaya N.S., Prodeus A.P., Starikova E.A., Cherdantsev D.V., Chesnokov A.B., Shesternya P.A., Borisov A.G. Clinical immunology. A practical guide for infectious disease specialists]. Krasnoyarsk: Policor, 2021, 560 p.
2. Кудрявцев И.В., Субботовская А.И. Опыт измерения параметров иммунного статуса с использованием шестицветного цитофлуориметрического анализа // Медицинская иммунология, 2015. Т. 17, № 1. С. 19-26. xKudryavtsev 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.
3. Acosta P.L., Byrne A.B., Hijano D.R., Talarico L.B. Human type I interferon antiviral effects in respiratory and reemerging viral infections. *J. Immunol. Res.*, 2020, Vol. 2020, 1372494. doi: 10.1155/2020/1372494.
4. Çelik I., Saatçi E., Eyüboğlu A.F. Emerging and reemerging respiratory viral infections up to Covid-19. *Turk. J. Med. Sci.*, 2020, Vol. 50, SI-1, pp. 557-562.
5. Drouin A., Wallbillich N., Theberge M., Liu S., Katz J., Bellovoda K., Se Yun Cheon S., Gootkind F., Bierman E., Zavras J., Berberich M.J., Kalocsay M., Guastaldi F., Salvadori N., Troulis M., Fusco D.N. Impact of Zika virus on the human type I interferon osteoimmune response. *Cytokine*, 2021, Vol. 137, 155342. doi: 10.1016/j.cyt.2020.155342.
6. Hardtke-Wolenski M., Landwehr-Kenzel S. Tipping the balance in autoimmunity: are regulatory t cells the cause, the cure, or both? *Mol. Cell. Pediatr.*, 2024, Vol. 11, no. 1, 3. doi: 10.1186/s40348-024-00176-8.
7. Kikkert M. Innate Immune Evasion by Human Respiratory RNA Viruses. *J. Innate Immun.*, 2020, Vol. 12, no. 1, pp. 4-20.
8. Kim J.T., Bresson-Tan G., Zack J.A. Current Advances in Humanized Mouse Models for Studying NK Cells and HIV Infection. *Microorganisms*, 2023, Vol. 11, no. 8, 1984. doi: 10.3390/microorganisms11081984.
9. Lee A.J., Mian F., Poznanski S.M., Stackaruk M., Chan T., Chew M.V., Ashkar A.A. Type I Interferon Receptor on NK Cells Negatively Regulates Interferon- $\gamma$  Production. *Front. Immunol.*, 2019, Vol. 10, 1261. doi: 10.3389/fimmu.2019.01261.
10. Ma D., Wang X., Li M., Hu C., Tang L. Reconsideration of interferon treatment for viral diseases: Lessons from SARS, MERS, and COVID-19. *Int. Immunopharmacol.*, 2023, Vol. 121, 110485. doi: 10.1016/j.intimp.2023.110485.
11. Mo Y., To K.K., Zhou R., Liu L., Cao T., Huang H., Du Z., Lim C.Y.H., Yim L.Y., Luk T.Y., Chan J.M., Chik T.S., Lau D.P., Tsang O.T., Tam A.R., Hung I.F., Yuen K.Y., Chen Z. Mitochondrial dysfunction associates with acute T lymphocytopenia and impaired functionality in COVID-19 patients. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 12, 799896. doi: 10.3389/fimmu.2021.799896.
12. Scantling-Birch Y., Newton R., Naveed H., Rajak S., Bhutta M.F. Healthcare worker protection against epidemic viral respiratory disease. *Postgrad. Med. J.*, 2022, Vol. 98, Vol. 1156, pp. 131-137.
13. Wei X., Narasimhan H., Zhu B., Sun J. Host recovery from respiratory viral infection. *Annu. Rev. Immunol.*, 2023, Vol. 41, pp. 277-300.
14. Yang Z., Sun B., Xiang J., Wu H., Kan S., Hao M., Chang L., Liu H., Wang D., Liu W. Role of epigenetic modification in interferon treatment of hepatitis B virus infection. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 1018053. doi: 10.3389/fimmu.2022.1018053.

**Авторы:**

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

**Тихонова Е.П.** — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом постдипломного образования ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия

**Костромина Р.А.** — ординатор кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом постдипломного образования ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия

**Анисимова Е.Н.** — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр “Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук”», г. Красноярск, Россия

**Садовский И.С.** — младший научный сотрудник лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр “Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук”», г. Красноярск, Россия

**Бронникова Е.П.** — к.б.н., заместитель директора по научно-организационной работе, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр “Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук”», г. Красноярск, Россия

**Перетьяко О.В.** — к.м.н., заведующая клинико-диагностической лабораторией, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр “Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук”», г. Красноярск, Россия

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

**Authors:**

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

**Tikhonova E.P.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Infectious Diseases and Epidemiology with a Course of Postgraduate Education, V. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation

**Kostromina R.A.**, Resident Doctor, Department of Infectious Diseases and Epidemiology with a Course of Postgraduate Education, V. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation

**Anisimova E.N.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Cellular Molecular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

**Sadovsky I.S.**, Junior Research Associate, Laboratory of Cellular Molecular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

**Bronnikova E.P.**, PhD (Biology), Deputy Director for Scientific and Organizational Work, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

**Peretyatko O.V.**, PhD (Medicine), Head, Clinical Diagnostic Laboratory, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

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

Поступила 01.04.2024  
Отправлена на доработку 03.04.2024  
Принята к печати 25.04.2024

Received 01.04.2024  
Revision received 03.04.2024  
Accepted 25.04.2024

# ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТОЯНИЯ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА К COVID-19 ЖИТЕЛЕЙ АРХАНГЕЛЬСКА

Кригер Е.А.<sup>1</sup>, Самодова О.В.<sup>1</sup>, Самойликов Р.В.<sup>2</sup>, Щепина И.В.<sup>1,3</sup>

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

<sup>2</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

<sup>3</sup> ГБУЗ АО «Архангельская областная клиническая больница», г. Архангельск, Россия

**Резюме.** Пандемия COVID-19, вызванная коронавирусом SARS-CoV-2, оказала серьезное влияние на здравоохранение, общество и экономику по всему миру, включая Россию. Как один из методов профилактики COVID-19 в нашей стране были созданы несколько вакцин. Одной из самых массовых в России, а также получивших международное признание, стала вакцина «Гам-КОВИД-Вак» (Спутник V) и ее вариант «Спутник Лайт», который представляет собой ее первый компонент. Данная вакцина, как и аналогичные вакцины во многих странах, были применены в ходе пандемии. Целью данной работы стало изучение состояния гуморального иммунитета жителей Архангельска и влияние на него вакцинации. Нами было проведено исследование с участием 281 взрослых жителей Архангельска, отобранных случайным образом. Отбор образцов для исследования проводился в октябре 2022 года, куда попали как вакцинированные люди, так и нет. Медиана от времени последней вакцинации/ревакцинации до забора образцов составляла 10 месяцев. В образцах проводилось исследование уровня IgG к рецептор-связывающему домену S-белка SARS-CoV-2. В работе проведена оценка состояния гуморального иммунитета среди жителей Архангельска. Показано, что на октябрь 2022 г. в Архангельске среди обследуемых зафиксированы высокие значения IgG вероятно всего вызванные контактом с вирусом SARS-CoV-2. Описано состояние гуморального иммунитета невакцинированных жителей, как перенесших COVID-19, так и нет, показано достоверное увеличение уровня IgG среди вакцинированных по отношению к непривитым, несмотря на то, что среднее время после вакцинации составляло более 10 месяцев. Проведен сравнительный анализ уровня IgG среди разных возрастных групп. В исследовании не выявлено различия в уровне поствакцинальных антител среди людей старше 65 по отношению к более молодым возрастным группам. Статистически значимых различий по уровню антител среди непривитых людей старше 65 по отношению к более молодым возрастным группам так же не выявлено.

**Ключевые слова:** COVID-19, SARS-CoV-2, IgG, Гам-КОВИД-Вак, Спутник V, Спутник Лайт, вакцина, Архангельск, гуморальный иммунитет

## Адрес для переписки:

Самойликов Роман Владимирович  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт  
вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»  
105064, Россия, Москва, Малый Казенный пер., 5а.  
Тел.: 8 (926) 594-83-97.  
E-mail: Roma\_sam78@mail.ru

## Address for correspondence:

Roman V. Samoylikov  
I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera  
5a Malyy Kazenny Lane  
Moscow  
105064 Russian Federation  
Phone: +7 (926) 594-83-97.  
E-mail: Roma\_sam78@mail.ru

## Образец цитирования:

Е.А. Кригер, О.В. Самодова, Р.В. Самойликов,  
И.В. Щепина «Исследование состояния гуморального  
иммунитета к COVID-19 жителей Архангельска»  
// Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27,  
№ 4. С. 1049-1056.  
doi: 10.46235/1028-7221-16893-SOT

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

## For citation:

E.A. Krieger, O.V. Samodova, R.V. Samoylikov,  
I.V. Shchepina "Study of the state of humoral immunity  
to covid-19 in Arkhangelsk residents", Russian Journal  
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024,  
Vol. 27, no. 4, pp. 1049-1056.  
doi: 10.46235/1028-7221-16893-SOT

© Krieger E.A. et al., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License  
DOI: 10.46235/1028-7221-16893-SOT

## STUDY OF THE STATE OF HUMORAL IMMUNITY TO COVID-19 IN ARKHANGELSK RESIDENTS

Krieger E.A.<sup>a</sup>, Samodova O.V.<sup>a</sup>, Samoylikov R.V.<sup>b</sup>, Shchepina I.V.<sup>a, c</sup>

<sup>a</sup> Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russian Federation

<sup>b</sup> I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

<sup>c</sup> Arkhangelsk Regional Clinical Hospital, Arkhangelsk, Russian Federation

**Abstract.** The COVID-19 pandemic caused by SARS-CoV-2 has affected healthcare, society and the economy in all countries, including Russia. Several vaccines have been created as the method for COVID-19 prevention. One of the most widespread vaccines in Russia, which has received international recognition, is the Gam-COVID-Vac (Sputnik V) vaccine and its variant Sputnik Light, which represents its first component. This vaccine, like similar vaccines in many countries, was used during the pandemic. The purpose of this work is to study the humoral immunity status of Arkhangelsk city residents and the effect of vaccination on them. Adult residents of Arkhangelsk [N = 281] were enrolled in the randomized study. Samples from vaccinated people and the control group were collected for the study in October 2022. The median from the time of last vaccination/booster to sample collection was 10 months. The samples were tested for the level of IgG to the receptor-binding domain of the SARS-CoV-2 S protein. The work assessed the humoral immunity status among residents of Arkhangelsk. It was shown that in October 2022 high IgG values were recorded among the people in the studied groups, most likely caused by contact with the SARS-CoV-2 virus. The humoral immunity status of unvaccinated residents, for those who have had COVID-19 and those who have not, is described; a significant increase in the level of IgG among those vaccinated compared to unvaccinated people is shown, despite the fact that the average time after vaccination was more than 10 months. A comparative analysis of IgG levels among different age groups was carried out. The study found no difference in post-vaccination antibody levels among people over 65 years old compared to younger age groups. Also there were no statistically significant differences in antibody levels among unvaccinated people over 65 in respect to younger age groups.

**Keywords:** COVID-19, SARS-CoV-2, IgG, Gam-COVID-Vac, Sputnik V, Sputnik Light, vaccine, Arkhangelsk, humoral immunity

### Введение

Пандемия COVID-19, вызванная новым коронавирусом SARS-CoV-2, оказала глубокое и продолжительное воздействие на здравоохранение, экономику и общество во всем мире, включая нашу страну. С момента возникновения и до настоящего времени пандемия COVID-19 унесла жизни более 9 млн человек (по данным ВОЗ). Возбудитель пандемии, коронавирус SARS-CoV-2 является РНК содержащим вирусом и относится к семейству Coronaviridae. За прошедшее время с начала пандемии в 2019 году вирус SARS-CoV-2 многократно мутировал, образуя различные варианты, которые приводили к новым волнам пандемии в мире.

В ходе пандемии, тяжесть COVID-19 варьировала от бессимптомного течения до тяжелых форм. Большая часть населения переболела данным заболеванием в легкой, а также бессимптомной форме. У другой части людей заболевание варьировало по степени тяжести, отмечалась средняя и тяжелая форма течения, зачастую требующая госпитализации. Заболевание COVID-19 в тяжелой форме может наблюдаться среди практически здоровых людей любого возраста, но

преимущественно встречается у лиц старше 65 лет.

Одним из методов борьбы с распространением заболевания и снижения тяжести его течения стала массовая вакцинация. В течении короткого времени в разных странах были разработаны вакцины для профилактики COVID-19 и проведены прививочные кампании. Важным фактором для оценки эффективности вакцинации является исследование состояния гуморального иммунитета непосредственно в популяции, где проводилась вакцинация. **Целью исследования** была оценка уровня иммуноглобулинов класса G (IgG) к SARS-CoV-2 у взрослых жителей Архангельска спустя 2,5 года от начала пандемии COVID-19.

### Материалы и методы

Проведено поперечное исследование, с участием 281 взрослых жителей Архангельска, отобранных случайным образом. Забор крови проводился из локтевой вены в период с 3 октября по 3 ноября 2022 г. После процедуры забора, из образцов отбиралась сыворотка и хранилась при температуре -70 °С для последующего измерения уровня IgG к SARS-CoV-2.



Данные, полученные из этих образцов, фактически представляют срез состояния гуморального иммунитета на октябрь 2022 г. в Архангельске.

Количественное определение уровня IgG к SARS-CoV-2 в сыворотке проводили с использованием сертифицированных наборов «SARS-CoV-2-IgG количественный – ИФА-БЕСТ» компании АО «Вектор-Бест». В данном наборе используется общепринятый метод определения IgG к рецептор-связывающему домену S-белка. Показатели определялись количественно, в соответствии с инструкцией к наборам с использованием ИФА-ридера производства компании Bio-Tek Instrument, Inc., при длинах волн указанных в инструкции. Значения превышающие верхний диапазон чувствительности теста, статистически обрабатывались как максимальное значение верхнего диапазона измерения.

Статистическую обработку проводили с применением пакета программ Excel (Microsoft, США) и программы GraphPad Prism с использованием U-критерия Манна–Уитни для сравнения групп с непараметрическим распределением количественных признаков.

Исследование одобрено этическим комитетом Северного государственного медицинского университета (протокол № 07/09-2022 от 28.09.2022 г.).

## Результаты и обсуждение

Возраст участников варьировал от 42 до 76 лет. Характеристика выборки по вакцинальному статусу с учетом перенесенной новой коронавирусной инфекции COVID-19 представлена в таблице 1.

Участники исследования получили вакцинацию по схемам, описанным в таблице 2.

Пробы с учетом исходных данных были разделены на 2 большие группы: вакцинированные и

невакцинированные. Сравнительные данные по ним указаны в таблице 3.

Результаты по уровню антител в этих группах также представлены в графическом виде на рисунке 1.

Для оценки возможной взаимосвязи уровня антител со временем забора после заболевания или вакцинации был проведен анализ, который представлен в таблице 4.

Срок, в течении которого из крови болевших COVID-19 людей полностью исчезают IgG, позволяет получить более детальный анализ болевших COVID-19 пациентов, у которых не были обнаружены антитела. Результаты представлены в таблице 5.

Также, учитывая возможную взаимосвязь уровня антител с возрастом, был проведен анализ взаимосвязи уровня IgG к SARS-CoV-2, представленный на рисунке 2.

Для оценки влияния заболевания на уровень IgG связанного с вакцинацией был проведен анализ результатов, который представлен на рисунке 3.

При рассмотрении результатов следует отметить что пробы были получены равномерно в течении месяца (с 3.10.2022 г. по 3.10.22 г.). Данные полученные по результатам исследования представляют собой срез состояния гуморального иммунитета в указанный период.

При анализе результатов уровня IgG к SARS-CoV-2 (рис. 1) мы отмечаем наличие достаточно высоких значений IgG. На текущий момент известно, что максимальные значения уровня IgG отмечаются на 21-25-й день после начала заболевания и сохраняются относительно высокими до 31-41 дня [1, 4], полностью антитела исчезают из сыворотки на 6 месяц (180-й день) после заболевания [2]. После вакцинации «Гам-КОВИД-Вак»

**ТАБЛИЦА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА УЧАСТНИКОВ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ВАКЦИНАЛЬНОМУ СТАТУСУ С УЧЕТОМ ПЕРЕНЕСЕННОГО COVID-19**

TABLE 1. CHARACTERISTICS OF STUDY PARTICIPANTS BY VACCINATION STATUS, TAKING INTO ACCOUNT PREVIOUS COVID-19

Количество (N) Quantity (N)		%	Вакцинация Vaccination		%
<b>Не болевшие</b> Not sick	180	64,1	<b>Вакцинированы</b> Vaccinated	134	47,7
			<b>Не вакцинированы</b> Not vaccinated	46	16,4
<b>Болевшие</b> Sick	101	35,9	<b>Вакцинированы*</b> Vaccinated*	64	22,8
			<b>Не вакцинированы</b> Not vaccinated	37	13,2

Примечание. \* – учтены заболевшие до вакцинации и после.

Note. \*, sick people before and after vaccination are taken into account.

ТАБЛИЦА 2. СХЕМЫ ВАКЦИНАЦИИ И ПРИМЕНЕННЫЕ ВАКЦИНЫ У ОБСЛЕДУЕМЫХ ИЗ АРХАНГЕЛЬСКА

TABLE 2. VACCINATION SCHEDULES AND VACCINES USED AMONG SUBJECTS FROM ARKHANGELSK

Тип вакцины и варианты ревакцинации Type of vaccine and revaccination options	Количество Quantity	%
Гам-КОВИД-Вак (2 дозы) Gam-COVID-Vac (2 doses)	94	47,5
Гам-КОВИД-Вак (2 дозы) + ревакцинация Гам-КОВИД-Вак (2 дозы) Gam-COVID-Vac (2 doses) + revaccination Gam-COVID-Vac (2 doses)	6	3,0
Гам-КОВИД-Вак (2 дозы) + ревакцинация Спутник Лайт Gam-COVID-Vac (2 doses) + revaccination Sputnik Light	58	29,3
Гам-КОВИД-Вак (2 дозы) + ревакцинация ЭпиВакКорона Gam-COVID-Vac (2 doses) + revaccination EpiVacCorona	1	0,5
Гам-КОВИД-Вак (2 дозы) + ревакцинация КовиВак Gam-COVID-Vac (2 doses) + revaccination CoviVac	1	0,5
Спутник Лайт Sputnik Light	33	16,7
Спутник Лайт + ревакцинация Спутник Лайт Sputnik Light + revaccination Sputnik Light	4	2,0
Спутник Лайт + ревакцинация ЭпиВакКорона Sputnik Light + revaccination EpiVacCorona	1	0,5
<b>Всего</b> Total	198	100,0

ТАБЛИЦА 3. ХАРАКТЕРИСТИКА ВАКЦИНИРОВАННЫХ И НЕ ВАКЦИНИРОВАННЫХ УЧАСТНИКОВ ИССЛЕДОВАНИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПЕРЕНЕСЕННОГО COVID-19

TABLE 3. CHARACTERISTICS OF VACCINATED AND UNVACCINATED STUDY PARTICIPANTS DEPENDING ON THE HISTORY OF COVID-19

Не вакцинированные / Not vaccinated							
Количество Quantity	Муж. Male		Жен. Fem.	Медиана уровня IgG Median IgG level	IgG не выявлено No IgG detected	Низкий уровень IgG * Low IgG*	Возраст Age
не болели COVID-19 have not had COVID-19	46	15	31	686 ВАУ/мл 686 BAU/mL	4	4	44-77
болели COVID-19 had COVID-19	37	11	26	913 ВАУ/мл 913 BAU/mL	4	2	42-76
общее general	83	26	57	789 ВАУ/мл 789 BAU/mL	8	6	42-77
Вакцинированные / Vaccinated							
не болели COVID-19 have not had COVID-19	134	53	81	1180,5 ВАУ/мл 1180,5 BAU/mL	2	4	42-76
болели COVID-19 до вакцинации had COVID-19 before vaccination	29	12	17	1354 ВАУ/мл 1354 BAU/mL	0	1	44-75
болели COVID-19 после вакцинации got sick with COVID-19 after vaccination	35	14	21	1200 ВАУ/мл 1200 BAU/mL	0	1	43-75
общее general	198	79	119	1191,5 ВАУ/мл 1191,5 BAU/mL	2	6	42-77

Примечание. \* – вируснейтрализующий эффект обнаруживается менее чем в 50% проб.

Note. \*, the virus neutralizing effect is detected in less than 50% of samples.

**ТАБЛИЦА 4. ДАННЫЕ ПО ВРЕМЕНИ ОТ ВАКЦИНАЦИИ ИЛИ БОЛЕЗНИ ДО ЗАБОРА КРОВИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА К SARS-CoV-2**

TABLE 4. DATA ON THE TIME FROM VACCINATION OR ILLNESS TO BLOOD COLLECTION FOR THE STUDY OF HUMORAL IMMUNITY TO SARS-CoV-2

Количество проб Number of samples		Дни от вакцинации / болезни до забора Days from vaccination / illness to collection	Дни медиана Days median	Дни среднее Days average
вакцинированные не болели COVID-19 vaccinated people did not get sick with COVID-19	134	Дни от вакцинации 118-578 Days from vaccination 118-578	325	332
болели COVID-19 до вакцинации had COVID-19 before vaccination	29	Дни от вакцинации 133-472 Days from vaccination 133-472	318	317
болели COVID-19 после вакцинации got sick with COVID-19 after vaccination	35	Дни от болезни 168-428 Days from illness 168-428	258	273
болели COVID-19 не вакцинированы have had COVID-19 not vaccinated	37	Дни от болезни 222-852 Days from illness 222-852	382	426

**ТАБЛИЦА 5. ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ УРОВНЕМ IgG К SARS-CoV-2 И ВРЕМЕНЕМ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ**

TABLE 5. RELATIONSHIP BETWEEN IgG LEVELS TO SARS-CoV-2 AND TIME AFTER ILLNESS

Количество Quantity		Дней после COVID-19 Days after COVID-19	Дни медиана Days median	Дни среднее Days average
Болели COVID-19 Had COVID-19	37	222-852*	382	426
IgG выявлен IgG detected	33	222-852	431	447
IgG не выявлен No IgG detected	4	228-263*	249	247

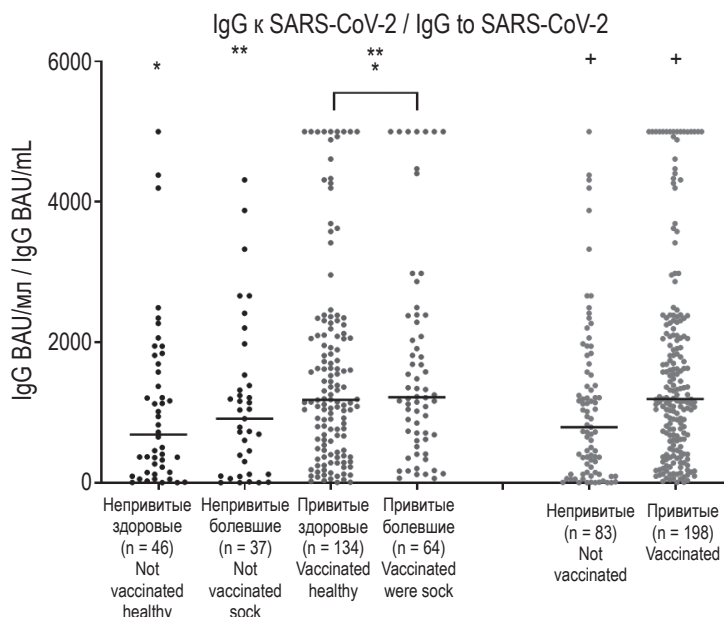
Примечание. \* – статистически значимые различия по U-критерию Манна–Уитни ( $p < 0,05$ ).

Note. \*, statistically significant differences according to the Mann–Whitney U test ( $p < 0.05$ ).

пиковые значения отмечаются до 30–40 суток и в течении 6 месяцев снижаются более чем в 10 раз [3]. В таблице 4 приведены статистические значения по времени между вакцинацией или болезнью и датой забора пробы, т. к. данный параметр может быть взаимосвязан с уровнем IgG, если вакцинация или заболевание проходили незадолго до забора проб. Забор образцов проводился гораздо позже сроков когда отмечаются пиковые значения IgG после вакцинации или заболевания.

При оценке уровня антител мы видим присутствие в группе не вакцинированных людей, проб с отсутствием IgG к SARS-CoV-2 (табл. 3). Данные результаты обнаруживаются как у не болевших людей, так и у перенесших COVID-19. При анализе сроков связанных с заболеванием и забором проб (представлены в таблице 4) были выявлены статистически значимые временные интервалы между заболеванием и уровнем антител.

Перенесшие COVID-19 к 228–263-му дню (около 8 мес.) после заболевания теряют практически все IgG к SARS-CoV-2, что согласуется с исследованиями, где показано отсутствие IgG спустя 6 месяцев после заболевания [2]. На более поздних сроках после перенесенного заболевания отсутствие антител не зафиксировано. Экстраполируя эти данные на группу не болевших людей, с отсутствием антител высока вероятность, что в большинстве случаев они все же перенесли заболевание, но, как и в группе переболевших, пока не перенесли повторного заболевания. Таким образом, можно сделать заключение о практически 100%-ном охвате COVID-19 с бессимптомным течением не вакцинированных людей на исследуемый период 2022 г. (95%, если допустить, что люди с отсутствием антител в группе не болевших не перенесли COVID-19 в бессимптомной форме).

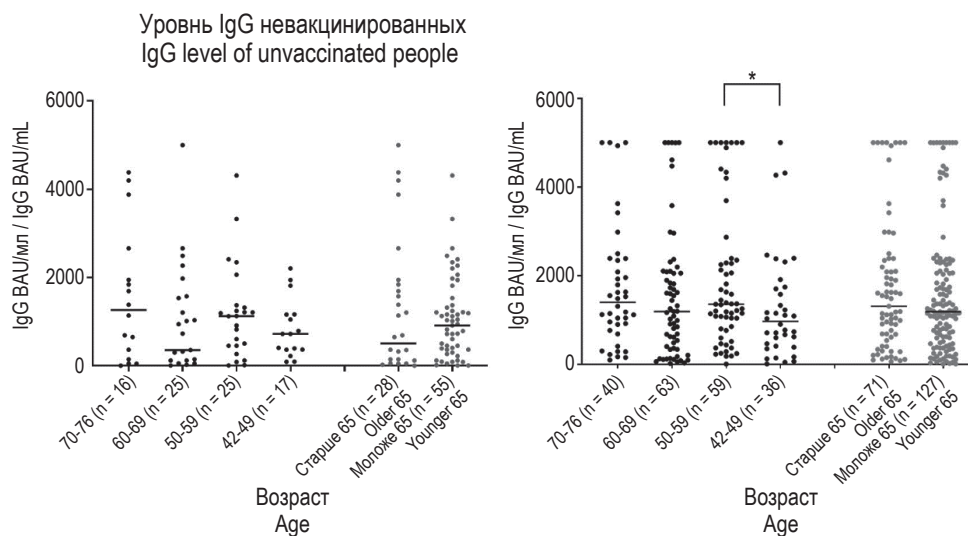


**Рисунок 1. Уровень IgG у обследуемых**

Примечание. Слева показан уровень IgG к SARS-CoV-2 в BAU/мл. Чертой на графике показана медиана. \*, \*\*, + – показаны статистически значимые различия по U-критерию Манна–Уитни (+ –  $p = 0.0008$ , \* –  $p < 0.009$ , \*\* –  $p < 0.05$ ).

Figure 1. IgG level in subjects

Note. On the left is the SARS-CoV-2 IgG level in BAU/mL. The line on the graph shows the median. \*, \*\*, +, statistically significant differences are shown using the Mann–Whitney U test (+,  $p = 0.0008$ , \*,  $p < 0.009$ , \*\*,  $p < 0.05$ ).



**Рисунок 2. Уровень IgG у обследуемых разделенных по возрасту**

Примечание. Слева показан уровень IgG к SARS-CoV-2 в BAU/мл. Снизу приведен возраст обследуемых. В группу старше 65 включены обследуемые возраст которых  $\geq 65$  годам. Чертой на графике показана медиана. \* – статистически значимые различия по U-критерию Манна–Уитни ( $p < 0,05$ ).

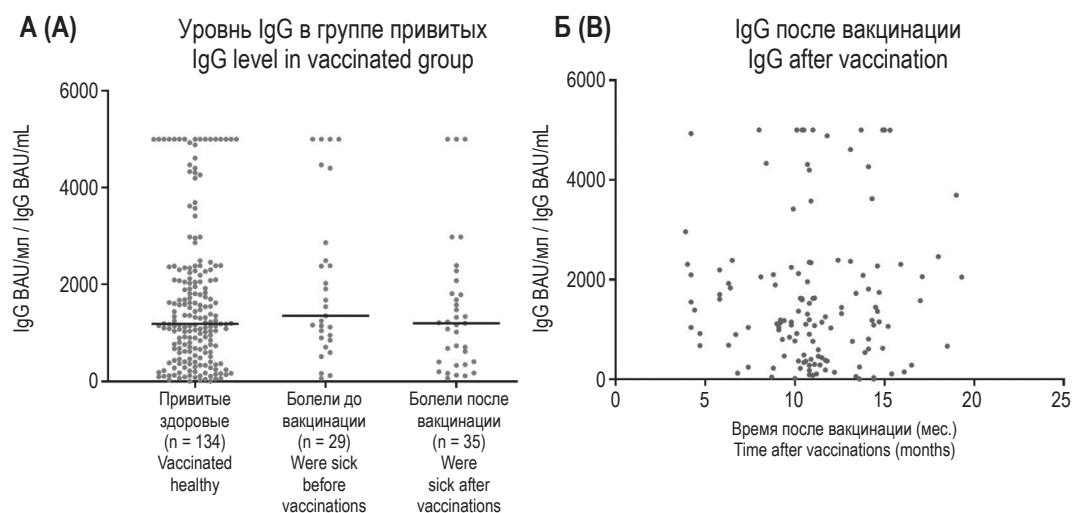
Figure 2. IgG level in subjects divided by age

Note. On the left is the SARS-CoV-2 IgG level in BAU/mL. Below is the age of the subjects. The group over 65 includes subjects aged  $\geq 65$  years. The line on the graph shows the median. \*, statistically significant differences according to the Mann–Whitney U test ( $p < 0.05$ ).

Среди вакцинированных людей оценить наличие бессимптомного течения COVID-19 можно по данным, представленным на рисунке 3В. Отмечено наличие высоких значений IgG спустя год и более после вакцинации/ревакцинации. Это характерно для перенесенного примерно

за 3 недели до отбора образцов контакта с вирусом SARS-CoV-2. По представленным результатам мы не исключаем бессимптомное течение COVID-19 как среди вакцинированных, так и не вакцинированных.





**Рисунок 3. Уровень IgG после вакцинации**

**Примечание.** А – слева показан уровень IgG к SARS-CoV-2 в BAU/мл. Чертой на графике показана медиана. Б – график зависимости уровня IgG к SARS-CoV-2 от времени после вакцинации у привитых и не болевших людей (n = 134). Слева показан уровень IgG к SARS-CoV-2 в BAU/мл. Внизу отмечено время прошедшее после вакцинации.

Figure 3. IgG level after vaccination

Note. A, on the left is the SARS-CoV-2 IgG level in BAU/ml. The line on the graph shows the median. B, graph of SARS-CoV-2 IgG levels versus time after vaccination in vaccinated and unvaccinated individuals (n = 134). On the left is the SARS-CoV-2 IgG level in BAU/ml. Below is the time elapsed since vaccination.

Выявлены статистически значимые различия в уровне среди вакцинированных и не вакцинированных жителей Архангельска (рис. 1). Уровень IgG у вакцинированных был значимо выше, даже несмотря на то, что среднее время после вакцинации составляло более 10 месяцев.

Также для изучения возможной взаимосвязи иммунного ответа к SARS-CoV-2 были проанализированы показатели IgG в зависимости от возраста (рис. 2). Так как были выявлены статистически значимые различия по уровню IgG между привитыми людьми и не привитыми, то и анализ по возрасту проводился с учетом вакцинации. В группе невакцинированных статистически значимых различий в зависимости от возраста выявлено не было, хотя медианы существенно различались. В группе вакцинированных достоверные отличия были выявлены только между группой по возрасту 42-49 лет и группой 50-59 лет. Различий у вакцинированных и невакцинированных участников исследования старше 65 лет и моложе 65 выявлено не было.

Оценивая возможное влияние более тяжелых форм на уровень антител, мы разделили привитых и не привитых людей на переболевших COVID-19 и нет, и провели сравнительную оценку (рис. 1, 3; табл. 3). В группе невакцинированных мы провели сравнение не болевших людей и имеющих COVID-19 в анамнезе. Статистически значимых различий не выявлено, хотя медиана у болевших COVID-19 была значительно выше.

В группе вакцинированных сравнение проводилось с вакцинированными, которые перенесли COVID-19, и вакцинированными, которые не обращались за медицинской помощью. Статистически значимых различий так же не выявлено, при этом медиана у болевших COVID-19 была так же значительно выше. Отмечено наличие статистически значимых различий по уровню IgG группы невакцинированных и неболевших по отношению к группе вакцинированных неболевших и к группе вакцинированных болевших. В группе невакцинированных, перенесших COVID-19, так же выявлены статистически значимые различия по отношению к группе вакцинированных неболевших и к группе вакцинированных болевших.

В краткосрочном периоде (3-7 недель) данный эффект был продемонстрирован и описан [3, 5]. На более длительном периоде, в выборке взрослых жителей Архангельска, значимого влияния вакцинация после перенесенного COVID-19 на уровень антител не оказывала (рис. 3А). Схожего эффекта, если пациент болел после вакцинации, так же не выявлено. Хотя следует отметить более высокие значения медиан у переболевших на фоне вакцинации людей. Вероятно, в отдаленном периоде более значимое влияние на уровень антител оказывают последующие бессимптомные течения COVID-19, на фоне которых описанные факторы уже не вносят значимого вклада в уровень IgG к SARS-CoV-2.

## Заключение

Таким образом, можно заключить, что на октябрь 2022 года в Архангельске как среди вакцинированных, так и нет, зафиксированы высокие значения IgG к SARS-CoV-2, вероятнее всего вызванные контактом с вирусом SARS-CoV-2. Показано, что среди не вакцинированных и не болевших COVID-19 обследованных людей на октябрь 2022 г. 95% перенесли его, не обращаясь за медицинской помощью. Показано что вакцинация

значимо повышает уровень IgG к SARS-CoV-2 по сравнению с переболевшими пациентами, не смотря на то, что среднее время после вакцинации составляло более 10 месяцев. Разницы в уровне поствакцинальных антител среди людей старше 65 по отношению к более молодым возрастным группами не выявлено. Статистически значимых различий по уровню антител среди непривитых людей старше 65 по отношению к более молодым возрастным группам так же не выявлено.

## Список литературы / References

1. Маянский Н.А., Бржозовская Е.А., Стоянова С.С., Фролков А.В., Лебедин Ю.С. Динамика концентрации антител к sars-cov-2 в течение 12 месяцев после перенесенной инфекции covid-19 // Вестник РГМУ, 2022. № 1. С. 12–14. [Mayanskiy N.A., Brzhozovskaya E.A., Stoyanova S.S., Frolkov A.V., Lebedin Y.S. Dynamic changes in the concentrations of anti-SARS-COV-2 antibodies within 12 months after recovery from COVID-19. *Vestnik RGMU = Bulletin of RSMU*, 2022, no. 1, pp. 12-14. (In Russ.)]
2. Сметанина С.В., Исаев А.Н., Исаева Ю.О. Нурмухаметова Е.А., Блохина Н.П., Николаев Н.А., Ершов А.В. Изменение уровня антител класса IgG к коронавирусу SARS-CoV-2 (COVID-19) у населения регионов Российской Федерации и в динамике у реконвалесцентов. // *Consilium Medicum*, 2020. Т. 22, № 11. С. 47-50. [Smetanina S.V., Isaev A.N., Isaeva Yu.O. Nurmukhametova E.A., Blokhina N.P., Nikolaev N.A., Ershov A.V. Change in anti-SarS-cov-2 igG antibodies (covid-19) among the population of the russian Federation regions and in convalescents in dynamics. *Consilium Medicum = Consilium Medicum*, 2020, Vol. 22, no. 11, pp. 47-50. (In Russ.)]
3. Ledesma M.M.G.L., Sanchez L., Ojeda D.S., Rouco S.O., Rossi A.H., Varese A., Mazzitelli I., Pascuale C.A., Miglietta E.A., Rodríguez P.E., Pallarés H.M., Navarro G.S.C., Caramelo J.J., Rothlauf P.W., Liu Z., Bloyet L.-M., Pontelli M.C., Rasetto N.B., Wenker S.D., Ramis L.Y., Bialer M.G., Jose de Leone M., Hernando C.E., Bianchimano L., Ríos A.S., Cienfuegos M.S.T., García D.R.R., Longueira Y., Laufer N., Alvarez D., Ceballos A., Ochoa V., Monzani C., Turk G., Salvatori M., Carradori J., Prost K., Rima A., Varela C., Ercole R., Toro R.I., Gutierrez S., Zubieta M., Acuña D., Jodar M.S.N., Torres C., Mojsiejczuk L., Viegas M., Velazquez P., Testa C., Kreplak N., Yanovsky M., Whelan S., Geffner J., Pifano M., Gamarnik A.V. Longitudinal Study after Sputnik V Vaccination Shows Durable SARS-CoV-2 Neutralizing Antibodies and Reduced Viral Variant Escape to Neutralization over Time. *MBio*, 2022, Vol. 13, no. 1, e03442-21. doi: 10.1128/mbio.03442-21.
4. Ma H., Zeng W., He H., Zhao D., Jiang D., Zhou P., Cheng L., Li Y., Ma X., Jin T. Serum IgA, IgM, and IgG responses in COVID-19. *Cell. Mol. Immunol.*, 2020, Vol. 17, no. 7, pp. 773-775.
5. Pereson M.J., Amaya L., Neukam K., Baré P., Echegoyen N., Badano M.N., Lucero A., Martelli A., Garcia G.H., Videla C., Martínez A.P., Di Lello F.A. Heterologous gam-COVID-vac (sputnik V)/mRNA-1273 (moderna) vaccination induces a stronger humoral response than homologous sputnik V in a real-world data analysis. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2022, Vol. 28, no. 10, pp. 1382-1388.

