

Том 28, № 1. С. 1-164

2025

Официальный журнал
Российского Научного Общества Иммунологов

**РОССИЙСКИЙ
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ**



**RUSSIAN JOURNAL
OF IMMUNOLOGY**

Official Journal
of Russian Society of Immunology

Volume 28
Number 1

2025

ИЛЛЮСТРАЦИИ К СТАТЬЕ «ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ САХАРНЫЙ ДИАБЕТ ВТОРОГО ТИПА УВЕЛИЧИВАЕТ КОЛИЧЕСТВО ИНСУЛИН-ПОЗИТИВНЫХ КЛЕТОК В СЕЛЕЗЕНКЕ КРЫС» (АВТОРЫ: СОКОЛОВА К.В., ГЕТТЕ И.Ф., ТУКАНОВ Д.А., СТЕПАНЯН А.А., ДАНИЛОВА И.Г. [с. 7-12])

ILLUSTRATIONS FOR THE ARTICLE "EXPERIMENTAL TYPE 2 DIABETES INCREASES THE NUMBER OF INSULIN-POSITIVE CELLS IN RAT SPLEEN" (AUTHORS: SOKOLOVA K.V., GETTE I.F., TUKANOV D.A., STEPANYAN A.A., DANILOVA I.G. [pp. 7-12])

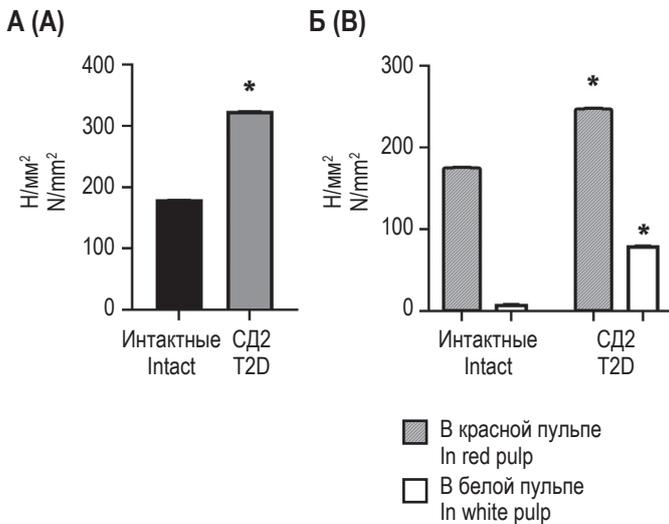
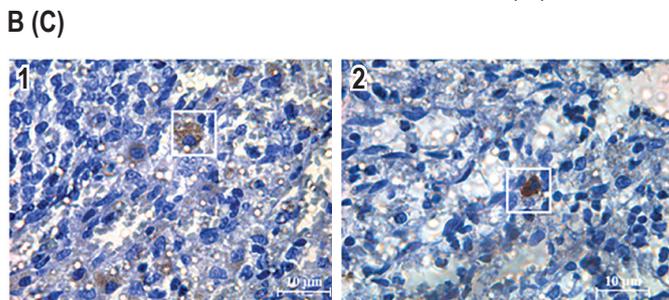


Рисунок 1. Увеличение количества инсулин-позитивных клеток (ИПК) в селезенке крыс с экспериментальным СД2
 Примечание. Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование ткани селезенки с использованием антител к проинсулину и инсулину демонстрирует увеличение количества ИПК в селезенке крыс с экспериментальным сахарным диабетом 2-го типа (СД2) (А). Б – количество ИПК в красной и белой пульпе селезенки. А и Б – данные представлены в виде среднего ± ошибка среднего. В – ИПК в селезенке intactных крыс (1) и крыс с экспериментальным СД2 (2), ИПК обведены рамками. * – достоверность различий показателей с показателями intactных животных, рассчитанная согласно непараметрическому U-критерию Манна–Уитни, различия считаются достоверными и статистически значимыми при $p < 0,05$; intactные – показатели в группе крыс без диабета, СД2 – показатели в группе крыс с экспериментальным СД2; Н/мм² – клеток на миллиметр квадратный среза ткани.

Figure 1. Increase in the number of insulin-positive cells (IPCs) in the spleen of rats with experimental T2D

Note. Immunohistochemical (IHC) examination of spleen tissue using antibodies to proinsulin and insulin demonstrates an increase in the number of IPCs in the spleen of rats with experimental type 2 diabetes mellitus (T2D) (A). B, the mass of IPCs in the red and white pulp of the spleen. A and B, data are presented as mean ± error of mean. C, IPCs in the spleen of intact rats (1) and rats with experimental T2D (2), IPCs are framed. *, significance of differences in indicators compared with the indicators of intact animals according to the non-parametric Mann–Whitney U test, the differences are considered reliable and statistically significant when $p < 0,05$; intact, indicators in the group of rats without diabetes; T2D, indicators in the group of rats with experimental T2DM; N/mm², cells per millimeter square tissue section.



ИЛЛЮСТРАЦИИ К СТАТЬЕ «ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ VEGF И TGF-β В СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ КАК ПРЕДИКТОР РЕАКЦИИ ОТТОРЖЕНИЯ ТРАНСПЛАНТАТА РОГОВИЦЫ» (АВТОРЫ: БЫСТРОВ А.М., КУЗНЕЦОВ А.А. [с. 103-108])

ILLUSTRATIONS FOR THE ARTICLE "DYNAMICS OF VEGF AND TGF-β INDICES IN LACRIMAL FLUID AS A PREDICTOR OF CORNEAL TRANSPLANT REJECTION" (AUTHORS: BYSTROV A.M., KUZNETZOV A.A. [pp. 103-108])

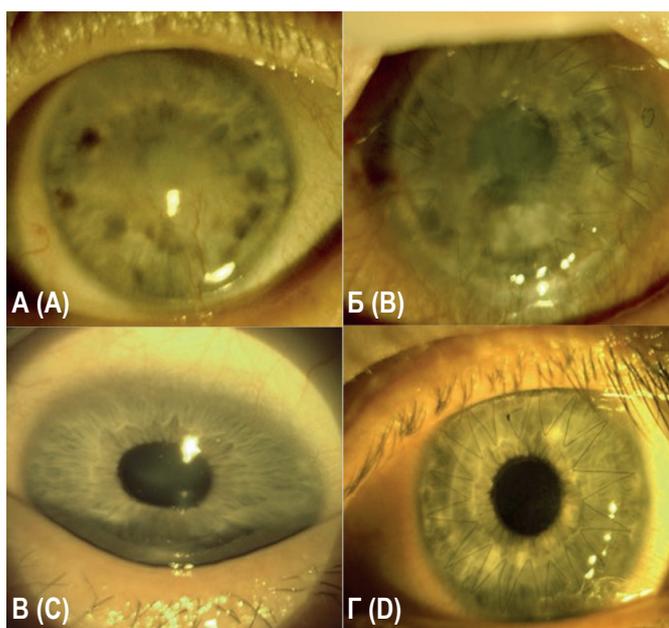


Рисунок 1. Фото переднего отрезка до и после пересадки роговицы

Примечание. А – пациент группы «высокого риска» до хирургического лечения: васкуляризированное рубцовое помутнение роговицы в исходе герпетического кератита; Б – пациент группы «высокого риска» через 6 месяцев после хирургического лечения: хроническая эндотелиально-стромальная реакция отторжения, активная неоваскуляризация; В – пациент группы «низкого риска» до хирургического лечения: кератоконус III-IV стадии, клиническое отсутствие считается признаком воспаления глаза и васкуляризации роговицы; Г – пациент группы «низкого риска» через 6 месяцев после хирургического лечения: прозрачный трансплантат без признаков реакции отторжения.

Figure 1. Photo of the anterior segment before and after corneal transplantation

Note. A, patient of group "high risk" before surgical treatment: vascularized scarring of the cornea in the outcome of herpetic keratitis; B, patient of group "high risk" 6 months after surgical treatment: chronic endothelial stromal rejection reaction, active neovascularization; C, patient of group "low risk" before surgical treatment: keratoconus of stage III-IV, clinical absence is a sign of inflammation of the eye and corneal vascularization; D, patient of group "low risk" 6 months after surgical treatment: transparent graft with no signs of rejection reaction.

РОССИЙСКОЕ НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО ИММУНОЛОГОВ
(РНОИ)

РОССИЙСКИЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

январь-март

2025, том 28

№. 1

Основан в 1996 году

Главный редактор

Черешнев Валерий Александрович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, научный руководитель Института иммунологии и физиологии, президент Российского Научного Общества Иммунологи, 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, Энн 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, Росси

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 биорганической химии имени академиков М.М. Шенякина 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 ФНКЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии, Москва, Россия

Руденский Александр – Медицинский Институт Говарда Хьюза, Чеве Чейз, США

Села Михаэль – 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

Ханитов 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 биорганической химии имени академиков М.М. Шенякина 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

Свищ 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 19.08.2024 г. Формат 60 x 90 1/8. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 20,5. Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.)

Заказ № 063

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 научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук», а также в базу Russian Science Citation Index (RSCI), полностью интегрированную с платформой Web of Science

RUSSIAN SOCIETY OF IMMUNOLOGY
(RSI)

**RUSSIAN
JOURNAL OF IMMUNOLOGY**

**ROSSIYSKIY
IMMUNOLOGICHESKIY
ZHURNAL**

January-March

2025, volume 28

No. 1

Published since 1996

Editor-in-chief

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

Deputy Editor-in-Chief

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

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

Editorial board

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

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

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

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

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

Alexander V. Karaulov – MD, PhD, Prof., Full Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Clinical Immunology and Allergy, 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. Khaïtov – MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director, State Scientific Center "Institute of Immunology", FMBA of Russia, Moscow, Russian Federation

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Editorial Council

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

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

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

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 Allergy №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 Allergy, Kuban State Medical Academy, Krasnodar, Russian Federation

Irina V. Nesterova – MD, PhD, Professor, Department of Allergy 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 Allergy 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 Allergy, Faculty of Postgraduate Professional Training of Physicians, Rostov State Medical University (Rostov-on-Don, Russia) Russian Federation

Valeriy S. Shirinskii – PhD, MD (Medicine), Professor, Chief, Laboratory of Clinical Pharmacology, Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

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

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

Anna P. Topygina – MD, PhD, Professor, Chief, Laboratory of Cytokines, Gabrichevsky Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

Aleksey V. Tutelyan – PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, Chief, Laboratory for Hospital Infections and Epidemiological Analysis, Central Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation

Irina A. Tuzankina – MD, PhD, Prof., General Secretary of the Russian Society of Immunologists and Ural Society of Immunologists, Allergists and Immunorehabilitologists, Chief Researcher, Laboratory of Inflammation Immunology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Head of the Regional Center for Clinical Immunology, Children Regional Hospital, Chief Immunologist of the Sverdlovsk Region and Ural Federal District, Yekaterinburg, Russian Federation

Alexander V. Zurochka – MD, PhD, Professor, Leading Researcher, Laboratory of Inflammation, Institute of Immunology and Physiology, Chelyabinsk Russian Federation

Managing Editors:

Anna Rizopulu, PhD (Biology) (Moscow)

Natalia Rakitianskaia, (St. Petersburg)

E-mail: rusimmun@gmail.com

Translation editor:

Dmitrii V. Isakov, PhD (Medicine) (St. Petersburg)

Online version editorial manager:

Vera S. Erofeeva (St. Petersburg)

Editorial Office: phone/fax (812) 233-08-58

Address for correspondence:

Editorial Office of the "Russian Journal of Immunology"

197101, St.Petersburg, post box 130

Electronic version: www.rusimmun.ru

© Russian Journal of Immunology

Journal registered with the Ministry of the Russian Federation for Press, Broadcasting and Mass Media (certificate of registration of mass media PI No. 77-11525 of January 4, 2002)

This material is distributed under the Creative Commons Attribution 4.0 License.

Chelovek Publishing House

199004, Russian Federation, St. Petersburg, Malyi ave., Vasilevsky Island, 26, office 3.

E-mail: mail@mirmed.ru

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

Passed for printing 19.08.2024. Print format 60 x 90 1/8. Offset printing.

Printed sheets 20.5. Circulation 2000 copies. (1st edition – 1000 copies.)

Print in LLC «ARTEMIDA»

199178, Russian Federation, St. Petersburg, 8 line of Vasilevsky Island, 83/1-A

Phone: (812) 950-10-99

According to the decision of the Higher Attestation Commission of the Ministry of Education of Russia, the Russian Journal of Immunology has been regularly included in the "List of periodical scientific and scientific-technical publications published in the Russian Federation, in which publication of the main results of dissertations for the degree of Doctor of Science is recommended" and included in Russian Science Citation Index (RSCI) database fully integrated with the Web of Science platform

СОДЕРЖАНИЕ

Краткие сообщения

Соколова К.В., Гетте И.Ф., Туканов Д.А., Степанян А.А., Данилова И.Г. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ САХАРНЫЙ ДИАБЕТ ВТОРОГО ТИПА УВЕЛИЧИВАЕТ КОЛИЧЕСТВО ИНСУЛИН-ПОЗИТИВНЫХ КЛЕТОК В СЕЛЕЗЕНКЕ КРЫС.....	7
Мухлынина Е.А., Созыкин К.О., Гетте И.Ф. ПЕРСПЕКТИВНОСТЬ НОВОЙ АЛИМЕНТАРНОЙ МОДЕЛИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА ДЛЯ ИММУНОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ У КРЫС.....	13
Барков С.Ю., Шилов Ю.И., Шилов С.Ю. ВЛИЯНИЕ ДЕГИДРОЭПИАНДРОСТЕРОНА НА КИСЛОРОДЗАВИСИМУЮ МИКРОБИЦИДНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ ПРИ ЗИМОЗАНОВОМ ПЕРИТОНИТЕ У СТАРЫХ КРЫС	19
Гаврилова Е.Д., Гойман Е.В., Держалова А.Ш., Стеценко Д.А., Буракова Е.А. ПЕРВИЧНЫЙ СКРИНИНГ ХИМИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ИММУНОСУПРЕССОРНЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ НА ЛИМФОЦИТАХ СЕЛЕЗЕНКИ В МОДЕЛИ <i>IN VITRO</i>	25
Усанина Д.И., Бочкова М.С., Тиманова В.П., Заморина С.А. ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ГРАФЕНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ЛИНИИ JURKAT	33
Забокрицкий Н.А. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИММУНОТРОПНЫХ СВОЙСТВ НОВОГО БИОСОЕДИНЕНИЯ	39
Торгунакова Е.А., Матвеева В.Г., Антонова Л.В. ПОЛУЧЕНИЕ КОЛОНИЕФОРМИРУЮЩИХ КЛЕТОК ИЗ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА И ОЦЕНКА ЧИСТОТЫ ПОПУЛЯЦИИ МЕТОДОМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ	43
Бердюгина О.В. ОСОБЕННОСТИ ЛЕГКОГО И СРЕДНЕТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ COVID-19 У НЕИММУНИЗИРОВАННЫХ ЛИЦ.....	49
Мосунов А.А. ИЗУЧЕНИЕ НАРУШЕНИЙ ФАГОЦИТАРНОЙ И БАКТЕРИЦИДНОЙ ФУНКЦИЙ НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С ПОСТКОВИДНЫМ СИНДРОМОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ПОРАЖЕНИЯ ЛЕГКИХ СОГЛАСНО ДАННЫМ КТ В ОСТРЫЙ ПЕРИОД КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ.....	57
Сабадаш Е.В., Журавлёва Ю.А., Скорняков С.Н., Гусев Е.Ю., Зотова Н.В., Ершова А.В., Яркиева А.А. ПОВЫШАЕТ ЛИ НОВАЯ КОРОНАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ РИСК РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКОГО СИСТЕМНОГО ГИПЕРВОСПАЛЕНИЯ И НИЗКОИНТЕНСИВНОГО СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ?	65
Чистякова Г.Н., Бычкова С.В., Ремизова И.И., Язубова Г.Х. КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ ОТ МАТЕРЕЙ, ПЕРЕНЕСШИХ COVID-19 ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ	73
Ли Ю.А., Дмитраченко М.Н., Маркелова Е.В., Костинов М.П., Королев И.Б., Ковальчук В.К., Ямилова О.Ю., Немцева И.Ю. ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОЙ ВАКЦИНАЦИИ ОТ ГРИППА И COVID-19: АСПЕКТЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ	83
Верховская М.Д. ОСОБЕННОСТИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ЛИЦ С ПОСТКОВИДНЫМ СИНДРОМОМ, С ОТЯГОЩЕННЫМ АЛЛЕРГОАНАМНЕЗОМ	91
Быстров А.М., Кузнецов А.А. ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ VEGF и TGF- β В СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ КАК ПРЕДИКТОР РЕАКЦИИ ОТТОРЖЕНИЯ ТРАНСПЛАНТАТА РОГОВИЦЫ	103
Пашнин С.Л., Давыдова Е.В., Альтман Д.Ш. СОДЕРЖАНИЕ НЕЙРОИММУНОВАСКУЛЯРНЫХ ФАКТОРОВ И СОСТОЯНИЕ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ БУЛЬБАРНОЙ КОНЪЮНКТИВЫ ПРИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ СТРЕССОВОМ РАССТРОЙСТВЕ У ВЕТЕРАНОВ СОВРЕМЕННЫХ БОЕВЫХ КОНФЛИКТОВ	109
Соломатина Л.В., Бочкарев П.Ю., Береснева Н.С., Зудова А.И., Гусев Е.Ю. ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ С ЭФФЕКТИВНЫМ КРОВОТОКОМ: ДИНАМИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ.....	117
Абубакирова Э.А., Сташкевич Д.С., Евдокимов А.В. МИСЕНС-МУТАЦИЯ 1234С>Т ГЕНА TOLL-ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА 3 ПРИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОМ ЯЗВЕННОМ КОЛИТЕ	123
Плехова Н.Г., Кабалык М.А., Просекова Е.В., Шуматов В.Б. ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЦИТОКИНЫ, ХЕМОКИН CXCL17 И БЕЛКИ ТЕПЛООВОГО ШОКА ПРИ ОСТЕОАРТРИТЕ КОЛЕННОГО СУСТАВА	129
Курбатова О.В., Петричук С.В., Купцова Д.Г., Радыгина Т.В., Козлова Д.И., Хижа В.В., Мовсисян Г.Б., Парахина Д.В., Комарова А.Д., Семкина Е.Л., Потапов А.С., Фисенко А.П. УРОВЕНЬ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ЦИТОКИНОВ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПЕЧЕНИ ПРИ РАЗНЫХ СТАДИЯХ ФИБРОЗА.....	135
Бурцев Д.В., Данилова Д.И., Павлова Д.С. ИНФОРМАТИВНОСТЬ ТЕСТА АКТИВАЦИИ БАЗОФИЛОВ В ДИАГНОСТИКЕ ПАТОЛОГИИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА У ДЕТЕЙ	145
Коркмазов А.М., Попадюк В.И., Гизингер О.А., Корнова Н.В. ОЦЕНКА УРОВНЯ СЕКРЕТОРНОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА А ПРИ РЕСПИРАТОРНОЙ АЛЛЕРГИИ	151
Ленгина М.А., Коркмазов М.Ю., Карпов И.А., Учайев Д.А., Мочалов Ю.А., Воеводина П.А., Трикула О.В. О НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫХ ЯВЛЕНИЯХ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ ПОЛИПОЗНОГО РИНОСИНСИТА	157
Авторский указатель.....	163
Предметный указатель.....	164