### Авторы:

**Кригер Е.А.** — к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Архангельск, Россия

**Самодова О.В.** — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Архангельск, Россия

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

**Щепина И.В.** — к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; заместитель главного врача по работе с инфекционными заболеваниями ГБУЗ АО «Архангельская областная клиническая больница», г. Архангельск, Россия

### Authors:

**Krieger E.A.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Infectious Diseases, Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russian Federation

**Samodova O.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Infectious Diseases, Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russian Federation

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

**Shchepina I.V.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Infectious Diseases, Northern State Medical University; Deputy Chief Physician for Infectious Diseases, Arkhangelsk Regional Clinical Hospital, Arkhangelsk, Russian Federation

Поступила 02.04.2024

Отправлена на доработку 04.04.2024

Принята к печати 23.04.2024

Received 02.04.2024

Revision received 04.04.2024

Accepted 23.04.2024

# ОСОБЕННОСТИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВАЦИИ МАКРОФАГОВ У ПАЦИЕНТОВ С АУТОИММУННЫМИ РЕВМАТИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Богатырева А.И.<sup>1</sup>, Киселева Д.Г.<sup>1,2</sup>, Чередниченко В.Р.<sup>1</sup>,  
Маркина Ю.В.<sup>1</sup>, Кириченко Т.В.<sup>1</sup>

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

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

**Резюме.** Аутоиммунные ревматические заболевания (АРЗ) — это хронические патологические состояния, которые возникают при аномальном иммунном ответе и сопровождаются системным воспалением. К наиболее распространенным АРЗ относят ревматоидный артрит (РА), системную красную волчанку (СКВ) и системный склероз (СС). Точный патогенез АРЗ остается невыясненным, однако комплексное воздействие генетических, иммунологических и внешних факторов окружающей среды приводит к возникновению и дальнейшему прогрессированию АРЗ. При этом показано, что причиной хронического воспаления может быть провоспалительная активация макрофагов, при которой наблюдается увеличение секреции цитокинов. Целью данного исследования была оценка воспалительного ответа макрофагов у пациентов с РА, СКВ и СС.

В исследование были включены 143 участника: 47 пациентов с РА, 45 пациентов с СКВ, 34 пациента с СС и 17 человек без АРЗ и других хронических заболеваний. Выделение первичной культуры моноцитов проводилось путем центрифугирования в градиенте фиколла с использованием магнитной сепарации из цельной крови участников исследования. Для стимуляции клеток по провоспалительному пути добавляли липополисахарид (ЛПС). Культивирование клеток проводили в течение 24 часов. Определение базальной и ЛПС-стимулированной секреции ИЛ-8 макрофагами проводилось в культуральной жидкости с использованием иммуноферментного анализа (ИФА). Провоспалительную активацию макрофагов рассчитывали как отношение ЛПС-стимулированной и базальной секреции ИЛ-8.

Базальная секреция ИЛ-8 макрофагами была статистически значимо выше в группах пациентов с РА и СС по сравнению с группами СКВ и контролем. ЛПС-стимулированная секреция ИЛ-8 макрофагами в группе СС имела статистически более высокие значения по сравнению с группами РА и СКВ. Провоспалительная активация макрофагов была снижена в группе пациентов с РА по сравнению с

## Адрес для переписки:

Богатырева Анастасия Ильинична  
ГНЦ РФ ФГБНУ «Российский научный центр  
хирургии имени академика Б.В. Петровского»  
119435, Россия, Москва, Абрикосовский пер. 2.  
Тел.: 8 (927) 513-55-55.  
E-mail: nastya.bogatyreva.96@mail.ru

## Address for correspondence:

Anastasia I. Bogatyreva  
Petrovsky National Research Centre of Surgery  
2 Abrikosovsky Lane  
Moscow  
119435 Russian Federation  
Phone: +7 (927) 513-55-55.  
E-mail: nastya.bogatyreva.96@mail.ru

## Образец цитирования:

А.И. Богатырева, Д.Г. Киселева, В.Р. Чередниченко,  
Ю.В. Маркина, Т.В. Кириченко «Особенности  
провоспалительной активации макрофагов у  
пациентов с аутоиммунными ревматическими  
заболеваниями» // Российский иммунологический  
журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 1057-1064.  
doi: 10.46235/1028-7221-16673-FOP

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

## For citation:

A.I. Bogatyreva, D.G. Kiseleva, V.R. Cherednichenko,  
Yu.V. Markina, T.V. Kirichenko "Features of proinflammatory  
activation of macrophages in patients with rheumatoid  
arthritis and systemic lupus erythematosus", Russian Journal  
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024,  
Vol. 27, no. 4, pp. 1057-1064.  
doi: 10.46235/1028-7221-16673-FOP

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16673-FOP

пациентами с СКВ и контрольной группой, а также статистически значимо ниже у пациентов с СС по сравнению с контрольной группой.

*Ключевые слова:* ревматоидный артрит, системная красная волчанка, системный склероз, моноциты, макрофаги, воспаление, аутоиммунные ревматические заболевания, интерлейкины, цитокины, воспалительный ответ

## FEATURES OF PROINFLAMMATORY ACTIVATION OF MACROPHAGES IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS AND SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

Bogatyрева A.I.<sup>a</sup>, Kiseleva D.G.<sup>a,b</sup>, Cherednichenko V.R.<sup>a</sup>, Markina Yu.V.<sup>a</sup>, Kirichenko T.V.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russian Federation

<sup>b</sup> Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** Autoimmune rheumatic diseases (ARDs) are chronic pathological conditions that arise from an abnormal immune response and are accompanied by systemic inflammation. The most common ARDs include rheumatoid arthritis (RA), systemic lupus erythematosus (SLE) and systemic sclerosis (SSc). The exact pathogenesis of ARDs remains unclear, but the complex influence of genetic, immunological and external environmental factors leads to the occurrence and further progression of ARDs. It has been shown that the cause of chronic inflammation may be proinflammatory activation of macrophages, in which an increase in the secretion of cytokines is observed. The aim of this study was to evaluate the inflammatory response of macrophages in patients with RA, SLE and SSc. Materials and methods. The study included 143 participants: 47 patients with RA, 45 patients with SLE, 34 patients with SSc, and 17 people without ARDs and other chronic diseases. Isolation of a primary culture of monocytes was carried out by centrifugation in a ficoll gradient using magnetic separation from the whole blood of study participants. Lipopolysaccharide (LPS) was added to stimulate cells along the proinflammatory pathway. Cell cultivation was carried out for 24 hours. Determination of basal and LPS-stimulated secretion of IL-8 by macrophages was carried out in the culture fluid using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Proinflammatory activation of macrophages was calculated as the ratio of LPS-stimulated and basal IL-8 secretion. Research results. Basal secretion of IL-8 by macrophages was statistically significantly higher in the groups of patients with RA and SSc compared with the SLE and control groups. LPS-stimulated secretion of IL-8 by macrophages in the SSc group had statistically higher values compared to the RA and SLE groups. Proinflammatory activation of macrophages was reduced in the group of patients with RA compared to patients with SLE and the control group, and was also statistically significantly lower in patients with SSc compared to the control group.

*Keywords:* rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, systemic sclerosis, monocytes, macrophages, inflammation, autoimmune rheumatic diseases, interleukins, cytokines, inflammatory response

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (НИОКТР № 123030700026-8).

### Введение

Аутоиммунные ревматические заболевания (АРЗ) — это хронические состояния, при которых происходит аномальная активация иммунной системы, что приводит к поражению кожи и внутренних органов, инвалидности и преждевре-

менной смертности. Эпидемиологические исследования демонстрируют, что данные патологии охватывают от 3% до 5% населения [10]. Одними из наиболее распространенных АРЗ являются ревматоидный артрит (РА), системная красная волчанка (СКВ) и системный склероз (СС). Несмотря на то, что точный патогенез АРЗ остается неизвестным, важно отметить, что сочетание генетических, иммунологических, гормональных и экологических факторов приводит к возникновению АРЗ [15]. Установлено, что компонентами



врожденного иммунитета, моноциты и макрофаги, играют решающую роль в развитии, прогрессировании и разрешении AP3 за счет миграции в очаг воспаления, удаления аутоантигенов, секреции провоспалительных цитокинов и хемокинов. Эти события приводят к активации Т- и В-клеток, которые атакуют здоровые ткани и вызывают хроническое воспаление [9].

РА характеризуется хроническим воспалением, которое приводит к разрушению суставов и хрящей. Было обнаружено, что число макрофагов синовиальной оболочки положительно коррелирует со степенью эрозии суставов и служит ранним признаком развития РА [15]. Кроме того, за счет продукции фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) макрофаги опосредуют хемотаксис и пролиферацию эндотелиальных клеток в синовиальной оболочке, что способствует образованию паннуса и дополнительной инфильтрации воспалительных клеток в суставе [12].

СКВ – это хроническое системное аутоиммунное заболевание, при котором происходит накопление иммунных комплексов и поражение внутренних органов и кожи. Нарушение активации циркулирующих и тканевых макрофагов является важным фактором для возникновения и прогрессирования СКВ. При этом механизм активации макрофагов в настоящее время неясен [1].

Для СС характерно развитие фиброза кожи и внутренних органов, а также васкулопатия. При СС макрофаги могут участвовать в образовании фиброза за счет выработки провоспалительных цитокинов [2].

Аномальная активация макрофагов приводит к повышенной секреции провоспалительных цитокинов и хемокинов, в том числе IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  и IL-8. IL-8, продуцируемый моноцитами, макрофагами, нейтрофилами, эндотелиальными клетками и фибробластами, является одним из основных провоспалительных цитокинов, который способен привлекать полиморфноядерные нейтрофилы и другие иммунные клетки в очаг воспаления, что приводит к развитию системного воспаления. При этом секреция IL-8 часто стимулируется IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$ , что приводит к хронизации процесса воспаления [6]. Отмечено увеличение экспрессии IL-8 при AP3, которое коррелирует с тяжестью заболевания [13]. **Целью настоящего исследования** была оценка воспалительного ответа макрофагов в отношении секреции IL-8 у пациентов с РА, СКВ и СС.

## Материалы и методы

Исследование включало в себя 143 участника: 47 пациентов с РА, 45 пациентов с СКВ, 34 па-

циента с СС и 17 человек без AP3 и других хронических заболеваний, сопоставимых по полу и возрасту.

Критерии включения в исследование: мужчины и женщины в возрасте от 18 до 78 лет с подтвержденным диагнозом РА, СКВ и СС; отсутствие терапии глюкокортикоидами. Критерии исключения: возраст моложе 18 и старше 78 лет; наличие диагноза сахарный диабет; декомпенсированные почечная или печеночные недостаточности, хроническая сердечная недостаточность III-IV класс NYHA. Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией 1975 г. и ее пересмотренной версией 2013 г. Протокол исследования одобрен Локальным этическим комитетом ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой 10 февраля 2022 г. Все участники предоставили письменные информированные согласия до включения в исследование.

Забор цельной крови, которая была использована для выделения первичной культуры моноцитов, производили утром натощак в стерильные вакуумные пробирки, поверхность которых покрыта дикалием ЭДТА (конечная концентрация ЭДТА 18,0 мг; Becton Dickinson and Company, США). Для выделения первичной культуры моноцитов была использована стандартная методика получения лейкоцитарной фракции в градиенте фикола (НПП «ПанЭко», Россия) с дальнейшей магнитной сепарацией CD14<sup>+</sup> клеток на колонках (Miltenyi Biotec Inc., США) с помощью парамагнитных наночастиц (Miltenyi Biotec Inc., США). После выделения CD14<sup>+</sup> моноциты культивировали в количестве 500 000 клеток в первой лунке в течение 24 часов в чистой среде X-VIVO 10 с L-глутамином, гентамицином и феноловым красным (Lonza, Германия) для последующего определения базальной секреции и во второй лунке с добавлением липополисахарида (ЛПС) Escherichia coli O111:B4 (Sigma-Aldrich, США) для последующего определения ЛПС-стимулированной секреции. Концентрация ЛПС была подобрана с использованием литературных данных и составила 1 мкг/мл [4]. В качестве фактора дифференцировки в макрофаги использовали макрофагальный фактор роста M-CSF (SIGMA-ALDRICH, США), который добавляли к культуральной среде в концентрации 50 нг/мл.

После 24 часов инкубации была получена культуральная жидкость для проведения оценки секреции IL-8 макрофагами с использованием коммерческих наборов Human IL-8/CXCL8 DuoSet ELISA (R&D Systems Inc., США).

Статистический анализ данных, полученных в ходе исследования, был проведен с использованием языка программирования R для статистических вычислений. Для статистической обработ-

ки были использованы следующие библиотеки: outliers, readxl, psych, ggplot2, FSA, car, ggstatsplot; команды: ggbetweenstats, kruskal.test, pairwise.wilcox.test, dunnTest. Данные представлены в виде медианы и квартилей – Me ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ ), в виде среднего значения и стандартного отклонения – Mean (SD).

## Результаты и обсуждение

Возраст, длительность заболевания, распределение по полу и основные маркеры воспаления пациентов с РА, СКВ и СС, а также контрольной группы, представлены в таблице 1.

Важной характеристикой для АРЗ является возраст пациентов. Было обнаружено статистически значимое различие по возрасту между группами РА и СКВ ( $p < 0,001$ ), между группами СКВ и СС ( $p = 0,01$ ). Исследуемые заболевания отличны по своей манифестации, так как РА чаще всего диагностируется в 40-55 лет, а для СКВ характерно раннее начало, при этом пик заболеваемости приходится на 15-25 лет. Начало СС наиболее часто встречается в возрасте 30-50 лет. Несмотря на этот факт, между группами пациентов и контрольной группой достоверных различий по возрасту обнаружено не было ( $p > 0,05$ ).

Другой важной особенностью АРЗ является пол пациентов. Из таблицы 1 видно, что во всех

группах преобладает женский пол, что связано с тем, что АРЗ поражают преимущественно женщин.

Большинство пациентов с РА имели развернутую (51%) и раннюю (38%) стадию заболевания, поздняя стадия заболевания была у 11% пациентов. Также для характеристики заболевания используется индекс воспалительной активности РА – DAS 28 (Disease Activity Score-28). Среднее значение по DAS 28 составило 5,1 (1,4). Активность РА была высокой у большей части пациентов – 57%, умеренной у 28% и низкой у 15%.

Среди группы с СКВ наибольшую часть составили пациенты с хроническим течением заболевания – 71%, подострое и острое течение было характерно для 13% и 16% пациентов соответственно. Средняя активность СКВ характерна для большинства пациентов – 44%, низкая активность заболевания встречается у 27%, высокая у 25% и очень высокая у 4% пациентов.

В группе пациентов с СС большинство пациентов имели лимитированную форму заболевания – 85%, соответственно, остальные 15% пациентов относились к диффузной форме заболевания.

Для оценки воспалительного статуса макрофагов была измерена базальная и ЛПС-стимулированная секреция ИЛ-8. Результаты

ТАБЛИЦА 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ С РА, СКВ, СС И КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЫ, MEAN (SD)

TABLE 1. GENERAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS WITH RA, SLE, SSC AND THE CONTROL GROUP, MEAN (SD)

	РА RA n = 47	СКВ SLE n = 45	СС SSc n = 34	Контроль Control n = 17
Возраст, лет Age, years	55 (13)	41 (13)	50 (12)	48 (10)
Длительность заболевания, годы Duration of disease, years	5,1 (6,7)	8,5 (9,0)	6,5 (6,1)	—
Пол, ж/м, % Gender, f/m, %	73,6/26,4	86,7/13,3	85,3/14,7	76,5/23,5
СРБ, мг/л CRP, mg/L	29 (45)**	6 (16)	5 (10)	2 (1)
СОЭ, мм/ч ESR, mm/h	44 (40)***	24 (31)**	14 (11)*	5 (3)

Примечание. Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения (Mean (SD)). РА – ревматоидный артрит, СКВ – системная красная волчанка, СС – системный склероз, СРБ – С-реактивный белок, СОЭ – скорость оседания эритроцитов; \* – уровень значимости по отношению к контрольной группе  $p < 0,05$ ; \*\* – уровень значимости по отношению к контрольной группе  $p < 0,01$ ; \*\*\* – уровень значимости по отношению к контрольной группе  $p < 0,001$ .

Note. Data are presented as mean and standard deviation (Mean (SD)). RA, rheumatoid arthritis; SLE, systemic lupus erythematosus; Ssc, systemic sclerosis; CRP, C-reactive protein; ESR, erythrocyte sedimentation rate; \*, significance level in relation to the control group  $p < 0.05$ ; \*\*, significance level in relation to the control group  $p < 0.01$ ; \*\*\*, significance level in relation to the control group  $p < 0.001$ .

**ТАБЛИЦА 2. КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА СЕКРЕЦИИ IL-8 МАКРОФАГАМИ В ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУППАХ (пг/мл), Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

TABLE 2. QUANTITATIVE ASSESSMENT OF IL-8 SECRETION BY MACROPHAGES IN THE STUDY GROUPS (pg/mL), Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

	РА RA n = 47	СКВ SLE n = 45	СС SSc n = 34	Контроль Control n = 17	Уровень значимости Significance level
	1	2	3	4	
Базальная секреция, пг/мл Basal secretion, pg/mL	37278 (8264-62142)	7660 (4978-31319)	29429 (13192-47089)	8513 (6723-18103)	p <sub>1-2</sub> < 0,01 p <sub>1-4</sub> < 0,001 p <sub>3-4</sub> < 0,01 p <sub>2-3</sub> < 0,01
ЛПС- стимулированная секреция, пг/мл LPS-stimulated secretion, pg/mL	148657 (123216-172750)	152097 (131805-175644)	504508 (106094-600938)	307603 (141988-348669)	p <sub>1-3</sub> < 0,001 p <sub>2-3</sub> < 0,05

**Примечание.** РА – ревматоидный артрит, СКВ – системная красная волчанка, СС – системный склероз, p – уровень значимости.

Note. RA, rheumatoid arthritis; SLE, systemic lupus erythematosus; Ssc, systemic sclerosis; p, significance level.

исследования для всех исследуемых групп представлены в таблице 2.

Полученные результаты демонстрируют, что базальная секреция IL-8 макрофагами значимо выше в группе пациентов с РА по сравнению с группой СКВ и контрольной группой (p < 0,01 и p < 0,001 соответственно). ЛПС-стимулированная секреция IL-8 макрофагами имеет статистически значимые различия между группами РА и СС (p < 0,001), СКВ и СС (p < 0,05). Известно, что IL-8 является одним из основных хемоаттрактантов нейтрофилов и иммунных клеток, которые активно участвуют в патогенезе АРЗ. При РА увеличенная секреция IL-8 приводит не только к привлечению лейкоцитов в синовиальную оболочку, но и к активации остеокластоподобных клеток из мононуклеарных клеток периферической крови [11]. Также установлено, что концентрация IL-8 увеличена в сыворотке крови и синовиальной оболочке у пациентов с РА, что способствует нарушению ангиогенеза при РА [7].

При этом базальная и ЛПС-стимулированная секреция IL-8 макрофагами у пациентов с СКВ не имеет значимых по отношению к группе лиц без АРЗ. Для СКВ нет однозначных данных об изменении секреции IL-8. В одном из исследований у пациентов с СКВ обнаруживаются увеличенные уровни IL-8 в плазме, которые положительно коррелируют с активностью заболевания [14]. В другом исследовании показано, что концентрация IL-8 в сыворотке крови не отличается между группой СКВ и контрольными лицами [3].

Также нами были выявлены высокие уровни базальной секреции для группы с СС, которые значимо отличаются от группы с СКВ (p < 0,001) и контрольной группы (p < 0,001). ЛПС-стимулированная секреция IL-8 макрофагами у пациентов с СС имеет достоверно более высокие значения по сравнению с группой пациентов с РА (p < 0,001) и СКВ (p < 0,05). IL-8 обладает множественными эффектами в патогенезе СС, например, активация фибробластов и ангиогенеза, которые приводят к повреждению сосудов. В исследовании спонтанной и ЛПС/IFNγ-стимулированной экспрессии IL-8 циркулирующими моноцитами показано увеличение данного показателя [5].

Провоспалительную активацию макрофагов рассчитывали как отношение ЛПС-стимулированной секреции к базальной секреции IL-8.

Провоспалительная активация макрофагов была статистически значимо ниже в группе с РА по сравнению с контрольной группой и группой пациентов с СКВ, для группы пациентов с СС сниженные значения данного показателя по отношению к контрольной группе (рис. 1).

Снижение уровня провоспалительной активации макрофагов можно объяснить высокими значениями базальной секреции IL-8 макрофагами у пациентов с РА и СС. При этом ЛПС-стимулированная секреция IL-8 макрофагами у пациентов с РА не имела статистически значимых отличий по сравнению с контрольной группой. Для пациентов с СС, наоборот, показаны

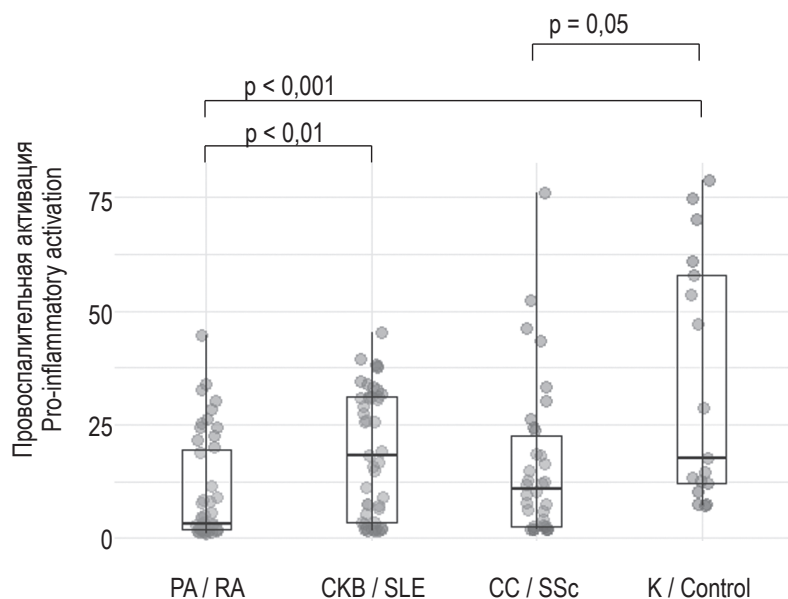


Рисунок 1. Сравнение провоспалительной активации макрофагов по IL-8 во всех исследуемых группах

Примечание. p – уровень значимости, РА – ревматоидный артрит, СКВ – системная красная волчанка, СС – системный склероз, К – контрольная группа.

Figure 1. Comparison of pro-inflammatory activation of macrophages by IL-8 in all study groups

Note. p, level of significance; RA, rheumatoid arthritis; SLE, systemic lupus erythematosus; SS, systemic sclerosis; K, control group.

высокие значения ЛПС-стимулированной секреции IL-8 макрофагами. Предыдущие исследования по изучению провоспалительной активации циркулирующих моноцитов также демонстрируют снижение данного показателя у пациентов с РА [8].

## Заключение

В настоящем исследовании выявлено, что высокая базальная секреция IL-8 макрофагами в группе пациентов с РА обуславливает низкие уровни секреции данного провоспалительного цитокина после стимуляции ЛПС. Истощение макрофагов после выброса основного количества цитокина может участвовать в нарушении иммунного ответа, что в итоге приводит к развитию хронического воспаления при РА. Несмотря на

высокие уровни ЛПС-стимулированной секреции IL-8 макрофагами в группе СС также наблюдается снижение провоспалительной активации вследствие высокого уровня базальной секреции. Высокие уровни базальной секреции IL-8 могут свидетельствовать о том, что гиперсекреция данного провоспалительного цитокина макрофагами может быть одним из важных патогенетических факторов развития РА и СС. Дальнейшие исследования, направленные на изучение механизмов участия IL-8 в развитии хронического воспаления при АРЗ могут стать основой для разработки терапевтических стратегий в отношении этих заболеваний.

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

## Список литературы / References

1. Ahamada M.M., Jia Y., Wu X. Macrophage polarization and plasticity in systemic lupus erythematosus. *Front. Immunol.*, 2021, Vol. 12, 734008. doi: 10.3389/fimmu.2021.734008.
2. Al-Adwi Y., Westra J., Goor H., Burgess J.K., Denton C.P., Mulder D.J. Macrophages as determinants and regulators of fibrosis in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)*, 2023, Vol. 62, no. 2, 535. doi: 10.1093/rheumatology/keac410.
3. Alves L.C.V., Carvalho M.G., Nunes F.F.C., Reis E.A., Ferreira G.A., Calderaro D.C., Carvalho J.S., Pádua P.M., Cicarini W.B., Gondim I.M., Ferreira L.F., Guimarães T.M.P.D., Toledo V.P.C.P. Evaluation of potential biomarkers for the diagnosis and monitoring of Systemic Lupus Erythematosus using the Cytometric Beads Array (CBA). *Clin. Chim. Acta*, 2019, Vol. 499, pp. 16-23.



4. Borzęcka K., Płóciennikowska A., Björkelund H., Sobota A., Kwiatkowska K. CD14 Mediates Binding of High Doses of LPS but Is Dispensable for TNF- $\alpha$  Production. *Mediators Inflamm.*, 2013, Vol. 2013, 824919. doi: 10.1155/2013/824919.
5. Carvalheiro T., Horta S., Roon J.A.G., Santiago M., Salvador M.J., Trindade H., Radstake T.R.D.J., Silva J.A.P., Paiva A. Increased frequencies of circulating CXCL10-, CXCL8- and CCL4-producing monocytes and Siglec-3-expressing myeloid dendritic cells in systemic sclerosis patients. *Inflamm. Res.*, 2018, Vol. 67, no. 2, pp. 169-177.
6. Gremese E., Tolusso B., Bruno D., Perniola S., Ferraccioli G., Alivernini S. The forgotten key players in rheumatoid arthritis: IL-8 and IL-17 – Unmet needs and therapeutic perspectives. *Front. Med. (Lausanne)*, 2023, Vol. 10, 956127. doi: 10.3389/fmed.2023.956127.
7. Koper-Lenkiewicz O.M., Sutkowska K., Wawrusiewicz-Kurylonek N., Kowalewska E., Matowicka-Karna J. Proinflammatory Cytokines (IL-1, -6, -8, -15, -17, -18, -23, TNF- $\alpha$ ) Single Nucleotide Polymorphisms in Rheumatoid Arthritis-A Literature Review. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, Vol. 23, no. 4. doi: 10.3390/ijms23042106.
8. Kuuliala K., Kuuliala A., Hämäläinen M., Koivuniemi R., Kautiainen H., Moilanen E., Repo H., Leirisalo-Repo M. Impaired akt phosphorylation in monocytes of patients with rheumatoid arthritis. *Scand. J. Immunol.*, 2017, Vol. 85, no. 2, pp. 155-161.
9. Liu E., Perl A. Pathogenesis and treatment of autoimmune rheumatic diseases. *Curr. Opin. Rheumatol.*, 2019, Vol. 31, no. 3, pp. 307-315.
10. Miller F.W. The increasing prevalence of autoimmunity and autoimmune diseases: an urgent call to action for improved understanding, diagnosis, treatment, and prevention. *Curr. Opin. Immunol.*, 2023, Vol. 80, 102266. doi: 10.1016/j.coi.2022.102266.
11. Morita T., Shima Y., Fujimoto K., Tsuboi H., Saeki Y., Narazaki M., Ogata A., Kumanogoh A. Anti-receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand antibody treatment increases osteoclastogenesis-promoting IL-8 in patients with rheumatoid arthritis. *Int. Immunol.*, 2019, Vol. 31, no. 5, pp. 277-285.
12. Scherer H.U., Häupl T., Burmester G.R. The etiology of rheumatoid arthritis. *J. Autoimmun.*, 2020, Vol. 110, 102400. doi: 10.1016/j.jaut.2019.102400.
13. Wallace D.J., Gavin I.M., Karpenko O., Barkhordar F., Gillis B.S. Cytokine and chemokine profiles in fibromyalgia, rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus: a potentially useful tool in differential diagnosis. *Rheumatol. Int.*, 2015, Vol. 35, no. 6, pp. 991-996.
14. Xiang M., Wang Y., Gao Z., Wang J., Chen Q., Sun Z., Liang J., Xu J. Exploring causal correlations between inflammatory cytokines and systemic lupus erythematosus: A Mendelian randomization. *Front. Immunol.*, 2023, Vol. 13, 985729. doi: 10.3389/fimmu.2022.985729.
15. Yang S., Zhao M., Jia S. Macrophage: Key player in the pathogenesis of autoimmune diseases. *Front. Immunol.*, 2023, Vol. 14, 1080310. doi: 10.3389/fimmu.2023.1080310.

---

**Авторы:**

**Богатырева А.И.** – научный сотрудник лаборатории клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы ГНЦ РФ ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

**Киселева Д.Г.** – младший научный сотрудник кафедры биофизики биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»; младший научный сотрудник лаборатории клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы ГНЦ РФ ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

**Authors:**

**Bogatyрева A.I.**, Research Associate, Laboratory of Cellular and Molecular Pathology of the Cardiovascular System, Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russian Federation

**Kiseleva D.G.**, Junior Research Associate, Department of Biophysics, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University; Junior Research Associate, Laboratory of Cellular and Molecular Pathology of the Cardiovascular System, Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russian Federation

**Чередниченко В.Р.** — младший научный сотрудник лаборатории клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы ГНЦ РФ ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

**Маркина Ю.В.** — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы ГНЦ РФ ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

**Кириченко Т.В.** — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы ГНЦ РФ ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

**Cherednichenko V.R.**, Junior Research Associate, Laboratory of Cellular and Molecular Pathology of the Cardiovascular System, Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russian Federation

**Markina Yu.V.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Cellular and Molecular Pathology of the Cardiovascular System, Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russian Federation

**Kirichenko T.V.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Cellular and Molecular Pathology of the Cardiovascular System, Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russian Federation

---

Поступила 27.03.2024  
Отправлена на доработку 29.03.2024  
Принята к печати 30.03.2024

---

Received 27.03.2024  
Revision received 29.03.2024  
Accepted 30.03.2024

## НЕКОТОРЫЕ ПАРАМЕТРЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ЖЕНЩИН С ГИПЕРАНДРОГЕНИЕЙ

Юлдашев У.К.<sup>1</sup>, Музафарова С.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

<sup>2</sup> Центр женского здоровья AyolCare, г. Ташкент, Республика Узбекистан

**Резюме.** Статья посвящена изучению некоторых параметров иммунной системы, что имеет большое значение в акушерстве и гинекологии. Изучение параметров иммунной системы позволяет устанавливать нарушения при гиперандрогении у женщин репродуктивного возраста, что имеет важное практическое значение. Авторами проведено иммунологическое исследование женщин с гиперандрогенией и женщин без данной патологии. Цель исследования: изучение состояния иммунной системы у женщин, страдающих гиперандрогенией. Обследованы 58 женщин репродуктивного возраста с установленным диагнозом «гиперандрогения», которые находились под наблюдением в Центре здоровья женщин AyolCare г. Ташкента. Всем женщинам осуществлялось комплексное клинико-лабораторное обследование. Контрольную группу составили 35 практически здоровых женщин репродуктивного возраста.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у женщин с измененным гормональным балансом, включая состояние ГА, происходят специфические изменения в иммунной системе. Проведенные исследования показали, что уровень Т-лимфоцитов и Т-хелперов/индукторов снижается, в то время как количество Т-киллеров, CD25<sup>+</sup> клеток (несущих рецептор к IL-2) и CD95<sup>+</sup> клеток (несущих рецептор сигналов к апоптозу) увеличивается. Повышенное содержание CD95<sup>+</sup> клеток свидетельствует о возросшей активации процессов апоптоза, которые выполняют защитную функцию Т-киллеров. Это увеличение активации лимфоцитов, вероятно, связано с повышением уровня зрелых активированных макрофагов и ряда цитокинов, которые они вырабатывают и которые непосредственно стимулируют лимфоциты. Обнаруженный дисбаланс иммунологических параметров, вероятно, указывает на то, что при гиперандрогении либо отсутствует, либо нарушена элиминация активированных клонов Т-хелперов, что обычно приводит к формированию супрессии иммунного ответа. Увеличение числа активированных клонов Т-лимфоцитов наблюдается при сниженном процессе их апоптоза, который, вероятно, усиливается воздействием андрогенов.

*Ключевые слова:* гиперандрогения, женщины, кровь, лимфоциты, сыворотка, дисбаланс

---

### Адрес для переписки:

Музафарова Салима Асхадовна  
Центр женского здоровья AyolCare  
Республика Узбекистан,  
г. Ташкент, ул. Махтумгули, 15.  
Тел.: +998 (93) 182-91-19.  
E-mail: salima-m@list.ru

### Address for correspondence:

Salima A. Muzafarova  
AyolCare Women's Health Center  
15 Magtymguly St  
Tashkent  
Republic of Uzbekistan  
Phone: +998 (93) 182-91-19.  
E-mail: salima-m@list.ru

---

### Образец цитирования:

У.К. Юлдашев, С.А. Музафарова «Некоторые параметры иммунной системы у женщин с гиперандрогенией» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 1065-1070.  
doi: 10.46235/1028-7221-16656-SPO

© Юлдашев У.К., Музафарова С.А., 2024  
Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

### For citation:

U.K. Yuldashev, S.A. Muzafarova "Some parameters of the immune system in women with hyperandrogenism", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 1065-1070.  
doi: 10.46235/1028-7221-16656-SPO

© Yuldashev U.K., Muzafarova S.A., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16656-SPO

## SOME PARAMETERS OF THE IMMUNE SYSTEM IN WOMEN WITH HYPERANDROGENISM

Yuldashev U.K.<sup>a</sup>, Muzafarova S.A.<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Institute of Human Immunology and Genomics of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

<sup>b</sup> AyolCare Women's Health Center, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Abstract.** The article is dedicated to studying certain parameters of the immune system, which holds great significance in obstetrics and gynecology. Examining immune system parameters allows for identifying disruptions in reproductive-aged women with hyperandrogenism, which holds crucial practical implications. The authors conducted an immunological study of women with hyperandrogenism and women without this pathology. The aim of the study was to investigate the immune system status in women suffering from hyperandrogenism. Materials and methods of the study: 58 reproductive-aged women diagnosed with hyperandrogenism, under observation at the Women's Health Center "AyolCare" in Tashkent, were examined. Comprehensive clinical and laboratory examinations were conducted for all women. The control group comprised 35 practically healthy reproductive-aged women. The obtained results indicate that women with altered hormonal balance, including those with hyperandrogenism, experience specific changes in the immune system. The conducted research revealed that the levels of T lymphocytes and T helper/inducer cells decrease, while the number of T killer cells, CD25<sup>+</sup> cells (carrying IL-2 receptor), and CD95<sup>+</sup> cells (carrying apoptosis signaling receptor) increases. The elevated levels of CD95<sup>+</sup> cells indicate increased activation of apoptosis processes, which serve as a protective function of T killer cells. This increase in lymphocyte activation is likely associated with elevated levels of mature activated macrophages and a range of cytokines they produce, which directly stimulate lymphocytes. The detected imbalance in immunological parameters likely indicates that in hyperandrogenism, either the elimination of activated clones of T helper cells is absent or disrupted, which usually leads to the formation of immune response suppression. The increase in the number of activated clones of T lymphocytes is observed in the decreased process of their apoptosis, which is likely intensified by the influence of androgens.

*Keywords:* hyperandrogenism, women, blood, lymphocytes, serum, imbalance

### Introduction

Hyperandrogenism (HA) is a medical condition characterized by excessive levels of androgens, in a woman's blood. Major androgens that may be elevated include testosterone, dihydrotestosterone, androstenedione, and others. This imbalance of hormones can occur for a variety of reasons and have different consequences for a woman's body [1, 3, 5, 6].