CONTENTS

Short communications

<i>Sokolova K.V., Gette I.F., Tukanov D.A., Stepanyan A.A., Danilova I.G.</i> EXPERIMENTAL TYPE 2 DIABETES INCREASES THE NUMBER OF INSULIN-POSITIVE CELLS IN RAT SPLEEN	7
<i>Mukhlynina E.A., Sozykin K.O., Gette I.F.</i> SUITABILITY OF A NEW DIET-INDUCED MODEL OF METABOLIC SYNDROME FOR IMMUNOPHYSIOLOGICAL STUDIES IN RATS	13
<i>Barkov S.Yu., Shilov Yu.I., Shilov S.Yu.</i> THE EFFECT OF DEHYDROEPIANDROSTERONE ON OXYGEN-DEPENDENT MICROBICIDAL ACTIVITY OF BLOOD LEUKOCYTES IN ZYMOSAN PERITONITIS IN OLD RATS	19
<i>Gavrilova E.D., Goiman E.V., Derzalova A.Sh., Stetsenko D.A., Burakova E.A.</i> PRIMARY SCREENING OF CHEMICALLY MODIFIED IMMUNOSUPPRESSIVE OLIGONUCLEOTIDES USING <i>IN VITRO</i> MODEL WITH SPLEEN LYMPHOCYTES	25
<i>Usanina D.I., Bochkova M.S., Timganova V.P., Zamorina S.A.</i> INFLUENCE OF GRAPHENE OXIDE NANOPARTICLES ON FUNCTIONAL ACTIVITY OF JURKAT CELL LINE	33
<i>Zabokritskiy N.A.</i> EXPERIMENTAL ASSESSMENT OF THE IMMUNOTROPIC PROPERTIES OF THE NEW BIOCOMPLUND	39
<i>Torgunakova E.A., Matveeva V.G., Antonova L.V.</i> ISOLATION OF COLONY-FORMING CELLS FROM HUMAN BLOOD AND EVALUATION OF POPULATION PURITY BY FLOW CYTOMETRY	43
<i>Berdiugina O.V.</i> FACTORS OF MILD AND MODERATE COURSE OF COVID-19 IN NON-IMMUNIZED PERSONS	49
<i>Mosunov A.A.</i> STUDIES OF ALTERED PHAGOCYTIC AND BACTERICIDAL FUNCTION OF NEUTROPHILS IN PATIENTS WITH POST-COVID SYNDROME, DEPENDING ON THE DEGREE OF LUNG DAMAGE DETECTED BY COMPUTER TOMOGRAPHY IN ACUTE PERIOD OF CORONAVIRUS INFECTION	57
<i>Sabadash E.V., Zhuravleva Yu.A., Skornyakov S.N., Gusev E.Yu., Zotova N.V., Ershova A.V., Yarkieva A.A.</i> DOES NOVEL CORONAVIRUS INFECTION INCREASE THE RISK OF CHRONIC SYSTEMIC HYPERINFLAMMATION AND LOWGRADE SYSTEMIC INFLAMMATION IN PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS?	65
<i>Chistyakova G.N., Bychkova S.V., Remizova I.I., Yagubova G.Kh.</i> CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF FULL-TERM NEWBORNS FROM MOTHERS WITH COVID-19 DURING PREGNANCY	73
<i>Li Yu.A., Dmitrachenko M.N., Markelova E.V., Kostinov M.P., Korolev I.B., Kovalchuk V.K., Yamilova O.Yu., Nemtseva I.Yu.</i> SEQUENTIAL VACCINATION AGAINST INFLUENZA AND COVID-19, AND INNATE IMMUNITY INDEXES: EFFICIENCY ASPECTS	83
<i>Verkhovskaya M.D.</i> FEATURES OF HUMORAL IMMUNITY IN PERSONS WITH POST-COVID SYNDROME BURDENED BY HISTORY OF ALLERGY	91
<i>Bystrov A.M., Kuznetsov A.A.</i> DYNAMICS OF VEGF AND TGF- β INDICES IN LACRIMAL FLUID AS A PREDICTOR OF CORNEAL TRANSPLANT REJECTION	103
<i>Pashnin S.L., Davydova E.V., Altman D.Sh.</i> CONTENTS OF NEUROIMMUNOVASCULAR FACTORS AND THE STATE OF MICROCIRCULATION OF BULBAR CONJUNCTIVA IN POST-TRAUMATIC STRESS DISORDER IN VETERANS OF MODERN COMBAT CONFLICTS	109
<i>Solomatina L.V., Bochkarev P.Yu., Beresneva N.S., Zudova A.I., Gusev E.Yu.</i> INDEXES OF SYSTEMIC INFLAMMATION IN HEMORRHAGIC STROKE WITH EFFECTIVE BLOOD FLOW: A DYNAMIC OBSERVATION	117
<i>Abubakirova E.A., Stashkevich D.S., Evdokimov A.V.</i> MISSENSE MUTATION 1234C>T OF TOLL-LIKE RECEPTOR 3 GENE IN ULCERATIVE COLITIS	123
<i>Plekhova N.G., Kabalyk M.A., Prosekova E.V., Shumatov V.B.</i> PROINFLAMMATORY CYTOKINES, CHEMOKINE CXCL17 AND HEAT SHOCK PROTEINS IN OSTEOARTHRITIS OF THE KNEE JOINT	129
<i>Kurbatova O.V., Petrichuk S.V., Kuptsova D.G., Radygina T.V., Kozlova D.I., Khizha V.V., Movsisyan G.B., Parakhina D.V., Komarova A.D., Semikina E.L., Potapov A.S., Fisenko A.P.</i> LEVEL OF CIRCULATING CYTOKINES IN CHILDREN WITH CHRONIC LIVER DISEASES AT DIFFERENT STAGES OF FIBROSIS	135
<i>Burtsev D.V., Danilova D.I., Pavlova D.S.</i> INFORMATIVE VALUE OF BASOPHIL ACTIVATION TEST IN THE DIAGNOSIS OF PEDIATRIC GASTROINTESTINAL DISORDERS	145
<i>Korkmazov A.M., Popadyuk V.I., Giesinger O.A., Kornova N.V.</i> EVALUATION OF SECRETORY IMMUNOGLOBULIN A LEVELS IN RESPIRATORY ALLERGY	151
<i>Lengina M.A., Korkmazov M.Yu., Karpov I.A., Uchaev D.A., Mochalov Yu.A., Voevodina P.A., Trikola O.V.</i> ABOUT ADVERSE EVENTS OF TARGETED THERAPY FOR POLYPOUS RHINOSINUSITIS	157
Author index	163
Subject index	164

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ САХАРНЫЙ ДИАБЕТ ВТОРОГО ТИПА УВЕЛИЧИВАЕТ КОЛИЧЕСТВО ИНСУЛИН-ПОЗИТИВНЫХ КЛЕТОК В СЕЛЕЗЕНКЕ КРЫС

**Соколова К.В.^{1,2}, Гетте И.Ф.^{1,2}, Туканов Д.А.^{1,2}, Степанян А.А.¹,
Данилова И.Г.^{1,2}**

¹ ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»,
г. Екатеринбург, Россия

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

Резюме. Сахарный диабет 2-го типа (СД2) является широко распространенным хроническим метаболическим заболеванием, являющимся одной из основных причин смертей и инвалидизации людей по всему миру. Важную роль в патогенезе СД2 играют нарушения со стороны иммунной системы. Органы иммунопоеза при СД2 испытывают повышенную нагрузку как вследствие изменения иммунометаболических регуляторных механизмов, так и вследствие нарушения тканевого гомеостаза, вызванного оксидативным стрессом и хроническим воспалением, что обуславливает интерес к возможностям адаптации органов иммунопоеза при диабете. Несомненный интерес представляет эктопическая экспрессия инсулина, выражающаяся в обнаружении инсулин-содержащих клеток в разных органах, в том числе в селезенке, при гипергликемических состояниях разного генеза. Целью работы было оценить количество инсулин-позитивных клеток (ИПК) в селезенке у крыс с экспериментальным СД2. Диабет второго типа индуцировали у половозрелых самцов крыс Wistar путем внутрибрюшинного введения никотинамида в дозе 110 мг/кг с последующим (через 15 минут) введением стрептозотоцина в дозе 65 мг/кг массы тела. Через 30 суток у животных была взята кровь на анализ и извлечена селезенка. Оценивали уровень гликемии, содержание инсулина, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) в крови и показатели оксидативного стресса в селезенке. Биохимическое исследование выявило увеличение активности АЛТ в крови, увеличение содержания малонового диальдегида (МДА) и уменьшение количества восстановленного глутатиона (GSH) в ткани селезенки у крыс с экспериментальным СД2, активность супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы в селезенке не изменилась. Увеличение количества МДА при неизменной активности антиоксидантных ферментов и снижении содержания GSH свидетельствует о развитии оксидативного стресса в органе. Микроскопирование ткани селезенки, исследованной иммуногистохимически (ИГХ) с использованием антител к проинсули-

Адрес для переписки:

Соколова Ксения Викторовна
ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии»
Уральского отделения Российской академии наук
620049, Россия, г. Екатеринбург,
ул. Первомайская, 106.
Тел.: 8 (906) 800-72-58.
E-mail: xenia.sokolova@gmail.com

Address for correspondence:

Ksenia V. Sokolova
Institute of Immunology and Physiology,
Ural Branch, Russian Academy of Sciences
106 Pervomayskaya St
Yekaterinburg
620049 Russian Federation
Phone: + 7 (906) 800-72-58.
E-mail: xenia.sokolova@gmail.com

Образец цитирования:

К.В. Соколова, И.Ф. Гетте, Д.А. Туканов,
А.А. Степанян, И.Г. Данилова «Экспериментальный
сахарный диабет второго типа увеличивает
количество инсулин-позитивных клеток в селезенке
крыс» // Российский иммунологический журнал, 2025.
Т. 28, № 1. С. 7-12.
doi: 10.46235/1028-7221-16988-ETD

© Соколова К.В. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

K.V. Sokolova, I.F. Gette, D.A. Tukanov, A.A. Stepanyan,
I.G. Danilova "Experimental type 2 diabetes increases
the number of insulin-positive cells in rat spleen", Russian
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 1, pp. 7-12.
doi: 10.46235/1028-7221-16988-ETD

© Sokolova K.V. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.46235/1028-7221-16988-ETD

ну и инсулину, показало увеличение количества инсулин-позитивных клеток (ИПК) в ткани селезенки крыс с экспериментальным СД2 по сравнению с животными без диабета. Исследование оптической плотности цитоплазмы ИПК выявило ее увеличение у крыс с экспериментальным СД2, что свидетельствует о росте функциональной активности ИПК. Увеличение количества и функциональной активности ИПК в селезенке в модели СД2 может свидетельствовать об адаптационной роли внепанкреатической экспрессии инсулина на фоне усиления окислительного стресса и цитолиза, в том числе в органах иммунопоэза.

Ключевые слова: экспериментальный диабет, сахарный диабет второго типа, внепанкреатические инсулин-продуцирующие клетки, окислительный стресс, органы иммунопоэза, селезенка

EXPERIMENTAL TYPE 2 DIABETES INCREASES THE NUMBER OF INSULIN-POSITIVE CELLS IN RAT SPLEEN

Sokolova K.V.^{a,b}, Gette I.F.^{a,b}, Tukanov D.A.^{a,b}, Stepanyan A.A.^a,
Danilova I.G.^{a,b}

^a Ural Federal B. Yeltsin University, Yekaterinburg, Russian Federation

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

Abstract. Type 2 diabetes (T2D) is a chronic metabolic disease, being one of the leading causes of death and disability worldwide. Immune system disorders play an important role in the T2D pathogenesis, and immune system is exposed to increased stress resulting both of changes in immunometabolic regulation and disruption of tissue homeostasis caused by oxidative stress and chronic inflammation. Opportunities for adaptation of immune organs in T2D are of interest, especially, potential ectopic expression of insulin. Under hyperglycemic conditions, insulin-containing cells were detected in various organs, including the spleen. The aim of the present work was to estimate the number of insulin-positive cells (IPCs) in the spleen of rats with experimental T2D. The disorder was induced in mature male Wistar rats by intraperitoneal administration of 110 mg/kg nicotinamide followed by 65 mg/kg streptozotocin. 30 days later, blood samples and spleens were obtained. The level of glycemia, insulin contents, activity of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) in blood were assessed as well as markers of oxidative stress in the spleen. Biochemical studies revealed an increase in ALT activity in blood, along with increase in malondialdehyde (MDA) levels and decreased levels of reduced glutathione (GSH) in the spleen tissue of rats with experimental T2D. Meanwhile the activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase in the spleen did not change. An increase in MDA level associated with unchanged activity of antioxidant enzymes and decreased GSH content suggests the development of oxidative stress in the tissue. Microscopy of spleen tissues was examined by immunohistochemistry using antibodies to proinsulin and insulin, showing an increased number of insulin-positive cells (IPCs) in the spleen tissue of rats with experimental T2D compared with diabetes-free animals. Optical density of the IPC cytoplasm was found to be increased in diabetic rats, thus suggesting increased functional activity of IPCs. Increase of numbers and functional activities of IPCs in the spleen in experimental model of T2D may indicate an adaptive role of extra-pancreatic insulin expression under the conditions of oxidative stress and cytolysis, including those in immunopoietic organs.