HA occurs in 17-18% of women of childbearing age. The disease affects 16-22% of patients with infertility and 55-62% – with endocrine disorder of reproductive functions, which determines the urgency of this problem in modern gynecology since the frequency of this pathology continues to be quite high and does not have a clear tendency to decrease [4].

The study of menstrual and generative function in hyperandrogenic female patients has significance in the context of scientific, social and clinical aspects of women's health care. This investigation is important for maintaining reproductive health, secondary prevention of reproductive dysfunction, and identification of patients at increased risk for such dysfunction in the future. According to the literature, the character of generative function in women with hyperandrogenism is closely related to their age, the

specific causes of this condition, the effectiveness of therapy and other factors [8, 9].

Such patients often have altered psychoemotional status, increased risk of hyperplastic processes in target organs and endocrine diseases [4]. One of the main challenges is to identify the source of excessive androgen secretion, develop pathogenesis, diagnostic methods, and select effective rehabilitation measures [9]. Several obstetric aspects of this problem, taking into account the form of hyperandrogenism, need scientific substantiation, and their solution is of great practical importance: for predicting the features of reproductive function and hormone-dependent organs in women in the distant periods of observation [6, 9].

According to modern data, immunocompetent cells are equipped with receptors to hormones, which determines the possibility of their modulating effect on the functions of immunocompetent cells. According to the literature, the results obtained about the effect of androgens on immune processes are quite controversial [7].

**The present study aimed** to investigate the state of the immune system in women suffering from hyperandrogenism.



## Materials and methods

Within the framework of this study, 58 women of reproductive age, diagnosed with hyperandrogenism, who were under observation at the Women's Health Center "AyolCare" in Tashkent were examined. All of the women underwent a comprehensive clinical and laboratory examination. The control group consisted of 35 practically healthy women of reproductive age. Immunological examinations were carried out in the Laboratory of Reproduction Immunology of the Institute of Human Immunology and Genomics of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan.

Immunologic research was performed by quantitative determination of lymphocytes with CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CDHLA-DR, CD95<sup>+</sup> phenotype in peripheral blood using monoclonal antibodies of LT series ("Sorbent", Moscow, Russia). The level of immunoglobulins IgA, IgM, and IgG in blood serum was determined by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay using test systems of CJSC "Vector-Best" (Russia) by the manufacturer's recommendations.

Statistical processing of the results of the studies was carried out by methods of variation statistics, implemented by the standard package of applied programs "BioStat LE 7.6.5". The data were processed using conventional approaches and the results are presented as sample mean (M) and standard error of the mean (m). The reliability of the differences between the means (P) of the compared indicators was assessed by Student's criterion (t).

## Results and discussion

As is widely known, cellular immunity is represented by different populations of T and B lymphocytes, the ratio of which plays an important role in assessing

the state of this link of immunity. Immunologic researches revealed the following peculiarities of immune status [7].

The analysis of the relative number of mature T lymphocytes established the suppression of the immune system in the studied group of HA women compared to that of the control group. Thus, the total pool of T lymphocytes (CD3<sup>+</sup>), «responsible» for the reactions of cellular immunity and carrying out immunological surveillance of antigenic homeostasis in the group of women with GA revealed a slightly reduced level of the relative number of CD3<sup>+</sup> lymphocytes compared to control values (48.5±2.24% vs 59.9±1.01%) (p < 0.001) (Figure 1).

T helper cells (CD4<sup>+</sup>) are inducers that regulate the strength of the body's immune response to foreign antigen, control antigen homeostasis and cause increased antibody production. T helper/inducers (CD4<sup>+</sup>) are regulatory cells, without which the transformation of B lymphocytes into antibody-producing plasma cells is impossible. They are also capable of enhancing cellular responses of the immune system [6].

When studying the number of subpopulation composition of T lymphocytes, a tendency to decrease CD4<sup>+</sup> lymphocytes was revealed in women with HA of the main group 29.3±2.09%, while in women of the control group, this indicator amounted to 38.2±0,97% (p < 0.001) (Figure 1).

Another group of regulatory T lymphocytes – T suppressors (CD8<sup>+</sup>) are able to inhibit immunologic reactions that are too strong and too prolonged. T suppressors inhibit the production of antibodies (of various classes) due to delayed proliferation and differentiation of B lymphocytes, and the development of delayed-type hypersensitivity [7].

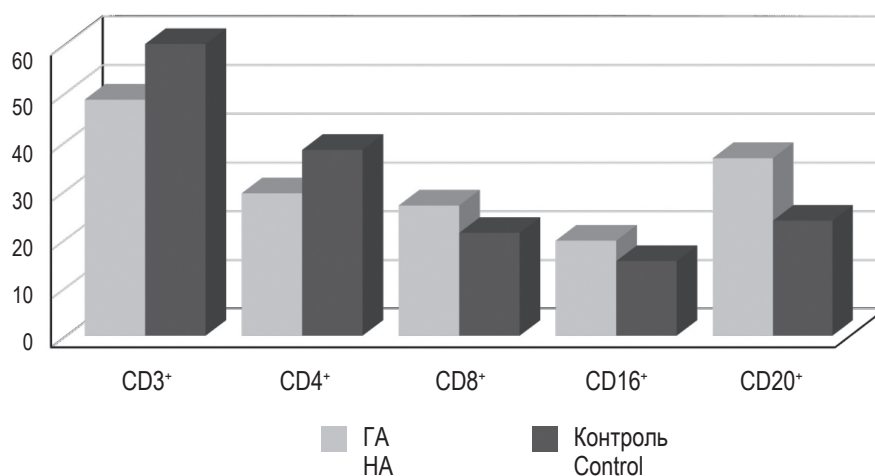
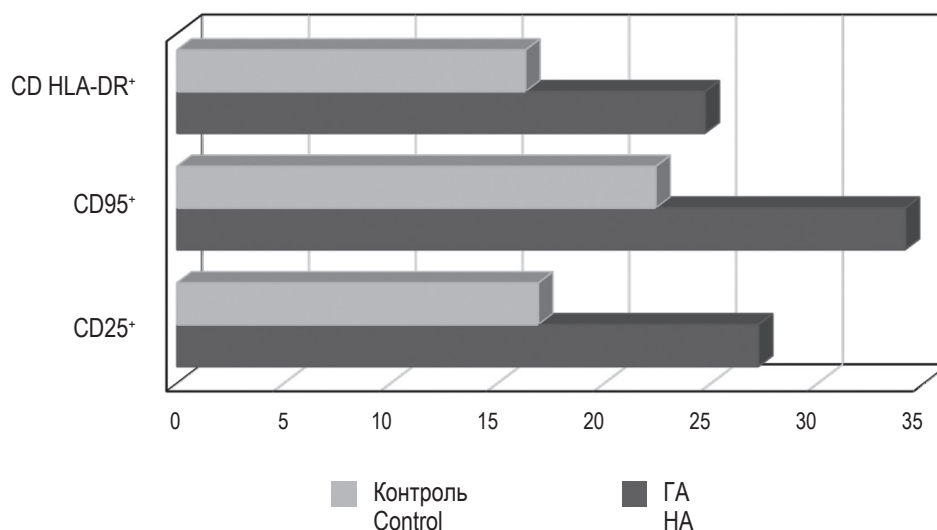


Figure 1. Certain immune system parameters in women with hyperandrogenism

Note. \*, statistically significant compared to the control group data (\*, p < 0.05; \*\*, p < 0.01; \*\*\*, p < 0.001).



**Figure 2. Level of lymphocytes with activation marker in women with a history of hyperandrogenism**

Note. As for Figure 1.

At the same time, the content of the relative number of CD8<sup>+</sup> lymphocytes in women with HA was significantly increased with an average of  $26.8 \pm 1.73\%$  compared to the data of the control group  $21.2 \pm 0.83\%$  ( $p < 0.01$ ).

NK cells are distinguished as a special class of lymphocytes due to their unique ability to rapidly and without prior immunization lysate foreign or their own altered cells in the absence of major histocompatibility complex class I molecules, regardless of antibodies and complement, which confirms their name “natural killer cells” [7].

It was also found that the percentage of CD16<sup>+</sup> cells in the peripheral blood of women with a history of HA amounted to  $19.6 \pm 1.84$ , while in women of the control group, it was determined  $15.4 \pm 0.52\%$  ( $p < 0.01$ ) (Figure 1).

CD20<sup>+</sup> lymphocytes are cells of humoral immunity responsible for antibody synthesis [5]. Analysis of the content of the number of circulating CD20<sup>+</sup> cells in the peripheral blood tended to increase compared to the control group. So the relative quantity. Thus, according to the obtained data, the estimate of the relative content of CD20<sup>+</sup> in the group of women with HA averaged  $36.5 \pm 2.12\%$  vs  $23.7 \pm 0.47\%$  ( $p < 0.001$ ) (Figure 1).

The number of lymphocytes expressing activation markers CD25<sup>+</sup>, CDHLA-DR, indicating the activity of the process was higher in women with a history of hyperandrogenism.

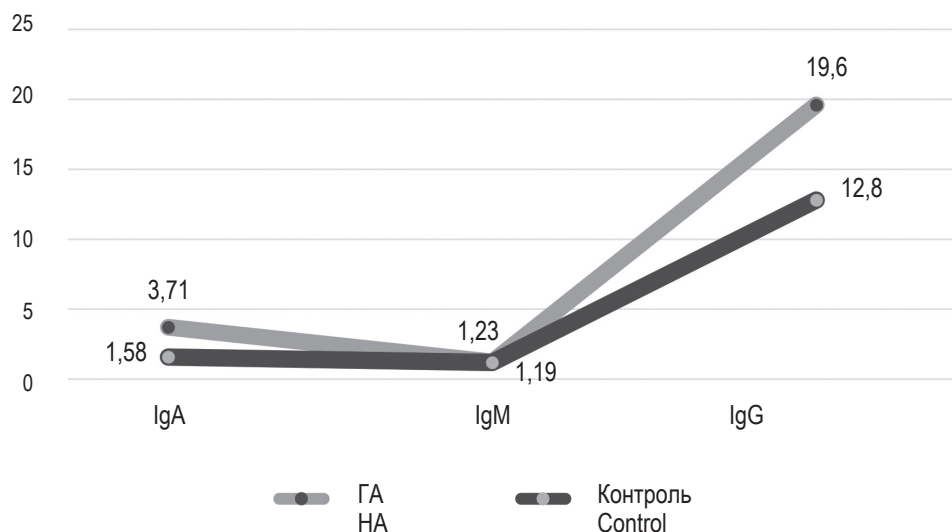
The number of cells with receptor to interleukin 2 (IL-2)-CD25<sup>+</sup>, a marker of autocrine cell proliferation suppressor cells, was increased in the group of women with hyperandrogenism So the percentage

of CD25<sup>+</sup> in the group of women with GA averaged  $27.2 \pm 1.33\%$  against controls  $16.9 \pm 1.04\%$  ( $p < 0.001$ ) (Figure 2).

In women of the main group the number of CDHLA-DR<sup>+</sup> cells was significantly higher than the values of the control group ( $24.7 \pm 2.09\%$  vs  $16.3 \pm 0.58\%$ ) ( $p < 0.001$ ). The quantitative study of lymphocytes expressing the apoptosis antigen CD95<sup>+</sup> showed a tendency to increase them in the peripheral blood of women with hyperandrogenism compared to the values of healthy women ( $34.1 \pm 0.97\%$  vs  $22.4 \pm 0.94\%$  in controls) ( $p < 0.001$ ).

The level of serum immunoglobulins is an integral indicator of humoral immunity. Synthesis of IgG ( $p < 0.001$ ) and IgA ( $p < 0.05$ ) in women with a history of hyperandrogenism was significantly higher than in the control group, and the level of IgM did not differ from that of practically healthy women and was not significant ( $p > 0.05$ ) (Figure 3).

Therefore, the results suggest that women with altered hormonal balance, including HA status, have specific changes in the immune system. Studies have shown that the levels of T lymphocytes and T helper/inducers decrease, while the number of T killers, CD25<sup>+</sup> cells (carrying receptor for IL-2) and CD95<sup>+</sup> cells (carrying apoptosis signaling receptor) increase. The increased content of CD95<sup>+</sup> cells indicates increased activation of apoptosis processes, which fulfill the protective function of T killers. This increase in lymphocyte activation is likely due to increased levels of mature activated macrophages and several cytokines they produce that directly stimulate lymphocytes. The observed imbalance of immunologic parameters probably indicates that



**Figure 3. Humoral immunity indicators in women with hyperandrogenism**

Note. As for Figure 1.

in hyperandrogenism the elimination of activated T helper clones is either absent or impaired, which usually leads to the formation of immune response suppression. An increase in the number of activated T lymphocyte clones is observed with a reduced process of their apoptosis, which is probably enhanced by androgen exposure.

## Conclusions

1. A significant decrease in the number of T lymphocytes ( $p < 0.001$ ), T helper/inducers ( $p < 0.001$ ) in women with hyperandrogenism compared to the similar indicators of the control group was established.

2. A considerable increase of CD8<sup>+</sup> suppressor cells ( $p < 0.001$ ) and CD16<sup>+</sup> ( $p < 0.001$ ) in the group of women with GA, compared to those of the control group, was determined.

3. Substantial increase in the level of activation markers CD25<sup>+</sup> ( $p < 0.001$ ), CDHLA-DR<sup>+</sup> ( $p < 0.001$ ), and CD95<sup>+</sup> lymphocytes ( $p < 0.001$ ) in women with hyperandrogenism compared to the parameters of healthy women in the control group was revealed.

4. Comparative analysis of humoral immunity indicators revealed a significant increase in the level of IgG ( $p < 0.001$ ) and IgA ( $p < 0.05$ ) in women with hyperandrogenism.

## Список литературы / References

1. Bogdanova E.A., Telunts A.V. Hirsutism in girls and young women. Moscow: Medpress-Inform, 2002. 96 p.
2. Dobrohotova Yu.E., Dzhobava E.M., Ragimova Z.E., Gerasimovich M.Yu. Hyperandrogenism syndrome in the practice of obstetrician-gynecologists, dermatologists, and endocrinologists: modern aspects of pathogenesis, diagnosis, and therapy. Moscow: GEOTAR-Media, 2009. 112 p.
3. Endocrinology. National guidelines / Ed. by I.I. Dedov, G.A. Melnichenko. Moscow: GEOTAR-Media, 2020. 832 p.
4. Handelsman D.J., Hirschberg A.L., Bermon S. Circulating testosterone as the hormonal basis of sex differences in athletic performance. *Endocr. Rev.*, 2018, Vol. 39, no. 5, pp. 803-829.
5. Khaitov R.M. Immunology: Structure and functions of the immune system. Textbook. Moscow: GEOTAR-Media, 2013. 230 p.
6. Kozlovene D., Kazanavichus G., Kruminis V. Concentrations of testosterone, dehydroepiandrosterone sulfate, and free androgen index in the blood of women with hirsutism. *Problems of Endocrinology*, 2008. Vol. 54, no. 2, pp. 42-45. (In Russ.)
7. Manukhin I.B., Tumilovich L.G., Gevorkyan M.A. Gynecological endocrinology: Clinical lectures: a guide for physicians. 2<sup>nd</sup> edition, revised and enlarged. Moscow: GEOTAR-Media, 2010. 280 p.

8. Ovsyannikova T.V. Hyperandrogenism in gynecology // Gynecological endocrinology / Serov V.N., Prilepskaya V.N., Ovsyannikova T.V. Moscow: MEDpressinform, 2008, pp. 125-158.

9. Wei D.M.. Effect of hyperandrogenism on obstetric complications of singleton pregnancy from in vitro fertilization in women with polycystic ovary syndrome. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi, 2018, Vol. 53, no. 1, pp. 18-22. (in Chinese)

---

**Авторы:**

**Юлдашев У.К.** — самостоятельный соискатель,  
Институт иммунологии и геномики человека Академии  
наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика  
Узбекистан

**Музафарова С.А.** — д.м.н., ведущий специалист, Центр  
женского здоровья AyolCare, г. Ташкент, Республика  
Узбекистан

---

**Authors:**

**Yuldashev U.K.**, Independent Researcher, Institute of Human  
Immunology and Genomics of the Academy of Sciences of  
the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

**Muzafarova S.A.**, PhD, MD (Medicine). Leading Specialist,  
AyolCare Women's Health Center, Tashkent, Republic  
of Uzbekistan

---

Поступила 26.03.2024

Отправлена на доработку 03.04.2024

Принята к печати 25.04.2024

---

Received 26.03.2024

Revision received 03.04.2024

Accepted 25.04.2024



# БУРЫЕ ВОДОРОСЛИ БЕЛОГО МОРЯ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИСТОЧНИК ФУКОИДАНА ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА КУР-НЕСУШЕК

Бахта А.А., Карпенко Л.Ю., Никонов И.Н.

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

**Резюме.** Целью данного исследования была оценка действия кормовой добавки из фукусовых водорослей на показатели резистентности кур-несушек в условиях промышленного птицеводства. В водорослях *F. vesiculosus* и *A. nodosum* выявлено, что массовая доля фукоидана в пересчете на а.с.в. составляет  $3,92 \pm 0,12\%$ . При оценке влияния применения кормовой добавки из фукусовых водорослей на показатели резистентности кур-несушек выявлено, что она оказывает влияние на показатели белой и красной крови, лейкограмму и активность фагоцитов: у кур подопытной группы отмечена тенденция к повышению числа эритроцитов, повышение цветового показателя, тенденция к снижению числа лейкоцитов относительно повышения в контрольной группе, при этом показатели находились в пределах референсных значений, через 30 дней применения добавки в подопытной группе на 50% увеличилась доля псевдоэозинофилов и на 6% снизилась доля лимфоцитов по сравнению с группой контроля. После 60 дней применения добавки эта тенденция продолжается – на 22% увеличилась доля псевдоэозинофилов и на 4% снизилась доля лимфоцитов в подопытной группе относительно группы контроля. На наш взгляд это указывает на нормализацию соотношения форм лейкоцитов в подопытной группе, а следовательно, и иммунного статуса, помимо этого в подопытной группе относительно контрольной наблюдается достоверное снижение количества эозинофилов на 67%, что может говорить о более низкой аллергической реакции иммунной системы организма. Показатели фагоцитоза крови достоверно изменялись после 60 дней применения – в подопытной группе фагоцитарная активность увеличилась на 23%, что говорит о более высокой способности лейкоцитов подопытной группы поглощать чужеродные бактерии, а следовательно, и о более сильном клеточном иммунитете по сравнению с группой контроля. Таким образом, применение курам-несушкам кормовой добавки из фукусовых водорослей, содержащей фукоидан в количестве  $3,92 \pm 0,12\%$ , способствует нормализации соотношения форм лейкоцитов, увеличению показателей фагоцитоза крови, что существенно повышает резистентность у кур-несушек.

**Ключевые слова:** бурые водоросли, фукоидан, куры, резистентность, фагоцитоз, лейкограмма

## Адрес для переписки:

Бахта Алевья Александровна  
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»  
186084, Россия, Санкт-Петербург,  
ул. Черниговская, 5.  
Тел.: 8 (906) 247-55-38.  
E-mail: ab-2003@yandex.ru

## Address for correspondence:

Alesya A. Bakhta  
St. Petersburg State University  
of Veterinary Medicine  
5 Chernigovskaya St  
St. Petersburg  
186084 Russian Federation  
Phone: +7 (906) 247-55-38.  
E-mail: ab-2003@yandex.ru

## Образец цитирования:

А.А. Бахта, Л.Ю. Карпенко, И.Н. Никонов «Бурые водоросли Белого моря как перспективный источник фукоидана для повышения резистентности организма кур-несушек» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 1071-1076.  
doi: 10.46235/1028-7221-16957-BAO

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

## For citation:

A.A. Bakhta, L. Yu. Karpenko, I.N. Nikonov “Brown algae of the White Sea as a promising source of fucoidan for increasing resistance in laying hens”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 1071-1076.  
doi: 10.46235/1028-7221-16957-BAO

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16957-BAO

# BROWN ALGAE OF THE WHITE SEA AS A PROMISING SOURCE OF FUCOIDAN FOR INCREASING RESISTANCE IN LAYING HENS

Bakhta A.A., Karpenko L.Yu., Nikonov I.N.

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

**Abstract.** The purpose of this study was to evaluate the effect of a feed additive from fucus algae on resistance indicators of laying hens in industrial poultry farming conditions. In the algae *F. vesiculosus* and *A. Nodosum*, it was revealed that the mass fraction of fucoidan in terms of a.d.w. is  $3.92 \pm 0.12\%$ . When assessing the effect of using a feed additive from fucus algae on resistance indicators of laying hens, it was revealed that it has an effect on white and red blood parameters, leukogram and phagocyte activity. In chickens of the experimental group, there was a tendency towards an increase in the number of erythrocytes, an increase in the color index, a tendency towards a decrease in the number of leukocytes relative to the increase in the control group, while the indicators were within the reference values, after 30 days of using the additive – in the experimental group the proportion of pseudoeosinophils increased by 50% and the proportion of lymphocytes decreased by 6% compared to the control group. After 60 days of using the supplement, this trend continues: the proportion of pseudoeosinophils increased by 22% and the proportion of lymphocytes decreased by 4% in the experimental group relative to the control group. In our opinion, this indicates a normalization of the ratio of leukocyte forms in the experimental group, and, consequently, the immune status. In addition, in the experimental group relative to the control group, there was a significant decrease in the number of eosinophils by 67%, which may indicate a lower allergic reaction of the body's immune system. Indicators of blood phagocytosis significantly changed after 60 days of use: in the experimental group, phagocytic activity increased by 23%, which indicates a higher ability of leukocytes in the experimental group to absorb foreign bacteria, and, consequently, stronger cellular immunity compared to the control group. Thus, the use of a feed additive from fucus algae for laying hens containing fucoidan in an amount of  $3.92 \pm 0.12\%$  helps to normalize the ratio of leukocyte forms and increase blood phagocytosis rates, which significantly increases resistance in laying hens.

**Keywords:** brown algae, fucoidan, chickens, resistance, phagocytosis, leukogram

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-16-00181, <https://rscf.ru/project/23-16-00181>.

## Введение

На сегодняшний день в Российской Федерации птицеводство является ведущей отраслью сельского хозяйства, так как ее продукция обеспечивает население качественными и недорогими продуктами питания. Однако в связи с особенностями технологии содержания и выращивания, связанными с активным использованием антибиотиков, антисептиков, дезинфицирующих веществ в сельском хозяйстве наблюдается активное распространение возбудителей пищевых инфекций, устойчивых к ряду антибиотиков, одним из которых являются грамотрицательные бактерии семейства *Enterobacteriaceae* и рода *Campylobacter* [8].

Необходимо отметить, что основными источниками при передаче бактерий рода *Campylobacter* могут быть продукты переработки мяса птицы, на данный вид передачи приходится до семидесяти процентов случаев от общего количе-

ства, восемь процентов приходится на передачу возбудителя через питьевую воду, пять процентов случаев от общего числа – на сырое молоко. В птицеводстве еще одним из факторов распространения данного патогена является передача через яйцо. Стоит отметить также особенность данной бактерии к длительному выживанию в природных водоемах [5]. В связи с этим в птицеводстве остро стоит проблема, связанная с необходимостью снижения обсеменения поголовья бактериями рода *Campylobacter*. И помимо применения вакцин, разрабатываются наиболее безопасные методы с применением бактериофагов и пробиотиков.

У человека восемьдесят процентов случаев приходится на кампилобактериоз, вызванный *C. Jejuni*, поэтому данный вид имеет наибольшую эпидемиологическую значимость. У сельскохозяйственной птицы данный вид кампилобактерий является нормальным компонентом микробиома кишечника, в связи с этим нормативным является инфицирование всего поголовья предприятия не более пятидесяти процентов, в этом

случае предприятие считается благополучным по данной инфекции [4].

Эффективный подход к контролю кампилобактера в организме кур заключается в повышении резистентности, связанной с нормализацией микробиома кишечника и усилением неспецифического иммунного ответа. Увеличение численности полезных бифидобактерий и молочнокислых бактерий, снижение промышленных стрессов, в т. ч. при использовании вакцин, является одним из наиболее эффективных способов для снижения количества патогена в популяции [1, 2].

На сегодняшний день одним из перспективных путей борьбы с различными видами стресса в птицеводстве является использование в качестве кормовых добавок бурых водорослей. В основном на территории Российской Федерации местом их добычи является акватория Белого моря. Данный вид водорослей является природным источником большого количества различных биологических веществ: различные виды содержат широкий спектр полисахаридов, основными из которых являются фукоидан и целлюлоза, белков, свободных аминокислот, пигментов, таких как каротиноиды и хлорофиллы, полифенолов, и большого количества микроэлементов в доступной биологической форме, главными из которых являются йод и бром. Одной из особенностей химического состава бурых водорослей Белого моря является высокая концентрация биомолекул и микроэлементов, что связано с тем, что в климатических условиях Крайнего Севера водоросли за короткий летний период вырабатывают значительно больше биохимических веществ по сравнению с аналогичными водорослями в теплых регионах нашей планеты.

Одной из групп химических веществ, входящих в состав фукусовых водорослей и обладающих широким спектром активностей, являются фукоиданы. В литературе описаны их иммуномодулирующие, противовоспалительные, противоопухолевые, антибактериальные, противовирусные, антикоагуляционные свойства [1, 5]. В медицине препараты на основе фукоиданов используются в перевязочных материалах [7]. В пищевой промышленности их используют в качестве веществ, способных продлевать сроки хранения продуктов, данный эффект связан с их высокой бактериостатической активностью, отсутствием токсического эффекта на организм человека в целом и на микробиом кишечника в частности [6].

**Целью исследования** была оценка действия кормовой добавки из фукусовых водорослей на показатели резистентности кур-несушек в условиях промышленного птицеводства.

## Материалы и методы

Образец фукусовой крупки был проанализирован на содержание сырого протеина, липидов, влаги, а также полисахаридов фукоидана и альгинатов.

Содержание сырого протеина в бурых водорослях в пересчете на абсолютно сухое вещество (а.с.в.) оценивали методом Кьельдаля (согласно ГОСТ 10846-91. Зерно и продукты его переработки. Метод определения белка). Массовую долю жира в биомассе водорослей оценивали методом экстракции диэтиловым эфиром в аппарате Сокслета. Массовую долю влаги в водорослях определяли в соответствии с ГОСТ 33331-2015.

Содержание фукоидана в бурых водорослях устанавливали спектрофотометрическим методом (метод Дише), основанным на проведении цветной реакции фукозы с L-цистеином и серной кислотой и измерении светопоглощения окрашенных растворов при длинах волн 396 и 430 нм [8]. Количественное определение альгинатов проводили методом, описанным в ГОСТ 26185-84. Водоросли морские, травы морские и продукты их переработки. Методы анализа.

Экспериментальные исследования проводились на птицефабрике, расположенной в Ленинградской области, Россия на курах-несушках кросса «Ломанн Белый» в возрасте 49 недель. Содержание клеточное, рационы питания кур соответствовали рекомендациям для кросса. Параметры микроклимата и раздачи корма регулировались автоматически. Опытный вариант получал кормовую добавку, содержащую по массе 30% сухих бурых водорослей. Кормовую добавку вводили из расчета 1 кг на 1 т комбикорма.

В ходе исследований в крови кур-несушек были определены: количество форменных элементов, лейкограмма, гемоглобин, цветной показатель, показатели фагоцитоза. Методики, использованные для этих исследований следующие: форменные элементы, определяли общепринятыми методиками, используя камеру Горяева, лейкограмму выводили микроскопированием с использованием фиксатора по Май–Грюнвальду и красителя азур-эозин по Романовскому, гемоглобин определяли гемиглобинцианидным методом, цветной показатель выводили математически, используя расчетную формулу, показатели фагоцитоза определяли микроскопическим методом с использованием культуры *Staphylococcus aureus*. Отбор проб крови проводили на 14-е, 30-е и 60-е сутки проведения опыта по кормлению.

## Результаты и обсуждение

Результаты определения содержания сырого протеина, липидов, влаги, фукоидана и альгинатов в образцах бурых водорослей *F. vesiculosus* и *A. nodosum* следующие: массовая доля воды со-

ставила  $8,04 \pm 0,24\%$ , содержание белка по Кьельдалю на абсолютное сухое вещество составило  $20,8 \pm 1,1\%$ , массовая доля липидов на абсолютное сухое вещество составила  $4,08 \pm 0,12\%$ , массовая доля фукоидана в пересчете на абсолютное сухое вещество составила  $3,92 \pm 0,12$ , массовая доля альгинатов в пересчете на абсолютное су-

хое вещество составила  $36,65 \pm 1,10$ . Анализируя полученные данные, следует отметить, что в фукусовой крупке было выявлено высокое содержание фукоидана.

Результаты анализа крови кур-несушек представлены в таблице 1.

**ТАБЛИЦА 1. ВЛИЯНИЕ ФУКОИДАНА ФУКУСОВЫХ ВОДОРОСЛЕЙ БЕЛОГО МОРЯ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ И ФАКТОРЫ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА У КУР-НЕСУШЕК ( $M \pm m$ )**

TABLE 1. EFFECT OF FUCOIDAN FROM FUCUS ALGAE OF THE WHITE SEA ON MORPHOLOGICAL BLOOD PARAMETERS AND INNATE IMMUNITY FACTORS IN LAYING HENS ( $M \pm m$ )

Показатель, ед. из. Indicator, units of measurement	14 суток 14 days	30 суток 30 days		60 суток 60 days	
		Опытная группа Experienced group	Контрольная группа Control group	Опытная группа Experienced group	Контрольная группа Control group
Количество эритроцитов (млн/мкл) Red blood cell (million/ $\mu$ L)	$2,45 \pm 0,38$	$2,60 \pm 0,25$	$2,88 \pm 0,19$	$3,19 \pm 0,36$	$3,10 \pm 0,47$
Количество тромбоцитов (тыс/мкл) Platelet (thousand/ $\mu$ L)	$59,72 \pm 9,01$	$54,62 \pm 16,31$	$71,84 \pm 11,34$	$62,67 \pm 22,58$	$65,71 \pm 10,84$
Количество лейкоцитов (тыс/мкл) Leukocyte (thousand/ $\mu$ L)	$27,53 \pm 4,00$	$31,22 \pm 2,78$	$30,26 \pm 4,13$	$30,34 \pm 8,74$	$35,85 \pm 3,93$
Лейкограмма, % Leukogram, %	$0,67 \pm 0,47$	$1,20 \pm 0,40$	$1,00 \pm 0,89$	$0,80 \pm 0,75$	$0,80 \pm 0,40$
Базофилы, % Basophils, %					
Эозинофилы Eosinophils, %	$1,33 \pm 1,25$	$1,80 \pm 0,75$	$2,00 \pm 1,10$	$0,40 \pm 0,49^*$	$1,20 \pm 0,40$
Псевдозозинофилы, % Pseudoeosinophils, %	$16,33 \pm 5,31$	$12,00 \pm 1,67^*$	$6,60 \pm 1,02$	$18,80 \pm 2,93$	$14,60 \pm 4,92$
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	$80,67 \pm 4,50$	$84,20 \pm 2,64^*$	$89,60 \pm 2,33$	$79,20 \pm 2,79$	$82,40 \pm 4,80$
Моноциты, % Monocytes, %	$1,00 \pm 0,82$	$0,80 \pm 0,75$	$0,40 \pm 0,49$	$0,80 \pm 0,40$	$1,00 \pm 0,00$
Гемоглобин (г/л) Hemoglobin (g/L)	$91,00 \pm 6,16$	$85,60 \pm 4,18$	$80,00 \pm 5,48$	$83,00 \pm 8,85$	$89,20 \pm 8,70$
СОЭ (мм/ч) ESR (mm/h)	$1,33 \pm 0,47$	$1,20 \pm 0,40$	$1,20 \pm 0,40$	$1,60 \pm 0,49$	$1,20 \pm 0,40$
Цветовой показатель Color index	$2,29 \pm 0,47$	$1,99 \pm 0,11^*$	$1,68 \pm 0,21$	$1,59 \pm 0,28$	$1,79 \pm 0,44$
Фагоцитарная активность (%) Phagocytic activity (%)	$32,68 \pm 4,37$	$26,88 \pm 5,30$	$26,69 \pm 7,10$	$28,48 \pm 3,05^*$	$22,11 \pm 4,26$
Фагоцитарный индекс (у. е.) Phagocytic index (c. u.)	$11,15 \pm 0,54$	$9,93 \pm 1,45$	$10,62 \pm 0,87$	$11,01 \pm 0,92$	$9,57 \pm 1,31$
Фагоцитарное число Phagocytic number	$3,46 \pm 0,42$	$3,80 \pm 0,69$	$4,28 \pm 1,18$	$3,92 \pm 0,55$	$4,44 \pm 0,76$

Примечание.  $p \leq 0,05$  при сравнении с группой контроля.

Note.  $p \leq 0.05$  when compared with the control group.



При анализе показателей красной крови отмечена тенденция к увеличению количества эритроцитов и в контрольной и опытной группе. Однако стоит отметить, то в подопытной группе увеличение количества эритроцитов более выражено и составляет 22% относительно показателей на начало исследования, тогда как в группе контроля показатель повысился всего на 7% относительно показателей данной группы на начало исследований. Это может говорить о благотворном влиянии на качество и насыщенность гемоглобином вырабатываемых красным костным мозгом эритроцитов, а следовательно, и предположительно обеспеченность тканей организма кислородом. В отношении количества тромбоцитов крови опытной и контрольной групп достоверных различий выявлено не было. Однако на 2-й и 3-й отбор проб крови отмечается тенденция к снижению количества тромбоцитов в крови подопытных птиц относительно контрольных, не выходя при этом за пределы референсных значений. Подобные изменения можно связать со снижением количества тромбообразований. Также не было выделено статистически достоверных различий в отношении скорости оседания эритроцитов (СОЭ) крови опытной и контрольной групп. При оценке количества лейкоцитов крови опытной и контрольной групп достоверных различий выявлено не было. Но по результатам третьего отбора проб крови в подопытной группе наблюдается тенденция к снижению числа лейкоцитов против повышения в контрольной группе, не выходя за пределы референсных значений. Это следует анализировать комплексно, принимая во внимание схемы иммунизации и вакцинации поголовья. При анализе показателей лейкограммы достоверные изменения выявлены в период второго отбора проб – в подопытной группе на 50% увеличилась доля псевдоэозинофилов и на 6% снизилась доля лимфоцитов по сравнению с группой контроля. В третий отбор проб крови эта тенденция продолжается – также на 22% увеличилась доля псевдоэозинофилов и на 4% снизилась доля лимфоцитов в подопытной группе относительно группы контроля. Это говорит о нормализации соотношения форм лейкоцитов в подопытной группе, а следовательно, и иммунного статуса. Также на третьем отборе выявлено достоверное снижение количества эозинофилов в подопытной группе по сравнению с контролем на 67%, что может говорить о более низкой аллергической реакции иммунной системы организма, которая может происходить, например, в ответ на паразитарные инвазии. Сходная тенденция также была выявлена и во время второго отбора проб крови.

При оценке показателей фагоцитоза крови достоверные изменения выявлены в период третьего отбора проб – в подопытной группе фагоцитарная активность увеличилась на 23%, что говорит о более высокой способности лейкоцитов подопытной группы поглощать чужеродные бактерии, а следовательно, и о более сильном клеточном иммунитете по сравнению с группой контроля. Сходная тенденция наблюдается и в период второго отбора проб крови. Также примечательно, что в контроле показатели фагоцитарной активности и фагоцитарного индекса относительно первого отбора проб также имели тенденцию к снижению.

## Заключение

При анализе показателей лейкограммы достоверные изменения выявлены в период второго отбора проб – в подопытной группе увеличилась доля псевдоэозинофилов и снизилась доля лимфоцитов по сравнению с группой контроля. В третий отбор проб крови эта тенденция продолжается. Это говорит о нормализации соотношения форм лейкоцитов в подопытной группе, а следовательно, и иммунного статуса. На третьем отборе выявлено достоверное снижение количества эозинофилов в подопытной группе относительно контрольной, что может говорить о более низкой аллергической реакции иммунной системы организма, которая может происходить, например, в ответ на паразитарные инвазии. При оценке показателей фагоцитоза крови в подопытной группе достоверно увеличилась фагоцитарная активность в период третьего отбора проб, что говорит о более высокой способности лейкоцитов подопытной группы поглощать чужеродные бактерии, а, следовательно, и о более сильном клеточном иммунитете по сравнению с группой контроля. Сходная тенденция наблюдается и в период второго отбора проб крови. Большое количество достоверных изменений морфологических показателей крови, а также фагоцитоза крови указывают на появление благотворных эффектов в течение первых нескольких недель применения добавки. Также имеются признаки отсроченного благоприятного влияния добавки в течение нескольких месяцев, что в свою очередь важно для более длительного использования поголовья птиц, их сохранности и продуктивности. Таким образом, было установлено, что фукусковые водоросли могут существенно повлиять на показатели иммунитета организма сельскохозяйственной птицы, повысив резистентность у кур-несушек.