Keywords: type 2 diabetes mellitus, experimental, extrapancreatic insulin-producing cells, oxidative stress, immunopoietic organs, spleen

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-25-20147 (<https://rscf.ru/project/24-25-20147>) и Правительства Свердловской области.

Введение

Сахарный диабет (СД) является одной из основных причин смертности и инвалидизации

во всем мире, при этом количество больных неуклонно растет, составляя на настоящий момент около 500 млн человек, большая часть которых страдает диабетом второго типа (СД2) [7]. Метаболические нарушения, лежащие в основе патогенеза СД2, развиваются в тесной взаимосвязи с нарушениями иммунной системы [5, 13] и окислительным стрессом [13]. Дисбаланс между выработкой активных форм кислорода (АФК) и

активностью системы антиоксидантной защиты влияет на сигнальные пути и в конечном счете нарушает гомеостаз в тканях и их функцию [13]. Окислительное повреждение селезенки усиливает деструктивные процессы в ней, что в свою очередь приводит к снижению скорости образования иммунокомпетентных клеток и нарастанию дисфункции иммунной системы. В связи с этим особый интерес представляют механизмы тканевой адаптации, одним из которых предположительно может являться образование инсулин-продуцирующих клеток. Исследования внепанкреатической экспрессии инсулина за несколько десятилетий прошли путь от констатации факта присутствия инсулин-позитивных клеток (ИПК) в разных органах [11] до активного поиска новых потенциальных клеточных источников внепанкреатического инсулина [7] и признания его важности в регуляции ряда процессов [3, 11, 15]. Несмотря на интерес исследователей, роль внепанкреатических ИПК в развитии СД2 и его осложнений, в частности в органах иммуноопоза, остается неясной.

Целью работы было оценить количество ИПК в селезенке у крыс с экспериментальным СД2.

Материалы и методы

Исследование проведено на 20 белых крысах-самцах линии Wistar возрастом 12-13 недель и средней массой 280 ± 7 грамм, которые содержались в условиях вивария, получали гранулированный корм для лабораторных животных DeltaFeeds (АО «БиоПро», Россия) и имели неограниченный доступ к чистой питьевой воде. Все манипуляции с лабораторными животными проводились в соответствии с рекомендациями международных этических комитетов и Директивой Совета ЕС 2010/63/EU, на работу было получено разрешение этического комитета ИИФ УрО РАН № 10/23 от 09.10.2023. Для моделирования СД2 крысам внутрибрюшинно вводили раствор никотинамида (MilliporeSigma, США) в воде для инъекций (из расчета 110 мг/кг), а через 15 минут – раствор стрептозотоцина (MilliporeSigma, США) в цитратном буфере pH 4,5 в дозе 65 мг/кг (данная модель является модификацией модели, предложенной Masiello P. и соавт. [12]). В качестве контроля использовали интактных животных аналогичного возраста. Через 30 суток после введения диabetогена у животных брали кровь из хвостовой вены натошак, после чего выводили из эксперимента декапитацией при ингаляционной анестезии изофлураном с предварительным внутримышечным введением ксилазина (Alfasan, Woerden, Нидерланды) в дозе 0,1 мг/кг и золетила-100 в дозе 5 мг/кг (Virbac, Carros, Франция).

После проведения лапаротомии у крыс извлекали селезенку.

В плазме крови биохимически с использованием наборов реактивов фирмы АО «Витал Диагностикс» (Санкт-Петербург, Россия) определяли концентрацию глюкозы (глюкозооксидазным методом), аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ), методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием набора Rat Insulin ELISA kit (Thermo Fisher Scientific, США) – содержание инсулина. Относительное содержание гликированного гемоглобина (HbA1c) в цельной крови определяли методом аффинной гель-хроматографии с использованием набора реактивов ГЛИКОГЕМОТЕСТ (ООО «ЭЛТА», Москва, Россия). Значения индекса НОМА-IR рассчитывали по стандартной формуле.

Часть ткани селезенки фиксировали в 10%-ном нейтральном забуференном формалине в течение 24 часов, после чего подвергали процедуре стандартной гистологической проводки с последующей заливкой в парафин и исследованию иммуногистохимически с использованием антител к проинсулину и инсулину (Anti-Insulin/Proinsulin, клон INS04+INS05, Invitrogen, США). Инсулин-позитивные клетки (ИПК) выявлялись при помощи светового микроскопа Leica TM 2500 (Leica Microsystems, Германия) по коричневому гранулярному окрашиванию цитоплазмы и подсчитывались с использованием программного обеспечения Leica Application Suite (Leica Microsystems, Германия). Функциональная активность ИПК оценивалась по оптической плотности цитоплазмы в инсулин-позитивной области с помощью программного обеспечения «ВидеоТест-Морфология» (Санкт-Петербург, Россия).

Для оценки состояния системы ПОЛ-АОЗ в гомогенатах селезенки определяли активность ферментов каталазы (КФ 1.11.1.6.) и супероксиддисмутазы (СОД) (КФ 1.15.1.1.), количество восстановленного глутатиона (GSH), а также содержание малонового диальдегида (МДА). Для этого ткань селезенки гомогенизировали в 0,1М фосфатно-солевом буфере pH 7,4 (соотношение ткани и буфера 1:100), после чего замораживали на длительное хранение при температуре -70°C . Перед исследованием состояния системы СРО-АОЗ замороженные гомогенаты размораживали, затем центрифугировали при 1000 g в течение 10 мин. Далее часть надосадка отбирали и разводили в физрастворе в соотношении 1 к 10. Использовали методы определения показателей ПОЛ-АОЗ, описанные в [1]. При выполнении биохимических методов анализа оптическую плотность измеряли на спектрофотометре DU-800 (Beckman Coulter, США). При проведении

работ было использовано оборудование ЦКП ИИФ УрО РАН. Статистический анализ данных проводили с помощью программы OriginPro9.0 (OriginLab Corporation, США). Значимость различий между группами оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни, критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

У крыс с экспериментальным СД2 наблюдалась умеренная гипергликемия, устойчивый характер которой подтверждался ростом концентрации в крови HbA1c, и увеличение значения индекса НОМА-IR (табл. 1), который отражает развитие инсулинрезистентности. Рост содержания в крови неспецифического маркера цитолиза АЛТ может свидетельствовать о повреждении органов у диабетических крыс (табл. 1).

Окислительный стресс и воспаление являются основными факторами повреждения селезенки при развитии СД2. Накопление в ткани селезенки крыс с экспериментальным СД2 МДА на фоне отсутствия усиления активности каталазы и СОД и снижение количества GSH (табл. 2) свидетельствует о том, что система АОЗ не справляется с продуктами перекисного окисления, вследствие чего в ткани селезенки развивается окислительный стресс.

У интактных крыс без диабета в селезенке является небольшое количество ИПК, причем большая их часть локализована в красной пульпе (рис. 1, см. 2-ю стр. обложки). У животных с экспериментальным СД2 количество ИПК в селезенке возрастает, при этом основное количество ИПК также локализовано в красной пульпе. Оценка оптической плотности цитоплазмы ИПК показывает усиление функциональной активности селезеночных ИПК при экспериментальном СД2.

Увеличение количества ИПК в селезенке при экспериментальном СД2 согласуется с описанной в литературе способностью стволовых клеток селезенки дифференцироваться в продуцирующие инсулин β -клетки и корректировать гипергликемию в модели недостаточности инсулина, вызванной аллоксаном [2]. Интересно, что имплантированные грызунам с моделью диабета инсулин-продуцирующие клетки, полученные из эмбриональных стволовых клеток, мигрировали в селезенку, распределялись по ней и продуцировали инсулин, нормализуя гипергликемию [14].

Закономерно предположить, что регуляция образования и функционирования инсулин-продуцирующих клеток в органах иммунопоза, к которым относится и селезенка, опосредуется со стороны как иммунной, так и эндокринной систем. Неизвестны задачи, решаемые организмом за счет внепанкреатической экспрессии инсулина, в частности образованием ИПК в селезенке. С одной стороны, экспериментальные

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ, $M \pm m$

TABLE 1. BLOOD CHARACTERISTICS OF EXPERIMENTAL ANIMALS, $M \pm m$

Параметр Parameter	Группа животных / Group of animals	
	Контрольная Control n = 10	Экспериментальный СД2 Experimental T2D n = 10
Содержание глюкозы в плазме крови, ммоль/л Plasma glucose level, mmol/L	6,22±0,17	12,73±1,12*
НbA1c, % HbA1c, %	4,33±0,28	7,36±0,40*
Инсулин, мЕд/мл Insulin, μ IU/mL	21,03±1,12	15,91±0,72
Индекс НОМА-IR Index HOMA-IR	5,81±0,27	9,00±0,48*
АСТ, мкмоль/мин × л AST, mkmol/min × L	16,46±0,96	18,02±0,81
АЛТ, мкмоль/мин × л ALT, mkmol/min × L	12,93±0,88	22,21±1,32

Примечание. * – достоверность различий показателей с показателями интактных животных, рассчитанная согласно непараметрическому U-критерию Манна–Уитни, различия считаются достоверными и статистически значимыми при $p < 0,05$.

Note. *, significance of differences in indicators compared with the indicators of intact animals according to the non-parametric Mann–Whitney U test, the differences are considered reliable and statistically significant when $p < 0.05$.

ТАБЛИЦА 2. ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ (ПОЛ) И АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ (АОЗ) В СЕЛЕЗЕНКЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ, М±m

TABLE 2. INDICATORS OF LIPID PEROXIDATION (LPO) AND ACTIVITY OF THE ANTIOXIDANT DEFENSE SYSTEM (AOD) IN THE SPLEEN OF EXPERIMENTAL ANIMALS, M±m

Параметр Parameter	Группа животных / Group of animals	
	Контрольная Control n = 10	Экспериментальный СД2 Experimental T2D n = 10
МДА, нмоль/г MDA, nmol/g	33,53±1,70	52,91±5,84*
СОД, ед/мин × г SOD, U/min × g	8,89±1,50	7,79±2,01
Каталаза, мкмоль/мин × г Catalase, mmol/min × g	4,14±0,41	4,01±0,51
Глутатион восстановленный, мкмоль/г GSH, mmol/g	3,50±0,80	0,59±0,15*

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

данные свидетельствуют о том, что стволовые клетки селезенки выступают в качестве предшественников β -клеток [9] и позволяют предположить участие селезеночных ИПК в нормализации гликемии [2], но, с другой стороны, нельзя отбрасывать и возможную анаболическую роль внепанкреатического инсулина в тканях, подвергающихся негативному воздействию окислительного стресса. Известно, что изменение экспрессии генов является одним из путей адаптации организмов к изменению условий [6]. Мы пред-

полагаем, что окислительный стресс, сопровождающий гипергликемию и инсулинрезистентность, может вызвать усиление образования и функциональной активности ИПК в селезенке.

Заключение

Экспериментальный СД2 вызывает увеличение количества и функциональной активности ИПК в селезенке. Увеличение количества ИПК в селезенке наблюдается на фоне интенсификации окислительных процессов в органе.

Список литературы / References

1. Емельянов В.В., Гетте И.Ф., Данилова И.Г., Сидорова Л.П., Цейтлер Т.А., Мухлынина Е.А. Влияние соединения класса 1,3,4-тиадиазинов на выраженность окислительного стресса при экспериментальном сахарном диабете 2 типа // Химико-фармацевтический журнал, 2023. Т.57, № 3. С. 20-24. [Emelianov V.V., Gette I.F., Danilova I.G., Sidorova L.P., Tseitler T.A., Mukhlynina E.A. Impact of a compound of the 1,3,4-thiadiazine class on the oxidative stress intensity in experimental type 2 diabetes mellitus. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Chemical-Pharmaceutical Journal*, 2023, Vol. 57, no. 3. pp. 20-24. (In Russ.)]
2. Тимербулатов В.М., Фаязов Р.Р., Тимербулатов Ш.В., Сибиряк С.В., Саяпов М.М., Саубанов М.Н., Кулусhev А.С. Изучение возможности коррекции экспериментальной инсулиновой недостаточности путем трансплантации клеточных культур селезеночной ткани // Медицинский вестник Башкортостана, 2007. № 1. С. 62-68. [Timerbulatov V.M., Fayazov R.R., Timerbulatov Sh.V., Sibiryak S.V., Sayapov M.M., Saubanov M.N., Kulushev A.S. Studying the possibility of correction of experimental insulin deficiency by splenic tissue cell culture transplantation. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana = Medical Bulletin of Bashkortostan*, 2007, no. 1, pp. 62-68. (In Russ.)]
3. Aitken R.J., Curry B.J., Shokri S., Pujianto D.A., Gavriliouk D., Gibb Z., Whiting S., Connaughton H.S., Nixon B., Salamonsen L.A., Baker M.A. Evidence that extrapancreatic insulin production is involved in the mediation of sperm survival. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2021, Vol. 526, pp. 111-193.
4. Bhatti J.S., Sehrawat A., Mishra J., Sidhu I.S., Navik U., Khullar N., Kumar S., Bhatti G.K., Reddy P.H. Oxidative stress in the pathophysiology of type 2 diabetes and related complications: Current therapeutics strategies and future perspectives. *Free Radic. Biol. Med.*, 2022, Vol. 184, pp. 114-134.
5. Daryabor G., Atashzar M.R., Kabelitz D., Meri S., Kalantar K. The Effects of type 2 diabetes mellitus on organ metabolism and the immune system. *Front. Immunol.*, 2020, Vol. 11, 1582. doi: 10.3389/fimmu.2020.01582.
6. de Nadal E., Ammerer G., Posas F. Controlling gene expression in response to stress. *Nat. Rev. Genet.*, 2011, Vol. 12, Iss. 12, pp. 833-845.

7. GBD 2021 Diabetes Collaborators (Ong K.L., Stafford L.K., McLaughlin S.A., Boyko E.J., Vollset S.E. Global, regional, and national burden of diabetes from 1990 to 2021, with projections of prevalence to 2050: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *Lancet*, 2023, Vol. 402, no. 10397, pp. 203-234.
8. Habeeb M.A., Vishwakarma S.K., Habeeb S., Khan A.A. Current progress and emerging technologies for generating extrapancreatic functional insulin-producing cells. *World J. Transl. Med.*, 2022, Vol. 10, no. 1, pp. 1-13.
9. Kodama S., Davis M., Faustman D.L. Diabetes and stem cell researchers turn to the lowly spleen. *Sci. Aging Knowledge Environ.*, 2005, Vol. 2005, Iss. 3, pe2. doi: 10.1126/sageke.2005.3.pe2.
10. Kojima H., Fujimiya M., Matsumura K., Nakahara T., Hara M., Chan L. Extrapancreatic insulin-producing cells in multiple organs in diabetes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2004, Vol. 101, no. 8, pp. 2458-2463.
11. Maldonado M., Huang T., Yang L., Xu L., Ma L. Human umbilical cord Wharton jelly cells promote extrapancreatic insulin formation and repair of renal damage in STZ-induced diabetic mice. *Cell Commun. Signal.*, 2017, Vol. 15, no. 1, 43. doi: 10.1186/s12964-017-0199-5.
12. Masiello P., Broca C., Gross R., Roye M., Manteghetti M., Hillaire-Buys D., Novelli M., Ribes G. Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. *Diabetes*, 1998, Vol. 47, no. 2, pp. 224-229.
13. Pinheiro-Machado E., Gurgul-Convey E., Marzec M.T. Immunometabolism in type 2 diabetes mellitus: tissue-specific interactions. *Arch. Med. Sci.*, 2020, Vol. 19, no. 4, pp. 895-911.
14. Ren M., Shang C., Zhong X., Guo R., Lao G., Wang X., Cheng H., Min J., Yan L., Shen J. Insulin-producing cells from embryonic stem cells rescues hyperglycemia via intra-spleen migration. *Sci. Rep.*, 2014, Vol. 4, pp. 75-86.
15. Saveria A., Mariaelena G., Emilia M., Stefania C., Sebastiano A. Autocrine regulation of insulin secretion in human ejaculated spermatozoa. *Endocrinology*, 2005, Vol. 146, no. 2, pp. 552-557.