## Список литературы / References

1. Гласкович А.А., Карпенко Л.Ю., Балькина А.Б., Бахта А.А. Применение пробиотика «Бифлор» и иммуностимулятора «Апистимулин-А» для повышения продуктивности цыплят-бройлеров // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии, 2017. № 4. С. 90-92. [Glaskovich A.A., Karpenko L.Yu., Balykina A.B., Bakhta A.A. The use of the probiotic «Biflor» and the immunostimulant «Apistimulin-A» to increase the productivity of broiler chickens. Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii = *Issues of Legal Regulation in Veterinary Medicine*, 2017, no. 4, pp. 90-92. (In Russ.)]
2. Гласкович М.А., Карпенко Л.Ю., Бахта А.А., Кинаревская К.П. Оценка влияния применения различных биологически активных добавок в рационе птиц на физико-химические показатели мяса // Международный вестник ветеринарии, 2018. № 2. С. 54-59. [Glaskovich M.A., Karpenko L.Yu., Bakhta A.A., Kinarevskaya K.P. Assessment of the influence of the use of various biologically active additives in the diet of birds on the physical and chemical parameters of meat. *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii = International Veterinary Bulletin*, 2018, no. 2, pp. 54-59. (In Russ.)]
3. Егоров И.А., Егорова Т.А., Ленкова Т.Н., Вертипрахов В.Г., Манукян В.А., Никонов И.Н., Грозина А.А., Филиппова В.А., Йылдырым Е.А., Ильина Л.А., Дубровин А.В., Лаптев Г.Ю. Замещение кормовых антибиотиков в рационах. Сообщение II. Микробиота кишечника и продуктивность мясных кур (*Gallus gallus* L.) на фоне фитобиотика // Сельскохозяйственная биология, 2019. Т. 54, № 4. С. 798-809. [Egorov I.A., Egorova T.A., Lenkova T.N., Vertiprakhov V.G., Manukyan V.A., Nikonov I.N., Grozina A.A., Filippova V.A., Yildirim E.A., Ilyina L.A., Dubrovin A.V., Laptev G.Yu. Replacement of feed antibiotics in diets. Message II. Intestinal microbiota and productivity of meat chickens (*Gallus gallus* L.) against the background of phytobiotics. *Selskokhozyaystvennaya biologiya = Agricultural Biology*, 2019, Vol. 54, no. 4, pp. 798-809. (In Russ.)]
4. Рождественская Т.Н., Борисенкова А.Н., Новикова О.Б., Чавгун В.А. Зоопатогенные и эпидемиологически опасные микроорганизмы, выделяемые от птицы в хозяйствах промышленного типа // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные, 2005. № 4. С. 37-38. [Rozhdestvenskaya T.N., Borisenkova A.N., Novikova O.B., Chavgun V.A. Zoonotic and epidemiologically dangerous microorganisms isolated from poultry in industrial farms. *Rossiyskiy veterinarnyy zhurnal. Selskokhozyaystvennyye zhivotnyye = Russian Veterinary Journal. Farm Animals*, 2005, no. 4, pp. 37-38. (In Russ.)]
5. Рождественская Т.Н., Сухинин А.А., Панкратов С.В., Смирнов Л.И., Макавчик С.А. Эпизоотологические и эпидемиологические аспекты кампилобактериоза птиц // Сборник статей Научно-практической конференции «Современные научные разработки и передовые технологии для промышленного птицеводства», Санкт-Петербург, 12-14 июля 2023 года. Санкт-Петербург: Медиапайп, 2023. С. 95-99. [Rozhdestvenskaya T.N., Sukhinin A.A., Pankratov S.V., Smirnov L.I., Makavchik S.A. Epizootological and epidemiological aspects of campylobacteriosis in birds // Collection of articles of the Scientific and Practical Conference «Modern scientific developments and advanced technologies for industrial poultry farming», St. Petersburg, July 12-14, 2023]. St. Petersburg: Mediapapier, 2023, pp. 95-99. (In Russ.)]
6. Anisimova N.Y., Ustyuzhanina N.E., Bilan M.I., Donenko F.V., Ushakova N.A., Usov A.I., Kiselevskiy M.V., Nifantiev N.E. Influence of modified fucoidan and related sulfated oligosaccharides on hematopoiesis in cyclophosphamide-induced mice. *Marine Drugs*, 2018, Vol. 16, no. 9, 333. doi: 10.3390/md16090333.
7. Cumashi A.A., Ushakova N.A., Preobrazhenskaya M.E., D'Incecco A., Piccoli A., Totani L., Tinari N., Morozevich G.E., Berman A.E., Bilan M.I., Usov A.I., Ustyuzhanina N.E., Grachev A.A., Sanderson C.J., Kelly M., Rabinovich G.A., Iacobelli S., Nifantiev N.E. Consorzio Interuniversitario Nazionale per la Bio-Oncologia, Italy Comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology*, 2007, Vol. 17, no. 5, pp. 541-552.
8. Kurilova A.A., Karpenko L.Y., Balykina A.B., Bakhta A.A., Kochish I.I., Nikonov I.N., Kozitcyna A.I. PSVIII-20 Heterologous lactobacilli feed additive impact on microflora in Cobb-500 broiler laying hens. *J. Anim. Sci.*, 2021, Vol. 99, Suppl. 3, 429. doi: 10.1093/jas/skab235.769.

### Авторы:

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

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

**Никонов И.Н.** — к.б.н., ассистент кафедры кормления и разведения животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», Санкт-Петербург, Россия

### Authors:

**Bakhta A.A.**, PhD (Biology), 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

**Nikonov I.N.**, PhD (Biology), Assistant Professor, Department of Animal Feeding and Breeding, St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Поступила 17.04.2024

Отправлена на доработку 18.04.2024

Принята к печати 22.04.2024

Received 17.04.2024

Revision received 18.04.2024

Accepted 22.04.2024

## ВЛИЯНИЕ КИССПЕПТИНА НА СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ РЕГУЛЯТОРНЫХ КЛЕТОК (Th17, Treg, iNKT) ТИМУСА *IN VITRO*

Орлова Е.Г., Логинова О.А., Горбунова О.Л., Ширшев С.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.** Пептидный гормон кисспептин, продуцируемый нейронами передней зоны гипоталамуса, является ключевым регулятором становления гонадостата и репродуктивной функции и обладает иммунорегуляторной активностью. При беременности кисспептин активно продуцируется плацентой, присутствует в периферической крови и оказывает влияние на клетки иммунной системы, которые экспрессируют специфические рецепторы к гормону, в том числе на клетки тимуса. Однако эффекты гормона на тимопоэз в аспекте беременности не изучены. Поэтому цель работы – изучить влияние кисспептина в концентрации, характерной для беременности, на субпопуляционный состав регуляторных клеток тимуса *in vitro*. Тимоциты культивировали 72 ч с кисспептином в концентрации (9,6 пМ), характеризующей его максимальный уровень в периферической крови при беременности, в присутствии CD3/CD28-активирующих частиц и далее оценивали субпопуляционный состав регуляторных клеток, экспрессию в них Ki-67, Vcl-2 методом проточной цитометрии. Оценивали процентное содержание Т-регуляторных лимфоцитов (Treg), как процент CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> клеток; Т-хелперов, продуцирующих интерлейкин-17 (Th17), как процент CD4<sup>+</sup>IL-17A<sup>+</sup>RORγt<sup>+</sup> клеток; инвариантных Т-лимфоцитов с функциями натуральных киллеров (iNKT), как процент CD3<sup>hi</sup>Vα24Ja18<sup>+</sup> клеток в культуре тимоцитов. В ряд проб для индукции апоптоза вносили дексаметазон (10<sup>-6</sup>М). Отдельно оценивали влияние примированных кисспептином плазмацитоидных дендритных клеток (пДК) тимуса на субпопуляционный состав регуляторных клеток (Th17, Treg, iNKT) в культуре тимоцитов. Для этого выделенные методом иммуномагнитной сепарации пДК тимуса культивировали сутки с кисспептином, а далее добавляли в культуру интактные аутологичные тимоциты в соотношении 1:10 и культивировали еще 72 ч. Установлено, что инкубация тимоцитов с кисспептином не влияла на процентное содержание Treg, iNKT и Th17 в культуре *in vitro*, а также экспрессию Ki-67 и Vcl-2 в этих клетках. В условиях индукции апоптоза дексаметазоном выявлено увеличение процента Vcl-2<sup>+</sup>Th17-клеток под влиянием кисспептина. При инкубации тимоцитов с примированными кисспептином пДК выявлено увеличение процентного содержания Th17 в культуре тимоцитов, тогда как количество Treg и iNKT не изменялось. Можно заключить, что кисспептин регулирует процентное

### Адрес для переписки:

Орлова Екатерина Григорьевна  
Институт экологии и генетики микроорганизмов  
Уральского отделения Российской академии наук  
614081, Россия, г. Пермь, ул. Голева, 13.  
Тел.: 8 (342) 280-84-31.  
Факс: 8 (342) 280-92-11.  
E-mail: orlova\_katy@mail.ru

### Address for correspondence:

Ekaterina G. Orlova  
Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms  
13 Golev St  
Perm  
614081 Russian Federation  
Phone: +7 (342) 280-84-31.  
Fax: +7 (342) 280-92-11.  
E-mail: orlova\_katy@mail.ru

### Образец цитирования:

Е.Г. Орлова, О.А. Логинова, О.Л. Горбунова, С.В. Ширшев «Влияние кисспептина на субпопуляционный состав регуляторных клеток (Th17, Treg, iNKT) тимуса *in vitro*» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 1077-1084.  
doi: 10.46235/1028-7221-16681-TKE

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

### For citation:

E.G. Orlova, O.A. Loginova, O.L. Gorbunova, S.V. Shirshv  
“The kisspeptin effects on the thymic regulatory cell  
compositions (Th17, Treg, iNKT) *in vitro*”, Russian Journal  
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024,  
Vol. 27, no. 4, pp. 1077-1084.  
doi: 10.46235/1028-7221-16681-TKE

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16681-TKE

содержание Th17 в культуре тимоцитов *in vitro*, опосредуя свои эффекты влиянием на пДК тимуса. А действуя непосредственно на тимоциты, увеличивает устойчивость тимических Th17 к дексаметазон-индуцированному апоптозу. В целом, полученные результаты расширяют наши представления о гормональной регуляции механизмов, контролирующей соотношение регуляторных клеток при беременности.

*Ключевые слова:* кисспептин, Th17, iNKT, Treg, тимус, беременность, *in vitro*

## THE KISSPEPTIN EFFECTS ON THE THYMIC REGULATORY CELL COMPOSITIONS (Th17, Treg, iNKT) *IN VITRO*

Orlova E.G., Loginova O.A., Gorbunova O.L., Shirshov S.V.

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

**Abstract.** The peptide hormone kisspeptin, produced by neurons of the hypothalamus anterior zone, is a key regulator of the gonadostat formation and reproductive function, and has immunoregulatory activity. During pregnancy, kisspeptin is produced by the placenta, presents in the peripheral blood and affects on immune cells that express specific receptors for the hormone, including thymus cells. However, the kisspeptin effects on thymopoiesis during pregnancy have not been studied. The purpose of the work was to study the kisspeptin effect on the thymic regulatory cell composition *in vitro*. Thymocytes were cultured for 72 hours with kisspeptin at a concentration (9.6 pM) characterizing its maximum level in the peripheral blood during pregnancy, in the presence of CD3/CD28-activating particles and further assessed the regulatory cell composition and Ki-67 and Bcl-2 expression by flow cytometry. The percentage of T regulatory lymphocytes (Treg) was assessed as the percentage of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> cells; T helper cells producing interleukin17 (Th17), as a percentage of CD4<sup>+</sup>IL-17A<sup>+</sup>RORγt<sup>+</sup> cells; invariant T lymphocytes with natural killer functions(iNKT), as a percentage of CD3<sup>hi</sup>Vα24Ja18<sup>+</sup> cells in thymocyte culture. Dexamethasone (10<sup>-6</sup>M) was added to induce apoptosis. The effect of kisspeptin-primed thymic plasmacytoid dendritic cells (pDCs) on the regulatory cell composition (Th17, Treg, iNKT) in thymocyte culture was assessed. Thymic pDCs isolated by immunomagnetic separation were cultured for 24 hours with kisspeptin, and then intact autologous thymocytes were added in a ratio of 1:10 and cultured for another 72 hours. The thymocyte incubation of with kisspeptin did not affect the Tregs, iNKT and Th17 percentage *in vitro*, as well as the expression of Ki-67 and Bcl-2 in these cells. Under dexamethasone influence, the Bcl-2<sup>+</sup>Th17 percentage in thymocyte cultures with kisspeptin was increased. The Th17 percentage was increased in cultures of kisspeptin-primed pDCs with thymocytes, while the Treg and iNKT number did not change. It can be concluded that kisspeptin has regulatory effects on the Th17 percentage in thymocyte culture *in vitro*, mediating its effects by influencing thymic pDCs. And kisspeptin acted directly on thymocytes, increases the resistance of thymic Th17 to dexamethasone-induced apoptosis. The obtained results expand our understanding of the hormonal regulation of regulatory cell balance during pregnancy.

*Keywords:* kisspeptin, Th17, iNKT, Treg, thymus, pregnancy, *in vitro*

Работа выполнена при поддержке Государственного задания №124020500027-7.

### Введение

Гормон кисспептин, продуцируемый нейронами передней зоны гипоталамуса, стимулирует секрецию гонадотропин-рилизинг гормона (Гн-РГ) и является ключевым регулятором процессов репродукции [3]. Кисспептин проявляет свои биологические эффекты на уровне гипоталамо-гипофизарной системы, но в период беременности активно продуцируется плацентой, присутствует

в периферической крови и оказывает системное влияние на клетки иммунной системы [6]. Реализация эффектов гормона осуществляется путем связывания со специфическим рецептором KISS-1R, который относится к классу G-белок сопряженных рецепторов, ассоциированных с Gα<sub>q</sub> [8]. Рецепторы кисспептина экспрессируются в гипоталамусе, гипофизе, плаценте, яичках, лимфатических узлах и других органах, а также на клетках иммунной системы, что предполагает его значимую иммунорегуляторную функцию [8]. В недавних исследованиях показана экспрессия рецепторов кисспептина на тимоцитах,



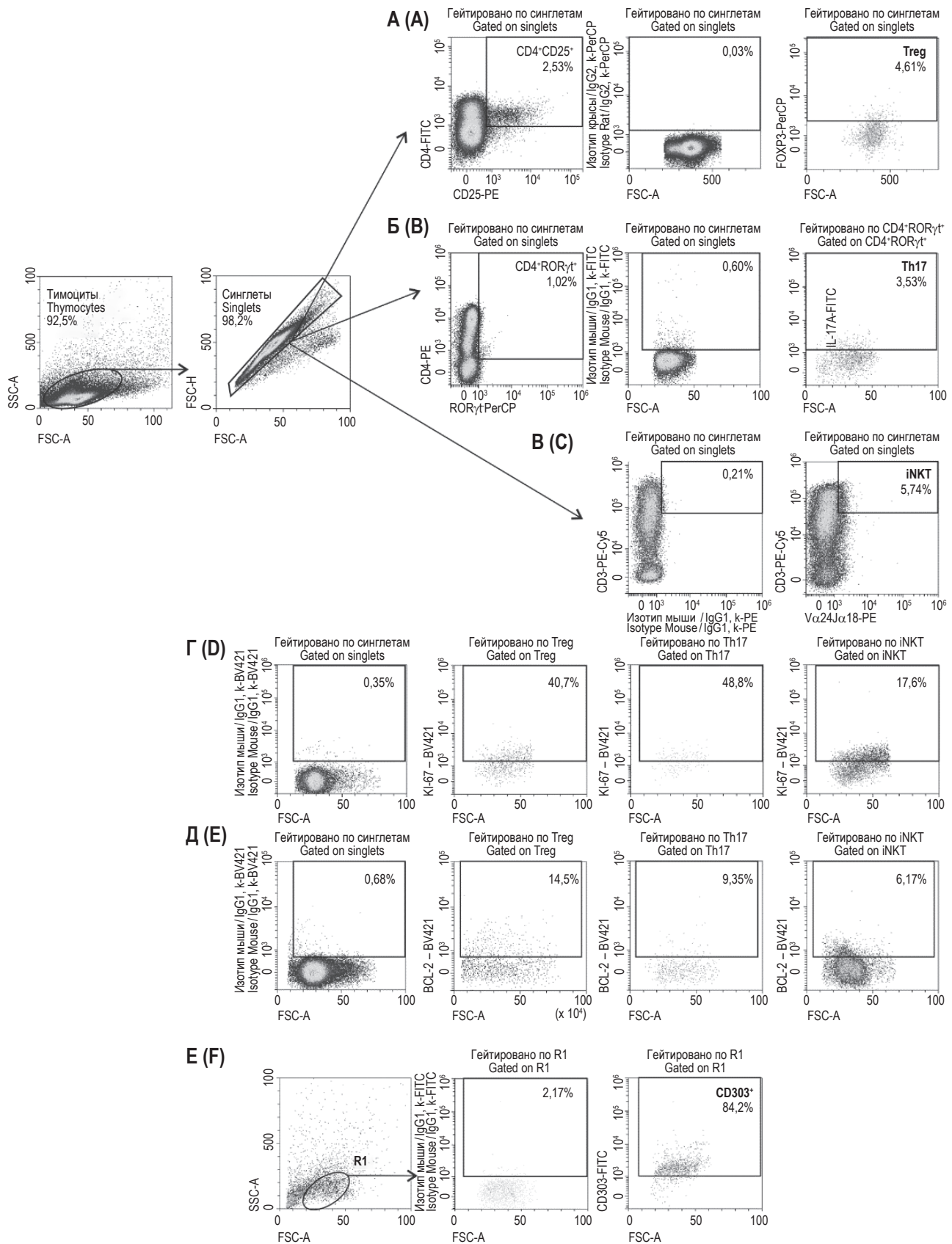
эпителиальных и дендритных клетках (ДК) тимуса мышей [13]. Показано, что у половозрелых мышей, дефицитных по экспрессии рецепторов к кисспептину, выявляется увеличение размеров и клеточности тимуса по сравнению с обычными мышами [13]. Все вышесказанное свидетельствует об участии кисспептина в регуляции тимического этапа развития Т-лимфоцитов, однако у человека эти процессы не изучены.

Физиологическая беременность характеризуется индуцированной стероидами инволюцией тимуса, формированием периферической иммунной толерантности вследствие подавления опосредованных цитотоксическими Т-клетками иммунных реакций, изменением функциональной активности ДК, инвариантных Т-клеток с функциями натуральных киллеров (iNKT), снижением соотношения интерлейкин-17-продуцирующих Т-хелперов (Th17) / Т-регуляторных лимфоцитов (Treg) [7, 10]. Но, несмотря на инволюцию тимуса, беременные женщины имеют сходные пропорции и абсолютное количество Т-лимфоцитов, как и небеременные [5]. А в ряде работ показано, что к концу беременности количество тимических Treg и общее количество CD4<sup>+</sup>Т-клеток увеличивается [5, 12]. В наших предыдущих исследованиях установлено, что гормоны, продуцируемые плацентой при беременности, играют значимую роль в регуляции тимического этапа формирования регуляторных и эффекторных популяций лимфоцитов периферической крови, в том числе опосредуя свои эффекты модуляцией функций ДК тимуса [2, 9]. Поэтому **цель работы** — изучить влияние кисспептина в концентрации, характерной для беременности, на субпопуляционный состав регуляторных клеток (Th17, Treg, iNKT) тимуса *in vitro*.

## Материалы и методы

Тимоциты получали из фрагментов тимусов, удаляемых в ходе сердечно-сосудистых операций у детей до года при коррекции врожденных пороков сердца в соответствии с существующей хирургической практикой Федерального краевого центра сердечно-сосудистой хирургии г. Перми. Исследования проводились согласно Хельсинкской декларации ВМА 2000 г. и Конвенции Совета Европы «О правах человека и биомедицине» 1999 г. и одобрено локальным этическим комитетом ИЭГМ УрО РАН (протокол от 01.07.2016). Обязательным критерием включения являлось наличие добровольного согласия со стороны законных представителей несовершеннолетних. Фрагменты тимуса помещали в полную питательную среду (ППС) (RPMI-1640 с GlutaMAX™-I (Gibco, Великобритания), с добав-

лением пенициллина 50 мкг/мл и стрептомицина 50 нг/мл, 10%-ной фетальной бычьей сыворотки, 25 мм HEPES (N-2-hydroxyethylpiperazine-N0-2-ethanesulfonic acid, Gibco, Великобритания). Тимоциты получали путем легких надавливающих пинцетом на фрагменты тимуса. Полученную суспензию клеток трижды отмывали в фосфатно-солевом буфере, клетки подсчитывали и ресуспендировали в ППС, а затем вносили по 1 мл ( $1 \times 10^7$  кл/мл) в лунки 24-луночного полистиролового планшета и инкубировали с кисспептином 72 ч при 37 °С в условиях 5% CO<sub>2</sub>. Кисспептин (Metastin, Synthetic, Calbiochem, США) вносили в культуры в концентрации 9,6 пМ, соответствующей его максимальному уровню в периферической крови при беременности [6]. Созревание тимоцитов индуцировали с использованием CD3/CD28-частиц (Gibco, LifeTechnologies AS, Норвегия), обеспечивающих активацию клетки через Т-клеточный рецептор с костимуляцией. Тимические Treg оценивали как процент FoxP3<sup>+</sup> в гейте CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> тимоцитов (Human CD4<sup>+</sup>(FITC)CD25<sup>+</sup>(PE) regulatory T cell staining reagent, R&D, США; Anti-Human FoxP3 PerCP/Cy5.5, clone PCH101, eBioscience, США). Тимические Th17 определяли как процент IL-17A<sup>+</sup> клеток в гейте CD4<sup>+</sup>RORγt<sup>+</sup> тимоцитов (IL-17A FITC BL168, BioLegend, США; CD4 PE, clone RPA-T4, BioLegend, США; Anti-human/mouse RORγt/RORc2 PerCP, R&D, США). Количество iNKT определяли как процент CD3<sup>hi</sup>Vα24Jα18<sup>+</sup> клеток (Anti-Human CD3 PE-Cy5, clone UCHT1, eBioscience, США; Anti-Human Vα24Jα18 TCR PE, clone 6B11, eBioscience, США) в гейте лимфоцитов. Пролиферативный потенциал Treg, Th17 и iNKT оценивали по экспрессии Ki-67. Оценивали количество Ki-67-позитивных клеток (Brilliant Violet 421, clone Ki-67, BioLegend, США) в гейте соответствующей клеточной субпопуляции (Treg, Th17, iNKT). Индукцию апоптоза проводили с использованием дексаметазона ( $10^{-6}$  М, KRKA, Словения). После инкубации оценивали количество Treg, Th17 и iNKT, экспрессирующих белок Bcl-2 (Brilliant Violet 421, clone 100, BioLegend, США). По данным литературы, экспрессия белка Bcl-2 ингибирует апоптоз лимфоцитов. Для определения внутриклеточных маркеров использовали набор специализированных буферов для транскрипционных факторов (True-Nuclear™, BioLegend, США) и соответствующий протокол. При анализе учитывали не менее 10000 клеток. Для контроля неспецифического связывания и выделения негативного по флюоресценции окна использовали соответствующие изотипические контроли. Стратегия гейтирования представлена на рисунке 1.



**Рисунок 1. Стратегия гейтирования, используемая для анализа субпопуляций Treg, Th17, iNKT, в культуре тимоцитов, экспрессии Ki-67 и Bcl-2 в этих клетках, а также чистоты выделения тимических пДК**

Figure 1. Gating strategy for Treg, Th17, iNKT subpopulations in thymocyte culture, the expression of Ki-67 and Bcl-2 in these cells, as well as the purity of thymic pDC isolation assessment

Примечание к рисунку 1. Выделение лимфоцитарного гейта в тимоцитах по параметрам прямого (FSC-A) и бокового (SSC-H) светорассеивания; дискриминация слипшихся клеток (дуплетов) по параметрам площади и высоты прямого светорассеивания (FSC-A/FSC-H). А – выделение позитивной популяций по маркерам CD4/CD25 в гейте синглетов; изотипический контроль для определения экспрессии FoxP3 в гейте синглетов; определение субпопуляции Treg как процента FoxP3<sup>+</sup> в гейте CD4/CD25-позитивных тимоцитов. Б – выделение CD4/RORγt-позитивной популяций в гейте синглетов; изотипический контроль для определения экспрессии IL-17A в гейте синглетов; определение субпопуляции Th17 как процента IL-17A<sup>+</sup> в гейте CD4/RORγt-позитивных тимоцитов. В – изотипический контроль для определения CD3<sup>hi</sup>-позитивной популяций в гейте синглетов; определение субпопуляции iNKT как процента CD3<sup>hi</sup>Vα24Ja18<sup>+</sup> позитивных тимоцитов. Г – изотипический контроль для определения Ki-67-экспрессирующих клеток в гейте синглетов; определение процента Ki-67-экспрессирующих клеток в популяциях Treg, Th17, iNKT. Д – изотипический контроль для определения Bcl-2-экспрессирующих клеток в гейте синглетов; определение процента Bcl-2-экспрессирующих клеток в популяциях Treg, Th17, iNKT. Е – определение процента CD303<sup>+</sup> пДК в моноцитарном гейте после иммуномагнитной сепарации.

На рисунке 1 представлены гистограммы одного репрезентативного эксперимента.

Note to Figure 1. Isolation of the lymphocytic gate in thymocytes according to the forward (FSC-A) and side (SSC-H) scattering parameters; 2, discrimination of singlets according to the FSC-A/FSC-H parameters. A, isolation of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> subpopulations in singlet gate; isotypic control to determine the expression of FoxP3 in singlet gate; determination of the Treg subpopulation as a percentage of FoxP3<sup>+</sup> in the CD4/CD25-positive thymocyte gate. B, isolation of CD4<sup>+</sup>RORγt<sup>+</sup> subpopulations in singlet gate; isotypic control to determine the expression of IL-17A in singlet gate; determination of the Th17 subpopulation as a percentage of IL-17A<sup>+</sup> in the gate of CD4<sup>+</sup>RORγt<sup>+</sup> thymocytes. C, isotypic control for the determination of CD3<sup>hi</sup> positive populations in singlet gate; determination of a subpopulation iNKT as a percentage of CD3<sup>hi</sup>Vα24Ja18<sup>+</sup> cells in singlet gate. D, isotypic control for the determination of Ki-67-expressing cells in the singlet gate; determination of the percentage of Ki-67-expressing cells in Treg, Th17, iNKT populations. E, isotypic control for the determination of Bcl-2-expressing cells in the singlet gate; determination of the percentage of Bcl-2-expressing cells in Treg, Th17, iNKT populations. F, determination of the percentage of CD303<sup>+</sup> pDC in the monocyte gate after immunomagnetic separation. Figure 1 shows histograms of one representative experiment.

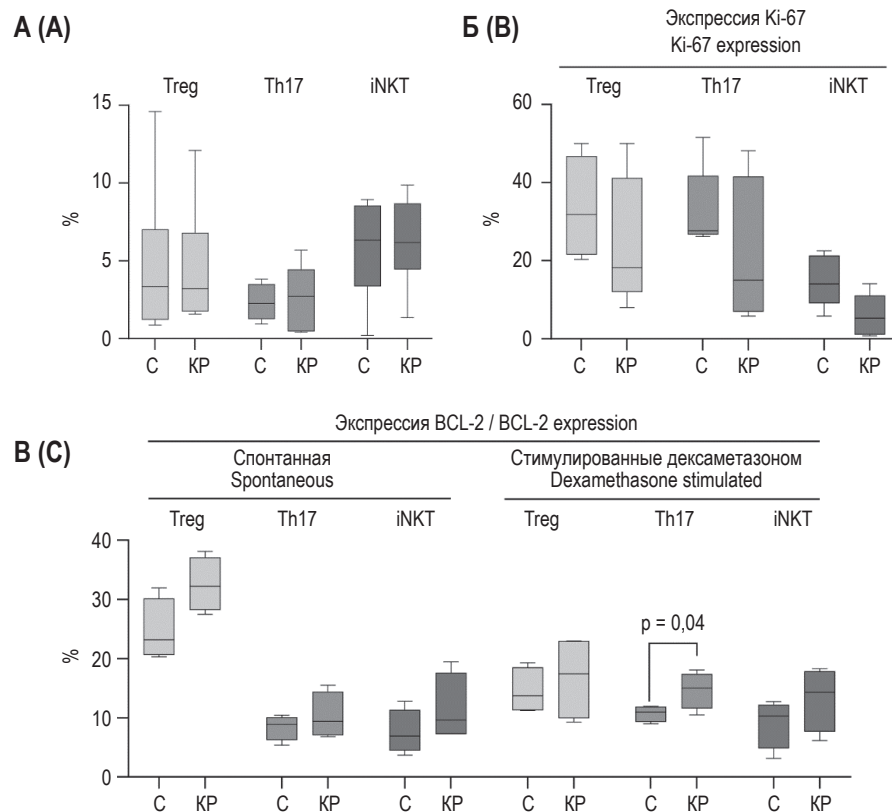
В отдельной серии экспериментов оценивали влияние примированных кисспептином плазматоидных (п) ДК тимуса на формирование Treg, Th17, iNKT в культуре тимоцитов при совместном инкубировании. Для этого кусочки тимуса механически измельчали и полученную суспензию концентрировали центрифугированием на фиколл-верографине с градиентом плотности 1,077 г/см<sup>3</sup>, после чего суспензию клеток фильтровали с использованием сита для клеток диаметром 30 мкм (Miltenyi Biotec, Германия) для удаления остатков [11]. Клетки из фракции низкой плотности использовали для выделения пДК ( $2 \times 10^8$  клеток/мл). Чистота выделения, контролируемая по экспрессии CD303 (Anti-Human CD303 (BDCA-2) FITC, clone 201A) [11], составляла более 80%. Полученные пДК ресуспендировали в 1 мл ППС и инкубировали по  $0,1-1 \times 10^6$  кл/мл в присутствии кисспептина 24 ч при 37 °С и 5% CO<sub>2</sub>. После 24 ч инкубации к пДК добавляли суспензию аутологичных интактных тимоцитов ( $0,1-1 \times 10^7$  кл/мл в 1 мл ППС) и инкубировали клетки совместно 72 ч, после чего анализировали фенотип на проточном цитометре CytoFlex S (Beckman Coulter, США). Контроль жизнеспособности клеток на этапах выделения и инкубации осуществляли с помощью окрашивания трипановым синим в каждой пробе. Жизнеспособность клеток не отличалась в пробах с кисспептином и без (контрольных) и составляла более 95% на всех этапах исследования.

Статистический анализ выполнен в программе Prism 9 (GraphPad, США). Проверка нулевой гипотезы о нормальности распределения в выборке проводилась с помощью теста  $\chi^2$ . Результа-

ты выражали в виде медианы с нижней и верхней квартилью – Me ( $Q_{0,25}-Q_{0,75}$ ). Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ . Достоверность различий между группами оценивали по критерию Вилкоксона для парных зависимых выборок.

## Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что инкубация тимоцитов с кисспептином не влияла на процентное содержание Treg, iNKT и Th17 в культуре *in vitro* (рис. 2). Полученные результаты согласуются с работами других авторов, которые показали, что у мышей, дефицитных по экспрессии рецепторов к кисспептину, не выявлено отличий по количеству Treg в тимусе и изменений в формировании Treg и Th17 из CD4<sup>+</sup> предшественников в системе *in vitro* по сравнению с обычными мышами [13]. Однако этими же авторами выявлено снижение количества Treg в периферической крови у мышей, дефицитных по экспрессии рецепторов к кисспептину [13]. В наших предыдущих исследованиях кисспептин в концентрации, характерной для беременности, усиливал формирование адаптивных Treg, но препятствовал образованию Th17 из наивных CD4<sup>+</sup> лимфоцитов периферической крови в условиях направленной индукции их формирования [1]. Данные о влиянии кисспептина на формирование тимических iNKT в литературе отсутствуют. Можно полагать, что кисспептин, действуя через специфические рецепторы, участвует в контроле численности, главным образом адаптивных Treg, однако механизмы требуют дальнейшего изучения. Тимическая дифференцировка подразуме-



**Рисунок 2.** Процентное содержание регуляторных клеток (Treg, Th17, iNKT) в культурах тимоцитов, культивировавшихся 72 ч в присутствии CD3/CD28-активирующих частиц и кисспептина (KP) или без кисспептина (C) (A); процент Ki-67-экспрессирующих Treg, Th17, iNKT в этих культурах (Б); процент Bcl-2-экспрессирующих Treg, Th17, iNKT в этих культурах, а также при индукции дексаметазоном (B)

**Примечание.** Результаты представлены в виде медианы с нижней и верхней квартилью – Me ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ ); p – значение парного критерия Вилкоксона. Представлены данные семи независимых экспериментов.

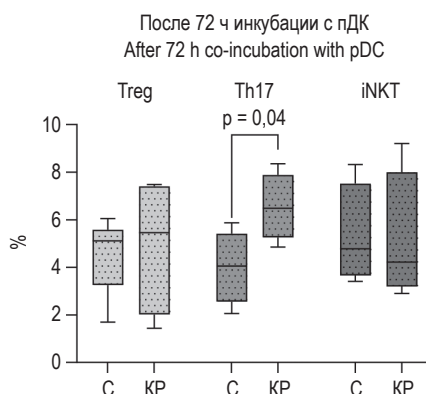
Figure 2. Percentage of regulatory cells (Treg, Th17, iNKT) in thymocyte cultures after 72 h cultivation in the presence of CD3/CD28 activating particles and kisspeptin (KP) or without kisspeptin (C) (A); percentage of Ki-67 expressing Treg, Th17, iNKT in these cultures (B); percentage of Bcl-2-expressing Treg, Th17, iNKT in these cultures, as well as during dexamethasone induction (C)

Note. The results are presented as a median with a lower and upper quartile – Me ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ ); p is the value of the paired Wilcoxon criterion. Data from seven independent experiments are presented.

вает два основных процесса, контролирующих численность клеток, – пролиферацию и апоптоз, поэтому анализировали экспрессию Ki-67 и Bcl-2 в тимocyтах после инкубации с кисспептином. Известно, что белок Ki-67 экспрессируется только в ядрах пролиферирующих клеток. Кисспептин во всех исследуемых субпопуляциях снижал количество Ki-67-позитивных клеток (рис. 2), однако эта тенденция не была достоверной, что, по-видимому, связано с малочисленностью выборки. Следует отметить, что все исследуемые субпопуляции клеток являются высокодифференцированными и обладают низкой пролиферативной активностью. Те же закономерности выявлены и для общей популяции CD3<sup>+</sup> тимоцитов, и для CD4<sup>+</sup> тимоцитов (данные не представлены). В экспериментальной модели на мышах, дефицитных по экспрессии рецепторов к кисспептину, выявлено избыточное усиление

пролиферации тимоцитов в ответ стимуляцию Конконалином А по сравнению с обычными мышами [13]. Можно предполагать, что реализация эффектов кисспептина через его рецепторы ограничивает пролиферацию тимоцитов, однако это требует дальнейшего изучения. В тех же условиях культивирования, кисспептин усиливал экспрессию противоапоптотического фактора Bcl-2 во всех исследуемых популяциях, причем наиболее выражено в Treg (рис. 2), но данная тенденция не была достоверной. В условиях индукции апоптоза дексаметазоном также выявлено увеличение количества клеток, экспрессирующих Bcl-2, во всех исследованных популяциях, но достоверно только для Th17 (рис. 2). Можно полагать, что при беременности в условиях стероид-индуцированной индукции апоптоза тимоцитов, действие кисспептина будет препятствовать апоптозу тимоцитов.





**Рисунок 3. Процентное содержание регуляторных клеток (Treg, Th17, iNKT) в совместных культурах тимоцитов и плазматоидных дендритных клеток тимуса (pDC), примированных кисспептином (KP) или культивировавшихся без кисспептина (C)**

Примечание. См. примечание к рисунку 2.

Figure 3. Percentage of regulatory cells (Treg, Th17, iNKT) in cultures of thymocytes and plasmacytoid dendritic cells of the thymus (pDC) primed with kisspeptin (KP) or cultured without kisspeptin (C)

Note. As for Figure 2.

Известно, что в тимической дифференцировке ведущую роль наряду с эпителиальными клетками играют ДК тимуса [4]. В тимусе присутствуют миелоидные (м) и пДК. мДК тимуса в основном осуществляют негативную селекцию тимоцитов [4]. Плотность пДК в тимусе человека выше (более 77%), чем у мДК, и постепенно увеличивается с возрастом человека [4]. Тимические пДК присутствуют как в кортикальной, так и медуллярной зоне тимуса и играют важную роль в пролиферации тимоцитов, дифференцировке Treg, Th17 и iNKT [4]. Ранее в наших исследованиях показано, что кисспептин оказывал модулирующие эффекты на функции ДК тимуса [2]. Поэтому на следующем этапе работы было изучено влияние примированных кисспептином пДК на дифференцировку тимоцитов. В результате проведенных исследований установлено, что примированные кисспептином пДК увеличивают процент Th17 в культуре тимоцитов, но не влияют на количество Treg и iNKT (рис. 3). Можно полагать, что кисспептин влияет на способность пДК индуцировать формирование Th17 в культу-

ре тимоцитов. В наших предыдущих исследованиях показано, что кисспептин в аналогичной концентрации модулировал экспрессию мембранных молекул ДК тимуса [2].

В целом можно заключить, что кисспептин регулирует процентное содержание Th17 в культуре тимоцитов человека *in vitro*, опосредуя свои эффекты влиянием на пДК тимуса. А действуя непосредственно на тимоциты, увеличивает устойчивость тимических Th17 к дексаметазон-индуцированному апоптозу. Полученные результаты расширяют наши представления о гормональной регуляции баланса регуляторных клеток при беременности, что критично для ее успешного завершения.

## Благодарности

Авторы выражают глубокую благодарность Логиновой Наталье Павловне и Шехмаматьеву Роману Маратовичу за помощь в работе с клиническими образцами.

## Список литературы / References

- Горбунова О.Л., Ширшев С.В. Роль кисспептина в формировании иммунологической толерантности при беременности // Доклады АН, 2014. Т. 457, № 4. С. 494-497. [Gorbunova O.L., Shirshv S.V. The role of kisspeptin in immune tolerance formation during pregnancy. *Doklady akademii nauk = Reports of the Academy of Sciences*, 2014, Vol. 457, no. 1, pp. 494-497. (In Russ.)]
- Ширшев С.В., Орлова Е.Г., Логинова О.А., Некрасова И.В., Горбунова О.Л., Масленникова И.Л. Гормональная регуляция дифференцировки дендритных клеток тимуса // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2018. Т. 165, № 2. С. 193-197. [Shirshv S.V., Orlova E.G., Loginova O.A., Nekrasova I.V., Gorbunova O.L., Maslennikova I.L. Hormonal Regulation of Dendritic Cell Differentiation in the Thymus. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2018, Vol. 165, no. 2, pp. 193-197. (In Russ.)]

3. Dhillon W.S., Murphy K.G., Bloom S.R. The neuroendocrine physiology of kisspeptin in the human. *Rev. Endocr. Metab. Disord.*, 2007, Vol. 8, no. 1, pp. 41-46.
4. Evans V.A., Lal L., Akkina R., Solomon A., Wright E., Lewin S.R., Cameron P.U. Thymic plasmacytoid dendritic cells are susceptible to productive HIV-1 infection and efficiently transfer R5 HIV-1 to thymocytes *in vitro*. *Retrovirology*, 2011, Vol. 8, 43. doi: 10.1186/1742-4690-8-43.
5. Hellberg S., Mehta R.B., Forsberg A. et al. Maintained thymic output of conventional and regulatory T cells during human pregnancy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2019, Vol. 143, no. 2, pp. 771-775.e7.
6. Horikoshi Y., Matsumoto H., Takatsu Y., Ohtaki T., Kitada C., Usuki S., Fujino M. Dramatic elevation of plasma metastatin concentrations in human pregnancy: metastatin as a novel placenta-derived hormone in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003, Vol. 88, no. 2, pp. 914-919.
7. Khalaf W.S., Mahmoud M.R.A., Elkhatib W.F., Hashem H.R., Soliman W.E. Phenotypic characterization of NKT-like cells and evaluation of specifically related cytokines for the prediction of unexplained recurrent miscarriage. *Heliyon*, 2021, Vol. 7, no. 11, e08409. doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e08409.
8. Ohtaki T., Shintani Y., Honda S., Matsumoto H., Hori A., Kanehashi K., Terao Y., Kumano S., Takatsu Y., Masuda Y., Ishibashi Y., Watanabe T., Asada M., Yamada T., Suenaga M., Kitada C., Usuki S., Kurokawa T., Onda H., Nishimura O., Fujino M. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature*, 2001, Vol. 411, no. 6837, pp. 613-617.
9. Orlova E., Loginova O., Shirshov S. Leptin regulates thymic plasmacytoid dendritic cell ability to influence the thymocyte distribution *in vitro*. *Int. Immunopharmacol.*, 2023, Vol. 117, 109912. doi: 10.1016/j.intimp.2023.109912.
10. Saito S., Nakashima A., Shima T., Ito M. Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2010, Vol. 63, no. 6, pp. 601-610.
11. Stoeckle C., Rota I.A., Tolosa E., Haller C., Melms A., Adamopoulou E. Isolation of myeloid dendritic cells and epithelial cells from human thymus. *J. Vis. Exp.*, 2013, Vol. 79, e50951. doi: 10.3791/50951.
12. Wagner M.I., Mai C., Schmitt E., Mahnke K., Meuer S., Eckstein V., Ho A.D., Schaier M., Zeier M., Spratte J., Fluhr H., Steinborn A. The role of recent thymic emigrant-regulatory T-cell (RTE-Treg) differentiation during pregnancy. *Immunol. Cell Biol.*, 2015, Vol. 93, no. 10, pp. 858-867.
13. Xing R., Liu F., Yang Y., Cui X., Wang T., Xie L., Zhao Y., Fang L., Yi T., Zheng B., Liu M., Chen H. GPR54 deficiency reduces the Treg population and aggravates experimental autoimmune encephalomyelitis in mice. *Sci. China Life Sci.*, 2018, Vol. 61, no. 6, pp. 675-687.

---

**Авторы:**

**Орлова Е.Г.** — д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» г. Пермь, Россия

**Логинова О.А.** — к.б.н., младший научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» г. Пермь, Россия

**Горбунова О.Л.** — к.б.н., научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» г. Пермь, Россия

**Ширшев С.В.** — д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий лабораторией иммунорегуляции, 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:**

**Orlova E.G.**, PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Immunoregulation, Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

**Loginova O.A.**, PhD (Biology), Junior Research Associate, Laboratory of Immunoregulation, Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

**Gorbunova O.L.**, PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Immunoregulation, Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

**Shirshov S.V.**, PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory of Immunoregulation, Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

---

Поступила 28.03.2024

Отправлена на доработку 30.03.2024

Принята к печати 03.04.2024

Received 28.03.2024

Revision received 30.03.2024

Accepted 03.04.2024

## ИММУНОКОРРИГИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ ФЕНОФИБРАТА «ТРАЙКОР» ПРИ ЛЕЧЕНИИ НАЧАЛЬНОЙ И ПРОМЕЖУТОЧНОЙ СТАДИЙ ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ

Балацкая Н.В., Куликова И.Г., Еремеева Е.А., Андриюшин А.Е.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца»  
Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Резюме.** Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) – ведущая причина необратимого снижения зрительных функций, слепоты и инвалидности у пожилых людей. Лечение терминальной стадии ВМД крайне ограничено и требует инвазивных вмешательств. В настоящее время идет активный поиск средств, направленных на предотвращение дегенеративного процесса в сетчатке на ранних этапах заболевания. ВМД является мультифакторной патологией, имеет общие механизмы с заболеваниями, связанными со старением, метаболическими сдвигами и нарушением гемодинамики. Исследование эффектов от препаратов, уже широко применяемых для коррекции данных нарушений в общей клинике, может представлять интерес и для офтальмологов. Целью работы было изучение динамики воспалительных маркеров активации сосудистого эндотелия и цитокинов иммунного ответа в слезной жидкости пациентов с начальной и промежуточной стадиями ВМД на фоне применения фенофибрат «Трайкор». Обследовано 65 человек, распределенных на три группы, согласно классификации AREDS: I группа – 20 человек с начальной ВМД (AREDS2), II – 16 больных с промежуточной ВМД (AREDS3); 29 здоровых пожилых людей без офтальмопатологии вошли в группу возрастного контроля (AREDS1 – группа риска). Пациенты I и II групп получали препарат «Трайкор» в дозе 145 мг 1 раз в день в течение 9 месяцев. Слезная жидкость (СЖ) забиралась дважды: до и сразу после завершения курса лечения. Определение sICAM-1, sVCAM-1, sE-, sP-selectin и MCP-1/CCL2 в СЖ выполнено методом проточной цитометрии с помощью самостоятельно сконструированной мультиплексной панели из совместимых симплексных тест-наборов Human FlowCytomix™ Simplex (Bender MedSystem GmbH, Германия); IL-1β, IL-2, IL-6, TNFα определялись в рамках системы Human Flow Cytomix™ 15 Plex (Bender MedSystem GmbH, Германия). Обработка данных выполнялась в пакете FlowCytomix Pro v 6.0 (Bender Med Systems GmbH, Германия). По результатам исследования установлено значимое влияние фенофибрат Трайкор на исходно высокие уровни локальной продукции IL-1β, IL-2, IL-6, MCP-1/CCL2 и sICAM-1 в группе AREDS2, что указывало на прямой противовоспалительный, вазопротекторный эффект препарата при лечении начальной стадии ВМД; похожее действие, но менее выраженное отмечалось в группе AREDS3. Данные офтальмологического обследования также свиде-

### Адрес для переписки:

Балацкая Наталья Владимировна  
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский  
центр глазных болезней имени Гельмгольца»  
Министерства здравоохранения РФ  
105062, Россия, Москва,  
ул. Садовая-Черногызская, 14/19.  
Тел.: 8 (916) 976-61-27.  
E-mail: balnat07@rambler.ru

### Address for correspondence:

Natalia V. Balatskaya  
Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases  
14/19 Sadovaya-Chernogryzskaya St  
Moscow  
105062 Russian Federation  
Phone: +7 (916) 976-61-27.  
E-mail: balnat07@rambler.ru

### Образец цитирования:

Н.В. Балацкая, И.Г. Куликова, Е.А. Еремеева,  
А.Е. Андриюшин «Иммунокорректирующие эффекты  
фенофибрат «Трайкор» при лечении начальной  
и промежуточной стадий возрастной макулярной  
дегенерации» // Российский иммунологический журнал,  
2024. Т. 27, № 4. С. 1085-1090.  
doi: 10.46235/1028-7221-16824-IEO

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

### For citation:

N.V. Balatskaya, I.G. Kulikova, E.A. Ereemeeva,  
A.E. Andryushin “Immunocorrective effects of Tricor  
fenofibrate in the treatment of the early and intermediate  
stages of age-related macular degeneration”, Russian Journal  
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024,  
Vol. 27, no. 4, pp. 1085-1090.  
doi: 10.46235/1028-7221-16824-IEO

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16824-IEO

тельствовали о стабилизации зрительных функций и клинической картины глазного дна, улучшении внутриглазного кровообращения пациентов основных групп. Таким образом, применение «Трайкора» может оказать помощь в предотвращении дегенеративного процесса в сетчатке на ранних этапах развития ВМД.

*Ключевые слова:* возрастная макулярная дегенерация, воспаление, фенофибраты, слезная жидкость, цитокины, молекулы адгезии

## IMMUNOCORRECTIVE EFFECTS OF TRICOR FENOFIBRATE IN THE TREATMENT OF THE EARLY AND INTERMEDIATE STAGES OF AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION

Balatskaya N.V., Kulikova I.G., Ereemeeva E.A., Andryushin A.E.

*Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation*

**Abstract.** Age-related macular degeneration (AMD) is the leading cause of irreversible visual impairment, blindness and disability in the elderly. Treatment of end-stage AMD is extremely limited and requires invasive interventions. Currently, there is an active search for remedies aimed at preventing the degenerative process in the retina in the early stages of the disease. AMD is a multifactorial pathology, has common mechanisms with diseases associated with aging, metabolic shifts and hemodynamic disorders. The study of the effects of drugs already used to correct these disorders in the general clinic may also be of interest to ophthalmologists. The aim of the work was to study the dynamics of inflammatory markers of activation of the vascular endothelium and cytokines of the immune response in the tear fluid (TF) of patients with initial and intermediate stages of AMD against the background of the use of Tricor fenofibrate. 65 people were examined, divided into three groups according to the AREDS classification: group I – 20 people with early AMD (AREDS2), group II – 16 patients with intermediate AMD (AREDS3), 29 healthy elderly people without ophthalmopathy entered the age control group (AREDS1 – risk group). Patients of groups I and II received Tricor at a dose of 145 mg once a day for 9 months. Tear fluid (TF) was taken twice: before and immediately after the completion of the course of treatment. The determination of sICAM-1, sVCAM-1, sE-, sP-selectin and MCP-1/CCL2 in CS was performed by flow cytometry using a self-constructed multiplex panel from compatible simplex test kits Human FlowCytomix™ Simplex (Bender MedSystem GmbH, Germany); IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, TNF $\alpha$  was determined within the framework of the Human Flow Cytomix™ 15 Flex system (Bender MedSystem GmbH, Germany). Data processing was performed in the FlowCytomix Pro v 6.0 package (Bender Med Systems GmbH, Germany). According to the results of the study, a significant effect of Tricor fenofibrate was found on the initially high levels of local production of IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, MCP-1/CCL2 and sICAM-1 in the AREDS2 group, which indicated a direct anti-inflammatory, vasoprotective effect in the treatment of the initial stage of AMD; a similar effect of the drug, but less pronounced, noted in the AREDS3 group. The ophthalmological examination data also indicated stabilization of visual functions and the clinical picture of the fundus, improvement of intraocular blood circulation in patients of the main groups. Thus, the use of Tricor can help prevent the degenerative process in the retina in the early stages of AMD development.

*Keywords:* age-related macular degeneration, inflammation, phenofibrates, tear fluid, cytokines, adhesion molecules

### Введение

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) является ведущей причиной необратимой потери центрального зрения у пожилых людей, после достижения возраста 50 лет распространенность этого заболевания экспоненциально возрастает с каждым десятилетием. ВМД характеризуется прогрессирующим поражением фотоактивной области сетчатки с повреждением слоя фоторецепторов, ретинального пигментного эпителия (РПЭ) и вовлечением в патологический процесс сосудистой оболочки [10].

Существенное нарушение зрительных функций, слабовидение и слепота наступают при развитии терминальной стадии ВМД, лечение которой имеет ограничения и требует инвазивных вмешательств – интравитреального введения ингибиторов ангиогенеза при «влажной» форме заболевания, что не всегда приводит к повышению функциональных результатов и является весьма дорогостоящим, варианты же терапии «сухой» формы – «географической» атрофии, в настоящее время отсутствуют, поскольку РПЭ не способен к регенерации [8]. Поэтому в настоящее время ведется активный поиск способов лече-



ния, способных предотвратить прогрессирование патологического процесса на ранних стадиях заболевания [4].

ВМД является мультифакторным заболеванием: среди многочисленных факторов риска выделяют нарушения кровообращения как системные, с поражением сосудистой стенки (атеросклероз, гипертония), так и локальные (изменение внутриглазной гемодинамики), дислипидемию, активацию свободнорадикального окисления, включение иммунологических механизмов [2, 11]. По мнению Grimes K.R. и соавт., некоторые препараты, используемые для коррекции метаболических нарушений при системных сердечно-сосудистых заболеваниях (ССЗ), старении организма, могут представлять определенную перспективу и при лечении ВМД вследствие общих патогенетических механизмов [6].

В последние десять лет для коррекции гиперлипидемии при сахарном диабете 2-го типа (СД2) стали активно применяться производные фенофибровых кислот (фенофибраты). В рамках проведенных крупномасштабных многоцентровых рандомизированных исследований FIELD и ACCORD Eye было показано, что терапия фенофибратом эффективна не только для нормализации липидного обмена, но и предотвращения клинически значимых изменений сетчатки у больных с СД2. Применение препарата статистически значимо снижало риск прогрессирования диабетической ретинопатии и потребность в лазерной коагуляции [12, 14].

Молекулярной мишенью фенофибратов являются рецепторы, активирующие пролиферацию пероксисом  $\alpha$  типа (PPAR $\alpha$  – от англ. peroxisome proliferator-activated receptors alpha type) – ядерные транскрипционные факторы из семейства гормональных рецепторов PPARs, регулирующие экспрессию генов, отвечающих за метаболизм углеводов и липидов. Все типы молекул данного семейства широко представлены в клетках нервной и иммунной систем, эндотелии сосудов, а также экспрессируются в тканях глаза.

Природные и синтетические лиганды (агонисты), активирующие PPARs (насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты, их метаболиты эйкозаноиды, простагландины, лейкотриены, препараты фенофибровой кислоты и т. д.), помимо основной роли – регуляции липидного и углеводного обмена, участвуют в пролиферации и дифференцировке клеток, модулируют воспалительный ответ, действуя на перекрестке, регулирующем пересечение путей метаболизма и воспаления [5, 7].

В эксперименте получены убедительные доказательства, что, помимо регуляции жирового обмена, фенофибраты обладают антиангиогенным, антифибротическим, нейропротекторным, иммуномодулирующим и противовоспалительным эффектом [3, 9, 13].

Эти данные представляют большой интерес и для офтальмологической клиники, т. к. перечисленные эффекты фенофибратов могут стать очень полезными при лечении заболеваний глазного дна, имеющих многофакторный этиопатогенез. Таким образом, целенаправленное исследование эффектов указанных препаратов на ключевые патогенетические звенья ВМД представляется особенно актуальным. **Целью работы** было изучение динамики воспалительных маркеров активации сосудистого эндотелия и цитокинов иммунного ответа в слезной жидкости пациентов с начальной и промежуточной стадиями ВМД на фоне применения фенофибрата «Трайкор».

## Материалы и методы

На базе взрослого консультативно-поликлинического отделения и отдела иммунологии и вирусологии обследовано 65 человек (21 мужчина, 44 женщины; возраст от 43 до 68 лет). Согласно клинической классификации AREDS [1], пациенты были распределены на три группы. I группу составили 20 человек с начальной ВМД (AREDS2; средний возраст  $53,2 \pm 11,5$  года), II – 16 больных с промежуточной стадией ВМД (AREDS3; средний возраст  $57,1 \pm 11,8$  года). 29 практически здоровых пожилых людей без офтальмопатологии вошли в группу возрастного контроля (AREDS1; группа риска, средний возраст  $55,7 \pm 12,7$  года). Пациенты основных групп получали комплексное лечение препаратом «Трайкор» в дозе 145 мг 1 раз в день в течение 9 месяцев. Исследование проводилось после получения письменного информированного добровольного согласия пациентов. Слезная жидкость (СЖ) забиралась дважды: до и сразу после завершения курса лечения. Сбор СЖ выполнялся без стимуляции слезопродукции сухой стерильной пипеткой из нижнего конъюнктивального свода в объеме не менее 40 мкл. Полученные образцы хранили при температуре  $-70^\circ\text{C}$  до проведения исследований. Определение sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin, sP-selectin и MCP-1/CCL2 в СЖ выполнялось методом проточной цитометрии (СВА) (проточный цитометр BD FACS Canto II, США) с помощью самостоятельно сконструированной мультиплексной панели из совместимых симплексных тест-наборов Human FlowCytomix™ Simplex (Bender MedSystem GmbH, Германия), позволяющей осуществлять одновременную детекцию аналитов, IL-1 $\beta$ , IL-2 IL-6 и TNF $\alpha$  определялись в рамках готовой системы Human Flow Cytomix™ 15 Plex (Bender MedSystem GmbH, Германия). Обработка данных выполнялась в пакете FlowCytomix Pro v 6.0 (BenderMed Systems GmbH, Германия). Результаты оценивались с учетом пределов чувствительности теста. Статистический анализ проведен с использованием программы Statistica 12.0 (StatSoft Inc., США).

Сравнение параметров с распределением отличным от нормального выполнено непараметрическими методами. Показатели изучаемых факторов представлены в формате: Me (min-max), где Me – медиана, min – минимальное значение, max – максимальное. Критический уровень значимости принимался равным  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

При исследовании СЖ пациентов обеих групп до лечения выявлено, что изменения на глазном дне сопровождались с достоверным повышением уровней большинства изучаемых факторов (за исключением sVCAM-1) по сравнению с таковыми в контроле. Анализ результатов иммунологического исследования представлен в таблицах 1 и 2. В группе AREDS2 через 9 мес. после начала приема «Трайкора» наблюдалось значимое снижение и нормализация показателей IL-1 $\beta$ , IL-2, sP-selectin, кроме того определялось достоверное

ослабление локальной продукции IL-6, TNF $\alpha$ , MCP-1/CCL2, sE-selectin и sICAM-1, значения которой не достигли значений нормы (табл. 1). В эти же сроки наблюдения в СЖ пациентов с промежуточной ВМД обнаружено статистически значимое уменьшение содержания IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , MCP-1/CCL2, sE-selectin, sP-selectin, sICAM-1, по сравнению с исходными значениями, однако показатели изучаемых медиаторов после 9 мес. от начала курса лечения достоверно превышали таковые в группе возрастного контроля (табл. 2).

Изменение гемодинамики, нарушение обмена веществ и воспаление являются общими патогенетическими факторами развития ССЗ и нейродегенеративной офтальмопатологии, поэтому ряд препаратов, используемых для нормализации метаболических сдвигов, в частности фенофибраты, направленные на коррекцию дислипидемии,

**ТАБЛИЦА 1. ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЕЙ ЦИТОКИНОВ ИММУННОГО ОТВЕТА В СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ С ВМД НА ФОНЕ ЛЕЧЕНИЯ ФЕНОФИБРАТОМ «ТРАЙКОР»**

TABLE 1. CHANGES IN THE LEVELS OF CYTOKINES OF THE IMMUNE RESPONSE IN THE TEAR FLUID OF PATIENTS WITH AMD DURING TREATMENT WITH TRICOR FENOFIBRATE

Показатель Parameter	Срок наблюдения Period of observation	Основные группы / Main groups Me (min-max)		
		ВМД / AMD		Контроль / Control
		I AREDS2 (начальная стадия) (early AMD) (n = 20)	II AREDS3 (промежуточная стадия) (intermediate AMD) (n = 16)	AREDS1 (группа риска) (risk group) (n = 29)
IL-1 $\beta$ , пг/мл IL-1 $\beta$ , pg/mL	До лечения Before treatment	248,3* 78,4-1043,0	674,5* 298,4-1020,0	100,3 27,0-127,0
	9 мес. 9 months	62,27* 54,7-144,0	247,9* * 17,8-708,0	
IL-2, пг/мл IL-2, pg/mL	До лечения Before treatment	300,3 192,0-743,9	455 136,6-2464,0	178,9 99,2-335,6
	9 мес. 9 months	60,9* 48,5-238,5	436* 223-1055	
IL-6, пг/мл IL-6, pg/mL	До лечения Before treatment	46,2* 11,2-302,0	245* 25,9-680,2	8,61 0,3-20,9
	9 мес. 9 months	13,6* 6,8-39,0	59,1* * 16,2-437,0	
TNF $\alpha$ , пг/мл TNF $\alpha$ , pg/mL	До лечения Before treatment	153,0* 23,8-1166,0	881,4* 232,8-3307,0	45,8 16,2-91,8
	9 мес. 9 months	56,4 31,5-241,0	547* 181-1114	

Примечание. n – количество протестированных проб СЖ в группе; \* – достоверность различия в группах пациентов с ВМД по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ); \* – достоверность изменения показателей в группах с ВМД по сравнению с исходными значениями до лечения ( $p < 0,05$ ).

Note. n, the number of tested TF samples in the group; \*, the significance of the difference in the groups of patients with AMD compared with the control ( $p < 0.05$ ); \*, the reliability of changes in indicators in groups with AMD compared with baseline values before treatment ( $p < 0.05$ ).

**ТАБЛИЦА 2. ДИНАМИКА ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ МАРКЕРОВ АКТИВАЦИИ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ В СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ С ВМД НА ФОНЕ ЛЕЧЕНИЯ ФЕНОФИБРАТОМ «ТРАЙКОР»**

TABLE 2. DYNAMICS OF INFLAMMATORY MARKERS OF VASCULAR WALL ACTIVATION IN THE TEAR FLUID OF PATIENTS WITH AMD DURING TREATMENT WITH TRICOR FENOFIBRATE

Показатель Parameter	Срок наблюдения Period of observation	Основные группы / Main groups Me (min-max)		
		ВМД / AMD		Контроль / Control
		I AREDS2 (начальная стадия) (early AMD) (n = 26)	II AREDS3 (промежуточная стадия) (intermediate AMD) (n = 14)	AREDS1 (группа риска) (risk group) (n = 23)
MCP-1/ CCL2, пг/мл MCP-1/ CCL2, pg/mL	До лечения Before treatment	492* 104,8-1126,0	301,5 219,0-383,9	102,8 83,9-357,0
	9 мес. 9 months	213,9* * 91,7-1260,0	258,7* 113,8-390,0	
sE-selectin, нг/мл sE-selectin, ng/mL	До лечения Before treatment	26,3* 4,1-316,0	43,09* 42,30-43,84	8,64 2,3-18,1
	9 мес. 9 months	10,4 5,24-29,40	16,1* * 14,4-25,4	
sP-selectin, нг/мл sP-selectin, ng/mL	До лечения Before treatment	28,9* 6,5-104,0	28,8* 24,3-29,7	14,1 9,8-21,3
	9 мес. 9 months	14,7 9,1-31,1	21,4* 13-30	
sICAM-1, нг/мл sICAM-1, ng/mL	До лечения Before treatment	23,4* 7,47-159,00	28,3* 25,85-30,80	9,84 4,26-24,50
	9 мес. 9 months	12,0* 8,3-16,7	18,7* * 11,9-39,0	
sVCAM-1, нг/мл sVCAM-1, ng/mL	До лечения Before treatment	6,0 1,1-35,2	1,04 0,94-1,90	5,43 0,92-14,03
	9 мес. 9 months	6,03 5,18-19,10	1,83 1,64-2,10	

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

могут представлять определенную перспективу и при лечении ВМД [6].

Анализ результатов исследования показал повышение содержания воспалительных маркеров активации сосудистой стенки в СЖ пациентов с начальной и промежуточной ВМД до начала лечения, что доказывает участие sICAM-1, sE-selectin и sP-selectin в патогенезе заболевания. Применение фенофибрата «Трайкор» сопровождалось ослаблением локальной продукции не только указанных факторов, но и цитокинов врожденного иммунного ответа, что в целом указывало на вазопротекторный и противовоспалительный эффект препарата в группе начальной ВМД (AREDS2) и его стабилизирующее действие у пациентов с промежуточной стадией заболевания (AREDS3). Данные офтальмологического обследования свидетельствовали о стабилизации зрительных функций и клинической картины

глазного дна, улучшения внутриглазного кровообращения.

## Заключение

ВМД – одна из основных причин слепоты и слабовидения, является мультифакторной патологией, имеет общие механизмы развития с заболеваниями, ассоциированными со старением, метаболическими сдвигами и нарушением кровообращения. Исследование эффектов от препаратов, применяемых для коррекции указанных нарушений в общей клинике, необходимо и офтальмологам, поскольку может оказать помощь в предотвращении дегенерации сетчатки на самых ранних этапах развития. В нашей работе мы изучили местный эффект применения фенофибрата «Трайкор» при ВМД и показали его противовоспалительное, вазопротекторное действие, наиболее выраженное в начальной стадии заболевания.

## Список литературы / References

1. Age-Related Eye Disease Study Research Group. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, betacarotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS. *Arch. Ophthalmol.*, 2001, Vol. 119, pp. 1417-1436.
2. Chakravarthy U., Wong T.Y., Fletcher A., Pault E., Evans C., Zlateva G., Buggage R., Pleil A., Mitchell P. Clinical risk factors for age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis. *BMC Ophthalmol.*, 2010, Vol. 10, 31. doi: 10.1186/1471-2415-10-31.
3. Chen Q., Jiang N., Zhang Y., Ye S., Liang X., Wang X., Lin X., Zong R., Chen H., Liu Z. Fenofibrate inhibits subretinal fibrosis through suppressing TGF- $\beta$ -Smad2/3 signaling and Wnt signaling in neovascular age-related macular degeneration. *Front. Pharmacol.*, 2020, Vol. 11, 580884. doi: 10.3389/fphar.2020.580884.
4. Dunbar H.M.P., Behning C., Abdirahman A., Higgins B.E., Binns A.M., Terheyden J.H., Zakaria N., Poor S., Finger R.P., Leal S., Holz F. G., Schmid M., Crabb D.P., Rubin G. S., Luhmann U.F.O. Repeatability and discriminatory power of chart-based visual function tests in individuals with age-related macular degeneration: A MACUSTAR Study Report. *JAMA Ophthalmol.*, 2022, Vol. 140, no. 8, pp. 780-789.
5. Grabacka M., Pierzchalska M., Płonka P.M., Pierzchalski P. The role of PPAR alpha in the modulation of innate immunity. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, Vol. 22, no. 19, 10545. doi: 10.3390/ijms221910545.
6. Grimes K.R., Aloney A., Skondra D., Chhablani J. Effects of systemic drugs on the development and progression of age-related macular degeneration. *Surv. Ophthalmol.*, 2023, Vol. 68, no. 3, pp. 332-346.
7. Jin L., Hua H., Ji Y., Jia Z., Peng M., Huang S. Anti-inflammatory role of fenofibrate in treating diseases. *Biomol. Biomed.*, 2023, Vol. 23, no. 3, pp. 376-391.
8. Lim L.S., Mitchell P., Seddon J.M., Holz F.G., Wong T.Y. Age-related macular degeneration. *Lancet*, 2012, Vol. 379, no. 9827, pp. 1728-1738.
9. Moran E., Ding L., Wang Z., Cheng R., Chen Q., Moore R., Takahashi Y., Ma J.-X. Protective and antioxidant effects of PPAR $\alpha$  in the ischemic retina. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2014, Vol. 55, pp. 4568-4576.
10. Rosa J.G.S., Disner G.R., Pinto F.J., Lima C., Lopes-Ferreira M. Revisiting retinal degeneration hallmarks: insights from molecular markers and therapy perspectives. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, Vol. 24, no. 17, 13079. doi: 10.3390/ijms241713079.
11. Roubex C., Sahel J.A., Guillonnet X., Delarasse C., Sennlaub F. On the inflammatory origins of AMD. *Med. Sci. (Paris)*, 2020, Vol. 36, no. 10, pp. 886-892.
12. Sacks F.M. After the Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes (FIELD) study: implications for fenofibrate. *Am. J. Cardiol.*, 2008, Vol. 102, no. 12A, pp. 34L-40L.
13. Simo R., Hernandez C. Fenofibrate for diabetic retinopathy. *Lancet*, 2007, Vol. 70, no. 9600, pp. 1667-1668.
14. The ACCORD Study Group. Effects of medical therapies on retinopathy progression in type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med.*, 2010, Vol. 363, no. 3, pp. 233-244.

---

### Авторы:

**Балацкая Н.В.** — к.б.н., ведущий научный сотрудник, начальник отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Куликова И.Г.** — биолог вирусологической-микробиологической лаборатории отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Еремеева Е.А.** — к.м.н., врач-офтальмолог взрослого консультативно-поликлинического отделения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Андрюшин А.Е.** — научный сотрудник отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

---

### Authors:

**Balatskaya N.V.**, PhD (Biology), Leading Research Associate, Head, Department of Immunology and Virology, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

**Kulikova I.G.**, Biologist, Department of Immunology and Virology, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

**Eremeeva E.A.**, PhD (Medicine), Eye Physician, Outpatient Department for Adults, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

**Andryushin A.E.**, Research Associate, Department of Immunology and Virology, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

---

Поступила 17.04.2024

Отправлена на доработку 18.04.2024

Принята к печати 22.04.2024

---

Received 17.04.2024

Revision received 18.04.2024

Accepted 22.04.2024



# МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГНОЙНОГО РАНЕВОГО ДЕФЕКТА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НЕТКАНОЙ ПОЛИМЕРНОЙ ПЬЕЗОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ В КОМБИНАЦИИ С ВАНКОМИЦИНОМ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Сагдуллаева С.А., Варакута Е.Ю., Штыр А.В.

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,  
г. Томск, Россия

**Резюме.** В настоящее время остается актуальной проблема эффективного лечения гнойной раны слизистой оболочки полости рта, ведутся работы по совершенствованию перевязочных материалов, создаются новые покрытия. В исследовании впервые апробирована нетканая мембрана на основе сополимера винилиденфторида с тетрафторэтиленом в комбинации с Ванкомицином, которая предположительно будет отвечать требованиям идеального перевязочного материала.

Целью исследования является изучить влияние нетканой мембраны на основе сополимера винилиденфторида с тетрафторэтиленом в комбинации с Ванкомицином на регенерацию гнойного раневого дефекта слизистой оболочки щеки в эксперименте.

Эксперимент проводился на 35 крысах линии Wistar, разделенных на три группы: экспериментальную № 1 (n = 15), которым гнойный раневой дефект оставляли открытым согласно стандартному ведению раневого процесса в полости рта; экспериментальную № 2 (n = 15), которым гнойный раневой дефект перекрывали полимерной матрицей на основе винилиденфторида с тетрафторэтиленом в комбинации с Ванкомицином; № 3 контрольная (n = 5) – крысы с интактной слизистой оболочкой. Образцы тканей собирали из области гнойной раны на 3-и, 7-е и 14-е сутки исследования и изготавливали гистологические срезы в соответствии со стандартной процедурой. В программе AxioVision SE64 Rel. 4.9.1 проводили подсчет следующих показателей: относительная площадь рыхлой волокнистой соединительной ткани (%), клеточной инфильтрации (%), грануляционной ткани (%). Обработку результатов проводили в программе Statistica 8 (Statsoft, США) с помощью критериев Вилкоксона и Манна–Уитни. Результаты считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## Адрес для переписки:

Сагдуллаева Софья Андреевна  
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ  
634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, 2.  
Тел.: 8 (382) 290-98-23.  
E-mail: sagdullaeva.sofia@gmail.com

## Address for correspondence:

Sofia A. Sagdullaeva  
Siberian State Medical University  
2 Moscow Trakt  
Tomsk  
634050 Russian Federation  
Phone: +7 (382) 290-98-23  
E-mail: sagdullaeva.sofia@gmail.com

## Образец цитирования:

С.А. Сагдуллаева, Е.Ю. Варакута, А.В. Штыр «Морфологические изменения гнойного раневого дефекта слизистой оболочки полости рта при использовании нетканой полимерной пьезоэлектрической мембраны в комбинации с ванкомицином (экспериментальное исследование)» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 1091-1096.  
doi: 10.46235/1028-7221-16956-MCI

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

## For citation:

S.A. Sagdullaeva, E.Yu. Varakuta, A.V. Shtyr “Morphological changes in purulent wound defect of the oral mucosa when using a non-woven polymer membrane with vancomycin (experimental study)”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 1091-1096.  
doi: 10.46235/1028-7221-16956-MCI

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16956-MCI

Установлено, что нетканая мембрана на основе сополимера винилиденфторида с тетрафторэтиленом в комбинации с Ванкомицином благоприятно влияет на регенерацию слизистой оболочки полости рта в постоперационном периоде, уменьшает рубцовые изменения на поздних этапах заживления.

*Ключевые слова:* полимерная мембрана, регенерация слизистой оболочки полости рта, гнойная рана, полимерное покрытие с антибиотиком, золотистый стафилококк

## MORPHOLOGICAL CHANGES IN PURULENT WOUND DEFECT OF THE ORAL MUCOSA WHEN USING A NON-WOVEN POLYMER MEMBRANE WITH VANCOMYCIN (EXPERIMENTAL STUDY)

Sagdullaeva S.A., Varakuta E.Yu., Shtyr A.V.

*Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation*

**Abstract.** Currently, the problem of effective treatment of purulent wounds of the oral mucosa is relevant, scientists are improving dressing materials, creating new coatings. The study tested for the first time a non-woven polymer membrane from a copolymer of vinylidene fluoride with tetrafluoroethylene with Vancomycin, presumably which will meet the requirements of an ideal dressing material.

The purpose of the study is to determine the effect of a non-woven polymer membrane with Vancomycin on the regeneration of a purulent wound defect of the oral mucosa in experiment.

35 white Wistar rats were divided into three groups: first group (n = 15), in which the wound defect was left open according to the standard procedure of the wound process in the oral cavity; second group (n = 15), in which the wound defect was covered with a non-woven polymer membrane with Vancomycin; third group (served as control group), in which the rats had intact oral mucosa (n = 5). Tissue samples were collected from the area of the purulent wound on the 3<sup>rd</sup>, 7<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> days of the study and histological sections were prepared using a standard procedure. The indicators were calculated using the AxioVision SE64 Rel program. 4.9.1: area of loose fibrous connective tissue (%), cellular infiltration (%), granulation tissue (%). The statistical analysis of the obtained data was performed using Mann–Whitney and Wilcoxon tests in Statistica 8.0 (StatSoft, USA) software. Differences were considered statistically significant at  $p < 0.05$ .

It has been established that the non-woven polymer membrane from a copolymer of vinylidene fluoride with tetrafluoroethylene with Vancomycin has a beneficial effect on the regeneration of the oral mucosa in the postoperative period and reduces scar changes in the later stages of healing.

*Keywords:* polymer membrane, regeneration of the oral mucosa, purulent wound, polymer coating with antibiotic, *Staphylococcus aureus*

### Введение

В настоящее время остается актуальной проблема лечения гнойной раны слизистой оболочки полости рта [9]. Не прекращаются разработки материалов для оптимизации лечения гнойных раневых дефектов, которые обеспечивают: механическую защиту [6], дренирование раны [3], высвобождение антибактериальных препаратов [4], антиоксидантную активность [7]. Предположительно, что нетканая мембрана на основе сополимера винилиденфторида с тетрафторэтиленом в комбинации с Ванкомицином будет отвечать

всем требованиям идеального перевязочного материала [8].

**Цель исследования** — изучить влияние нетканой мембраны на основе сополимера винилиденфторида с тетрафторэтиленом в комбинации с Ванкомицином на регенерацию гнойного раневого дефекта слизистой оболочки щеки в эксперименте.