Авторы:

Соколова К.В. — к.б.н., научный сотрудник лаборатории перспективных материалов, зеленых методов и биотехнологий Химико-технологического института ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»; старший научный сотрудник лаборатории морфологии и биохимии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Гетте И.Ф. — к.б.н., старший научный сотрудник ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»; старший научный сотрудник лаборатории морфологии и биохимии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Туканов Д.А. — лаборант-исследователь лаборатории функционального дизайна нанокластерных полиоксиметаллатов Института естественных наук ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»; аспирант ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Степанян А.А. — студентка кафедры медицинской биохимии и биофизики Института естественных наук ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

Данилова И.Г. — д.б.н., заведующая кафедрой медицинской биохимии и биофизики Института естественных наук ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»; главный научный сотрудник лаборатории морфологии и биохимии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Authors:

Sokolova K.V., PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Advanced Materials, Green Methods and Biotechnologies, Chemical-Technological Institute, Ural Federal B. Yeltsin University; Senior Research Associate, Laboratory of Morphology and Biochemistry, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Gette I.F., PhD (Biology), Senior Research Associate, Ural Federal B. Yeltsin University; Senior Research Associate, Laboratory of Morphology and Biochemistry, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Tukanov D.A., Laboratory Assistant/Researcher, Laboratory of Functional Design of Nanocluster Polyoxymetallates, Institute of Natural Sciences, Ural Federal B. Yeltsin University; Postgraduate Student, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Stepanian A.A., Student, Department of Medical Biochemistry and Biophysics, Institute of Natural Sciences, Ural Federal B. Yeltsin University, Yekaterinburg, Russian Federation

Danilova I.G., PhD, MD (Biology), Head, Department of Medical Biochemistry and Biophysics, Institute of Natural Sciences, Ural Federal B. Yeltsin University; Chief Research Associate, Laboratory of Morphology and Biochemistry, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

ПЕРСПЕКТИВНОСТЬ НОВОЙ АЛИМЕНТАРНОЙ МОДЕЛИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА ДЛЯ ИММУНОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ У КРЫС

Мухлынина Е.А.¹, Созыкин К.О.², Гетте И.Ф.¹

¹ ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук,
г. Екатеринбург, Россия

² ООО «Ситилаб-Урал», г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Исследование патогенеза метаболического синдрома и его осложнений, а также вклада клеток иммунной системы в эти процессы невозможно без релевантных моделей на лабораторных животных. Хорошо зарекомендовала себя для этих целей алиментарная модель на основе западной диеты. Она соотносится с характером питания современного человека, воспроизводит ожирение, нарушения обмена углеводов и липидов, низкоинтенсивное системное воспаление. Однако данная диета подразумевает использование коммерческих специализированных кормов, доступ к которым в настоящее время серьезно ограничен, что обуславливает необходимость разработки собственного рациона на основе предложенных в известных публикациях пропорций ингредиентов с оценкой эффективности выбранной модели. Таким образом, целью настоящего исследования был анализ перспективности новой модификации рациона на основе западной диеты для моделирования метаболического синдрома у крыс Wistar. В состав пищевого рациона экспериментальной группы крыс входило 30% стандартного корма, 25% свиного сала, 25% сахарозы, 2% соли, доля белка в рационе восполнялась путем добавления соевого протеина. Животные находились на западной диете на протяжении 18 недель, начиная с 8-недельного возраста. У животных проводилась оценка биометрических показателей, общего анализа крови, биохимический анализ плазмы крови, гистохимическое окрашивание срезов печени на липиды. По результатам исследования было установлено, что, начиная с 6 недель, крысы экспериментальной группы начинают значительно превосходить контрольных по массе тела. Через 18 недель у них отмечается значимое увеличение массы тела, окружности талии, массы висцерального жира по сравнению с контролем, гипергликемия натощак на фоне неизменного уровня гликированного гемоглобина, признаки дислипидемии (повышение уровня триглицеридов, холестерина ЛПНП и ЛПОНП, коэффициента атерогенности), повышение индекса инсулинорезистентности НОМА-IR. Воспроизвести развитие жирового гепатоза у экспериментальных крыс не удалось, что следует отнести к лимитирующим факторам предложенной модели. Алиментарная модель

Адрес для переписки:

Мухлынина Елена Артуровна
ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии»
Уральского отделения Российской академии наук
620049, Россия, г. Екатеринбург,
ул. Первомайская, 106.
Тел./факс: 8 (343) 374-00-70.
E-mail: elena.mukhlynina@yandex.ru

Address for correspondence:

Elena A. Mukhlynina
Institute of Immunology and Physiology,
Ural Branch, Russian Academy of Sciences
106 Pervomayskaya St
Yekaterinburg
620049 Russian Federation
Phone/fax: +7 (343) 374-00-70.
E-mail: elena.mukhlynina@yandex.ru

Образец цитирования:

Е.А. Мухлынина, К.О. Созыкин, И.Ф. Гетте
«Перспективность новой алиментарной модели
метаболического синдрома для иммунофизиологических
исследований у крыс» // Российский иммунологический
журнал, 2025. Т. 28, № 1. С. 13-18.
doi: 10.46235/1028-7221-16992-SOA

© Мухлынина Е.А. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

E.A. Mukhlynina, K.O. Sozykin, I.F. Gette “Suitability
of a new diet-induced model of metabolic syndrome for
immunophysiological studies in rats”, Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025,
Vol. 28, no. 1, pp. 13-18.
doi: 10.46235/1028-7221-16992-SOA

© Mukhlynina E.A. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16992-SOA

метаболического синдрома на основе западной диеты наиболее полно отражает особенности питания современного человека. Применявшийся рацион и сроки экспозиции позволяют достигнуть развития у крыс основного (ожирение) и ряда дополнительных критериев (гипергликемия, дислипидемия) метаболического синдрома. Таким образом, выбранная модель может успешно применяться для исследования иммунофизиологических аспектов патогенеза метаболического синдрома. Однако следует принимать во внимание отсутствие жировой дистрофии печени у экспериментальных животных.

Ключевые слова: модель метаболического синдрома, западная диета, ожирение, инсулинорезистентность, дислипидемия, гипергликемия

SUITABILITY OF A NEW DIET-INDUCED MODEL OF METABOLIC SYNDROME FOR IMMUNOPHYSIOLOGICAL STUDIES IN RATS

Mukhlynina E.A.^a, Sozykin K.O.^b, Gette I.F.^a

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

^b LLC Citilab Ural, Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. Studying the pathogenesis of metabolic syndrome and its complications as well as contribution of immune cells to these processes is impossible without relevant laboratory animal models. The nutritional model based on the Western diet was proven to be applicable for these purposes. It correlates with the nutritional pattern of modern humans by reproducing obesity, carbohydrate and lipid metabolism disorders, and low-intensity systemic inflammation. However, this diet involves the use of specialized commercial food, which is currently in limited access, thus requiring the development of a native diet based on the ratio of food ingredients proposed in well-known publications, with efficiency assessment of the selected model. Therefore, the purpose of present study was to evaluate the perspectives of a novel dietary modification based on a Western diet for modeling metabolic syndrome in Wistar rats. The diet of experimental group of rats included 30% standard food, 25% lard, 25% sucrose, 2% salt. The protein fraction in the diet was replenished by adding soy protein. The animals were fed a Western diet for 18 weeks, starting at 8 weeks of age. The examination of animals was based on biometric parameters, general blood counts, biochemical analysis of blood plasma, and histochemical staining of liver sections for lipids. Results: It was found that, starting from 6 weeks, the rats from experimental group significantly exceeded the control ones in the body mass. After 18 weeks, they showed a significant increase in body weight, waist circumference, visceral fat mass compared to the controls, fasting hyperglycemia (with unchanged levels of glycated hemoglobin), along with signs of dyslipidemia (increased levels of triglycerides, LDL and VLDL cholesterol, atherogenic quotient), and increased insulin resistance index HOMA-IR. We could not, however, reproduce the development of fatty hepatosis in experimental rats, which should be considered a limiting factor of the proposed model. The nutritional model of metabolic syndrome based on the Western diet closely resembles the nutritional habits of modern humans. The proposed diet and the exposure time allowed us to achieve the development of the main signs (obesity) and several additional criteria of metabolic syndrome (hyperglycemia, dyslipidemia) in the rat model. Thus, the chosen experimental model may be successfully used to study the immunophysiological aspects of metabolic syndrome. However, the absence of fatty liver disease in experimental animals should be taken into account.

Keywords: metabolic syndrome model, Western diet, obesity, insulin resistance, dyslipidemia, hyperglycemia

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-25-00481, <https://rscf.ru/project/24-25-00481/>.

Введение

Метаболический синдром (МС), а также связанные с ним гипергликемия, инсулино-

резистентность (ИР), дислипидемия и ожирение имеют чрезвычайно широкое распространение в человеческой популяции, являются факторами риска спектра серьезных патологий, в том числе сахарного диабета, сердечно-сосудистых заболеваний. Несмотря на большое количество исследований в данной области, патогенез возникнове-

ния и прогрессирования МС до конца не изучен. Участие клеток иммунной системы в патогенезе МС активно обсуждается, однако единой общей концепции по данному вопросу в настоящий момент не сформировано. Макрофаги, тучные клетки, различные виды лейкоцитов являются важным компонентом микроокружения, могут оказывать как местные, так и системные эффекты, продуцируют цитокины, факторы роста, протеазы, могут влиять на ремоделирование тканей, вовлекаясь в патогенез МС и его осложнений. Так, например, выявлены корреляции между активностью тучных клеток в подкожной жировой клетчатке, висцеральной и эпикардиальной жировой ткани и уровнем глюкозы, лептина, ИР, маркерами фиброза и повреждения эндотелия [1, 4, 5, 6]. Моделирование МС на лабораторных животных – важный инструмент в поиске механизмов его развития, который, однако, имеет и ряд ограничений. Применение моделей, не всегда отражающих патогенез МС у человека, использование разных видов лабораторных животных, наличие гендерных особенностей приводит зачастую к противоположным выводам относительно вклада иммунных клеток в развитие компонентов МС [3, 7]. Западная диета с высоким содержанием животных жиров, простых сахаров, соли и дефицитом пищевых волокон зарекомендовала себя как эффективный способ моделирования МС у крыс [2], при этом она хорошо отображает особенности питания современного человека, а значит более точно воспроизводит патогенетические основы МС. Однако известные способы ее моделирования предполагают использование зарубежных коммерческих высокожировых и высокоуглеводных кормов, доступ к которым заметно осложнен в настоящее время. Все это обуславливает необходимость отработки метода моделирования МС у лабораторных животных на основе вестернизированного рациона питания с использованием самостоятельно приготовленных кормов.

Цель исследования – оценить перспективность новой модификации рациона на основе западной диеты для моделирования метаболического синдрома у крыс.

Материалы и методы

Работа выполнена на 15 самках крыс линии Wistar в возрасте 8 недель. Крыс содержали в стандартных условиях вивария ИИФ УрО РАН. Все манипуляции с животными выполняли в соответствии с этическими принципами и нормативными документами Директивы Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС. Исследование одобрено этическим

комитетом ИИФ УрО РАН (протокол № 01-23 от 27 марта 2023).

Крысы контрольной группы ($n = 7$) получали стандартный коммерческий рацион («Дельта Фидс» (Арт. Лбк 120 С-19), АО «БиоПро», Россия). Крысы экспериментальной группы ($n = 8$) получали комбинированное питание с высоким содержанием насыщенных жиров, сахара и соли (так называемая «западная диета» [2] с некоторыми авторскими модификациями). Экспериментальный рацион готовили самостоятельно. Он включал в себя 30% стандартного коммерческого корма «Дельта Фидс», 25% свиного сала, 25% простых сахаров в виде сахарозы, 2% соли. Содержание белка довели до 19% соевым протеином в соответствии с количеством белка в стандартном корме. Все животные имели свободный доступ к корму и воде. Еженедельно оценивали массу тела животных.

Через 18 недель в утренние часы после 12-часового голодания у крыс под наркозом (2% ксилазин (1 мл/кг) и золетил (3 мг/кг)) проводили взятие периферической крови из хвостовой вены в пробирки с антикоагулянтом К3-ЭДТА для проведения гематологического анализа, биохимического определения содержания глюкозы, гликированного гемоглобина, альбумина, мочевины, креатинина, триглицеридов (ТГ), общего холестерина, липопротеидов низкой (ЛПНП) и очень низкой плотности (ЛПОНП), липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ). Рассчитаны коэффициент де Ритиса как отношение активности АСТ и АЛТ в плазме крови, холестериновый коэффициент атерогенности как отношение разности концентраций общего холестерина и ЛПВП к концентрации ЛПВП, индекс триглицеридов-глюкозы как частное от деления произведения концентрации глюкозы и триглицеридов на два. Также измеряли массу тела, окружность талии, массу висцеральной жировой ткани (ВЖТ) и печени. Для оценки уровня ИР также проводили измерение концентрации инсулина в плазме крови при помощи набора реагентов Rat Insulin ELISA Kit (Sigma, RAB0904, США) и ИФА-анализатора Lazurite (Dynex Technologies, США). Индекс инсулинорезистентности НОМА-IR рассчитан как частное от деления произведения концентрации инсулина (мкЕд/мл) на содержание глюкозы (ммоль/л) и числа 22,5. Общий анализ крови выполняли при помощи гематологического анализатора Mindray BC-2800Vet (Mindray, Китай). Для оценки степени жировой дистрофии печени проводили гистохимическое окрашивание криостатных срезов печени на липиды при помощи красителя Oil Red O (Acros Organics, США).

Анализ изображений проводили на микроскопе Leica DM2500 с видеокамерой Leica DFC420 при помощи программы Leica Application Suite v. 4.9. Подсчет количества липидных включений в гепатоцитах был проведен в 20 полях зрения у каждого животного.

Статистический анализ данных выполняли с помощью пакета прикладных статистических программ Statistica 10.0 (StatSoft, США). Данные представлены в виде среднего арифметического (М) и стандартной ошибки среднего (SEM). Для проверки гипотезы об однородности двух независимых выборок использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. При проверке статистических гипотез использовали 5%-ный уровень значимости.

Результаты и обсуждение

Полученные данные свидетельствуют, что применяемая экспериментальная диета с высоким содержанием насыщенных жиров, простых сахаров и соли вызывает повышение массы тела подопытных животных по сравнению с контролем с 6 недели экспозиции. Через 18 недель у крыс, получавших вестернизированное питание, масса тела, окружность талии, масса ВЖТ, индекс жировой ткани были значительно выше, чем у контрольных животных (табл. 1). При этом масса печени не изменяется. Развитие абдоминального ожирения принято считать главным критерием МС.

По результатам гематологического анализа периферической крови у крыс, получавших 18 недель специальное питание, было выявлено снижение относительного содержания моноци-

тов (с $4,07 \pm 0,5$ до $3,00 \pm 0,13$), абсолютного содержания эритроцитов (с $8,50 \pm 0,22$ до $7,86 \pm 0,16$) гемоглобина (с $182,71 \pm 1,97$ до $167,75 \pm 2,02$), гематокрита (с $47,97 \pm 0,82$ до $45,02 \pm 0,50$), показателя гетерогенности эритроцитов (с $10,83 \pm 0,14$ до $11,89 \pm 0,26$), среднего объема тромбоцитов (с $6,37 \pm 0,07$ до $5,96 \pm 0,06$) и показателя гетерогенности тромбоцитов (с $16,01 \pm 0,09$ до $15,65 \pm 0,06$). Выявленные отклонения показателей, однако, не выходят за пределы физиологических значений. Наблюдаемые явления в эритроцитарном ростке, вероятно, можно связать с формирующимися изменениями функции печени, что находит отражение в снижении эритропоэза и увеличении гемолиза эритроцитов.

Биохимический анализ выявил у крыс, сохранившихся на западной диете, признаки нарушения углеводного обмена в виде повышения уровня глюкозы натощак (табл. 2) без значимого влияния на уровень гликированного гемоглобина. По-видимому, гипергликемия у экспериментальных животных не была длительной. Также у крыс при моделировании МС определяются признаки нарушения липидного обмена: повышено содержание ТГ и триглицерид-глюкозного коэффициента, снижено количество холестерина ЛПВП на фоне увеличения ЛПНП, ЛПОНП, коэффициента атерогенности (табл. 2). Общий холестерин остается на уровне контроля. Наблюдаемые изменения липидного профиля и гипергликемия натощак относятся к дополнительным критериям МС и факторами риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. Содержание альбумина, АСТ, мочевины и креатинина в группе с западной диетой соответствуют контрольным значениям, что указывает на сохранение функ-

ТАБЛИЦА 1. БИОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА (M±m)

TABLE 1. BIOMETRIC PARAMETERS OF RATS UNDER METABOLIC SYNDROME MODELING (M±m)

Показатель Parameter	Контроль Control	Западная диета Western diet
Длина тела, см Body length, cm	20,97±0,17	21,15±0,09
Окружность талии, см Waist circumference, cm	17,57±0,18	19,09±0,24*
Масса печени, г Liver weight, g	8,11±0,52	8,33±0,40
Масса ВЖТ, г VAT weight, g	16,50±1,22	28,97±1,12*
ИЖТ, % Adiposity index, %	6,14±0,42	9,86±0,19*
Масса тела, г Body weight, g	268,29±5,68	293,38±7,20*

Примечание. * – различия с контролем достоверны (U-тест Манна–Уитни, $p < 0,05$).

Note. *, significant differences with control group (Mann–Whitney (U) test, $p < 0.05$).

ТАБЛИЦА 2. БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПЛАЗМЫ КРОВИ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА (M±m)

TABLE 2. BIOCHEMICAL PARAMETERS OF RAT BLOOD PLASMA UNDER METABOLIC SYNDROME MODELING (M±m)

Показатель Parameter	Контроль Control	Западная диета Western diet
Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/L	5,79±0,26	9,31±0,25*
НbA1с, %	4,48±0,21	4,65±0,10
АСТ, мкмоль/мин × л AST, μmol/min × L	15,87±0,62	15,70±0,81
АЛТ, мкмоль/мин × л ALT, μmol/min × L	10,46±0,39	12,54±0,55*
АСТ/АЛТ, у. е. AST/ALT, с. у.	1,52±0,05	1,26±0,07*
Альбумин, г/л Albumine, g/L	40,49±0,85	41,74±1,00
Мочевина, мкмоль/л Urea, μmol/L	4,76±0,17	5,14±0,15
Креатинин, мкмоль/л Creatinine, μmol/L	70,87±2,80	75,84±2,80
ХС общий, ммоль/л Cholesterol, mmol/L	1,72±0,07	1,63±0,05
ТГ, ммоль/л Triglycerides, mmol/L	0,13±0,01	0,29±0,02*
ЛПВП, ммоль/л HDL, mmol/L	1,44±0,09	1,11±0,05*
ЛПОНП, ммоль/л VLDL, mmol/L	0,06±0,01	0,12±0,01*
ЛПНП, ммоль/л LDL, mmol/L	0,22±0,05	0,41±0,04*
Коэффициент атерогенности, у. е. Atherogenic index, с. у.	0,21±0,05	0,49±0,06*
ТГ-коэффициент, у. е. Triglycerides-Glucose index, с. у.	0,37±0,04	2,23±0,21*
Инсулин, Ед/мл Insuline, U/mL	2,87±0,14	2,65±0,08
НОМА-IR, у. е. НОМА-IR, с. у.	0,74±0,04	1,10±0,05*

Примечание. * – различия с контролем достоверны (U-тест Манна–Уитни, $p < 0,05$).

Note. *, significant differences with control group (Mann–Whitney (U) test, $p < 0.05$).

ций печени и почек. Несколько повышается АЛТ и, соответственно, снижается коэффициент де Ритиса (табл. 2), что может указывать на повреждение миокарда.

Специальная диета также приводит к снижению резистентности к инсулину, о чем свидетельствует повышение индекса НОМА-IR (табл. 2), хотя уровень инсулина натощак при этом остается в пределах нормы.

Применявшаяся диета не вызвала развития жирового гепатоза. Масса печени у крыс опыт-

ной группы не изменилась, биохимические и гистологические признаки цитолиза гепатоцитов, жировой дистрофии не были обнаружены.

Заключение

Используемая алиментарная модель МС на основе западной диеты наиболее полно отражает особенности питания современного человека. Выбранное соотношение компонентов и сроки экспозиции позволяют достигнуть развития у крыс абдоминального ожирения, повышения

уровня ТГ, ЛПНП, гипергликемии натощак, ИР. При этом используемая диета не подходит для моделирования жирового поражения печени, что является лимитирующим фактором ее применения. Однако основной критерий МС в виде центрального ожирения, а также дополнительные критерии (дислипидемия, нарушение толерантности к глюкозе) воспроизводятся достаточно успешно, соответственно, предложенная модель

перспективна для изучения функций иммунных клеток при развитии данных патологических изменений.

Благодарности

Авторы выражают благодарность ЦКП ИИФ УрО РАН за возможность использования научно-оборудования.

Список литературы / References

1. Altintas M.M., Azad A., Nayer B., Contreras G., Zaias J., Faul C., Reiser J., Nayer A. Mast cells, macrophages, and crown-like structures distinguish subcutaneous from visceral fat in mice. *J. Lipid. Res.*, 2011, Vol. 52, no. 3, pp. 480-488.
2. Bortolin R.C., Vargas A.R., Gasparotto J., Chaves P.R., Schnorr C.E., Martinello K.B., Silveira A.K., Rabelo T.K., Gelain D.P., Moreira J.C.F. A new animal diet based on human Western diet is a robust diet-induced obesity model: comparison to high-fat and cafeteria diets in term of metabolic and gut microbiota disruption. *Int. J. Obes. (Lond.)*, 2018, Vol. 42, no. 3, pp. 525-534.
3. Chmelař J., Chatzigeorgiou A., Chung K.J., Prucnal M., Voehringer D., Roers A., Chavakis T. No role for mast cells in obesity-related metabolic dysregulation. *Front. Immunol.*, 2016, Vol. 7, 524. doi: 10.3389/fimmu.2016.00524.
4. Divoux A., Moutel S., Poitou C., Lacasa D., Veyrie N., Aissat A., Arock M., Guerre-Millo M., Clément K. Mast cells in human adipose tissue: link with morbid obesity, inflammatory status, and diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2012, Vol. 97, no. 9, pp. E1677-E1685.
5. Gurung P., Moussa K., Adams-Huet B., Devaraj S., Jialal I. Increased mast cell abundance in adipose tissue of metabolic syndrome: relevance to the proinflammatory state and increased adipose tissue fibrosis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2019, Vol. 316, no. 3, pp. E504-E509.
6. Liu J., Divoux A., Sun J., Zhang J., Clément K., Glickman J.N., Sukhova G.K., Wolters P.J., Du J., Gorgun C.Z., Doria A., Libby P., Blumberg R.S., Kahn B.B., Hotamisligil G.S., Shi G.P. Deficiency and pharmacological stabilization of mast cells reduce diet-induced obesity and diabetes in mice. *Nat. Med.*, 2009, Vol. 15, no. 8, pp. 940-945.
7. Uemura K., Kondo H., Ishii Y., Kobukata M., Haraguchi M., Imamura T., Otsubo T., Ikebe-Ebata Y., Abe I., Ayabe R., Saito S., Aoki K., Nagano-Torigoe Y., Akioka H., Shinohara T., Teshima Y., Masaki T., Yufu K., Nakagawa M., Takahashi N. Mast Cells play an important role in the pathogenesis of hyperglycemia-induced atrial fibrillation. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*, 2016, Vol. 27, no. 8, pp. 981-989.

Авторы:

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

Созыкин К.О. — врач клинической лабораторной диагностики ООО «Ситилаб-Урал», г. Екатеринбург, Россия

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

Authors:

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

Sozykin K.O., Doctor for Clinical Laboratory Diagnostics, LLC Citilab Ural, Yekaterinburg, Russian Federation

Gette I.F., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Morphology and Biochemistry, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Поступила 15.05.2024
Принята к печати 31.07.2024

Received 15.05.2024
Accepted 31.07.2024

ВЛИЯНИЕ ДЕГИДРОЭПИАНДРОСТЕРОНА НА КИСЛОРОДЗАВИСИМУЮ МИКРОБИЦИДНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ ПРИ ЗИМОЗАНОВОМ ПЕРИТОНИТЕ У СТАРЫХ КРЫС

Барков С.Ю.^{1,2}, Шилов Ю.И.^{1,2,3}, Шилов С.Ю.^{1,2}

¹ Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь, Россия

² ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения РФ, г. Пермь, Россия

³ ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

Резюме. Цель работы – исследование влияния дегидроэпиандростерона на кислородзависимую микробицидность лейкоцитов крови при зимозановом перитоните у старых крыс. Исследования выполнены на самцах белых нелинейных крыс в возрасте 3-6 месяцев (молодые крысы) и старше 1,5 лет (старые крысы). В качестве основного подхода использовали экспериментальную модель зимозанового перитонита. ДНЕА вводили старым животным подкожно через день (всего 4 инъекции по 2 мг/кг массы тела, последнее введение за 24 ч до конца эксперимента). Контролем служили крысы того же возраста, получавшие по той же схеме растворитель ДНЕА (официальное оливковое масло). За 12 ч до окончания эксперимента животным вводили стерильную суспензию зимозана А внутривентриально в дозе 50 мг/кг. Кислородзависимую микробицидность лейкоцитов крови оценивали методом люминолзависимой хемилюминесценции с использованием опсонизированного и неопсонизированного зимозана в концентрациях 15 мкг/мл, 150 мкг/мл и 1500 мкг/мл. Установлено, что у старых самцов крыс в сравнении с молодыми показатели хемилюминесценции статистически значимо повышаются при стимуляции лейкоцитов крови как опсонизированным, так и неопсонизированным зимозаном. Введение ДНЕА старым самцам крыс приводит к выраженному снижению показателей хемилюминесценции в пробах со всеми концентрациями опсонизированного зимозана. При стимуляции лейкоцитов старых животных неопсонизированным зимозаном *in vitro* отмечается статистически значимое увеличение продукции активных форм кислорода, более выраженное при более низких концентрациях активатора (15 мкг/мл и 150 мкг/мл), в то время как при высокой концентрации зимозана этот эффект отменяется. Уровень спонтанной хемилюминесценции, отражающей активацию клеток *in vivo*, у старых крыс, получавших ДНЕА, выше в сравнении с молодыми

Адрес для переписки:

Шилов Юрий Иванович
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:

Yurii I. Shilov
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms,
Ural Branch, Russian Academy of Sciences
13 Golev St
Perm
614081 Russian Federation
Phone: +7 (902) 794-12-90.
E-mail: jshilov@mail.ru

Образец цитирования:

С.Ю. Барков, Ю.И. Шилов, С.Ю. Шилов «Влияние дегидроэпиандростерона на кислородзависимую микробицидность лейкоцитов крови при зимозановом перитоните у старых крыс» // Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 1. С. 19-24. doi: 10.46235/1028-7221-16993-TEO

© Барков С.Ю. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

S.Yu. Barkov, Yu.I. Shilov, S.Yu. Shilov “The effect of dehydroepiandrosterone on oxygen-dependent microbicidal activity of blood leukocytes in zymosan peritonitis in old rats”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 1, pp. 19-24. doi: 10.46235/1028-7221-16993-TEO

© Barkov S.Yu. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16993-TEO

животными. Направленность изменений продукции активных форм кислорода в пробах с низкими концентрациями активатора *in vitro* повторяет эффекты DHEA у старых крыс в пробах со спонтанной хемилюминисценцией. В целом проведенные исследования подтверждают наличие у DHEA выраженной иммуномодулирующей активности. Таким образом, в настоящей работе установлено, что старение самцов крыс приводит к выраженной провоспалительной активации продукции активных форм кислорода лейкоцитами крови на высоте воспаления, индуцированного введением зимозана. Введение DHEA старым самцам крыс статистически значимо снижает продукцию активных форм кислорода лейкоцитами крови при активации лейкоцитов *in vitro* опсонизированным зимозаном, но стимулирует продукцию радикалов кислорода в пробах без зимозана, а также при воздействии неопсонизированного зимозана в концентрациях 15 мкг/мл и 150 мкг/мл.

Ключевые слова: воспаление, зимозановый перитонит, люминолзависимая хемилюминисценция, дегидроэпиандростерон

THE EFFECT OF DEHYDROEPIANDROSTERONE ON OXYGEN-DEPENDENT MICROBICIDAL ACTIVITY OF BLOOD LEUKOCYTES IN ZYMOZAN PERITONITIS IN OLD RATS

Barkov S.Yu.^{a, b}, Shilov Yu.I.^{a, b, c}, Shilov S.Yu.^{a, b}

^a Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

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

^c Perm State University, Perm, Russian Federation

Abstract. The purpose of the present work was to study effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) on the oxygen-dependent microbicidal activity of blood leukocytes. The studies were performed on male white nonlinear rats aged 3-6 months (young rats) and adult animals over 1.5 years old (old rats) using an experimental model of zymosan peritonitis. DHEA was administered subcutaneously to old animals on the daily basis (a total of 4 injections of 2 mg/kg body weight, the last injection 24 hours before the end of the experiment). Rats of similar age served as controls and received DHEA solvent (official olive oil) according to the same time regimen. 12 hours before the end of the experiment, the animals were administered a sterile suspension of zymosan A intraperitoneally at a dose of 50 mg/kg. The oxygen-dependent microbicidal activity of blood leukocytes was assessed by luminol-dependent chemiluminescence using opsonized and non-opsonized zymosan at concentrations of 15 µg/mL, 150 µg/mL and 1500 µg/mL.

In old male rats, compared to young ones, the chemiluminescence indexes showed a statistically significant increase when blood leukocytes were stimulated with both opsonized and non-opsonized zymosan. Administration of DHEA to old male rats leads to a pronounced decrease in chemiluminescence in samples at all concentrations of opsonized zymosan. When leukocytes of old animals are stimulated with non-opsonized zymosan *in vitro*, a statistically significant increase in the production of reactive oxygen species was observed, being more pronounced at lower concentrations of inducing agent (15 µg/mL and 150 µg/mL). Meanwhile, this effect was canceled at high concentrations of zymosan. The level of spontaneous chemiluminescence, reflecting *in vivo* cell activation, was higher in old rats treated with DHEA compared to young animals. The direction of changes in the production of reactive oxygen species in samples with low concentrations of the *in vitro* activation was similar to the effects of DHEA in old rats tested for spontaneous chemiluminescence. In general, our studies confirm the pronounced immunomodulatory activity of DHEA. In general, we have found that aging of male rats leads to pronounced pro-inflammatory activation of reactive oxygen species produced by blood leukocytes at the peak of inflammation induced by zymosan injections. Administration of DHEA to old male rats significantly reduced the production of reactive oxygen species by blood leukocytes, when the cells were *in vitro* activated by opsonized zymosan, but stimulates production of oxygen radicals in the samples without zymosan, as well as upon exposition to non-opsonized zymosan at concentrations of 15 µg/mL and 150 µg/mL.

Keywords: inflammation, zymosan peritonitis, luminol-dependent chemiluminescence, dehydroepiandrosterone

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

Дегидроэпиандростерон (ДНЕА), как стероидный предшественник гормонов, является исходным соединением для биосинтеза андрогенов у мужчин и эстрогенов у женщин, его уровень существенно снижается при старении [8]. В последние годы в США проведено большое количество преклинических исследований, в которых было показано, что ДНЕА при пероральном применении эффективен для предупреждения развития и терапии заболеваний, связанных со старением, таких как злокачественные опухоли, атеросклероз, диабет, ожирение [8]. В системе *in vitro* ДНЕА ослабляет индуцированные липополисахаридами воспалительные реакции посредством активации Nrf2 в макрофагах RAW264.7 [4], ингибирует продукцию активных форм кислорода человеческими нейтрофилами, снижает продукцию IL-8 и уровень NF-κB, не влияя на образование нейтрофильных внеклеточных ловушек и экспрессию TLR4, стимулируя фагоцитоз бактерий *Salmonella enterica* серовар Typhimurium [3]. Однако влияние ДНЕА на функции фагоцитирующих клеток при развитии воспаления в условиях *in vivo* изучено недостаточно.

Цель работы – исследование влияния дегидроэпиандростерона на кислородзависимую бактерицидность лейкоцитов крови при зимозановом перитоните у старых крыс.

Материалы и методы

Исследования выполнены на самцах белых нелинейных крыс в возрасте 3-6 месяцев (молодые крысы) и старше 1,5 лет (старые крысы). Животных содержали в стандартных условиях вивария (свободный доступ к воде и пище, 12-часовой световой день). Все исследования одобрены на соответствие нормам биомедицинской этики этическим комитетом при «ИЭГМ УрО РАН», протокол № 3 от 30.11.2015 г. В качестве основного подхода использовали экспериментальную модель зимозанового перитонита, ранее адаптированную нами для крыс [2]. ДНЕА (Sigma-Aldrich, США, кат. D 4000) вводили старым животным подкожно через день (всего 4 инъекции по 2 мг/кг массы тела, последнее введение за 24 ч до конца эксперимента). Контролем служили крысы того же возраста, получавшие по

той же схеме растворитель ДНЕА (официальное оливковое масло). За 12 ч до окончания эксперимента животным вводили стерильную суспензию предварительно прогретого в течение 60 мин на кипящей водяной бане зимозана (Zymosan A from *Saccharomyces cerevisiae*, Fluka, 97340) внутрибрюшинно в дозе 50 мг/кг. Животных выводили из эксперимента под наркозом.