### Материалы и методы

Эксперимент проводился на 35 трехмесячных крысах-самцах линии Wistar, разделенных на рав-

ные группы методом блочной рандомизации: экспериментальную № 1 (n = 15), которым раневой дефект оставляли открытым согласно стандартному ведению раневого процесса в полости рта; экспериментальную № 2 (n = 15), которым раневой дефект перекрывали полимерной матрицей на основе винилиденфторида с тетрафторэтиленом в комбинации с Ванкомицином; № 3 контрольная (n = 5) – крысы с интактной слизистой оболочкой. Забор материала проводили у 5 животных из каждой экспериментальной группы на 3-и, 7-е и 14-е сутки исследования. Расчет объема выборки проводили с использованием программы G\*Power [2] и руководствуясь концепцией

трех R [5]. Животным экспериментальных групп моделировали гнойное воспаление путем контаминации раны раствором взвеси *Staphylococcus aureus* в дозе  $1 \times 10^6$  микробных тел в 1 мл физиологического раствора [1]. 1-й группе проводили только первичную хирургическую обработку раны, без последующего лечения. Крысам 2-й группы проводили хирургическую обработку раны с наложением полимерной пьезоэлектрической матрицы на основе винилиденфторида с тетрафторэтиленом в комбинации с Ванкомицином. Животных содержали в стандартных условиях вивария, регламентированных требованиями Постановления Главного государствен-

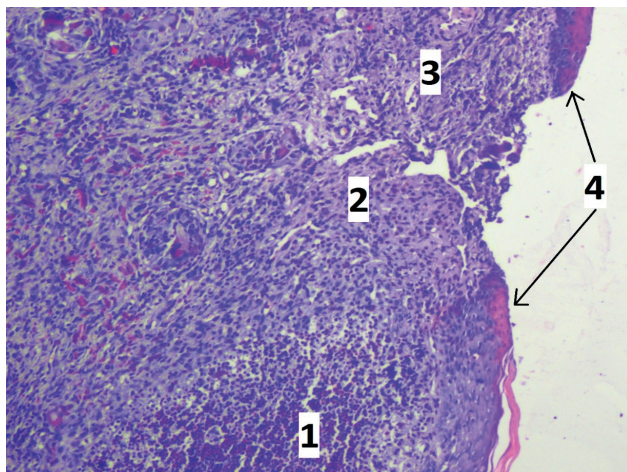
**ТАБЛИЦА 1. УДЕЛЬНАЯ ПЛОЩАДЬ ГРАНУЛЯЦИОННОЙ ТКАНИ, РЫХЛОЙ ВОЛОКНИСТОЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ, КЛЕТОЧНОЙ ИНФИЛЬТРАЦИИ В ОБЛАСТИ ГНОЙНОГО РАНЕВОГО ДЕФЕКТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МЕТОДИКИ ЛЕЧЕНИЯ НА 3-И, 7-Е И 14-Е СУТКИ ИССЛЕДОВАНИЯ**

TABLE 1. AREA OF GRANULATION TISSUE, LOOSE FIBROUS CONNECTIVE TISSUE, CELLULAR INFILTRATION IN THE AREA OF A PURULENT WOUND DEFECT, DEPENDING ON THE TREATMENT METHOD ON THE 3<sup>RD</sup>, 7<sup>TH</sup> AND 14<sup>TH</sup> DAYS OF THE STUDY

Сутки исследования Research days	Группы Groups	Удельная площадь грануляционной ткани, % Area of granulation tissue, %	Удельная площадь рыхлой волокнистой соединительной ткани, % Area of loose fibrous connective tissue, %	Удельная площадь клеточной инфильтрации, % Area of cellular infiltration, %
3-и сутки 3 <sup>rd</sup> day	№ 1 (n = 5) No. 1 (n = 5)	9,7 (9,5-11,5) <sup># *</sup>	–	62,1 (59,8-73,1) <sup>*</sup>
	№ 2 (n = 5) No. 2 (n = 5)	16,0 (14,5-17,0) <sup># *</sup>	–	63,4 (41,2-65,9) <sup>*</sup>
7-е сутки 7 <sup>th</sup> day	№ 1 (n = 5) No. 1 (n = 5)	31,1 (27,0-31,4) <sup># *</sup>	7,9 (7,2-8,7) <sup># *</sup>	52,7 (44,0-54,8) <sup># *</sup>
	№ 2 (n = 5) No. 2 (n = 5)	63,7 (56,3-67,2) <sup># *</sup>	16,0 (15,7-18,3) <sup># *</sup>	18,1 (17,1-25,9) <sup># *</sup>
14-е сутки 14 <sup>th</sup> day	№ 1 (n = 5) No. 1 (n = 5)	20,3 (18,1-25,1) <sup># *</sup>	58,1 (53,8-61,9) <sup># *</sup>	20,8 (17,4-22,7) <sup># *</sup>
	№ 2 (n = 5) No. 2 (n = 5)	2,7 (0,3-4,5) <sup># *</sup>	96,3 (95,3-97,8) <sup>#</sup>	0,8 (0,0-1,7) <sup>#</sup>
	Контрольная № 3 (n = 5) Control No. 3 (n = 5)	–	99,7 (99,1-99,9)	0,3 (0,1-0,9)

Примечание. # – достоверность отличия показателей группы 1 от группы 2, p < 0,05; \* – достоверность отличия показателей группы 3 от групп 1 и 2, p < 0,05.

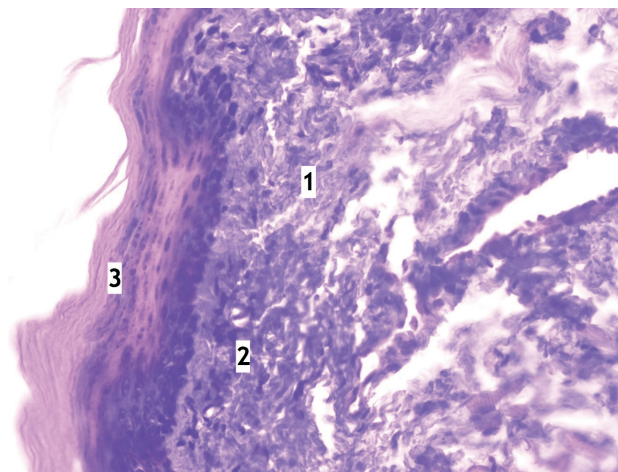
Note. #, reliability of the difference between the indicators of group 1 from group 2, p < 0.05; \*, reliability of the difference between the indicators of group 3 from group 1 and 2, p < 0.05.



**Рисунок 1.** Гистологическая картина, характерная для 1-й группы на 14-е сутки исследования  
Примечание. Окраска: гематоксилин, эозин. Увеличение: 400. 1 – клеточная инфильтрация; 2 – грануляционная ткань; 3 – рыхлая волокнистая соединительная ткань; 4 – эпителизация краев раневого дефекта.

Figure 1. Histological picture typical for group 1 on the 14<sup>th</sup> day of the study

Note. Staining: hematoxylin, eosin. Magnification: 100. 1, cellular infiltration; 2, granulation tissue; 3, loose fibrous connective tissue; 4, epithelization of the edges of the wound defect.



**Рисунок 2.** Гистологическая картина, характерная для 2-й группы на 14-е сутки исследования  
Примечание. Окраска: гематоксилин, эозин. Увеличение: 400. 1 – клеточная инфильтрация; 2 – рыхлая волокнистая соединительная ткань; 3 – полная эпителизация раневого дефекта.

Figure 2. Histological picture typical for group 2 on the 14<sup>th</sup> day of the study

Note. Staining: hematoxylin, eosin. Magnification: 400. 1, cellular infiltration; 3, loose fibrous connective tissue; 3, complete epithelization of the wound defect.

ного санитарного врача Российской Федерации от 29.08.2014 № 51 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)». Работа выполнена на базе ФГБОУ ВО СибГМУ Министерства здравоохранения Российской Федерации и одобрена IACUC (Регистрационный номер: 22/2022 от 16.12.2022). Образцы тканей собирали из области гнойного раневого дефекта с захватом тканей с периферии (отступ 5 мм) и готовили гистологические срезы толщиной 5 мкм в соответствии со стандартной процедурой. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином. В программе AxioVision SE64 Rel. 4.9.1 проводили подсчет следующих показателей: относительная площадь рыхлой волокнистой соединительной ткани (РВСТ) %, клеточной инфильтрации (КИ) %, грануляционной ткани (ГТ) %. Макроскопически фиксировали длину и ширину дефекта с помощью штангенциркуля, вычисляли площадь (мм<sup>2</sup>). Обработку результатов проводили в программе Statistica 8, StatSoft, СШАс помощью критериев Вилкоксона и Манна–Уитни. Результаты считали достоверными при  $p < 0,05$ . Результаты представлены в виде Me ( $Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$ ), где Me – медиана,  $Q_{0,25}$  и  $Q_{0,75}$  – нижний и верхний квартили соответственно.

## Результаты и обсуждение

К 3-м суткам макроскопически в 1-й группе определялся язвенный дефект размером 11,2 (11,1–14,3) мм<sup>2</sup>, покрытый налетом, после удаления которого определялась кровоточащая раневая поверхность. Во 2-й группе после удаления мембраны поверхность раны была чистая без налета, имела бугристый вид, размер дефекта составлял 9,9 (9,0–10,8) мм<sup>2</sup> и достоверно не отличался от показателя в 1-й группе. Микроскопически в экспериментальных группах в очаге воспаления РВСТ не определялась. Относительная площадь ГТ во 2-й группе составляла 16,0 (14,5–17,0) %, что было достоверно в 1,7 раза больше данного показателя в 1-й группе ( $p < 0,05$ ). Статистически значимых отличий КИ между 1-й и 2-й группами не обнаруживалось, и они составляли 62,1 (59,8–73,1) % и 63,4 (41,2–65,9) % соответственно ( $p > 0,05$ ), что достоверно больше данного показателя в контрольной группе ( $p < 0,05$ ) (табл. 1).

Макроскопически на 7-е сутки в 1-й группе определялся дефект с гиперемизированным, бугристым дном, площадью 6,7 (6,2–6,8) мм<sup>2</sup>. Во 2-й группе площадь гиперемии по периферии очага воспаления уменьшалась, размер дефекта был равен 5,4 (4,0–5,4) мм<sup>2</sup>, что статистически значимо меньше показателя в 1-й группе ( $p < 0,05$ ). Микроскопически относительная площадь



РВСТ значимо увеличивалась в 1-й и 2-й группах и составляла 7,9 (7,2-8,7) % и 16,0 (15,7-18,3) % соответственно, по сравнению с данными на 3-и сутки ( $p < 0,05$ ). При этом площадь РВСТ во 2-й группе была статистически значимо больше, чем в 1-й ( $p < 0,05$ ). Площадь ГТ достоверно увеличивалась в 1-й и 2-й группах в 3,2 и 4 раза соответственно по сравнению с 3-ми сутками ( $p < 0,05$ ). Относительная площадь КИ достоверно уменьшалась во 2-й группе в 3,5 раза ( $p < 0,05$ ) и значимо не изменялась в 1-й группе по сравнению с аналогичным показателем на 3-и сутки (табл. 1).

На 14-е сутки исследования макроскопически на месте раневого дефекта во всех экспериментальных группах наблюдался рубец, площадь которого в 1-й группе составляла 5,4 (5,2-6,7) мм<sup>2</sup>, что в 2,7 раз статистически значимо больше, чем во 2-й группе ( $p < 0,05$ ). Микроскопически относительная площадь РВСТ во 2-й группе составляла 96,3 (95,3-97,8) %, что в 1,7 раза достоверно больше, чем в 1-й группе ( $p < 0,05$ ) (табл. 1). В 1-й группе определялась ГТ относительной площадью 20,3 (18,1-25,1), что в 7,5 раза значимо больше, чем

во 2-й группе ( $p < 0,05$ ). Относительная площадь КИ во 2-й и контрольной группах статистически не отличалась ( $p > 0,05$ ), и была достоверно меньше, чем в 1-й группе ( $p < 0,05$ ) (рис. 1, 2).

## Заключение

Нетканая мембрана на основе сополимера винилиденфторида с тетрафторэтиленом в комбинации с Ванкомицином способствовала регенерации гнойного раневого дефекта на всех стадиях заживления. Она стимулировала образование грануляционной ткани и созревание рыхлой волокнистой соединительной ткани, способствовала уменьшению клеточной инфильтрации. Макроскопически заживление гнойного раневого дефекта с использованием мембраны на основе сополимера винилиденфторида с тетрафторэтиленом в комбинации с Ванкомицином отличалось более быстрым уменьшением размера дефекта и меньшими рубцовыми изменениями на поздних стадиях регенерации по сравнению с открытой раной.

## Список литературы / References

1. Асланов Б.И., Зуева Л.П., Колосовская Е.Н., Любимова А.В., Хорошилов В.Ю., Долгий А.А., Дарыина М.Г., Техова И.Г. Принципы организации периоперационной антибиотикопрофилактики в учреждениях здравоохранения // Федеральные клинические рекомендации, 2014. С. 11. [Aslanov B.I., Zueva L.P., Kolosovskaya E.N., Lyubimova A.V., Khoroshilov V.Yu., Dolgiy A.A., Daryina M.G., Tekhova I.G. Principles of organizing perioperative antibiotic prophylaxis in healthcare institutions. *Federalnye klinicheskie rekomendatsii = Federal Medical Recommendations*, 2014, p. 11. (In Russ.)]
2. Кригер Е.А., Драчев С.Н., Митькин Н.А., Постоев В.А., Гржибовский А.М. Расчет необходимого объема выборки с использованием программы G\*Power // Морская медицина, 2023. Т. 9, № 2. С. 111-125. [Krieger E.A., Drachev S.N., Mitkin N.A., Postoev V.A., Grjibovski A.M. Sample size calculation using G\*Power software. *Morskaya meditsina = Marine Medicine*, 2023. Vol. 9, no. 2, pp. 111-125. (In Russ.)]
3. Badaraev A.D., Koniaeva A., Krikova S.A., Shesterikov E.V., Bolbasov E.N., Nemoynkina A.L., Bouznic V.M., Stankevich K.S., Zhukov Y.M., Mishin I.P., Varakuta E.Y., Tverdokhlebov S.I. Piezoelectric polymer membranes with thin antibacterial coating for the regeneration of oral mucosa, 2019. *Appl. Surf. Sci.*, 2019, Vol. 504, no. 68, 144068. doi: 10.1016/j.apsusc.2019.144068.
4. Dragostin O.M., Samal S.K., Dash M., Lupascu F., Tuchilus C., Ghetu N., Danciu M., Dubruel P., Pieptu D., Vasile C., Tatia R., Profire L., Iacob A.-T. New antimicrobial chitosan derivatives for wound dressing applications. *Carbohydr. Polym.*, 2016, Vol. 141, pp. 28-40.
5. Directives directive 2010/63/eu of the european Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Available at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32010L0063&from=DE>.
6. Kalyani P., Selvarasu K., Murthykumar K., Krishnan M., Kumar M.P.S., Lakshmanan S. Comparison of the effectiveness of a novel matrix-modified bovine collagen membrane with a conventional bovine collagen membrane for oral mucosal defects: a single-center study. *Cureus*, 2024, Vol. 16, no. 2, e53696. doi: 10.7759/cureus.53696.
7. Krishna Rao K.S.V., Vijaya Kumar Naidu B., Subha M.C.S., Sairam M., Aminabhavi T.M. Novel chitosan-based pH-sensitive interpenetrating network microgels for the controlled release of cefadroxil. *Carbohydr. Polym.*, 2006, Vol. 66, Iss. 3, pp. 333-344.

8. Ribeiro R.V.E., Martuscelli O.J.D. Split-thickness skin graft donor-site dressings: is it possible to establish the ideal dressing based on a literature review? 2018. Revista Brasileira de Cirurgia Plástica (RBCP). *Br. J. Plast. Surg.*, 2018, Vol. 33, no. 1, pp. 119-129.

9. Taub D., Yampolsky A., Diecidue R., Gold L. Controversies in the management of oral and maxillofacial infections. *Oral Maxillofac. Surg. Clin. North Am.*, 2017, Vol. 29, no. 4, pp. 465-473.

---

**Авторы:**

**Сагдуллаева С.А.** — лаборант-исследователь кафедры анатомии человека с курсом топографической анатомии и оперативной хирургии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

**Варакута Е.Ю.** — д.м.н., доцент, заведующий кафедрой анатомии человека с курсом топографической анатомии и оперативной хирургии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

**Штыр А.В.** — студент ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

**Authors:**

**Sagdullaeva S.A.**, Laboratory Assistant-Researcher, Department of Human Anatomy with a Course of Topographic Anatomy and Operative Surgery, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

**Varakuta E. Yu.**, PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Head, Department of Human Anatomy with a Course of Topographic Anatomy and Operative Surgery, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

**Shtyr A.V.**, Student, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Поступила 16.04.2024

Отправлена на доработку 18.04.2024

Принята к печати 23.04.2024

Received 16.04.2024

Revision received 18.04.2024

Accepted 23.04.2024

## ПОКАЗАТЕЛИ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ И СТАНДАРТНОЙ ИММУНОГРАММЫ ПРИ КОНТРОЛИРУЕМОМ И НЕКОНТРОЛИРУЕМОМ ТЕЧЕНИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ

Супрун Е.Н.<sup>1,2</sup>, Супрун С.В.<sup>1</sup>, Козлов В.К.<sup>1</sup>, Галянт О.И.<sup>1</sup>, Евсеева Г.П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства – Хабаровский филиал ФГБНУ  
«Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания, г. Хабаровск, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет», г. Хабаровск, Россия

**Резюме.** Бронхиальная астма у детей – мультифакториальное заболевание, но в ее основе лежит атопическое воспаление, на которое и направлены основные методы исследования и терапии этой патологии. Однако, если оценивать не только сам факт появления бронхиальной астмы у конкретного пациента, но и более подробно рассматривать ее течение, и особенно возможность достижения контроля над заболеванием, то большое влияние приобретают показатели не только атопического воспаления, но и местного воспаления вообще, что является одной из причин сохраняющегося высокого процента неконтролируемого и частично контролируемого течения бронхиальной астмы у детей.

Цель данной работы – выявление изменений показателей цитокинового статуса и иммунограммы – маркеров риска неконтролируемого течения бронхиальной астмы.

Обследовано 167 пациентов с бронхиальной астмой, которые на основании стандартного клинико-инструментального обследования, согласно критериям клинических рекомендаций, были разделены на две группы – контролируемую (70 человек) и частично контролируемую и неконтролируемую (97 детей). Всем им проводилось определение уровня IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-18 и TNF $\alpha$  в сыворотке крови методом ИФА, субпопуляций лимфоцитов CD3<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup> (зрелые Т-лимфоциты), CD19<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup> (зрелые В-лимфоциты), CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup> (Т-хелперы/индукторы), CD3<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup> (Т-киллеры заставили учеников выпрямиться по струнке/цитотоксические), CD3<sup>+</sup>/CD25<sup>+</sup> (маркер лимфоцитарной активации), CD(16<sup>+</sup>56)/CD45<sup>+</sup> (натуральные киллеры) методом проточной цитометрии, содержания IgA, IgM, IgG, IgE в сыворотке крови методом ИФА, показателей нейтрофильного фагоцитоза – фагоцитарная активность нейтрофилов, фагоцитарное число, НСТ-тест спонтанные и стимулированные, определение фагоцитарного резерва по этим показателям методом световой микроскопии.

### Адрес для переписки:

Супрун Евгений Николаевич  
Научно-исследовательский институт охраны  
материнства и детства  
680022, Россия, г. Хабаровск, ул. Воронежская, 49.  
Тел.: 8 (914) 772-76-85.  
Факс: 8 (4212) 70-05-91.  
E-mail: evg-suprun@yandex.ru

### Address for correspondence:

Evgeniy N. Suprun  
Research Institute of Maternity and Childhood Protection  
49 Voronezhskaya St  
Khabarovsk  
680022 Russian Federation  
Phone: +7 (914) 772-76-85.  
Fax: +7 (4212) 70-05-91.  
E-mail: evg-suprun@yandex.ru

### Образец цитирования:

Е.Н. Супрун, С.В. Супрун, В.К. Козлов, О.И. Галянт, Г.П. Евсеева «Показатели цитокинового профиля и стандартной иммунограммы при контролируемом и неконтролируемом течении бронхиальной астмы у детей» // Российский иммунологический журнал, 2024, Т. 27, № 4. С. 1097-1106.  
doi: 10.46235/1028-7221-16788-IOT

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

### For citation:

E.N. Suprun, S.V. Suprun, V.K. Kozlov, O.I. Galyant, G.P. Evseeva "Indicators of the cytokine profile and standard immunogram in the controlled and uncontrolled course of bronchial asthma in children", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 1097-1106.  
doi: 10.46235/1028-7221-16788-IOT

© Suprun E.N. et al., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License  
DOI: 10.46235/1028-7221-16788-IOT

В группе с неконтролируемой астмой отмечались следующие достоверные отличия: снижение уровня IL-7, IL-9 и рост IL-8, также отмечался более высокий уровень В-лимфоцитов, IgE и IgM и более низкий – IgA. Подобные изменения, но менее выраженные, ранее выявлялись в других исследованиях при сравнении пациентов с бронхиальной астмой и условно здоровых, а также легкого и тяжелого течения заболевания. Достоверных различий в остальных исследованных показателях не обнаружилось.

Обращает на себя внимание то, что большее влияние на контроль заболевания при бронхиальной астме оказывают не цитокины атопии, отвечающие за сам факт атопического воспаления, а цитокины общего воспаления, такие как IL-7, IL-8, IL-9, регулирующие выраженность воспаления вообще, особенно интересна роль IL-8, как цитокина хемотаксиса гранулоцитов, регулирующего местное воспаление.

*Ключевые слова:* бронхиальная астма, дети, цитокины, иммунограмма, неконтролируемое течение, Приамурье

## INDICATORS OF THE CYTOKINE PROFILE AND STANDARD IMMUNOGRAM IN THE CONTROLLED AND UNCONTROLLED COURSE OF BRONCHIAL ASTHMA IN CHILDREN

Suprun E.N.<sup>a, b</sup>, Suprun S.V.<sup>a</sup>, Kozlov V.K.<sup>a</sup>, Galyant O.I.<sup>a</sup>, Evseeva G.P.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Khabarovsk, Russian Federation

<sup>b</sup> Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russian Federation

**Abstract.** Bronchial asthma in children is a multifactorial disease, but it is based on atopic inflammation, which is the focus of the main methods of research and therapy of this pathology. However, if we evaluate not only the fact of the appearance of bronchial asthma in a particular patient, but also consider its course in more detail, and especially the possibility of achieving control over the disease, then indicators of not only atopic inflammation, but also local inflammation in general, acquire great influence, which is one of the reasons for the continuing high percentage of uncontrolled and partially controlled course bronchial asthma in children.

The purpose of this work is to identify changes in cytokine status indicators and immunograms – markers of the risk of uncontrolled bronchial asthma.

167 patients with bronchial asthma were examined, who, based on a standard clinical and instrumental examination, according to the criteria of clinical recommendations, were divided into two groups – controlled (70 people) and partially controlled and uncontrolled (97 children). All of them had their cytokines and IgA, IgM, IgG, IgE levels determined, in blood serum by ELISA, subpopulations of lymphocytes by flow cytometry, indicators of neutrophilic phagocytosis by light microscopy.

In the group with uncontrolled asthma, the following significant differences were noted: a decrease in the level of IL-7, IL-9 and an increase in IL-8, there is also a higher level of B lymphocytes, IgE and IgM, and a lower level of IgA, similar changes, but less pronounced, were previously detected in other studies when comparing patients with bronchial asthma and conditionally healthy, as well as mild and severe course diseases. There were no significant differences in the other studied indicators.

It is noteworthy that the greater influence on the control of the disease in bronchial asthma is not exerted by atopic cytokines responsible for the very fact of atopic inflammation, but by cytokines of general inflammation, such as IL-7, IL-8, IL-9, regulating the severity of inflammation in general, the role of IL-8 as a cytokine of granulocyte chemotaxis regulating local inflammation is especially interesting.

*Keywords:* bronchial asthma, children, cytokines, immunogram, uncontrolled course, Amur region

### Введение

БА у детей – мультифакториальное заболевание, однако в ее основе у детей, как правило, лежит атопическое воспаление. В последние годы

общепринятой считается теория, согласно которой аллергические заболевания обусловлены нарушениями регуляции в иммунной системе, связанными с повышенной несбалансирован-



ной активацией аллерген-специфических клонов Th<sub>2</sub>. В целом аллергический вариант реагирования иммунной системы сейчас называют иммунным ответом 2-го типа, который в норме обеспечивает развитие гуморального иммунитета и защиту от гельминтов и ряда других патогенов, а при патологии приводит к развитию аллергии. Иммунологические механизмы формирования иммунного ответа 2-го типа связаны с активацией Th<sub>2</sub> и синтезом В-лимфоцитами IgE, накоплением и активацией эозинофилов, базофилов и тучных клеток. В случае атопического воспаления основные изменения в ней состоят в повышении синтеза клетками проаллергических цитокинов, или так называемых цитокинов 2-го типа иммунного ответа: IL-4, IL-5, IL-9, IL-13. В норме стимуляция развития Th<sub>2</sub> ведет к активации гуморального звена иммунитета, без которого невозможно представить нормальное течение защитных реакций против целого ряда патогенов, однако при аллергии такая активация приобретает черты патологического воспаления. Первым среди этих цитокинов является IL-4, именно его выработка антигенпрезентирующими и некоторыми другими пулами клеток в ответ на аллерген служит главным индуктором дифференцировки наивных Th<sub>0</sub> в направлении Th<sub>2</sub>. IL-4 стимулирует продукцию активированными В-лимфоцитами человека определенных типов антител: IgE и IgG4. IL-13 оказывает сходное с IL-4 воздействие на функции В-лимфоцитов и макрофагов, но у человека абсолютно не влияет на дифференцировку Т-хелперов, т. к. Т-клетки человека не имеют рецепторов к нему. Следующим этапом в развитии атопического воспаления является синтез IL-5 активированными Th<sub>2</sub>, как правило, параллельно с IL-4, но экспрессия этих генов регулируется независимо. IL-5 является главным ростовым и дифференцированным фактором эозинофилов. При развитии БА он обеспечивает мобилизацию эозинофилов из костного мозга и привлекает эти клетки в ткань легких [3].

В развитии астматического статуса участвует также IL-9, вызывающий увеличение числа тучных клеток в легочной ткани и активацию гиперсекреции слизи эпителием дыхательных путей. IL-9 является ростовым фактором, синтезируемым Т-хелперами после встречи с антигеном и усиливающим размножение тучных клеток. У больных аллергической БА повышен уровень IL-9 в лаважах [16].

Если оценивать не только сам факт появления БА у конкретного пациента, но и более подробно рассматривать ее течение и особенно возможность достижения контроля над заболеванием, то большое влияние приобретают цитокины не только атопического воспаления, но и местного

воспаления вообще. Известно, что уровень IL-6, который является одним из основных медиаторов острого воспаления вне зависимости от его генеза, у пациентов с БА, даже вне приступа, значительно превосходит таковой в группе контроля [21] и еще больше увеличивается на фоне обострения БА [22].

IL-7 также является неспецифическим цитокином, стимулирующим созревание и пролиферацию практически всех типов лимфоцитов, однако существуют подтверждения его роли именно при БА [9]. Кроме того, подтверждена зависимость времени жизни Th<sub>2</sub>-клеток памяти от уровня IL-7, что прямо влияет на вероятность хронизации аллергического воспаления [20].

IL-8 является основным хемокином всех гранулоцитов, включая базофилы и эозинофилы, поэтому его роль в развитии местного воспаления, являющегося непосредственным патогенетическим субстратом при БА, несомненна. Этот интерлейкин непосредственно секретируется в ответ на сигналы IL-4 и IL-13 различными пулами клеток, в том числе клетками бронхиального эпителия, именно поэтому даже при исключительно атопическом генезе астмы в инфильтрации эпителия бронхов присутствует и нейтрофильный компонент. IL-8 – мощный хемотаксический цитокин, который активирует воспаление путем рекрутирования тучных клеток, мононуклеарных фагоцитов, Т-лимфоцитов и нейтрофилов в очаг воспаления, запуская порочный круг возрастающей аллергенной нагрузки. Показано большее содержание IL-8 у пациентов с БА в сравнении с условно здоровыми, при этом достоверной разницы между уровнем этого интерлейкина в ремиссии и в обострении у пациентов с БА не выявлено. Однако выявлен достоверно более высокий уровень IL-8 у больных с признаками ремоделирования бронхов [12], которое является одной из причин утраты контроля над БА.

В организме существуют несколько уровней контроля за избыточной активацией воспаления, как при ответе на патогены, так и при развитии аллергических реакций, для предотвращения повреждения собственных тканей. В системе цитокиновой регуляции за это отвечают иммунорегуляторные и иммуносупрессорные цитокины, включая, в частности, IL-10, IL-12, IL-18 и некоторые другие, которые синтезируются в основном Т-регуляторными лимфоцитами и в меньшей степени – Th<sub>2</sub> [5].

IL-10 подавляет синтез почти всех других цитокинов, презентацию антигенов и активацию Т-хелперов всех типов путем ограничения экспрессии CD80 (B7.1) и CD86 (B7.2) класса II на антигенпрезентирующих клетках. Таким об-

разом, он ослабляет любую сенсibilизацию, в том числе ведущую к атопическому воспалению. В клинических исследованиях показано, что у пациентов с БА уровень IL-10 значительно ниже, чем у условно здоровых людей [18].

Одним из основных Th<sub>1</sub>-поляризирующих цитокинов является IL-12, его недостаточная выработка является одним из механизмов поляризации иммунного ответа по Th<sub>2</sub>. Однако современные исследования демонстрируют неоднозначную роль IL-12. С одной стороны, он противодействует сенсibilизации Th<sub>2</sub> и развитию аллергии, с другой — способствует развитию полномасштабного аллергического заболевания дыхательных путей при воздействии аллергена в дыхательных путях после сенсibilизации, в фазе постчувствительности [11].

IL-18 выполняет регуляторные функции в отношении продукции цитокинов Th<sub>1</sub> и Th<sub>2</sub>, сдвигая поляризацию иммунного ответа к первому типу, он напрямую ингибирует IL-4 [19]. В клинических исследованиях показано, что уровень IL-18 у пациентов с БА значительно ниже, чем в группе контроля, а при обострении БА ниже, чем в ремиссии [8].

TNF $\alpha$  — хемоаттрактант для нейтрофилов и эозинофилов — усиливает цитотоксическое действие эозинофилов на эндотелиальные клетки, увеличивает эпителиальную экспрессию молекул адгезии, усиливает пролиферацию миоцитов, стимулирует рост и созревание фибробластов в миофибробласты путем стимулирования экспрессии TGF- $\beta$ , т. е. способствует ремоделированию бронхов [6]. Кроме того, показано, что он напрямую усиливает гиперреактивность дыхательных путей [17]. Клинические исследования показали повышение уровня TNF $\alpha$  у пациентов с БА в сравнении с условно здоровыми [4].

Вышеописанные изменения в сети сигнальных молекул иммунной системы с неизбежностью находят свое выражение в основных показателях стандартной иммунограммы, которые могут быть использованы как более легко отслеживаемые маркеры этих изменений. Для детей, страдающих БА, вообще характерны достаточно типичные изменения основных показателей иммунограммы. Абсолютное количество лимфоцитов периферической крови не отличается от показателей условно здоровых детей. Количественное содержание (относительное и абсолютное) Т-лимфоцитов, Т-хелперов, Т-цитотоксических клеток, как правило, существенно ниже нормальных величин [13]. Количество В-лимфоцитов достоверно повышено при атопических заболеваниях дыхательной системы, в том числе при БА [14].

Естественным продуктом активации В-клеток является выработка иммуноглобулинов различ-

ных классов, и если роль IgE в аллергическом воспалении очевидна, то остальные иммуноглобулины, оказывающие в большей степени опосредованное воздействие, представляют определенный интерес. Известно о более низком уровне IgA у детей с БА его уровень прямо связан с выраженностью сенсibilизации, в том числе к самым частым при БА аллергенам — клещу домашней пыли [10]. Доказан и более высокий уровень IgM у пациентов с БА, для IgG значимой разницы не обнаружено [15].

Конечным эффекторным звеном работы гуморального иммунитета является активация различных популяций гранулоцитов. При БА естественным образом основное внимание уделяется базофилам и эозинофилам, но и показатели нейтрофильного фагоцитоза могут представлять интерес, особенно в плане дальнейшего прогноза заболевания. Некоторые авторы указывают на снижение этих показателей в сравнении со здоровой популяцией [2]. Другие авторы отмечают, что при некоторых условиях они могут повышаться [7].

В целом изменение выработки цитокинов, дифференцировки субпопуляций лимфоцитов, уровня иммуноглобулинов различных классов, функционального состояния гранулоцитов характеризуют течение воспаления при БА и его клиническую реализацию, в том числе в виде неконтролируемого течения заболевания.

**Цель данной работы** — выявление изменений показателей цитокинового статуса и иммунограммы — маркеров риска неконтролируемого течения БА.

## Материалы и методы

Проведено обследование 167 детей. Пациентам проводилось стандартное клиническое обследование, при установлении диагноза «БА» и определения уровня контроля использовались критерии, приведенные в «Клинических рекомендациях по диагностике и лечению БА» [1].

В результате сформированы две основные группы: контролируемое течение БА (70 человек), частично контролируемое и неконтролируемое течение БА (90 человек) человек. Критерии включения: подтверждение диагноза «БА», наличие доказательства ее атопического генеза — сенсibilизация к респираторным аллергенам. Критерии исключения: наличие других бронхолегочных патологий, наличие острых инфекционных заболеваний на момент обследования.

Проводились следующие исследования:

— исследование лимфоидных популяций осуществляли на цитометре FACSCalibur Becton Dickinson. Панель моноклональных антител (BD) состояла из 7 параметров: CD3<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>

(зрелые Т-лимфоциты), CD19<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup> (зрелые В-лимфоциты), CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup> (Т-хелперы/индукторы), CD3<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup> (Т-киллеры/цитотоксические), CD3<sup>+</sup>/CD25<sup>+</sup> (маркер лимфоцитарной активации), CD (16<sup>+</sup>56)/CD45<sup>+</sup> (натуральные киллеры).

— показатели активности нейтрофилов изучали в спонтанном и стимулированном тестах фагоцитарной активности с частицами латекса и в тестах восстановления нитросиний тетразолий тест (НСТ) в формазан («ФАН-тест», «НСТ-тест», «Реаккомплекс», г. Чита).

— определения уровней IgA, IgM, IgG, IgE, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-18 и TNF $\alpha$  в сыворотке крови иммуноферментным методом с использованием тест-систем АО «Вектор-Бест» (Россия), определение проводилось посредством автоматического спектрофотометра Lazurite АО «Вектор-Бест» (Россия).

При статистическом анализе результатов исследования использовались стандартные методы вариантной статистики с применением пакета статистических 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. Различия между показателями считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Исследования проводились в соответствии с принципами текущего пересмотра Хельсинкской декларации (64<sup>th</sup> WMA General Assembly, Fortaleza, Brazil, October, 2013). Все данные были собраны с персонального согласия исследуемых и/или их законных представителей, во всех таблицах статистической обработки, кроме первичной, обследуемые представлены под порядковыми номерами. 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 № 5 от 14.05.2013.

## Результаты и обсуждение

Цитокиновая сеть является основным регуляторным звеном иммунной системы, именно соотношения цитокинов определяет конкретные параметры иммунного ответа, в том числе патологического, поэтому представляется рациональным начать анализ иммунного статуса у пациентов с контролируемой и неконтролируемой БА именно с него (табл. 1).

В ходе анализа нами не обнаружено достоверных различий в уровне основных цитокинов ато-

пического воспаления – IL-4 и IL-5 в группах с контролируемой и неконтролируемой БА.

Обнаружено достоверно, почти в четыре раза более низкое содержание IL-7 (7,1 пг/мл против 26,4 пг/мл) у пациентов с неконтролируемой БА, этот интерлейкин является неспецифическим фактором пролиферации всех лимфоцитов.

Выявлено достоверное более высокое (в 5 раз) содержание IL-8 (6,45 пг/мл против 4,7 пг/мл). Это основной фактор хемотаксиса гранулоцитов вообще и эозинофилов, в частности, непосредственно оказывающий влияние на течение атопического воспаления.

Также выявлено достоверно более низкое содержание IL-9 (1,4 пг/мл против 1,6 пг/мл), одного из основных регуляторов клеточного апоптоза.

Достоверных различий в содержании иных исследованных интерлейкинов не выявлено.

Таким образом, наиболее значимыми для групп с контролируемым и неконтролируемым течением оказались уровни интерлейкинов, регулирующих в первую очередь местное воспаление – хемотаксис гранулоцитов, в том числе эозинофильных, и апоптоз.

Изменения в цитокиновой сети находят свою реализацию в следующих звеньях иммунитета. В первую очередь они ведут к изменению абсолютных значений и соотношений субпопуляций лимфоцитов. При их анализе в группе неконтролируемой БА отмечается достоверно более высокое абсолютное количество лимфоцитов (2776,7 против 2330,2), достоверно выше и число Т-лимфоцитов (1796,4 против 1383,9), достоверно более высокий уровень В-лимфоцитов, как абсолютный (439,9 против 371,5), так и относительный (15,7% против 14,1%). Остальные субпопуляции не имеют не только статистически значимых различий, но и видимых тенденций к ним (табл. 2).