Лейкоциты центральной крови (полученной методом декапитации с добавлением 50 ЕД гепарина/мл крови) выделяли методом седиментации с 0,1%-ной метилцеллюлозой (Sigma-Aldrich, США). После двукратного отмывания центрифугированием и подсчета абсолютного числа лейкоцитов в камере Нейбауэра (AC1000 Improved Neubauer, Hawksley, Великобритания) их концентрацию доводили до 25×10^6 клеток в 1 мл. Кислородзависимую бактерицидность перитонеальных фагоцитирующих клеток оценивали методом люминолзависимой хемилюминесценции. В стимулированном варианте в лунке планшета (3915 Assay Plate 96 Well Flat bottom Black Polystyrene, Corning Inc. Costar) смешивали 70 мкл раствора Хенкса без фенолового красителя, 10 мкл натриевой соли люминола (Luminol sodium salt, Sigma-Aldrich, США, A4685-1G) на растворе Хенкса (конечная концентрация 2×10^{-4} М), 10 мкл лейкоцитов крови (25×10^6 /мл) и 10 мкл опсонизированного или неопсонизированного зимозана (конечные концентрации 15 мкг/мл, 150 мкг/мл и 1500 мкг/мл). В спонтанном варианте смешивали те же компоненты, но вместо зимозана вносили 10 мкл раствора Хенкса. 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).

Статистический анализ результатов проводили с использованием методов описательной статистики и апостериорного критерия Дункана (post-hoc Duncan's test) для множественного сравнения между группами. Результаты представлены в виде средней арифметической и ее стандартной ошибки ($M \pm m$).

Результаты и обсуждение

Установлено, что у старых самцов крыс в сравнении с молодыми показатели хемилюминесценции статистически значимо повышаются при стимуляции лейкоцитов крови как опсонизированным (табл. 1), так и неопсонизированным зи-

ТАБЛИЦА 1. ИНТЕГРАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЛЮМИНОЛЗАВИСИМОЙ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ С ОПСОНИЗИРОВАННЫМ ЗИМОЗАНОМ В РАЗНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ У КРЫС ЧЕРЕЗ 12 Ч ПОСЛЕ ИНДУКЦИИ ЗИМОЗАНОВОГО ПЕРИТОНИТА, INTEGRAL RLU

TABLE 1. INTEGRAL PARAMETERS OF LUMINOL-DEPENDENT CHEMILUMINESCENCE OF BLOOD LEUKOCYTES WITH OPSONIZED ZYMOSAN IN DIFFERENT CONCENTRATIONS IN RATS 12 HOURS AFTER INDUCTION OF ZYMOSAN PERITONITIS, INTEGRAL RLU

Концентрация опсонизированного зимозана, мкг/мл Concentration of opsonized zymosan, microgram/mL	Номер группы и экспериментальное воздействие Group number and experimental exposure					
	1. Молодые крысы + введение растворителя 1. Young rats + solvent injections n = 13	2. Старые крысы + введение растворителя 2. Old rats + solvent injections n = 9	P_{2-1}	3. Старые крысы + введение DHEA 3. Old rats + DHEA administration n = 10	P_{3-1}	P_{3-2}
0	17±4	37±10	> 0,05	60±18	= 0,018	> 0,05
15	201±44	837±240	= 0,002	463±75	> 0,05	= 0,048
150	464±139	1784±462	= 0,002	859±159	> 0,05	= 0,018
1500	432±101	997±200	= 0,006	448±82	> 0,05	= 0,006

Примечание. p_{1-2} , p_{2-3} , p_{3-1} – показатели статистической значимости соответственно между 1-й и 2-й, 2-й и 3-й, 3-й и 1-й группами животных по критерию Дункана для множественного сравнения между группами; n – число животных.

Note. p_{1-2} , p_{2-3} , p_{3-1} are levels of statistical significance, respectively, between the 1st and 2nd, 2nd and 3rd, 3rd and 1st groups of animals according to the Duncan criterion for multiple comparison between groups; n, number of animals.

ТАБЛИЦА 2. ИНТЕГРАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЛЮМИНОЛЗАВИСИМОЙ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ С НЕОПСОНИЗИРОВАННЫМ ЗИМОЗАНОМ В РАЗНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ У КРЫС ЧЕРЕЗ 12 Ч ПОСЛЕ ИНДУКЦИИ ЗИМОЗАНОВОГО ПЕРИТОНИТА, INTEGRAL RLU

TABLE 2. INTEGRAL PARAMETERS OF LUMINOL-DEPENDENT CHEMILUMINESCENCE OF BLOOD LEUKOCYTES WITH NON-OPSONIZED ZYMOSAN IN DIFFERENT CONCENTRATIONS IN RATS 12 HOURS AFTER INDUCTION OF ZYMOSAN PERITONITIS, INTEGRAL RLU

Концентрация неопсонизированного зимозана, мкг/мл Concentration of non-opsonized zymosan, microgram/mL	Номер группы и экспериментальное воздействие Group number and experimental exposure					
	1. Молодые крысы + введение растворителя 1. Young rats + solvent injections n = 13	2. Старые крысы + введение растворителя 2. Old rats + solvent injections n = 9	P_{2-1}	3. Старые крысы + введение DHEA 3. Old rats + DHEA administration n = 10	P_{3-1}	P_{3-2}
0	17±4	37±10	> 0,05	60±18	= 0,018	> 0,05
15	97±30	203±32	> 0,05	356±63	= 0,018	= 0,0003
150	122±40	345±72	= 0,035	488±101	> 0,05	= 0,002
1500	156±72	583±156	= 0,010	295±96	> 0,05	> 0,05

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

мозаном (табл. 2). Введение ДНЕА старым самцам крыс приводит к значительно выраженному снижению показателей хемилюминисценции в пробах со всеми концентрациями опсонизированного зимозана (см. табл. 1). При стимуляции лейкоцитов старых животных неопсонизированным зимозаном *in vitro* отмечается статистически значимое увеличение продукции активных форм кислорода, более выраженное при более низких концентрациях активатора (15 мкг/мл и 150 мкг/мл), в то время как при высокой концентрации зимозана этот эффект отменяется (см. табл. 2). Уровень спонтанной хемилюминисценции, отражающей активацию клеток *in vivo*, у старых крыс, получавших ДНЕА, выше в сравнении с молодыми животными. Обращает на себя внимание, что направленность изменений продукции активных форм кислорода в пробах с низкими концентрациями активатора *in vitro* повторяет эффекты ДНЕА у старых крыс в пробах со спонтанной хемилюминисценцией. Такие различия ответа лейкоцитов на опсонизированный и неопсонизированный зимозан могут быть связаны с различиями механизма действия этих флогогенов на клетки. Активация фагоцитирующих клеток опсонизированным зимозаном связана с распознаванием iC3b-фрагмента компонента (CR3 и CR4) и Fc-фрагментов антител [1, 6, 7]. Неопсонизированный зимозан действует

через паттернраспознающие рецепторы, в частности дектин-1 и другие бета-глюканраспознающие рецепторы, а также через TLR2 [5]. Хотя в классической эндокринологии долгое время доминирует представление о ДНЕА как метаболическом предшественнике для синтеза андрогенов и эстрогенов, данные исследований *in vitro* [3] указывают на возможность прямого гормонального действия этого соединения на клетки иммунной системы, что нуждается в дальнейших исследованиях. В целом проведенные исследования подтверждают наличие у ДНЕА выраженной иммуномодулирующей активности.

Заключение

Таким образом, в настоящей работе установлено, что старение самцов крыс приводит к выраженной провоспалительной активации продукции активных форм кислорода лейкоцитами крови на высоте воспаления, индуцированного введением зимозана. Введение ДНЕА старым самцам крыс статистически значимо снижает продукцию активных форм кислорода лейкоцитами крови при активации лейкоцитов *in vitro* опсонизированным зимозаном, но стимулирует продукцию радикалов кислорода в пробах без зимозана, а также при воздействии неопсонизированного зимозана в концентрациях 15 и 150 мкг/мл.

Список литературы / References

1. Шилов Ю.И., Годовалов А.П., Шилов Д.Ю., Шилов С.Ю., Eliáš D. Влияние опсоинов свежей и инактивированной при 56 °С сыворотки крови на зимозан-индуцированную продукцию активных форм кислорода лейкоцитами крыс // Российский иммунологический журнал, 2019. Т. 22, № 2-2. С. 981-983. [Shilov Ju.I., Godovalov A.P., Shilov D.Ju., Shilov S.Ju., Eliáš D. Influence of opsonins of fresh and inactivated under 56°C blood serum on zymosan-induced production of reactive oxygen species by rat leucocytes. *Rossiyskiy immunologicheskij zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2019, Vol. 22, no. 2-2, pp. 981-983. (In Russ.)] doi: 10.31857/S102872210006498-2.
2. 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.)]
3. Brauer V.S., Zambuzi F.A., Espíndola M.S., Cavalcanti Neto M.P., Prado M.K.B., Cardoso P.M., Soares L.S., Galvao-Lima L.J., Leopoldino A.M., Cardoso C.R.B., Frantz F.G. The influence of dehydroepiandrosterone on effector functions of neutrophils. *Braz. J. Pharm. Sci.*, 2021, Vol. 57, e19139. doi: 10.1590/s2175-97902020000419139.
4. Cao J., Li Q., Shen X., Yao Y., Li L., Ma H. Dehydroepiandrosterone attenuates LPS-induced inflammatory responses via activation of Nrf2 in RAW264.7 macrophages. *Mol. Immunol.*, 2021, Vol. 131, pp. 97-111.
5. Cash J.L., White G.E., Greaves D.R. Zymosan-induced peritonitis as a simple experimental system for the study of inflammation. *Methods Enzymol.*, 2009, Vol. 461, pp. 379-396.

6. Mankovich A.R., Lee C.Y., Heinrich V. Differential effects of serum heat treatment on chemotaxis and phagocytosis by human neutrophils. *PLoS One*, 2013, Vol. 8, no. 1, e54735. doi: 10.1371/journal.pone.0054735.
7. Mizuno M., Ito Y., Hepburn N., Mizuno T., Noda Y., Yuzawa Y., Harris C.L., Morgan B.P., Matsuo S. Zymosan, but not lipopolysaccharide, triggers severe and progressive peritoneal injury accompanied by complement activation in a rat peritonitis model. *J. Immunol.*, 2009, Vol. 183, no. 2, pp. 1403-1412.
8. Schwartz A.G. Dehydroepiandrosterone, cancer, and aging. *Aging Dis.*, 2022, Vol. 13, no. 2, pp. 423-432.

Авторы:

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», 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»; доцент кафедры микробиологии и иммунологии 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», г. Пермь, Россия

Authors:

Barkov S. Yu., PhD Student, Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, 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, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Associate Professor, Department of Immunology, E. Wagner Perm State Medical University; Associate Professor, Department of Microbiology and Immunology, 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, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Associate Professor, Department of Normal Physiology, E. Wagner Perm State Medical University, Perm, Russian Federation

Поступила 15.05.2024
Принята к печати 31.07.2024

Received 15.05.2024
Accepted 31.07.2024

ПЕРВИЧНЫЙ СКРИНИНГ ХИМИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ИММУНОСУПРЕССОРНЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ НА ЛИМФОЦИТАХ СЕЛЕЗЕНКИ В МОДЕЛИ *IN VITRO*

Гаврилова Е.Д.^{1,2}, Гойман Е.В.^{1,2}, Держалова А.Ш.¹, Стеценко Д.А.^{1,3},
Буракова Е.А.^{1,3}

¹ ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр “Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук”», г. Новосибирск, Россия

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

³ ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», г. Новосибирск, Россия

Резюме. Контроль за иммунными реакциями, протекающими в организме при трансплантации клеток, тканей или органов, в том числе для снижения негативных последствий при острой форме болезни «трансплантат против хозяина» (РТПХ), развивающейся при пересадке костного мозга, является актуальной задачей на сегодняшний день в клинической практике. В этой связи перспективным направлением является управление иммунологической толерантностью и способность иммунных клеток, в частности дендритных, индуцировать ее в моделях отторжения аллогенного трансплантата, РТПХ и аутоиммунных расстройств. Вот почему важен поиск соединений, способных эффективно активировать или подавлять иммунные клетки и регулировать иммунологическую толерантность. Целью настоящей работы было изучение влияния синтетических иммуносупрессорных олигодезоксинуклеотидов (INH-ODN) на пролиферацию спленоцитов и продукцию IL-12 *in vitro* для отбора наиболее перспективных для дальнейших экспериментов *in vivo*. Для исследования были синтезированы иммуносупрессорные тиофосфатные олигодезоксинуклеотиды (A151, ODN2088 и ODN4084-F), которые включают G-богатые участки, а также их аналоги – тиофосфатные олигодезоксинуклеотиды с мезилфосфорамидными (μ) модификациями по GrG связям (μ -A151, μ -ODN2088 и μ -ODN4084-F). Эффекты химически модифицированных олигонуклеотидов оценивали на модели CpG-стимулированных спленоцитов *in vitro*. Первичный скрининг иммуносупрессорных олигонуклеотидов в культуре *in vitro* по их влиянию на пролиферацию спленоцитов и продукцию IL-12 позво-

Адрес для переписки:

Гаврилова Елена Давидовна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фундаментальной и клинической иммунологии»
630099, Россия, г. Новосибирск,
ул. Ядринцевская, 14, каб. 215.
Тел.: 8 (383) 222-04-38.
Факс: 8 (383) 222-70-28.
E-mail: edav.gavr@mail.ru

Address for correspondence:

Elena D. Gavrilova
Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology
14 Yadrinsevskaya St, Room 215
Novosibirsk
630099 Russian Federation
Phone: +7 (383) 222-04-38.
Fax: +7 (383) 222-70-28.
E-mail: edav.gavr@mail.ru

Образец цитирования:

Е.Д. Гаврилова, Е.В. Гойман, А.Ш. Держалова,
Д.А. Стеценко, Е.А. Буракова «Первичный скрининг
химически модифицированных иммуносупрессорных
олигонуклеотидов на лимфоцитах селезенки в модели
in vitro» // Российский иммунологический журнал, 2025.
Т. 28, № 1. С. 25-32.
doi: 10.46235/1028-7221-16962-PSO

© Гаврилова Е.Д. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

E.D. Gavrilova, E.V. Goiman, A.Sh. Derzalova,
D.A. Stetsenko, E.A. Burakova “Primary screening
of chemically modified immunosuppressive oligonucleotides
using *in vitro* model with spleen lymphocytes”, *Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal*, 2025,
Vol. 28, no. 1, pp. 25-32.
doi: 10.46235/1028-7221-16962-PSO

© Gavrilova E.D. et al., 2025

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16962-PSO

лил выделить несколько наиболее активных соединений и определить характер последовательности с наиболее выраженными иммунодепрессивными свойствами.

Ключевые слова: иммунологическая толерантность, реакция «трансплантат против хозяина», аутоиммунные заболевания, антагонисты TLR9, иммуносупрессорные олигонуклеотиды, регуляторные T-клетки, аналоги ДНК

PRIMARY SCREENING OF CHEMICALLY MODIFIED IMMUNOSUPPRESSIVE OLIGONUCLEOTIDES USING *IN VITRO* MODEL WITH SPLEEN LYMPHOCYTES

Gavrilova E.D.^{a, b}, Goiman E.V.^{a, b}, Derzalova A.Sh.^a, Stetsenko D.A.^{a, c}, Burakova E.A.^{a, c}

^a Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

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

^c Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. Control of immune response following transplantation of cells, tissues, or organs includes reduction negative effects caused by acute graft-versus-host disease (GVHD) developing during bone marrow transplantation, thus being an urgent task of modern clinical practice. In this view, the management of immunological tolerance is a promising approach, in particular, the ability of immune cells (especially, dendritic cells) to induce this response using experimental models of allogeneic transplant rejection, GVHD and autoimmune disorders. Therefore, the search for compounds that can effectively activate or suppress immune cells and regulate immunological tolerance is of importance. The purpose of this work was to study the effects of synthetic immunosuppressive oligodeoxynucleotides (INH-ODN) on *in vitro* splenocyte proliferation and IL-12 production, in order to select the most promising compounds for subsequent *in vivo* experiments. We have tested several immunosuppressive agents: thiophosphate oligodeoxynucleotides (A151, ODN2088 and ODN4084-F), which include G-rich regions, as well as their analogues, i.e., thiophosphate oligodeoxynucleotides with mesylphosphoramidate (μ) modifications at GpG bonds (μ -A151, μ -ODN2088 and μ -ODN4084-F). The effects of chemically modified oligonucleotides were assessed in the *in vitro* model of CpG-stimulated splenocytes, using CpG-ODN SD-101 in its complete thiophosphate (PS) version. Primary *in vitro* screening of immunosuppressive oligonucleotides by their effect on splenocyte proliferation and IL-12 production enabled us to identify the most active compounds and determine the features of sequences with the most pronounced immunosuppressive properties, as well as establish optimal concentrations of the studied oligodeoxynucleotides selected for subsequent *in vivo* studies.

Keywords: immune tolerance, graft-versus-host disease, autoimmune disorders, TLR9 antagonists, immunosuppressive oligonucleotides, regulatory T cells, DNA analogues

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (соглашение № 23-23-00487).

Введение

Управление иммунологической толерантностью является актуальной задачей для решения проблем, связанных с контролем иммунных реакций при трансплантации клеток, тканей или органов, в том числе для контроля острой формы реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ),

являющейся главной причиной смертности при пересадке костного мозга [6]. Так, широкое использование аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеточных клеток ограничено в связи с развитием у 40-60% реципиентов осложнения в виде острой или хронической РТПХ, несмотря на улучшение режимов трансплантации и профилактики осложнений [14]. Современные подходы к профилактике РТПХ основаны на истощении донорских лимфоцитов/Т-клеток или общей иммуносупрессии, что неэф-

фактивно для предотвращения РТПХ. Ключевую роль в патофизиологии РТПХ играют дендритные клетки (ДК). В качестве мощных антиген-презентирующих клеток ДК составляют наиболее гетерогенную клеточную популяцию со значительной клеточной фенотипической и функциональной пластичностью, способностью инициировать развитие как иммунитета, так и толерантности, что позволяет рассматривать их в качестве подходящего объекта для иммунотерапевтического воздействия [4, 7, 8, 9, 12, 13]. Способность ДК индуцировать толерантность привела к терапевтическим исследованиям с использованием этих клеток с целью контроля иммунных реакций на моделях отторжения аллотрансплантата, РТПХ и аутоиммунных расстройств [4].

В последние годы накопилось достаточно разнообразных данных, которые позволяют прогнозировать положительный эффект от использования иммуносупрессорных олигонуклеотидов – антагонистов TLR9 при острой РТПХ. Хотя активные последовательности INH-ODN известны из литературы [5], ключ к возможному клиническому применению данных олигонуклеотидов лежит в их химической модификации с целью обеспечить продолжительный биологический эффект *in vivo*. Впервые полученные нами олигонуклеотиды с мезилфосфорамидными группами (μ -ODN), успешно проявившие себя в роли антисмысловых регуляторов экспрессии генов [10, 11], а также показавшие высокую иммуностимуляторную активность *in vitro* [2], в зависимости от нуклеотидного контекста могут также проявлять иммуносупрессорную активность. Однако выбор только одной из доступных групп – тиофосфатной (PS) или мезилфосфорамидной (μ), как представляется, не в полной мере отвечает задаче создания реально действующего лекарственного препарата. Широко известна токсичность PS-олигонуклеотидов. В то же время μ -ODN для наиболее полного проявления своих преимуществ нуждаются в средствах доставки, таких как катионные липосомы [11]. Выходом из такой ситуации представляется сочетание в одном олигонуклеотиде и тиофосфатных, и мезилфосфорамидных групп. Эта идея недавно нашла свое подтверждение, когда олигонуклеотиды со смешанным набором фосфатных модификаций оказались наиболее активными [3].

Таким образом, представляется обоснованным выбор олигонуклеотидов со смешанным набором фосфатных модификаций (тиофосфатных и мезилфосфорамидных групп) как перспективного объекта исследования в области создания иммуносупрессорных олигонуклеотидов. В данном исследовании ODN с μ -модификациями изучались как потенциальные иммуносупрессоры

in vitro для применения при РТПХ в дальнейшем. Одним из наиболее значимых результатов может стать создание иммуносупрессорных олигонуклеотидов нового типа с более выраженным и пролонгированным эффектом и меньшей токсичностью, чем у традиционных тиофосфатных производных, для использования при развитии острой РТПХ после пересадки костного мозга.

Материалы и методы

Олигонуклеотиды были синтезированы на автоматическом синтезаторе ДНК ASM-800E (ООО «Биоссет», г. Новосибирск, Россия) с использованием стандартных β -цианэтильных амидофосфитов дезоксинуклеозидов и соответствующих полимерных носителей с привитыми 3'-нуклеозидами на основе пористого стекла (CPG). Синтез олигонуклеотидов с модифицированными фосфатными группами проводили с изменением в протоколе амидофосфитного синтеза, включающего замену окисления иодом. Тиофосфаты (PS-ODN) получали реакцией тионирования с использованием Sulfurizing Reagent II (3-((диметиламиноэтилиден)амино)-3H-1,2,4-дигидро-3-тион) (Glen Research, США). Олигодезоксинуклеотиды с мезилфосфорамидными модификациями (μ -ODN) получали реакцией Штаудингера с метансульфонилазидом (мезилазидом) в течение 30 мин, как описано в работе [10].

Очищенные олигонуклеотиды растворяли в 50%-ном ацетонитриле и определяли концентрацию по оптической плотности раствора с помощью УФ-спектрофотометра Implen NanoPhotometer N80 (Implen, Германия). Электрофорез для определения чистоты олигонуклеотидов проводили в 20% ПААГ толщиной 0,4 мм. Визуализация полос проводилась окрашиванием геля красителем Stains-All.

Работа *in vitro* проведена на лимфоцитах селезенки (спленоцитах) мышей линии C57Bl6, самки. Пролиферативную активность лимфоцитов селезенки оценивали с помощью WST-1 cell proliferation assay Kit (Takara Bio USA, США).

Оценка секреции IL-12p70 лимфоцитами селезенки на фоне добавления INH-ODN была проведена иммуноферментным методом (Mouse IL-12p70 ELISA kit, ABclonal, Китай). После совместного культивирования клеток в 96-луночный круглодонный планшет (0,7 × 10⁶ клеток в лунке) с CpG-ODN в концентрации 2,5 мкг/мл в стандартных условиях (T = 37 °C, 5% CO₂), через 2 ч добавляли INH-ODN в концентрациях 2,5 мкг/мл и 5 мкг/мл. Через 24 ч отбирали супернатанты и измеряли уровень цитокинов на мультимодальном планшетном ридере LB 941 TriStar (Berthold Technologies, Германия), при длинах

волн 450 нм и 620 нм согласно рекомендациям производителя.

Модель CpG-стимулированной пролиферации спленоцитов *in vitro* проводили следующим способом: вносили клетки селезенки в 96-луночный плоскодонный планшет ($0,1 \times 10^6$ клеток в лунке) одновременно с CpG-ODN в концентрации 2,5 мкг/мл, через 2 ч добавляли INH-ODN в концентрации от 2,5 мкг/мл до 20 мкг/мл в триплексах. Через 72 ч в каждую лунку культурального планшета вносили 10 мкл WST-1, тщательно перемешивали, инкубировали в CO₂-инкубаторе в течение 4 ч в стандартных условиях (T = 37 °C, 5% CO₂, увлажненная атмосфера). После этого производилась детекция показателей оптического поглощения на мультимодальном планшетном ридере LB 941 TriStar (Berthold Technologies, Германия), при длинах волн 450 нм и 620 нм согласно рекомендациям производителя.

Полученные данные использовали для вычисления процента ингибиции:

$$\text{Аотн} = (1 - (\text{Аоо}/\text{Аок})) \times 100\%,$$

где Аоо – значение оптического поглощения для образца INH-ODN, Аок – значение оптического поглощения CpG-ODN.

Исследования повторяли в трех независимых экспериментах на спленоцитах мышей линии С57В16. Статистическую обработку проводили в пакете прикладных программ Statistica 6.0 для Windows. Данные представлены в виде средних значений. Для выявления значимых значений сравниваемых показателей использовали непараметрические критерии Манна–Уитни. Выявленные различий считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В качестве иммуносупрессорных олигодезоксинуклеотидов (INH-ODNs) были выбраны известные из литературы тиофосфатные олигодезоксинуклеотиды А151 (2), ODN 2088 (5) и ODN4084-F (8). Кроме того, были синтезированы их контроли, описанные в литературе, С151 (3), ODN2088С (7), также содержащие тиофосфатные (PS) межнуклеотидные группы. Иммуносупрессорные ODN выбранные в данной работе (2, 5 и 8) содержат G-богатые участки, и механизм их действия может включать образование G-квадруплекса [5], а как ранее нами показано, G-богатые μ -ODN способны образовывать G-квадруплексы, слабо отличающиеся по устойчивости от нативных [15]. На основе ингибиторных последовательностей А151, ODN2088, ODN4084-F были синтезированы аналоги – тиофосфатные олигодезоксинуклеотиды с мезилфосфорамидными (μ) модификациями по CpG-связям, а именно: олигодезоксинуклеоти-

ды μ -А151 (4), μ -ODN2088 (6) и μ -ODN4084-F (9). Для активации дендритных клеток был синтезирован контрольный иммуностимулирующий CpG-олигодезоксинуклеотид (CpG-ODN) SD-101 (1) в полностью тиофосфатном (PS) варианте.

Таким образом, в исследовании всего были синтезированы и использованы девять олигодезоксинуклеотидов, в том числе восемь из них – иммуносупрессорных: SD-101 PS (1) – 5't_sc_sg_sa_sa_sc_s g_st_st_s c_sg_sa_s a_sc_sg_s t_st_sc_s g_sa_sa_s c_sg_st_s t_sc_sg_s a_sa_st_s3'; А-151(2) – 5't_st_sa_s g_sg_sg_s t_st_sa_s g_sg_sg_s t_st_sa_s g_sg_sg_s t_st_sa_s g_sg_sg_s3'; С-151(3) – 5't_st_sc_s a_sa_sa_s t_st_sc_s a_sa_sa_s t_st_sc_s a_sa_sa_s t_st_sc_s a_sa_sa_s3'; μ -А151(4) – 5't_st_sa_s g^μg^μg^μ t_st_sa_s g^μg^μg^μ t_st_sa_s g^μg^μg^μ t_st_sa_s g^μg^μg^μ3'; ODN2088 (5) – 5't_sc_sc_s t_sg_sg_s c_sg_sg_sg_s a_sg_st_s3'; μ -ODN2088 (6) – 5't_sc_sc_s t_sg^μg^μ c_sg^μg^μg^μ a_sg_st_s3'; ODN2088С(7) – 5't_sc_sc_s t_sg_sa_s g_sc_st_s t_sg_sa_s a_sg_st_s3'; ODN4084-F (8) – 5'c_sc_st_s g_sg_sa_s t_sg_sg_s g_sa_sa_s 3'; μ -ODN4084-F (9) – 5'c_sc_st_s g_sg_sa_s t_sg^μg^μ g_sa_s3'.

Скрининг иммуносупрессорных свойств ингибиторных олигонуклеотидов INH-ODNs на CpG-стимулированную пролиферацию спленоцитов *in vitro* был проведен при добавлении INH-ODNs в дозах от 2,5 до 20 мкг/мл, чтобы варианты соотношений CpG-ODN: INH-ODN составляли 1:1, 1:2, 1:4, 1:8.

Для оценки пролиферативной активности спленоцитов мы выбрали метод с использованием соли тетразолия (WST-1). В отличие от метода с использованием радиоактивной метки (НЗ-тимидин) этот способ оценки является абсолютно безопасным, а в сравнении с другими красителями WST используется без дополнительных стадий при добавлении в культуру клеток и показывает лучшую воспроизводимость и более высокую чувствительность [1]. Данные по сумме трех независимых экспериментов представлены в таблице 1. По измеренной оптической плотности подсчитан уровень ингибиции для каждого из ODNs по формуле, приведенной в материалах и методах, и представлен в процентах.

Как видно из таблицы 1, из всех исследуемых ODN олигонуклеотиды А151 (2) и ODN4084 (8), описанные в литературе, проявляют наиболее сильную ингибицию в интервале от 59% до 66,4%. Во всех дозах подавление достоверное ($p = 0,009$, $p = 0,009$, $p = 0,009$, $p = 0,014$), в случае ODN2 и ($p = 0,009$, $p = 0,047$, $p = 0,009$, $p = 0,014$) в случае ODN8. Мы не наблюдали выраженной зависимости ингибиции от дозы, что видно из того, что дозы в 4 и 8 раз выше дозы для CpG-стимуляции не дают должного эффекта. Таким образом, для дальнейших исследований можно брать дозы INH-ODN в равной концентрации с CpG-ODN (2,5 мкг/мл), или в концентрации, не превышающей двукратное увеличение, т. е. 5 мкг/мл. В случае модифицированного аналога μ -ODN4084-F (9)

уровень ингибции для него сопоставим с уровнем оригинального ODN4084-F (8) и составляет от 58,5% до 64,3%. (табл. 1). Для μ -A151 (4) ингибция почти в два раза ниже, чем у оригинального A151 (2) (рис. 1). Результаты исследования влияния ODN2088 (5) в сравнении с его контролем ODN2088C (7) и модифицированным аналогом μ -ODN2088 (6) на пролиферативную активность CpG-стимулированных спленоцитов представлены в таблице 1. Индекс ингибции оригинального ODN2088 (5) варьировал от 54,2% до 57,7%, что несколько ниже, чем ингибция описанных выше ODN. При этом его модифицированный аналог μ -ODN2088 (6) не показывает такой значимой ингибции (практически в два раза снижена до 31% в случае соотношения 1:1, 1:4, при двукратной дозе ODN – ингибция пролиферативной активности составила 42%, достигает 55,4% только для максимальной восьмикратной дозы (табл. 1). Возможно, эту модификацию целесообразнее использовать в более высоких дозах, чем оригинальный ODN, что требует дополнительных исследований. Оценка пролиферативной активности при совместном культивировании с ODN2088C (7) не дает достоверной ингибции ни в одной из дозировок. ODN7 во всех экспериментах ингибирует только до 20–30%.

В отдельной серии экспериментов был осуществлен скрининг иммуносупрессорных ингибиторных олигонуклеотидов (INH-ODNs) и контролей на секрецию IL-12 CpG-стимулированными спленоцитами *in vitro*. Для оценки секреции IL-12 реше-

но было взять только две дозы ODN 2,5 мкг/мл и 5 мкг/мл (в соотношении 1:1 и 1:2 к CpG-ODN, соответственно), учитывая описанные выше результаты скрининга ODN. Данные измерений (в пкг/мл) представлены на рисунке 1.

Относительно CpG-стимулированных спленоцитов, при пролиферации которых секреция IL-12 достигает 141 пкг/мл, добавление любых (INH-ODN) снижает секрецию IL-12 в той или иной степени. ODN A151 (2) снижает наиболее активно – синтез данного цитокина в этом случае опускается до 50 пкг/мл и 64 пкг/мл при дозах ODN 2,5 мкг/мл и 5 мкг/мл соответственно. При этом нужно отметить, что A-151 (2) дает прирост секреции цитокина на 28% в большей, двойной дозе. В противоположность двойная доза ODN4084-F (8) существенно снижает синтез IL-12 относительно уровня цитокина, синтезируемого при более низких дозах соответствующего ODN, а именно до 35 пкг/мл в дозе 5 мкг/мл и только до 81 пкг/мл в дозе 2,5 мкг/мл. Для его аналога μ -ODN4084-F (9) тенденция к снижению наблюдается незначительная, с 105 пкг/мл до 89 пкг/мл (в дозе 2,5 и 5 мкг/мл соответственно). Модифицированный аналог μ -A151 (4) снижает секрецию IL-12 до 90 пкг/мл и 81 пкг/мл в дозе 2,5 и 5 мкг/мл внесения в культуру соответственно. Таким образом, мезильные аналоги μ -A151 (4) и μ -ODN4084-F (9) в данном эксперименте проявляют несколько более высокую способность к стимуляции синтеза IL-12 по сравнению с исходным соответствующим ODN. В случае

ТАБЛИЦА 1. УРОВЕНЬ ИНГИБИРОВАНИЯ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ В МОДЕЛИ CpG-СТИМУЛИРОВАННЫХ СПЛЕНОЦИТОВ ПРИ ДОБАВЛЕНИИ INH-ODN (%)

TABLE 1. LEVEL INHIBITION OF PROLIFERATIVE ACTIVITY IN THE MODEL OF CpG-STIMULATED SPLENOCYTES WITH THE ADDITION OF INH-ODN (%)

Олигонуклеотиды Oligonucleotide	Соотношение дозы CpG к INH-ODN Dose ratio of CpG to INH-ODN			
	1:1	1:2	1:4	1:8
A 151	64	65	59	66,4
C 151	40,8	36,5	42,7	58,5
μ-A151	39,2	34,6	47	48,1
ODN 2088	54,2	55,8	55,8	57,7
μ-ODN 2088	31	42	31,2	55,4
ODN 2088 C	22	25	4,2	30,4
ODN 4084	65,8	60	62,4	64,3
μ-ODN 4084-F	58,5	62,3	66,2	64,3

Примечание. INH-ODN в дозах 2,5 мкг/мл (1:1), 5 мкг/мл (1:2), 10 мкг/мл (1:4) и 20 мкг/мл (1:8). Полужирным шрифтом выделены ODN с наиболее высоким процентом ингибирования, курсивом – с наиболее низким.