В-лимфоциты непосредственно производят иммуноглобулины всех классов, в том числе и имеющий особое значение для атопического воспаления IgE, и основной фактор местного специфического иммунитета IgA и IgM, свидетельствующие об остром инфекционном процессе, текущем в организме.

При анализе результатов исследования гуморального иммунитета у БА с неконтролируемым течением отмечается достоверно более высокий уровень сывороточного IgE (271,5 МЕ против 220,6 МЕ), являющегося прямым фактором атопического воспаления, также у них отмечается достоверно более низкий уровень IgA (1,92 г/л против 2,58 г/л), обеспечивающего, в том числе, и местную противомикробную защиту слизистых бронхов, и достоверно более высокий

**ТАБЛИЦА 1. УРОВЕНЬ СОДЕРЖАНИЯ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ДЕТЕЙ С КОНТРОЛИРУЕМОЙ И НЕКОНТРОЛИРУЕМОЙ БА**

TABLE 1. SERUM CYTOKINE LEVELS IN CHILDREN WITH CONTROLLED AND UNCONTROLLED ASTHMA

Цитокины Cytokine	Контролируемая Controlled n = 70	Неконтролируемая Uncontrolled n = 97	Достоверность (p) t-/U-критерий Reliability (p) t-/U-criterion
<b>IL-4, пг/л</b> IL-4, pg/L <b>Me (Min-Max)</b> <b>LQ-HQ</b>	1,1 (0,0-28,9) 0,36-2,24	1,4 (0,0-14,4) 0,7-2,0	0,4
<b>IL-5, пг/л</b> IL-5, pg/L <b>Me (Min-Max)</b> <b>LQ-HQ</b>	0 (0,0-7,3) 0,0-0,0	0 (0,0-4,9) 0,0-0,0	0,34
<b>IL-6, пг/л</b> IL-6, pg/L <b>Me (Min-Max)</b> <b>LQ – HQ</b>	0,4 (0,0-126,2) 0,0-3,2	0 (0,0-102,7) 0,0-2,59	0,79
<b>IL-7, пг/л</b> IL-7, pg/L <b>Me (Min-Max)</b> <b>LQ-HQ</b>	26,4 (0,0-289,1) 0,0-29,91	7,1 (0,0-82,7) 0,0-10,26	0,046
<b>IL-8, пг/л</b> IL-8, pg/L <b>Me (Min-Max)</b> <b>LQ-HQ</b>	4,7 (0,0-128,0) 3,2-23,1	6,45 (0,7-396,5) 2,98-7,07	0,041
<b>IL-9, пг/л</b> IL-9, pg/L <b>Me (Min-Max)</b> <b>LQ-HQ</b>	1,6 (0,0-34,1) 0,0-3,6	1,4 (0,0-7,9) 0,0-3,0	0,044
<b>IL-10, пг/л</b> IL-10, pg/L <b>Me (Min-Max)</b> <b>LQ-HQ</b>	79,1±19,1 6,5 (0,7-531,1) 3,03-129,60	99,5±16,3 103,7 (1,4-309,5) 3,7-173,2	0,42
<b>IL-18, пг/л</b> IL-18, pg/L <b>Me (Min-Max)</b> <b>LQ-HQ</b>	99,9±17,3 105,9 (0,0-329,1) 1,1-179,9	68,3±16,6 4,2 (0,0-380,7) 0,3-112,51	0,19
<b>TNF<math>\alpha</math>, пг/л</b> TNF $\alpha$ , pg/L	2,79±0,33	3,53±0,48	0,21

уровень IgM в сыворотке крови (2,19 г/л против 1,93 г/л), что может свидетельствовать о более частых острых инфекционных заболеваниях (табл. 3).

При анализе показателей нейтрофильного фагоцитоза у пациентов с контролируемой и неконтролируемой БА достоверных различий не выявлено (табл. 4).

Однако отмечается отчетливая тенденция к более высоким значениям всех показателей нейтрофильного фагоцитоза как спонтанных, так и стимулированных у детей с неконтролируемым течением БА, это может свидетельствовать о бо-

лее интенсивном течении местного воспаления и коррелирует с результатами анализа уровней сывороточных интерлейкинов.

## Заключение

Реализация выявленных врожденных особенностей атопии осуществляется через изменения в сигнальных сетях, регуляторном и эффекторном звеньях иммунитета. При оценке показателей цитокинового статуса и стандартной иммунограммы в группах контролируемой и неконтроли-



ТАБЛИЦА 2. СУБПОПУЛЯЦИИ ЛИМФОЦИТОВ У ДЕТЕЙ С КОНТРОЛИРУЕМОЙ И НЕКОНТРОЛИРУЕМОЙ БА

TABLE 2. LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS IN CHILDREN WITH CONTROLLED AND UNCONTROLLED ASTHMA

Субпопуляции лимфоцитов Lymphocyte subpopulations	Контролируемая Controlled n = 70	Неконтролируемая Uncontrolled n = 97	Достоверность (p) t-/U-критерий Reliability (p) t-/U-criterion
Лимфоциты, абс. Lymphocyte, abs.	2330,2±133,8	2776,7±109,6	0,047
CD3, абс. CD3, abs.	1383,9±104,8	1796,4±70,5	0,049
CD3, %	65,90±1,04	64,90±0,73	0,42
CD4, абс. CD4, abs.	1022,3±53,8	1089,4±70,5	0,49
CD4, %	38,40±1,01	37,30±0,77	0,37
CD8, абс. CD8, abs.	755,5±59,8	750,1±33,4	0,93
CD8, %	27,30±0,82	27,30±0,71	0,96
CD4/CD8	1,52±0,07	1,48±0,06	0,65
CD16, абс. CD16, abs.	374,3±31,3	375,0±22,3	0,98
CD16, %	14,10±0,94	13,30±0,59	0,47
CD19, абс. CD19, abs.	371,5±21,4	439,9±23,6	0,03
CD19, %	14,10±0,49	15,70±0,49	0,02

ТАБЛИЦА 3. ПОКАЗАТЕЛИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ДЕТЕЙ С КОНТРОЛИРУЕМОЙ И НЕКОНТРОЛИРУЕМОЙ БА

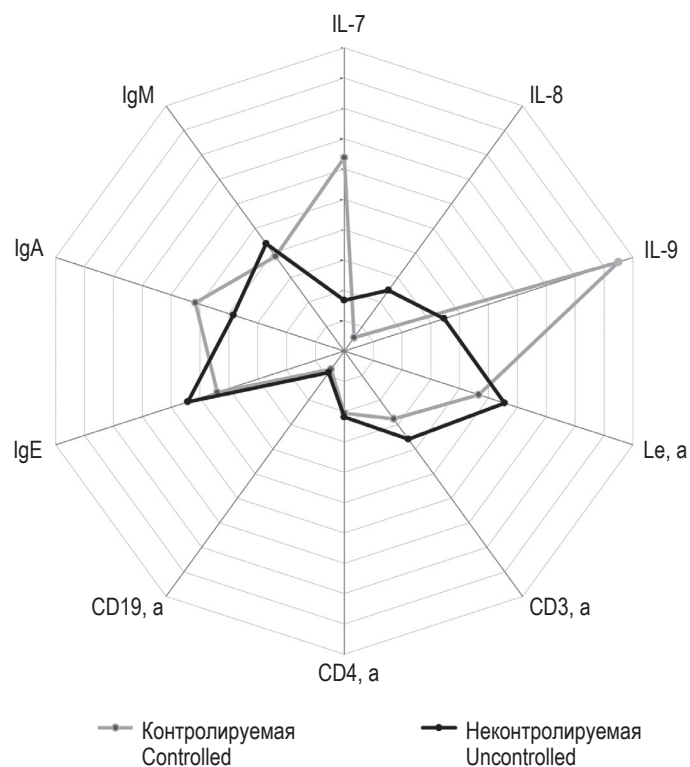
TABLE 3. INDICATORS OF HUMORAL IMMUNITY IN CHILDREN WITH CONTROLLED AND UNCONTROLLED ASTHMA

Показатели Indicators	Контролируемая Controlled n = 70	Неконтролируемая Uncontrolled n = 97	Достоверность (p) t-/U-критерий Reliability (p) t-/U-criterion
IgE, ME IgE, IU	220,6±20,1	271,5±26,7	0,047
IgA, г/л IgA, g/L	2,58±0,14	1,92±0,13	0,049
IgM, г/л IgM, g/L	1,93±0,10	2,19±0,09	0,043
IgG, г/л IgG, g/L	16,50±1,01	17,30±0,80	0,55
ЦИК, у. е. CIC, c. u.	59,00±5,49	57,60±5,89	0,86

**ТАБЛИЦА 4. ПОКАЗАТЕЛИ НЕЙТРОФИЛЬНОГО ФАГОЦИТОЗА У ДЕТЕЙ С КОНТРОЛИРУЕМОЙ И НЕКОНТРОЛИРУЕМОЙ БА**

TABLE 4. INDICATORS OF NEUTROPHILIC PHAGOCYTOSIS IN CHILDREN WITH CONTROLLED AND UNCONTROLLED ASTHMA

Показатели фагоцитоза Indicators of phagocytosis	Контролируемая Controlled n = 70	Неконтролируемая Uncontrolled n = 97	Достоверность (p) t-/U-критерий Reliability (p) t-/U-criterion
ФАН сп., % FAN sp., %	75,90±2,89	80,50±1,82	0,16
ФАН ст., % FAN st., %	82,10±2,96	87,10±1,27	0,10
ФР ФАН, % FR FAN, %	6,26±1,43	6,58±1,16	0,86
ФЧ сп., ед. FN sp., un.	5,44±0,55	5,57±0,30	0,82
ФЧ ст., ед. FN st. un.	6,24±0,38	6,91±0,56	0,35
ФР ФЧ, ед. FR FN, un.	0,80±0,56	1,33±0,52	0,49
НСТ сп., % NBT sp., %	25,50±2,57	29,40±3,40	0,38
НСТ ст., % NBT st., %	53,40±3,56	56,50±2,95	0,34
ФР НСТ, % FR NBT, %	27,90±3,76	25,90±4,38	0,7



**Рисунок 1. Достоверно различимые показатели иммунного статуса при БА в зависимости от контроля заболевания**

Figure 1. Reliably distinguishable indicators of the immune status in AD depending on the disease control

руемой БА отмечается достоверная разница по ряду показателей (рис. 1).

В группе с неконтролируемой астмой отмечалось снижение уровня IL-7, IL-9 и рост IL-8, также отмечался более высокий уровень В-лимфоцитов, IgE и М и более низкий – IgA, подобные изменения, но менее выраженные, ранее выявлялись при сравнении пациентов с БА и условно здоровых, а также легкого и тяжелого течения БА [10, 14, 15].

Обращает на себя внимание то, что большее влияние на контроль заболевания БА оказывают не цитокины атопии, отвечающие за сам факт атопического воспаления, а цитокины общего воспаления, такие как IL-7, IL-8, IL-9, регулирующие выраженность воспаления вообще, особенно интересна роль IL-8 как цитокина хемотаксиса гранулоцитов, регулирующего местное воспаление.

## Список литературы / References

1. Клинические рекомендации «Бронхиальная астма». Министерство здравоохранения Российской Федерации. [Электронный ресурс]. Режим доступа: [http://spulmo.ru/upload/kr\\_bronhastma\\_2019.pdf](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](http://spulmo.ru/upload/kr_bronhastma_2019.pdf).
2. Ляпина С.А., Федотова Г.Г. Реактивные изменения нейтрофилов при бронхолегочных заболеваниях // Современные проблемы науки и образования, 2018. № 6. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28285>. [Lyapina S.A., Fedotova G.G. Reactive changes of neutrophils in bronchopulmonary diseases. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education. Surgery*, 2018, no. 6. [Electronic resource]. Access mode: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28285>.
3. Симбирцев А.С. Цитокины в иммунопатогенезе аллергии // РМЖ. Медицинское обозрение, 2021. Т. 5, № 1. С. 32-37. [Simbirtsev A.S. Cytokines and their role in immune pathogenesis of allergy. *Russkiy meditsinskiy zhurnal. Meditsinskoye obozreniye = Russian Medical Journal. Medical Review*, 2021, Vol. 5, no. 1, pp. 32-37.
4. Bradding P., Roberts J.A., Britten K.M. Interleukin-4, -5, and -6 and tumor necrosis factor-alpha in normal and asthmatic airways: evidence for the human mast cell as a source of these cytokines. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1994, Vol. 10, pp. 471-480.
5. Branchett W., Lloyd C. Regulatory cytokine function in the respiratory tract. *Mucosal Immunol.*, 2019, Vol. 12, no. 3, pp. 589-600.
6. Brightling C., Berry M., Amrani Y. Targeting TNF-alpha: a novel therapeutic approach for asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2008, Vol. 121, no. 1, pp. 5-12.
7. Fedoseev G.B., Trofimov V.I., Negrutka K.V. The functional status of neutrophils in patients with bronchial asthma, chronic obstructive pulmonary disease, bronchial asthma with chronic obstructive pulmonary disease, and community-acquired pneumonia. *J. Lung Pulm. Respir. Res.*, 2018, Vol. 5, no. 2, pp. 51-63.
8. Hossny E.M., El-Sayed S.S., El-Hadidi E.S., Moussa S.R. Serum interleukin-18 expression in children with bronchial asthma. *World Allergy Organ J.*, 2009, Vol. 2, no. 5, pp. 63-68.
9. Inal A., Musabak U., Sengul A. Serum interleukin-7 levels in patients with allergic asthma keskin goksal. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2006, Vol. 117, no. 2, pp. 567-569.
10. Kim W.-J., Choi I.S., Kim C.S., Lee J.-H., Kang H.-W. Relationship between serum IgA level and allergy/asthma. *Korean J. Intern. Med.*, 2017, Vol. 32, no. 1, pp. 137-145.
11. Meyts I., Hellings P.W., Hens G. IL-12 contributes to allergen-induced airway inflammation in experimental asthma. *J. Immunol.*, 2006, 177, no. 9, pp. 6460-6470.
12. Mohamed S.F., Mohamed Abd-Elwahab F., Mohamed-Shokry D., Mohamed-Samy W. Relation between Interleukin 8 and Bronchial Asthma in Children. *Egypt. J. Hospital Med.*, 2021, Vol. 85, no. 2, pp. 3621-3623.
13. Nguyen-Thi-Dieu T., Le-Thi-Thu H., Duong-Quy S. The profile of leucocytes, CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, and CD8<sup>+</sup> T cells, and cytokine concentrations in peripheral blood of children with acute asthma exacerbation. *J. Int. Med. Res.*, 2017, Vol. 45, no. 6, pp. 1658-1669.
14. Pascual M., Suzuki M., Isidoro-Garcia M. Epigenetic changes in B lymphocytes associated with house dust mite allergic asthma. *Epigenetics*, 2011, Vol. 6, no. 9, pp. 1131-1137.
15. Rahnema B., Hazhirkarzar B., Ghaffari S., Zamanlu M. Serum level of immunoglobulins in patients with respiratory allergic diseases. *Front. Immunol.*, 2013. Conference Abstract: 15<sup>th</sup> International Congress of Immunology (ICI). doi: 10.3389/conf.fimmu.2013.02.00588.
16. Sehra S., Yao W., Nguyen E. TH9 cells are required for tissue mast cell accumulation during allergic inflammation. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2015, Vol. 136, pp. 433-440.
17. Thomas P.S., Heywood G. Effects of inhaled tumour necrosis factor alpha in subjects with mild asthma. *Thorax*, 2002, Vol. 57, pp. 774-778.
18. Umetsu D.T., DeKruyff R.H. Interleukin-10 the missing link in asthma regulation? *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1999, Vol. 21, pp. 562-563.

19. Yasuda K., Nakanishi K., Tsutsui H. Interleukin-18 in health and disease. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, Vol. 20, no. 3, 649. doi: 10.3390/ijms20030649.
20. Yeon S., Halim L., Chandele A. IL-7 plays a critical role for the homeostasis of allergen-specific memory CD4 T cells in the lung and airways. *Sci. Rep.*, 2017, no.7, 11155. doi: 10.1038/s41598-017-11492-7.
21. Yokoyama A., Kohno N., Fujino S. Circulating interleukin-6 levels in patients with bronchial asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1995, Vol. 15, no. 5, pp. 1354-1358.
22. Yokoyama A., Kohno N., K. Sakai Circulating levels of soluble interleukin-6 receptor in patients with bronchial asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1997, Vol. 156, no. 5, pp. 1688-1691.

---

**Авторы:**

**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

**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

**Козлов В.К.** — д.м.н., член-корр. РАН, 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

**Галянт О.И.** — к.м.н., старший научный сотрудник группы клинической иммунологии и эндокринологии 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

**Евсеева Г.П.** — д.м.н., руководитель 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

**Authors:**

**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

**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

**Kozlov V.K.**, PhD, MD (Medicine), Corresponding Member, Russian Academy of Medical Sciences, 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

**Galyant O.I.**, 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 Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Khabarovsk, Russian Federation

**Evsееva G.P.**, PhD, MD (Medicine), Deputy Director on Scientific Work, Head 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

---

Поступила 31.03.2024  
Отправлена на доработку 01.04.2024  
Принята к печати 02.04.2024

---

Received 31.03.2024  
Revision received 01.04.2024  
Accepted 02.04.2024



## ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ TLR2 И TLR4 ПРИ УСПЕШНОМ И ПАТОЛОГИЧЕСКОМ СТАРЕНИИ

Хасанова Е.М.<sup>1</sup>, Греченко В.В.<sup>1</sup>, Громова Т.В.<sup>1</sup>,  
Сходова С.А.<sup>2</sup>, Ганковская Л.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова»  
Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

**Резюме.** В настоящее время общепризнанной теорией старения является теория воспалительного старения. Ведущая роль в его развитии отводится механизмам врожденного иммунитета. Ключевыми рецепторами врожденного иммунитета являются TLR, распознающие широкий спектр лигандов. Активация TLR приводит к продукции провоспалительных медиаторов и обеспечивает реализацию эффекторных механизмов врожденной иммунной защиты. Закономерности возрастных изменений функционирования системы TLR остаются предметом изучения. Цель работы – исследование экспрессии рецепторов TLR2 и TLR4 в клетках периферической крови долгожителей и лиц старческого возраста на уровне генов и поверхностных молекул.

В ходе исследования проанализированы уровни экспрессии генов и молекул TLR2 и TLR4 у молодых доноров (n = 50), лиц старческого возраста (n = 50) и долгожителей (n = 100). Анализ экспрессии генов TLR2 и TLR4 проводился методом ПЦР-РВ. Определение поверхностной экспрессии TLR2 и TLR4 на поверхности клеток периферической крови осуществлялось с помощью проточной цитофлуориметрии.

В настоящем исследовании впервые проведен анализ возрастной динамики экспрессии генов и молекул TLR2 и TLR4. Выявлено, что в группах пациентов старческого возраста и долгожителей экспрессия TLR2 увеличена как на уровне гена, так и на поверхности клеток, по сравнению с молодыми донорами. При этом экспрессия TLR4, напротив, снижалась с возрастом. Исследуемые группы пациентов были разделены в зависимости от фенотипа старения на две подгруппы: успешное и патологическое старение. У лиц старческого возраста наблюдается повышение TLR2 при обоих фенотипах, в то время как TLR4 оказался снижен при патологическом фенотипе старения. В группе долгожителей с патологическим фенотипом старения наблюдается снижение как TLR2, так и TLR4, по сравнению с молодыми лицами. У долгожителей с успешным старением на уровне гена и белка наблюдалось повышение экспрессии TLR2 и сравнимая с группой молодых лиц экспрессия TLR4.

Таким образом, у долгожителей и лиц старческого возраста с патологическим фенотипом старения изменения в экспрессии TLR2 имеют разнонаправленный характер. Выявленные изменения в

### Адрес для переписки:

Хасанова Елена Минсалимовна  
ФГАОУ ВО «Российский национальный  
исследовательский медицинский университет имени  
Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ  
117513, Россия, Москва, ул. Островитянова, 1.  
Тел.: 8 (916) 301-93-57.  
E-mail: joimolino@gmail.com

### Address for correspondence:

Elena M. Khasanova  
N. Pirogov Russian National Research Medical University  
1 Ostrovityanov St  
Moscow  
117513 Russian Federation  
Phone: +7 (916) 301-93-57.  
E-mail: joimolino@gmail.com

### Образец цитирования:

Е.М. Хасанова, В.В. Греченко, Т.В. Громова,  
С.А. Сходова, Л.В. Ганковская «Изменения экспрессии  
TLR2 и TLR4 при успешном и патологическом  
старении» // Российский иммунологический журнал,  
2024. Т. 27, № 4. С. 1107-1114.  
doi: 10.46235/1028-7221-16733-AIE

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

### For citation:

E.M. Khasanova, V.V. Grechenko, T.V. Gromova,  
S.A. Skhodova, L.V. Gankovskaya “Alterations in expression  
of TLR2 and TLR4 during successful and pathological aging”,  
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii  
Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 1107-1114.  
doi: 10.46235/1028-7221-16733-AIE

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16733-AIE

экспрессии TLR2 и TLR4, наблюдающиеся в разных возрастных группах, могут рассматриваться как маркеры различных фенотипов старения.

*Ключевые слова:* врожденный иммунитет, старение, рецепторы, экспрессия, TLR, долгожители

## ALTERATIONS IN EXPRESSION OF TLR2 AND TLR4 DURING SUCCESSFUL AND PATHOLOGICAL AGING

Khasanova E.M.<sup>a</sup>, Grechenko V.V.<sup>a</sup>, Gromova T.V.<sup>a</sup>, Skhodova S.A.<sup>b</sup>, Gankovskaya L.V.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> N. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

<sup>b</sup> I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** The generally accepted theory of aging is the theory of inflammaging. The leading role in its development is played by the mechanisms of innate immunity. Key receptors of innate immunity are TLRs. The patterns of age-related changes in the functioning of the TLR system remain the subject of study. The purpose of the work is to study the expression of TLR2 and TLR4 receptors in peripheral blood cells of centenarians and elderly people at the level of genes and surface molecules.

The study analyzed the expression of genes and molecules TLR2 and TLR4 in young donors (n = 50), elderly people (n = 50) and centenarians (n = 100). Analysis of TLR2 and TLR4 gene expression was carried out using RT-PCR. Determination of surface expression of TLR2 and TLR4 was carried out using flow cytometry.

This study is the first to analyze the age-related dynamics of expression of genes and molecules TLR2 and TLR4. It was revealed that in groups of elderly patients and long-livers, TLR2 expression is increased both at the gene and on the cell surface, compared to young donors. In contrast, TLR4 expression decreased with age. Studied groups of patients were divided depending on the aging phenotype into two subgroups: successful and pathological aging. In elderly individuals, TLR2 is increased in both phenotypes, while TLR4 is decreased in the pathological aging. In the group of centenarians with a pathological aging, a decrease in both TLR2 and TLR4 is observed, compared with young. In long-livers with successful aging, an increase in TLR2 expression was observed at the gene and protein level and TLR4 expression was comparable to the group of young individuals.

Identified changes in the expression of TLR2 and TLR4, observed in different age groups, can be considered as markers of various aging phenotypes.

*Keywords:* innate immunity, aging, receptors, expression, TLR, centenarians

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-15-00137, <https://rscf.ru/project/23-15-00137/>.

### Введение

В настоящее время общепризнанной теорией старения является теория inflammaging – воспалительного старения. Ведущая роль в развитии воспалительного старения отводится механизмам врожденного иммунитета [7]. Ключевыми рецепторами врожденного иммунитета являются Toll-подобные рецепторы, распознающие широкий спектр экзогенных и эндогенных сигналов опасности. Активация TLR приводит к продукции провоспалительных и противовоспалительных медиаторов и обеспечивает реализацию эф-

фекторных механизмов врожденной иммунной защиты [8]. С возрастом наблюдаются изменения в экспрессии Toll-рецепторов, а также в ассоциированных с ними сигнальных путях, следствием чего может быть изменение функции врожденных и адаптивных реакций иммунитета, приводящих к развитию возраст-ассоциированных воспалительных заболеваний и увеличению числа и тяжести инфекционных осложнений в старческом возрасте [9, 11, 12].

Закономерности возрастных изменений функционирования системы TLR остаются предметом изучения. **Целью данной работы** явилось исследование экспрессии рецепторов TLR2 и TLR4 в клетках периферической крови у долго-

жителей и лиц старческого возраста при различных фенотипах старения.

## Материалы и методы

Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» и было одобрено локальным этическим комитетом при ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (заседание № 24 от 20.11.2023). Все пациенты, включенные в исследование, давали информированное согласие на участие, а также согласие на обработку персональных данных.

В исследование включались лица следующих возрастных групп:

- 1) группа долгожителей,  $n = 100$  (средний возраст – 94 (90–97));
- 2) группа лиц старческого возраста,  $n = 49$ ;
- 3) группа молодых доноров, составивших группу сравнения,  $n = 50$ .

Участники исследования проходили плановое стационарное лечение в ГБУЗ ГВВ № 2 ДЗ и ГБУ Геронтологический центр г. Москвы. У пациентов групп 1 и 2 проводились определение индекса коморбидности Чарльсон, оценка краткой батареи тестов физического функционирования (SPPB) и краткой шкалы оценки психического статуса (MMSE) [4, 6, 10]. На основании выбранных критериев группы 1 и 2 были разделены на 2 подгруппы в зависимости от фенотипа старения – патологическое старение и успешное старение.

1) Критерии включения в подгруппу патологического старения: индекс Чарльсон  $\geq 3$ , индекс SPPB  $\leq 7$  баллов, MMSE  $\leq 27$ .

2) Критерии включения в подгруппу успешного старения: индекс Чарльсон 1–2, индекс – SPPB  $> 7$  баллов, MMSE  $> 27$ .

Определение экспрессии генов *TLR2* и *TLR4*. Из клеток крови выделяли нуклеиновые кислоты («АмплиПрайм РНКСорб», Россия) и проводили реакцию обратной транскрипции («ОТ-1» ООО «НПФ Синтол», Россия) в соответствии с протоколом производителя. Анализ экспрессии генов *TLR2* и *TLR4* проводился методом ПЦР-РВ в присутствии SYBR Green (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Праймеры и реактивы для ПЦР реакции были синтезированы фирмой ООО «НПФ Синтол» (Россия). Экспрессию целевых генов нормализовали на ген домашнего хозяйства –  $\beta$ -актин, оценивали по методу  $\Delta\Delta Ct$  [2].

Определение экспрессии TLR2 и TLR4 на поверхности клеток периферической крови осуществлялось с помощью проточной цитофлюориметрии по описанной ранее методике [3].

Клетки окрашивались моноклональными антителами (MAT) против TLR2 (Alexa Fluor 488, e-Biosciences, США) и TLR4 (PE, AntibodySystem, Франция), а также MAT против CD45 (PC5.5, Beckman Coulter, США) и CD14 (APC, Beckman Coulter, США) и оценивались на проточном цитометре (Navios Beckman Coulter, США). Исследуемые популяции клеток гейтировались по показателям светорассеяния, а также маркерам CD45 и CD14. Средняя интенсивность флуоресценции клеток (MFI) определялась как отношение средней интенсивности флуоресценции образца к средней интенсивности флуоресценции соответствующего изотипического контроля.

Статистическая обработка данных проведена с использованием программы GraphPad Prism 9.0.0. Данные были проверены на нормальность распределения, определены их дисперсии. Сравнение исследуемых групп проводили с использованием критерия Краскела–Уоллиса и апостериорным критерием Данна.

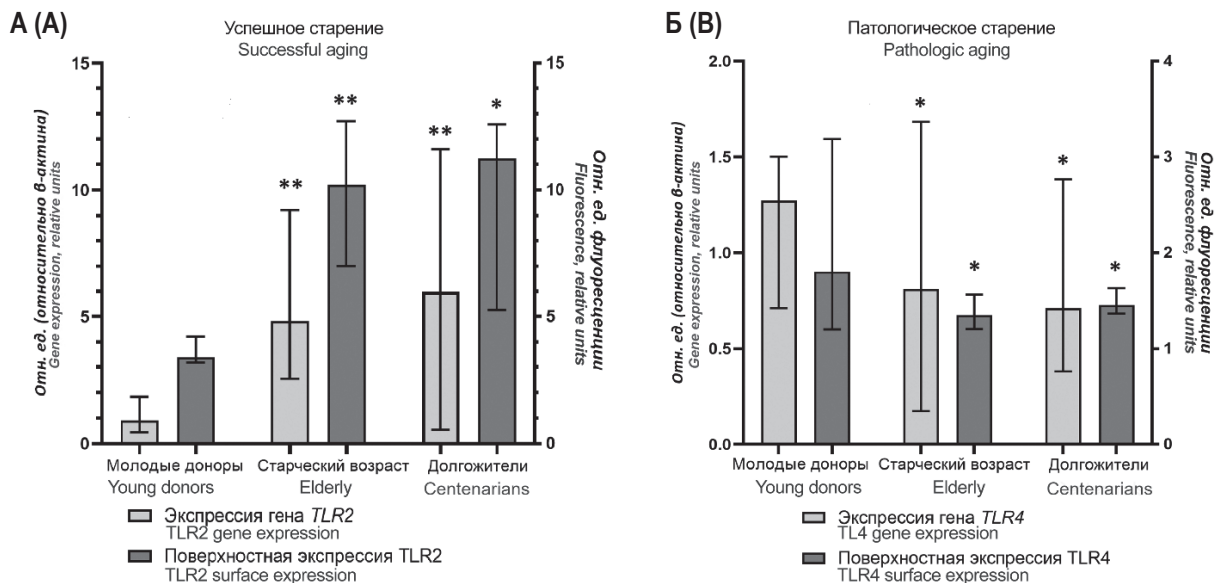
## Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования были проанализированы уровни экспрессии генов и молекул TLR2 и TLR4 в клетках периферической крови молодых доноров, лиц старческого возраста и долгожителей (рис. 1).

Показатели экспрессии гена *TLR2* увеличивались как в группах старческого возраста, так и долгожителей, по сравнению с группой молодых доноров ( $p < 0,01$ ). На моноцитах периферической крови поверхностная экспрессия молекулы TLR2 также была достоверно повышена ( $p < 0,05$ ) относительно группы сравнения (рис. 1А). При этом анализ TLR4, напротив, выявил статистически значимое снижение показателей экспрессии гена и молекул ( $p < 0,05$ ) как в группе старческого возраста, так и в группе долгожителей (рис. 1Б).

Дальнейший анализ уровней экспрессии TLR2 и TLR4 в зависимости от фенотипа старения позволил выявить различия между успешным и патологическим типами старения.

На рисунке 2 представлены уровни экспрессии гена и молекулы TLR2 в исследуемых группах в зависимости от фенотипа старения. У долгожителей с успешным фенотипом старения отмечаются наиболее высокие значения экспрессии TLR2 как на уровне гена, так и поверхностной экспрессии на CD14<sup>+</sup> моноцитах (рис. 2А). В то время как в группе долгожителей с патологическим старением, напротив, наблюдалось снижение показателей экспрессии TLR2, до значений, сопоставимых с уровнем молодых лиц (рис. 2Б). При этом у пациентов старческого возраста при патологическом фенотипе старения наблюдалось

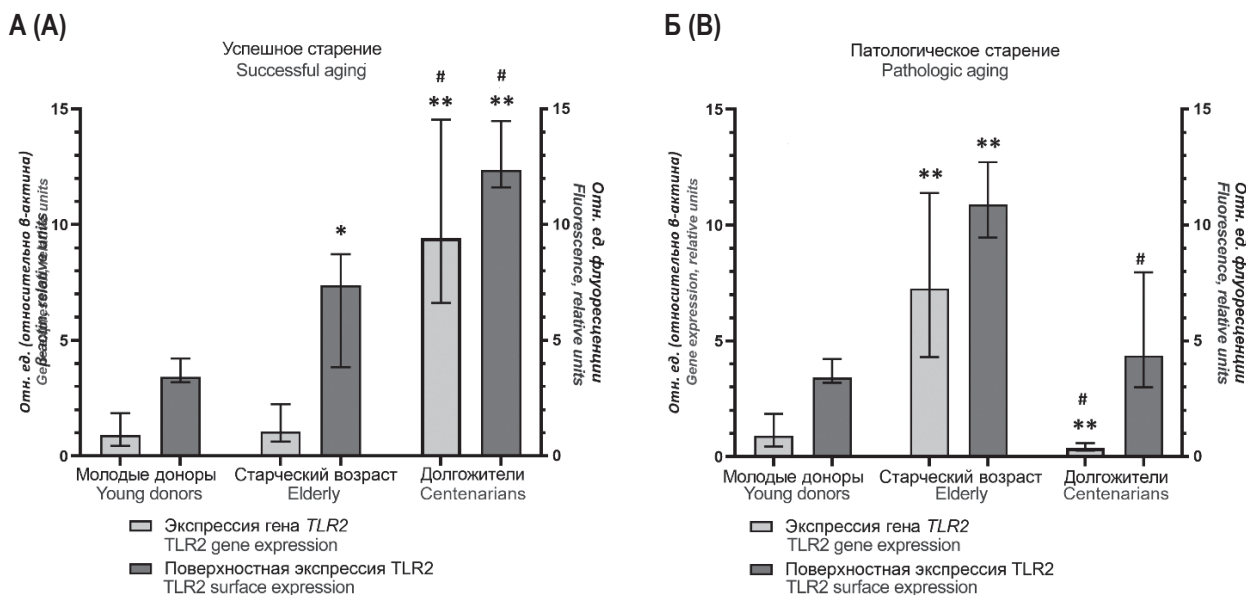


**Рисунок 1. А – экспрессия гена и белка TLR2. Б – экспрессия гена и белка TLR4 в лейкоцитах пациентов исследуемых групп**

Примечание. На рисунках 1, 2, 3 представлены значения поверхностной экспрессии TLR2 и TLR4 в CD45<sup>+</sup>CD14<sup>+</sup> клетках; данные представлены в виде Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>); \* – p < 0,05; \*\* – p < 0,01.

Figure 1. A, expression of the gene and protein TLR2. B, expression of the gene and protein TLR4 in leukocytes of patients in the study groups.

Note. Figures 1, 2, 3 show the surface expression values of TLR2 and TLR4 in CD45<sup>+</sup>CD14<sup>+</sup> cells; data are presented as Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>); \*, p < 0.05; \*\*, p < 0.01.



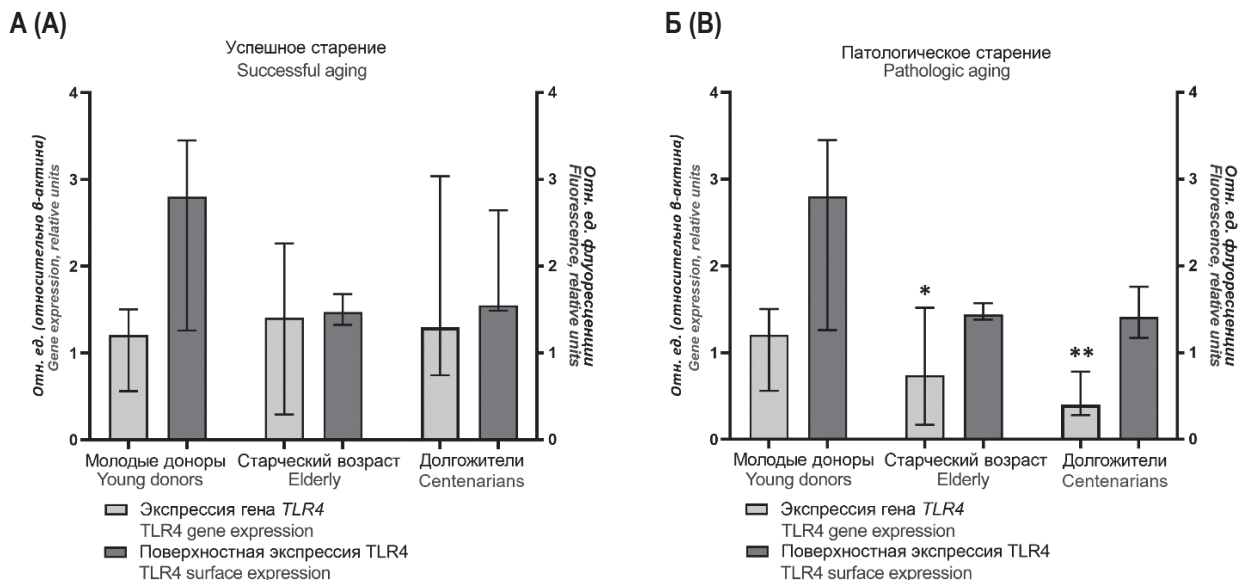
**Рисунок 2. А – экспрессия гена и белка TLR2 при успешном старении. Б – экспрессия гена и белка TLR2 при патологическом старении в лейкоцитах пациентов исследуемых групп**

Примечание. Данные представлены в виде Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>); \* – статистически значимые отличия от группы молодых доноров; # – статистически значимые отличия группы долгожителей от лиц старческого возраста. \* – p < 0,05; \*\* – p < 0,01; # – p < 0,05.

Figure 2. A, expression of the gene and protein TLR2 during successful aging. B, expression of the gene and protein TLR2 during pathological aging in leukocytes of patients in the study groups

Note. Data are presented as Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>); \*, statistically significant differences from the group of young donors; #, statistically significant differences between the group of centenarians and the elderly. \*, p < 0.05; \*\*, p < 0.01; #, p < 0.05.





**Рисунок 3. А – экспрессия гена и белка TLR4 при успешном старении. Б – экспрессия гена и белка TLR4 при патологическом старении в лейкоцитах пациентов исследуемых групп**

**Примечание.** Данные представлены в виде Me ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ ); \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ .

Figure 3. A, expression of the TLR4 gene and protein during successful aging. B, expression of the TLR4 gene and protein during pathological aging in leukocytes of patients in the study groups

Note. Data are presented as Me ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ ); \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ .

увеличение экспрессии гена и поверхностной экспрессии *TLR2* как в сравнении с молодыми донорами, так и в сравнении с аналогичной группой долгожителей (рис. 2Б). Успешный фенотип в старческом возрасте характеризовался более низкими показателями экспрессии *TLR2*, чем у долгожителей (рис. 2А).

Оценка экспрессии гена и белка TLR4 не выявила значимых различий в группе успешного фенотипа старения ни между лицами старческого возраста и долгожителями, ни между молодыми донорами (рис. 1А). При патологическом типе старения экспрессия гена TLR4 была снижена как у лиц старческого возраста, так и у долгожителей, в сравнении с молодыми донорами (рис. 3А). При этом в группе долгожителей с патологическим старением этот показатель был в 3 раза ниже, в сравнении с долгожителями с успешным типом ( $p < 0,01$ ). При анализе уровней поверхностной экспрессии TLR4 на моноцитах наблюдалась тенденция по снижению в группах старческого возраста и долгожителей с обоими фенотипами старения ( $p < 0,1$ ) (рис. 3А, Б).

Изучение возрастных изменений в системе распознавания врожденного иммунитета представляет собой крайне актуальную задачу, поскольку имеющиеся литературные данные о возрастных изменениях экспрессии TLR на клетках

периферической крови крайне ограничены и неоднозначны [5, 13].

В настоящем исследовании впервые проведен анализ экспрессии генов и молекул TLR2 и TLR4 у лиц разных возрастных групп с учетом фенотипов старения: патологического и успешного. Данные поверхностной экспрессии были соотнесены с показателями экспрессии генов этих рецепторов, выявленные закономерности подтверждаются и имеют одинаковый характер изменений.

Нами показано, что в группах пациентов старческого возраста и долгожителей экспрессия TLR2 увеличена как на уровне гена, так и на поверхности клеток, по сравнению с молодыми донорами. При этом экспрессия TLR4, напротив, снижалась с возрастом.

Старческий возраст является критическим этапом, формирующим дальнейшее протекание процессов старения и окончательный переход к здоровому или патологическому долголетию, поскольку в этот период наиболее часто происходит проявление возраст-ассоциированных заболеваний. Полученные данные показывают, что при патологическом старении у лиц старческого возраста наблюдается самый высокий уровень экспрессии TLR2 среди обследованных групп, в то время как экспрессия TLR4 снижена. В исследовании на животных получены сходные ре-

зультаты, экспрессия TLR4 на моноцитах старых мышей снижена по сравнению с молодыми животными, в то время как экспрессия TLR2 повышена [14]. Рецептор TLR2 образует гетеродимеры с TLR1, TLR4, TLR6 и TLR10, что обуславливает широкий спектр связываемых им эндогенных и экзогенных лигандов, концентрация которых возрастает в организме с возрастом. Таким образом, значительное повышение экспрессии TLR2 на системном уровне в старческом возрасте может выступать в качестве неблагоприятного прогностического признака развития патологического фенотипа старения. Успешное старение в этой возрастной группе в меньшей степени сопровождается повышением экспрессии TLR2, а экспрессия TLR4 остается на уровне молодых лиц.

У лиц старческого возраста и долгожителей с патологическим фенотипом старения изменения в экспрессии TLR2 имеют разнонаправленный характер. Долгожители представляют особую группу лиц, успешно перешедших 90-летний ру-

беж, несмотря на наличие ряда сопутствующих патологий. Согласно социодемографическим данным, в категорию долгожителей попадает менее 1% населения России [1]. В группе долгожителей с патологическим фенотипом старения наблюдалось снижение как TLR2, так и TLR4, по сравнению с молодыми лицами, что может свидетельствовать о дефекте системы распознавания врожденного иммунитета. У долгожителей с успешным старением выявлено повышение экспрессии TLR2 и сопоставимая с группой молодых лиц экспрессия TLR4. Это говорит о сохранности либо о повышении функции системы TLR в данной возрастной группе, что может быть значимым маркером успешного долголетия.

## Заключение

Таким образом, выявляемые изменения в экспрессии TLR2 и TLR4, наблюдающиеся в разных возрастных группах, могут рассматриваться как маркеры различных фенотипов старения.

## Список литературы / References

1. Андреев Е.М., Вологирова Л.А., Воробьева О.Д., Денисенко М.Б., Иванова А.Е., Ионцев В.А., Моруга А.С., Харьковская Т.Л., Чудиновских О.С., Чумарина В.Ж. Демографический ежегодник России. 2023. – М.: Росстат, 2023, 256 с. [Andreev E.M., Vologirova L.A., Vorobieva O.D., Denisenko M.B., Ivanova A.E., Iontcev V.A., Moruga A.S., Kharkovskaya T.L., Chudinovskikh O.S., Chumarina V.Zh. The Demographic Yearbook of Russia. 2023: Statistical Handbook / D 31 Rosstat. Moscow, 2023. 256 p.]
2. Бурмакина В.В., Ганковская Л.В., Насаева Е.Д., Хасанова Е.М., Греченко В.В., Стражеско И.Д., Гороdishchenskaya С.В. Связь инфламмосомного комплекса и цитокинов ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-10 с патологическим фенотипом старения у долгожителей // Иммунология, 2023. Т. 44, № 6. С. 754-763. [Burmakina V.V., Gankovskaya L.V., Nasaeva E.D., Khasanova E.M., Grechenko V.V., Strazhesko I.D., Gorodishchenskaya S.V. Link between the infl ammasome complex and cytokines IL-1 $\beta$  and IL-10 and pathological phenotype of aging in centenarians. *Immunologiya = Immunologiya*, 2023, Vol. 44, no. 6, pp. 754-763. (In Russ.)]
3. Хорева М.В., Смирнова А.Д., Латышева Т.В., Захаров М.В. Анализ экспрессии TLR2 и TLR4 на клетках периферической крови больных бронхиальной астмой // Российский иммунологический журнал, 2016. Т. 10, № 3 (19). С. 358-360. [Khoreva M.V., Smirnova A.D., Latysheva T.V., Zakharov M.V. Analysis of the expression of TLR2 and TLR4 on peripheral blood cells of patients with bronchial asthma. *Rossiyskiy immunologicheskij zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2016, Vol. 10, no. 3 (19), pp. 358-360. (In Russ.)]
4. Arevalo-Rodriguez I., Smailagic N., Roqué-Figuls M., Ciapponi A., Sanchez-Perez E., Giannakou A., Pedraza O.L., Bonfill Cosp X., Cullum S. Mini-Mental State Examination (MMSE) for the early detection of dementia in people with mild cognitive impairment (MCI). *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2021, Vol. 2021, no. 7, CD010783. doi: 10.1002/14651858.CD010783.pub3.
5. Ashida K., Miyazaki K., Takayama E., Tsujimoto H., Ayaori M., Yakushiji T., Iwamoto N., Yonemura A., Isoda K., Mochizuki H., Hiraide H., Kusuhara M., Ohsuzu F. Characterization of the expression of TLR2 (toll-like receptor 2) and TLR4 on circulating monocytes in coronary artery disease. *J. Atheroscler. Thromb.*, 2005, Vol. 12, no. 1, pp. 53-60.
6. Charlson M., Carrozzino D., Guidi J., Chiara Patierno C. Charlson comorbidity index: a critical review of clinimetric properties. *Psychother. Psychosom.*, 2022. Vol. 81, pp. 8-35.
7. Fulop T., Larbi A., Pawelec G., Khalil A., Cohen A.A., Hirokawa K., Witkowski J.M., Franceschi C. Immunology of Aging: the Birth of Inflammaging. *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, 2023. Vol. 64, no. 2, pp. 109-122.
8. Lannoy V., Côté-Biron A., Asselin C., Rivard N. TIRAP, TRAM, and toll-like receptors: the untold story. *Mediators Inflamm.*, 2023. Vol. 2023, 2899271. doi: 10.1155/2023/2899271.

9. Oh S.J., Lee J.K., Shin O.S. Aging and the immune system: the impact of immunosenescence on viral infection, immunity and vaccine immunogenicity. *Immune Netw.*, 2019, Vol. 19, no. 6, e37. doi: 10.4110/in.2019.19.e37.
10. Ramírez-Vélez R., López Sáez de Asteasu M., Morley J., Cano-Gutierrez C., Izquierdo M. Performance of the short physical performance battery in identifying the frailty phenotype and predicting geriatric syndromes in community-dwelling elderly. *J. Nutr. Health Aging*, 2020. Vol. 25, pp. 209-217.
11. Renshaw M., Rockwell J., Engleman C., Gewirtz A., Katz J., Sambhara S. Cutting edge: impaired Toll-like receptor expression and function in aging. *J. Immunol.*, 2002, Vol. 169, no. 9, pp. 4697-4701.
12. Shaw A.C. Effects of aging on human toll-like receptor function. Springer, Handbook of Immunosenescence, 2018, pp. 1-12.
13. Stewart L.K., Flynn M.G., Campbell W.W., Craig B.A., Robinson J.P., McFarlin B.K., Timmerman K.L., Coen P.M., Felker J., Talbert E. Influence of exercise training and age on CD14<sup>+</sup> cell-surface expression of toll-like receptor 2 and 4. *Brain Behav. Immun.*, 2005, Vol. 19, no. 5, pp. 389-397.
14. Strohacker K., Breslin W.L., Carpenter K.C., McFarlin B.K. Aged mice have increased inflammatory monocyte concentration and altered expression of cell-surface functional receptors. *J. Biosci.*, 2012, Vol. 37, no. 1, pp. 55-62.

---

**Авторы:**

**Хасанова Е.М.** — ассистент кафедры иммунологии медико-биологического факультета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Греченко В.В.** — к.м.н., доцент кафедры иммунологии медико-биологического факультета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Громова Т.В.** — к.м.н., доцент кафедры иммунологии медико-биологического факультета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Authors:**

**Khasanova E.M.**, Assistant Professor, Department of Immunology, Faculty of Medicine and Biology, N. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

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

**Gromova T.V.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Immunology, Faculty of Medicine and Biology, N. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

**Сходова С.А.** — к.б.н., ведущий научный сотрудник  
лаборатории механизмов регуляции иммунитета  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт имени  
И.И. Мечникова», Москва, Россия

**Ганковская Л.В.** — д.м.н., профессор кафедры  
иммунологии медико-биологического факультета  
ФГАОУ ВО «Российский национальный  
исследовательский медицинский университет имени  
Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ,  
Москва, Россия

**Skhodova S.A.**, PhD (Biology), Leading Research Associate,  
Laboratory of Regulation Mechanisms of Immunity, I.  
Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow,  
Russian Federation

**Gankovskaya L.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor,  
Department of Immunology, Faculty of Medicine and Biology,  
N. Pirogov Russian National Research Medical University,  
Moscow, Russian Federation

---

Поступила 16.04.2024  
Отправлена на доработку 18.04.2024  
Принята к печати 23.04.2024

---

Received 16.04.2024  
Revision received 18.04.2024  
Accepted 23.04.2024

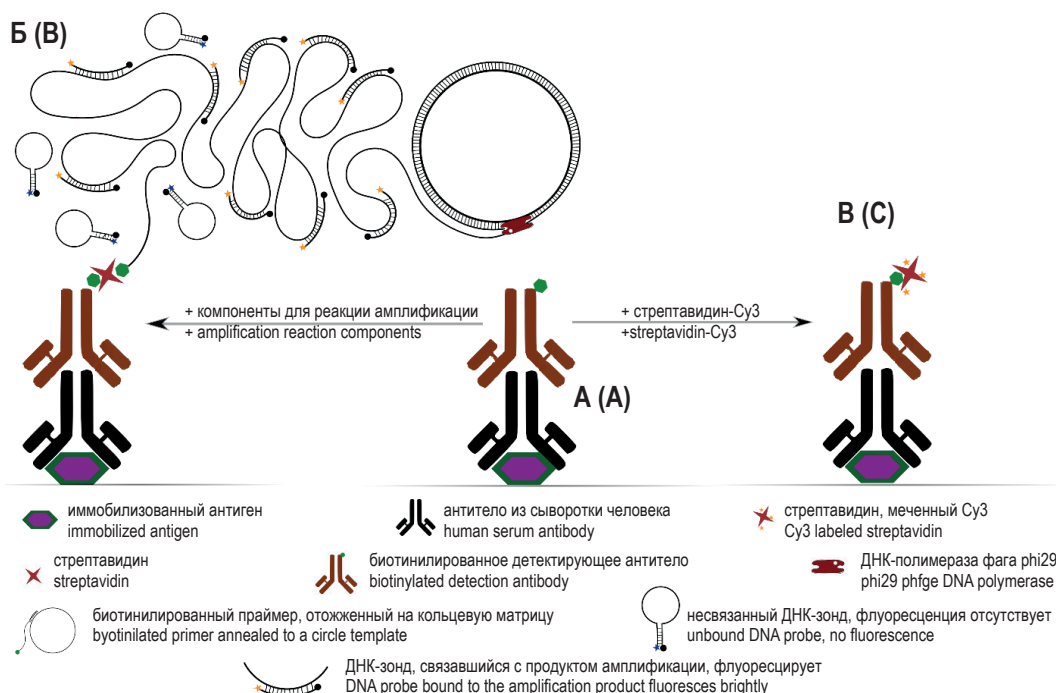


Абдиева С. ....	865	Катаргина Л.А. ....	787	Сагдуллаева С.А. ....	1091
Абдулина Н.О. ....	1001	Кириченко Т.В. ....	1057	Садовский И.С. ....	1041
Азизова З.Ш. ....	845	Киселева Д.Г. ....	1057	Садыкова Х.З. ....	859
Алексеева А.С. ....	825	Климов А.В. ....	913	Салимова Т.А. ....	819
Алешина Л.В. ....	1029	Климов В.В. ....	913	Самодова О.В. ....	1049
Алешин Д.В. ....	1029	Книжникова Е.В. ....	1001	Самойликов Р.В. ....	1049
Андреева И.И. ....	811, 1009	Козлов В.К. ....	801, 987, 1097	Сафиуллина Л.А. ....	995
Андреева Н.П. ....	1035	Козлов И.Г. ....	975	Сидоров А.Ю. ....	763
Андрюшин А.Е. ....	1085	Кологривова Е.Н. ....	929	Сизякина Л.П. ....	919, 1009
Анисимова Е.Н. ....	1041	Конищева А.Ю. ....	907	Слѣзкин М.И. ....	913
Антропова А.Б. ....	907	Костромина Р.А. ....	1041	Снигирев А.Я. ....	883
Архипов А.М. ....	831	Костюк С.В. ....	819	Стукова М.А. ....	1021
Ахапкина И.Г. ....	907	Кригер Е.А. ....	1049	Супрун Е.Н. ....	1097
Байдина Т.В. ....	769	Кубышкин А.В. ....	899	Супрун С.В. ....	1097
Балакирева Е.Е. ....	819	Куклина Е.М. ....	769	Сурсякова Н.В. ....	769
Балацкая Н.В. ....	787, 1085	Куликова И.Г. ....	1085	Суяркулова М.Э. ....	865
Барков С.Ю. ....	749	Кухарев Я.В. ....	913	Сходова С.А. ....	1107
Бахта А.А. ....	1071	Лабис В.В. ....	975	Тармаева Н.А. ....	775
Бедулева Л.В. ....	763	Лагарькова М.А. ....	787	Терентьев А.С. ....	763
Белецкая М.А. ....	877	Ларькова И.А. ....	775	Терентьева О.С. ....	883
Беликова А.В. ....	1029	Лиознов Д.А. ....	1021	Тешаев Ш.Ж. ....	953
Богатырева А.И. ....	1057	Литвинова Л.С. ....	877, 995	Тихонова Е.П. ....	1041
Бограя М.М. ....	877, 995	Логинова Е.А. ....	831	Тодосенко Н.М. ....	877
Болдышевская М.А. ....	929	Логинова О.А. ....	1077	Турдыева Д.О. ....	853
Борисов А.Г. ....	1041	Мазурина С.А. ....	907	Уразмамбетов Р.Т. ....	811, 919
Брешенков Д.Г. ....	887	Малашенко В.В. ....	877	Уракова М.А. ....	795
Бриллиантова А.Г. ....	787	Маркина Ю.В. ....	1057	Урюпин К.И. ....	899
Бронникова Е.П. ....	1041	Мартынов А.В. ....	819	Филатова К.Ю. ....	981
Брындина И.Г. ....	795	Матвеева Д.К. ....	887	Филиппова Ю.Ю. ....	825
Бузицкая Ж.В. ....	1021	Мелашенко О.Б. ....	877	Фомина К.В. ....	763
Бурмистрова А.Л. ....	825	Меньшиков И.В. ....	763	Хазиахматова О.Г. ....	877
Былин П.Г. ....	831	Минасова А.А. ....	967	Хамдамов Б.З. ....	853
Варакута Е.Ю. ....	1091	Михайлова Л.В. ....	995	Хасанова Е.М. ....	1107
Вековцев А.А. ....	831	Моисеев В.И. ....	757	Хованцева У.С. ....	887
Верхова С.С. ....	893	Мокроносова М.А. ....	907	Хрущёв К.А. ....	749
Вульф М.А. ....	995	Мочалов К.С. ....	757	Худякова М.И. ....	831
Вшивков В.А. ....	939, 947	Музафарова С.А. ....	839, 1065	Хусейнова К.Д. ....	913
Габриелян Н.Г. ....	781	Мусаходжаева Д.А. ....	859, 871	Чайка М.С. ....	1001
Газатова Н.Д. ....	877, 995	Мухортых В.А. ....	775	Чакал Д.А. ....	887
Галянт О.И. ....	1097	Наврузова Ш.И. ....	953, 959	Чарчян Э.Р. ....	887
Гамова И.В. ....	1029	Нарзуллоева Н.С. ....	871	Чеботов С.А. ....	811
Ганковская Л.В. ....	1107	Насибов Т.Ф. ....	929	Чегодаев Е.С. ....	893
Геренг Е.А. ....	929	Нероева Н.В. ....	787	Черевко Н.А. ....	831
Гирча А.Ю. ....	1029	Нероев В.В. ....	787	Чередниченко В.Р. ....	1057
Глебездина Н.С. ....	769	Никитина С.Г. ....	819	Черемисина О.В. ....	929
Головизнин М.В. ....	757	Никофоров Н.Г. ....	893	Чудакова Ю.М. ....	819
Горбунова О.Л. ....	1077	Никонов И.Н. ....	1071	Шайхуллин А.А. ....	795
Греченко В.В. ....	1107	Никушкина К.В. ....	967	Шарабакина К.А. ....	967
Громова Т.В. ....	1107	Новиков П.С. ....	831	Шараев Д.В. ....	795
Данилова Д.И. ....	1009	Нохрин Д.Ю. ....	967	Шахланская Е.В. ....	1021
Данченко И.Ю. ....	769	Орлова Е.Г. ....	1077	Шилов С.Ю. ....	749
Джаббарова Ю.К. ....	865	Паскудов Д.В. ....	995	Шилов Ю.И. ....	749
Евсеева Г.П. ....	1001, 1097	Пахмутова П.А. ....	795	Ширинский В.С. ....	981
Еремеева Е.А. ....	1085	Пашкина Н.В. ....	967	Ширинский И.В. ....	981
Ерофеева М.К. ....	1021	Перетятыко О.В. ....	1041	Ширшев С.В. ....	1077
Ешимбетова Г.З. ....	845	Петленко С.В. ....	801	Шкатова А.Н. ....	913
Желтикова Т.М. ....	907	Писарева М.М. ....	1021	Шкляева Н.П. ....	883
Жураева Д.М. ....	845	Пичугина С.В. ....	1001	Шмарина Г.В. ....	819
Забокрицкий Н.А. ....	1017	Плеханова Е.С. ....	795	Шмарин В.В. ....	819
Завриев С.К. ....	781	Плешко Р.И. ....	929	Шнар В.А. ....	995
Зайцева Н.С. ....	919	Поливанова Т.В. ....	939, 947	Шодиева М.С. ....	953
Иваненко Д.Б. ....	925	Полякова С.М. ....	781	Шперлинг М.И. ....	899
Игнатова И.А. ....	925	Попов М.А. ....	893	Штыр А.В. ....	1091
Исакина М.О. ....	975	Ревякина В.А. ....	775	Щепина И.В. ....	1049
Исанбаева Л.М. ....	871	Рустамова Н.Б. ....	853, 859	Щербик Н.В. ....	913
Камалов Т.М. ....	839	Рязанцев Д.Ю. ....	781	Эргашева М.У. ....	959
Капустин И.В. ....	795	Савочкина А.Ю. ....	967	Юлдашев У.К. ....	1065
Карпенко Л.Ю. ....	1071	Савченко А.А. ....	1041	Юрова К.А. ....	877

адаптация.....	812	коагуляционный гемостаз.....	796	ревматоидный артрит.....	1058
аллергический ринит.....	914, 926	комбатанты.....	920	регенерация слизистой оболочки	
аллергия.....	907, 920	комбинативно-комплементарная модель.....	758	полости рта.....	1091
амплификация катящимся кольцом.....	782	коморбидная патология.....	976	регуляторный ревматоидный фактор.....	764
анатоксины токсинемических инфекций		коморбидность.....	914	резистентность.....	1071
как вариант борьбы путем вакцинации		коронавирусная инфекция.....	1036	репарация.....	900
с летальными интоксикациями.....	988	коронарный атеросклероз.....	894	репродуктивный возраст.....	872
антигенез.....	846	корреляция.....	914	ретикулярный пигментный эпителий.....	788
аневризма.....	888	куры.....	1071	рецепторы.....	1107
антигены группы крови.....	782	латексные шары.....	888	рецепторы витамина D.....	995
антипрививочный скепсис.....	1030	лейкограмма.....	1071	сахарный диабет 2 типа.....	995
антиспермальные антитела.....	968	лейкоциты.....	825	селезенка.....	764
антитела.....	884	лекарственные средства иммунотерапии.....	802	семейная предрасположенность.....	940, 947
антитела к гликанам.....	782	лечение.....	926	сенная палочка.....	1017
антиоксидантная иммунотерапия.....	988	лимфоциты.....	1065	сердечно-сосудистые заболевания.....	888
антифосфолипидный синдром.....	796	липопротеины высокой плотности.....	884	синдром Жильбера.....	976
апоптоз.....	775	липопротеины низкой плотности.....	888	сируины.....	770
Архангельск.....	1049	локализованный рак гортани.....	930	системная красная волчанка.....	1058
астма.....	1036	люминолзависимая.....	750	системный склероз.....	1058
атеросклероз.....	884	макрофаги.....	878, 1058	слезная жидкость.....	1085
атопический дерматит.....	775	масса тела.....	839	совершенствование медицинского	
атопия.....	1036	медицинский персонал.....	1041	обеспечения.....	802
атрофия.....	788	мелатонин.....	770	современные актуальные подходы.....	988
аутоиммунные заболевания.....	884	менструальный цикл.....	839	спермограмма.....	968
аутоиммунные ревматические		метаболизм.....	1017	Спутник V.....	1049
заболевания.....	1058	метаболический синдром.....	878, 982	Спутник Лайт.....	1049
аутоиммунный фенотип.....	1010	микробиота.....	832	сравнительная иммунология.....	750
баланс цитокинов.....	860	микрочип.....	782	стандартная иммунологическая модель.....	758
беременность.....	1077	миома матки.....	872	старение.....	1107
беременные женщины.....	853	митохондрии.....	1002	степени тяжести.....	865
болезнь-ориентированный подход.....	982	мобильные технологии.....	1030	стресс.....	920
бронхиальная астма.....	1097	молекулы адгезии.....	1085	студенты.....	812
бурые водоросли.....	1071	молекулярная алергодиагностика.....	907	субпопуляции моноцитов.....	894
вакцина.....	1022, 1049	молекулярная алергодиагностика.....	907	сыроватка.....	839, 846, 853, 1065
вакцинация.....	1030, 1036	моллюски.....	750	теория функциональных систем.....	758
вакцинопрофилактика.....	1030	мононуклеары.....	820	тимус.....	1077
вакцины с гаптанами-аналогами		моноциты.....	878, 1058	тканевые нейтрофилы.....	930
низкомолекулярных психоактивных		моча.....	959	толерантность.....	788
соединений как путь специфической		нарушение.....	839	трансплантация.....	788
антитоксической иммунотерапии.....	988	нейтрофил.....	1002	фагоцитарная активность.....	888
витамин D.....	995	нейтрофилы крови.....	930	фагоцитоз.....	750, 1002, 1071
ВИЧ-инфекция.....	884	неконтролируемое течение.....	1097	факторы роста сосудов.....	846
внеклеточная ДНК.....	968	нереспирационные функции легких.....	796	фармакодинамика.....	982
водный баланс легких.....	796	общая вариабельная иммунная		физико-информационная модель.....	758
военнослужащие.....	920	недостаточность.....	1010	физиологическая беременность.....	853, 860
возрастная макулярная дегенерация.....	1085	объект химической опасности.....	802	финофибраты.....	1085
воспаление.....	1058, 750, 825, 832, 900, 1085	ожирение.....	995	фукоидан.....	1071
воспалительный ответ.....	1058, 894	оксид азота.....	796	хроническая бронхолегочная патология.....	1002
врожденный иммунитет.....	750, 1107	окситоцин.....	832	хронический гастрит.....	954
высокочувствительная детекция.....	782	олигоменорея.....	839	цитокины.....	788, 820, 832, 839, 846, 853, 872, 900, 940, 947, 959, 1058, 1085, 1097
Гам-КОВИД-Вак.....	1049	ОРВИ.....	1022	цитокины IL-1β.....	865
гастрит.....	940, 947	органический потенциал.....	758	цитомегаловирус.....	959
гепатолиты.....	1017	остеоартрит.....	982	экспрессия.....	820, 825, 1107
гепатопротекторы.....	1017	остеоартрит, ассоциированный		эозинофильный катионный белок.....	914
гиадроновая кислота.....	900	с метаболическим синдромом.....	982	эпитопы.....	764
гиперандрогения.....	1065	с острыми респираторными инфекциями.....	1041	эрозия.....	947
гиперсегментация ядер.....	930	очаг инфекции.....	1041	этиология.....	926
гистологическая характеристика.....	900	паналлергены.....	907	эффективность.....	1022
гладкомышечные клетки.....	888	парвальбумины.....	907	эффективность «Эпигенорм активир».....	982
гликоцит.....	782	пассивный перенос специфических		эффективность куркумина.....	982
гломерулонефрит.....	959	сывороток.....	988	ядерный фактор-каппа-B.....	825
гнояная рана.....	1091	пассивный перенос иммуноглобулинов.....	988	язвенная болезнь.....	940, 947
грипп.....	1022, 1036	специфических антител.....	988	язвенная болезнь желудка.....	954
гуморальный иммунитет.....	1049	патогенез.....	926	<i>Ampullaridae</i> .....	750
дегенерация сетчатки.....	788	патогенетическая структура иммунных		<i>Annexin 5</i> .....	775
дезоксирибонуклеаза I.....	968	расстройств.....	802	<i>Caenogastropoda</i> .....	750
дентальная имплантация.....	976	патология беременности.....	860	<i>Caspase 8</i> .....	775
дети.....	1002, 775, 820, 825, 940, 947, 959, 1097	персонал объекта химической опасности.....	802	<i>Caspase 9</i> .....	775
диагностика.....	1022, 926	перспективы борьбы		<i>CCL2</i> .....	894
дисбаланс.....	839, 846, 853, 1065	с наркозависимостью от опиатов.....	988	<i>CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup></i> .....	894
дисфункция иммунной системы.....	802	перспективы борьбы		<i>CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup></i> .....	894
долгожители.....	1107	с наркозависимостью от амфетаминов.....	988	<i>COVID-19</i> .....	1049
женщины.....	1065, 872	перспективы борьбы		<i>DAMPs</i> .....	968
зародышевые центры.....	764	с наркозависимостью от кокаина.....	988	<i>Fc-фрагменты IgG</i> .....	764
здоровье.....	839	перспективы борьбы		<i>gp120 ВИЧ-1</i> .....	884
золотистый стафилококк.....	1091	с наркозависимостью от никотина.....	988	<i>Helicobacter pylori</i> .....	947
иммунитет.....	839, 920, 954, 959, 1041	перспективы борьбы		<i>IFNα-2b</i> .....	1041
иммунная дисрегуляция.....	1010	с наркозависимостью		<i>IgE</i> .....	914
иммунная дисфункция.....	820	от наркозависимостью		<i>IgG</i> .....	1049
иммунная система.....	758	соединений.....	988	<i>IL-1β</i> .....	894
иммунный гомеостаз.....	812	плацентарная дисфункция.....	846	<i>IL-4</i> .....	914
иммунограмма.....	1097	пневмофиброз.....	1002	<i>IL-6</i> .....	865, 878
иммуно-РКК.....	782	подростки.....	1036, 954	<i>iNKT</i> .....	1077
иммунокомпрометированный пациент.....	976	полимерная мембрана.....	1091	<i>in vitro</i> .....	1077
иммунокорректирующий эффект.....	802	полимерное покрытие с антибиотиком.....	1091	<i>LPS</i> .....	894
иммунологическая дисрегуляция.....	832	полиморфизмы.....	995	<i>MCP-1</i> .....	878
иммунологическое бесплодие мужчин.....	968	полкальцины.....	907	<i>NF-κB1</i> .....	820
иммуносупрессия.....	788	предопухольевые заболевания гортани.....	930	<i>nsLTP</i> .....	907
иммуносупрессор FTY-720.....	796	преэклампсия.....	860	<i>pHrodoTM</i> .....	750
иммунотоксические соединения объекта.....	802	Приамурье.....	1097	<i>Pomacea sp.</i> .....	750
иммунотропная активность.....	1017	приверженность.....	1030	<i>RORγt</i> .....	770
иммуноферментный анализ.....	888	провоспалительная активация.....	888	<i>RORα</i> .....	770
иммуноэпидемиологическое		провоспалительные цитокины.....	860	<i>SARS-CoV-2</i> .....	1049
обследование.....	802	противовоспалительные цитокины.....	860	<i>sCD153</i> .....	775
индекс массы тела.....	878	профилактика.....	1022, 1041	<i>sFas-L</i> .....	775
индикатор.....	954	профилины.....	907	T-независимый антиген 2-го типа.....	764
интерлейкин.....	839	процесс сопряжения.....	758	T-регуляторные лимфоциты.....	920
интерлейкины.....	888, 1058	психологический стресс.....	812	T-хелперы.....	770
интима аорты человека.....	888	ПЦР.....	1022	<i>Th17</i> .....	770, 1077
инфекции.....	1030	рак желудка.....	940	<i>TLR</i> .....	1107
инфекционный фенотип.....	1010	распространенность.....	926	<i>TNFα</i> .....	865
истинная полицитемия.....	976	распространенный рак гортани.....	930	<i>Treg</i> .....	770, 1077
ишемическое повреждение.....	900	расстройства аутистического			
кислелитин.....	1077	спектра.....	820, 825, 832		
клеточный иммунитет.....	1017	рвота беременных.....	865		
клиническая эффективность.....	802				
клинические проявления.....	802				

**ИЛЛЮСТРАЦИИ К СТАТЬЕ «ИММУНО-РКК ДЛЯ ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ ДЕТЕКЦИИ КОМПЛЕКСА "АНТИГЕН-АНТИТЕЛО" НА МОДЕЛИ АНТИГЕНОВ ГРУППЫ КРОВИ» (АВТОРЫ: РЯЗАНЦЕВ Д.Ю., ГАБРИЕЛЯН Н.Г., ПОЛЯКОВА С.М., ЗАВРИЕВ С.К. [с. 781-786])**

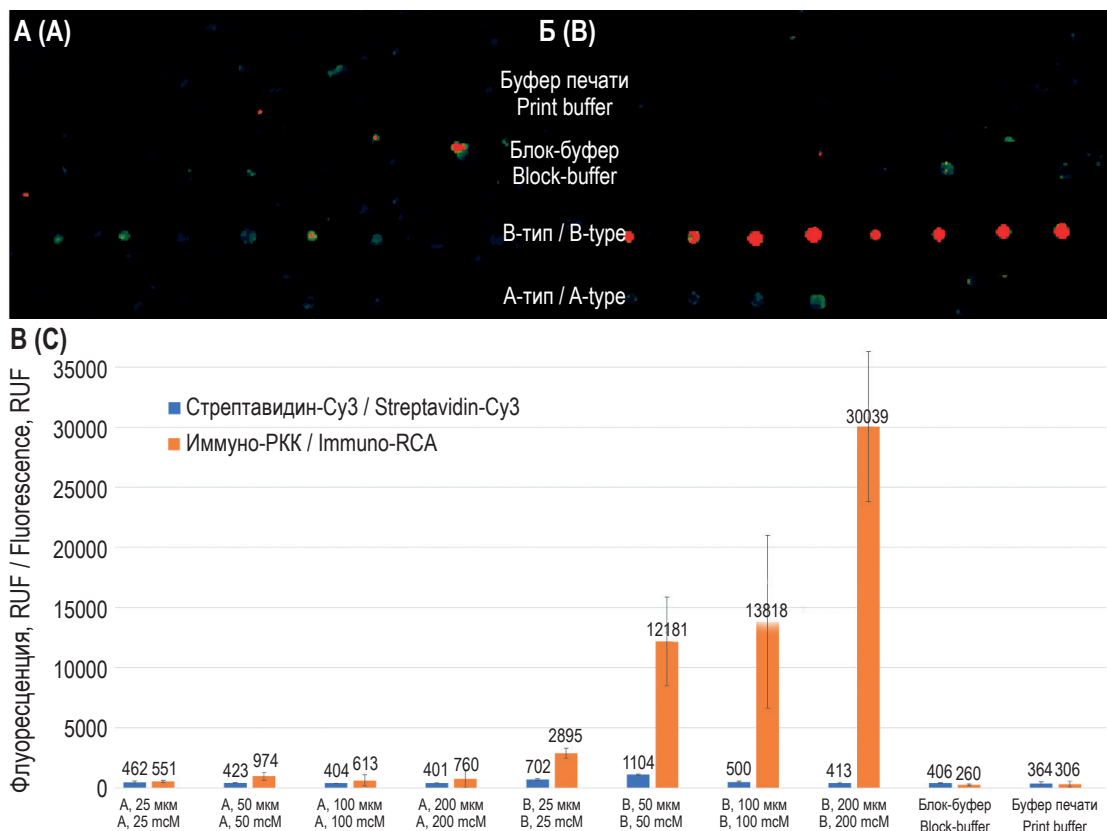
ILLUSTRATIONS FOR THE ARTICLE «IMMUNO-RCA FOR HIGHLY SENSITIVE DETECTION OF THE ANTIGEN-ANTIBODY COMPLEX IN THE BLOOD GROUP ANTIGEN MODEL» (AUTHORS: RYAZANTSEV D.YU., GABRIELIAN N.G., POLYAKOVA S.M., ZAVRIEV S.K. [pp. 781-786])



**Рисунок 1. Упрощенная (без стадии лигирования, используется уже готовая кольцевая матрица) схема иммуноанализа с использованием иммуно-РКК**

Примечание. А – иммобилизованный гликан, антитело из сыворотки и детектирующее биотинилированное антитело. Б – детекция с использованием иммуно-РКК. В – детекция с использованием флуоресцентно-меченного стрептавидина.

Figure 1. Simplified (without the ligation stage, a ready-made circle matrix is used) immunoassay scheme using immuno-RCA  
Note. A, immobilized glycan, serum antibody and biotinylated detection antibody. B, detection using immuno-RCA. C, detection using fluorescently labeled streptavidin.



**Рисунок 2. Результаты экспериментов на гликочипе**

Примечание. Детекция результата с использованием флуоресцентно-меченного стрептавидина (А) и с проведением иммуно-РКК (Б), полученная при одинаковых параметрах сканирования. Переход цвета «синий – зеленый – красный» соответствует повышению уровня флуоресценции. Интенсивность взаимодействия антител плазмы с гликанами, выявляемого разными методами (В).

Figure 2. Results of experiments on a glycoarray

Note. Detection of the result using fluorescently labeled streptavidin (A) and with immuno-RCA (B), obtained with the same scanning parameters. The color transition from blue to green to red corresponds to an increase in the level of fluorescence. The intensity of interaction of plasma antibodies with glycans, detected by different methods (C).

**ПОДПИСНОЙ ИНДЕКС:  
ПРЕССА РОССИИ – 15590**

ISSN 1028-7221



9 771234 567898