Note. INH-ODN at doses of 2,5 μ g/mL (1:1), 5 μ g/mL (1:2), 10 μ g/mL (1:4) and 20 μ g/mL (1:8). ODNs with the highest percentage of inhibition are in bold, and the lowest in italics.

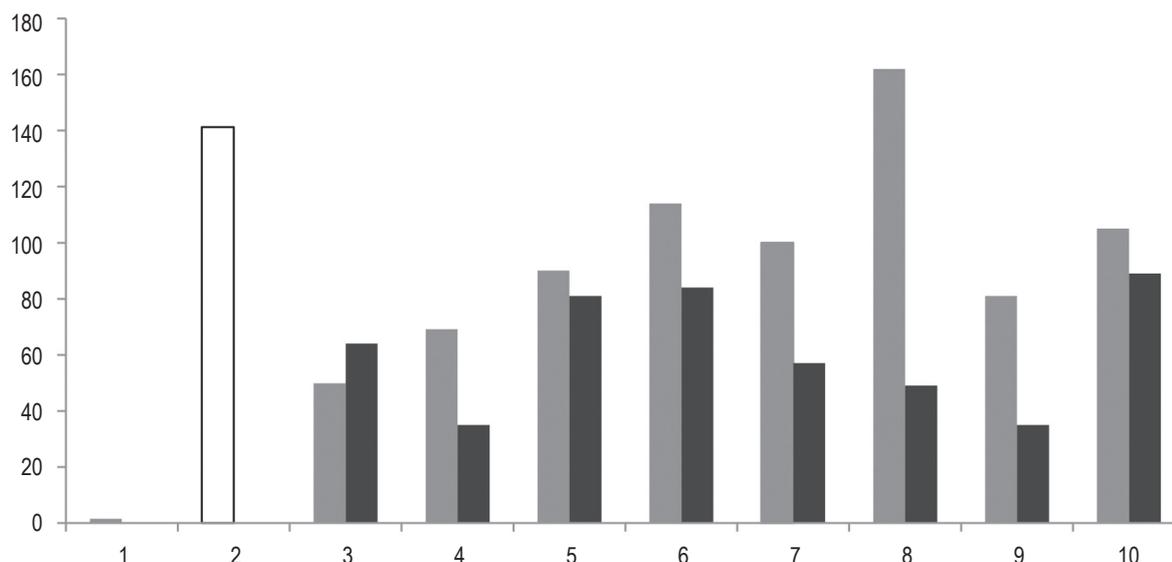


Рисунок 1. Продукция цитокина IL-12p70 CpG-стимулированными лимфоцитами селезенки

Примечание. По оси ординат – концентрация (пкг/мл), по оси абсцисс – группы ODN и соотношение доз CpG: INH-ODN. Светлый столбик – CpG-стимулированные спленоциты без INH-ODN; серый столбик – доза 1:1 (2,5 мкг/мл); черный столбик – доза 1:2 (5 мкг/мл). 1 – необработанный контроль; 2 – CpG; 3 – ODN2; 4 – ODN3; 5 – ODN4; 6 – ODN5; 7 – ODN6; 8 – ODN7; 9 – ODN8; 10 – ODN9.

Figure 1. Production of IL-12p70 cytokine by CpG-stimulated splenic lymphocytes

Note. Y-axis concentration (pg/mL). The abscissa shows ODN groups and the CpG doses ratio: IND-ODN. Light column, CpG-stimulated splenocytes without ODN; gray column, dose 1: 1 (2,5 µg/mL); black column, dose 1: 2 (5 µg/mL). 1, NTC; 2, CpG; 3, ODN2; 4, ODN3; 5, ODN4; 6, ODN5; 7, ODN6; 8, ODN7; 9, ODN8; 10, ODN9.

ODN2088 (5), его модифицированное производное μ -ODN2088 (6) немного активнее снижает синтез IL-12. Для μ -ODN2088 (6) синтез цитокина опускается до 100 пкг/мл и 57 пкг/мл – при дозах ODN 2,5 мкг/мл и 5 мкг/мл, соответственно, против 114 пкг/мл и 84 пкг/мл при добавлении ODN2088 (5).

Наше исследование направлено на разработку новой стратегии индукции иммунологической толерантности путем воздействия на сигнальные пути дендритных клеток с помощью иммуносупрессорных олигонуклеотидов, выступающих как антагонисты TLR9 и обеспечивающих снижение уровня экспрессии ко-стимуляторных молекул CD40, CD80 и CD86, молекул MHC класса II, а также снижение секреции провоспалительных цитокинов IL-1, IL-6 IL-12 и TNF α . В данном исследовании из синтезированных восьми ODN нам необходимо было определить наиболее перспективные *in vitro* для использования их на модели *in vivo* в дальнейшем.

Заключение

В данной работе нами изучены 8 химически модифицированных ингибиторных олигонуклеотидов. Наибольшей супрессорной активностью *in vitro* во всех исследуемых дозах обладают описанные в литературе олигону-

клеотиды с PS-межнуклеотидными группами A151 (2), ODN4084-F (8), а также модифицированный мезильной группой олигонуклеотид μ -ODN4084-F (9). Были выбраны оптимальные концентрация INH-ODN 2,5 или 5 мкг/мл в зависимости от последовательности олигодезоксинуклеотида. Была отработана схема оптимального соотношения иммуностимуляторных CpG-ODN и иммуносупрессорных INH-ODN (1:1, 1:2) при внесении в культуру спленоцитов. Первичный скрининг иммуносупрессорных олигонуклеотидов в культуре *in vitro* по их влиянию на пролиферацию спленоцитов и продукцию IL-12 позволил выделить несколько наиболее активных соединений и определить характер последовательности с наиболее выраженными иммунодепрессивными свойствами, а также установить оптимальные концентрации изучаемых олигодезоксинуклеотидов для дальнейших исследований *in vitro*.

Необходимы дальнейшие исследования в мышиных экспериментальных моделях, в частности на модели острой РТПХ, чтобы проанализировать эффективность μ -модифицированных тиофосфатных иммуносупрессорных ODN на изменения баланса Th1/Th2, что позволит снизить негативные последствия трансплантации и увеличить продолжительность жизни животных.

Список литературы / References

1. Головинская О.В., Байкова М.Л., Алпатова Н.А., Зубков Д.А., Фоменко В.В., Гайдерова Л.А. Сравнительный анализ красителей, используемых при оценке специфической активности лекарственных средств на основе филграстима биологическим методом *in vitro* // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение, 2020. Т. 20, № 3. С. 193-201. [Golovinskaya O.V., Baykova M.L., Alpatova N.A., Zubkov D.A., Fomenko V.V., Gaiderova L.A. Comparative analysis of dyes used in assessing the specific activity of filgrastim-based drugs using a biological method *in vitro*. *BIOPreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie* = *Biopreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*, 2020, Vol. 20, no. 3, pp. 193-201. (In Russ.)]
2. Останин А.А., Леплина О.Ю., Буракова Е.А., Тыринова Т.В., Фокина А.А., Проскурина А.С., Богачев С.С., Стеценко Д.А., Черных Е.Р. CpG олигонуклеотиды с модифицированными фосфатными группами индуцируют созревание миелоидных дендритных клеток человека *in vitro* // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2020. Т.24, № 6. С. 653-660. [Ostanin A.A., Leplina O.Y., Burakova E.A., Tyrinova T.V., Fokina A.A., Proskurina A.S., Bogachev S.S., Stetsenko D.A., Chernykh E.R. Phosphate-modified CpG oligonucleotides induce *in vitro* maturation of human myeloid dendritic cells. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020, Vol. 24, no 6, pp. 653-660. (In Russ.)]
3. Anderson B.A., Freestone G.C., Low A., De-Hoyos C.L., III W.J.D., Østergaard M.E., Migawa M.T., Fazio M., Wan, W.B., Berdeja, A., Scandalis E., Burel S.A., Vickers T.A., Crooke S.T., Swayze E.E., Liang X., Seth P.P. Towards next generation antisense oligonucleotides: mesylphosphoramidate modification improves therapeutic index and duration of effect of gapmer antisense oligonucleotides. *Nucleic Acids Res.*, 2021, Vol. 49, no. 16, pp. 9026–9041.
4. Audiger C., Rahman M.J., Yun T.J., Tarbell K.V., Lesage S. The importance of dendritic cells in maintaining immune tolerance. *J. Immunol.*, 2017, Vol. 198, pp. 2223-2231.
5. Bayik D., Gursel I., Klinman D.M. Structure, mechanism and therapeutic utility of immunosuppressive oligonucleotides. *Pharmacol. Res.*, 2016, Vol. 105, pp. 216-225.
6. Gratwohl A., Baldomero H. Trends of hematopoietic stem cell transplantation in the third millennium. *Curr. Opin. Hematol.*, 2009, Vol. 16, no. 6, pp. 420-426.
7. Haniffa M., Collin M., Ginhoux F. Ontogeny and functional specialization of dendritic cells in human and mouse. *Adv. Immunol.*, 2013, Vol. 120, pp. 1-49.
8. Lutz M.B. Induction of CD4(+) regulatory and polarized effector/helper T cells by dendritic cells. *Immune Netw.*, 2016, no. 16, pp. 13-25.
9. Maldonado R.A., von Andrian U.H. How tolerogenic dendritic cells induce regulatory T cells. *Adv. Immunol.*, 2010, Vol. 108, pp. 111-165.
10. Miroshnichenko S.K., Patutina O.A., Burakova E.A., Chelobanov B.P., Fokina A.A., Vlassov V.V., Altman S., Zenkova M.A., Stetsenko D.A. Mesyl phosphoramidate antisense oligonucleotides as an alternative to phosphorothioates with improved biochemical and biological properties. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2019, Vol. 116, no. 4, pp. 1229-1234.
11. Patutina O.A., Gaponova (Miroshnichenko) S.K., Senkova A.V., Savin I.A., Gladkikh D.V., Burakova E.A., Fokina A.A., Maslov M.A., Shmendel E.V., Wood M.J.A., Vlassov V.V., Altman S., Stetsenko D.A., Zenkova M.A. Mesyl phosphoramidate backbone modified antisense oligonucleotides targeting miR-21 with enhanced *in vivo* therapeutic potency. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2020, Vol. 117, no. 51, pp. 32370-32379.
12. Qian C., Cao X. Dendritic cells in the regulation of immunity and inflammation. *Semin. Immunol.*, 2018, Vol. 35, no. 2, pp. 3-11.
13. Raker V.K., Domogalla M.P., Steinbrink K. Tolerogenic dendritic cells for regulatory T cell induction in man. *Front. Immunol.*, 2015, Vol. 6, 569. doi: 10.3389/fimmu.2015.00569.
14. Socié G., Blazar B.R. Acute graft-versus-host disease: from the bench to the bedside. *Blood*, 2009, Vol. 114, no. 20, pp. 4327-4336.
15. Su Y., Fujii H., Burakova E.A., Chelobanov B.P., Fujii M., Stetsenko D.A., Filichev V.V. Neutral and negatively charged phosphate modifications altering thermal stability, kinetics of formation and monovalent ion dependence of DNA G-Quadruplexes. *Chem. Asian J.*, 2019, Vol. 14, no. 8, pp. 1212-1220.

Авторы:

Гаврилова Е.Д. — к.б.н., заведующая лабораторией экспериментальной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»; старший научный сотрудник лаборатории иммунологии нуклеиновых кислот ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

Authors:

Gavrilova E.D., PhD (Biology), Head, Laboratory of Experimental Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology; Senior Research Associate, Laboratory of Immunology of Nucleic Acids, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Гойман Е.В. — к.м.н., научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»; инженер лаборатории иммунологии нуклеиновых кислот ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр “Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук”», г. Новосибирск, Россия

Держалова А.Ш. — младший научный сотрудник лаборатории иммунологии нуклеиновых кислот ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр “Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук”», г. Новосибирск, Россия

Стеценко Д.А. — к.х.н., заведующий лабораторией химии нуклеиновых кислот ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр “Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук”»; заведующий Российско-франко-японской лабораторией бионанотехнологии ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», г. Новосибирск, Россия

Буракова Е.А. — к.х.н., заведующая лабораторией иммунологии нуклеиновых кислот ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр “Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук”»; научный сотрудник Российско-франко-японской лаборатории бионанотехнологии ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», г. Новосибирск, Россия

Goiman E.V., PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Experimental Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology; Engineer, Laboratory of Immunology of Nucleic Acids, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Derzalova A.Sh., Junior Research Associate, Laboratory of Immunology of Nucleic Acids, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Stetsenko D.A., PhD (Chemistry), Head, Laboratory of Chemistry of Nucleic Acids, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; Head, Russo-Franco-Japanese Laboratory of Bionanotechnology, Faculty of Physics, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation

Burakova E.A., PhD (Chemistry), Head, Laboratory of Immunology of Nucleic Acids, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; Research Associate, Russo-Franco-Japanese Laboratory of Bionanotechnology, Faculty of Physics, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 07.05.2024
Принята к печати 31.07.2024

Received 07.05.2024
Accepted 31.07.2024

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ГРАФЕНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ЛИНИИ JURKAT

Усанина Д.И.^{1,2}, Бочкова М.С.^{1,2}, Тимганова В.П.¹, Заморина С.А.^{1,2}

¹ Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь, Россия

² ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

Резюме. Оксид графена обладает рядом характеристик, благодаря которым он представляет собой перспективный материал, который может быть использован для ряда биомедицинских приложений, в том числе для различных стратегий борьбы с раковыми заболеваниями. Использование наноматериалов позволяет преодолеть многие ограничения, возникающие при применении традиционных химиотерапевтических методов. Для изучения противоопухолевых препаратов широко используются раковые клеточные линии, в том числе Jurkat, представляющая собой клетки острого Т-лимфобластного лейкоза. Ранее было исследовано влияние наночастиц пегилированного оксида графена на ряд характеристик клеток линии Jurkat, включая метаболизм и апоптоз. Цель данного исследования – изучение влияния наночастиц пегилированного оксида графена с различными параметрами (размер, тип поверхностной функционализации, концентрация) на функциональную активность клеток линии Jurkat, оценивая такие параметры, как жизнеспособность, продукция ИЛ-2 и экспрессия CD69 при наличии либо отсутствии внешней активации.

Клетки линии Jurkat в присутствии разных типов наночастиц оксида графена (100-200 нм и 1-5 мкм; функционализация линейным и разветвленным полиэтиленгликолем (ПЭГ)) в концентрациях 5 мкг/мл и 25 мкг/мл культивировали в течение 24 часов. Для оценки параметров клеток в условиях внешней стимуляции были подготовлены аналогичные пробы со всеми типами частиц, в которые дополнительно вносили фитогемагглютинин (ФГА) в концентрации 50 мкг/мл. После этого клетки окрашивали красителем Zombie Aqua и антителами к CD69-APC, после чего анализировали на проточном цитометре CytoFlex S. Определяли процент живых клеток, а также экспрессирующих CD69. Далее в супернатантах культур измеряли уровень ИЛ-2 при помощи иммуноферментного анализа.

Установлено, что низкие концентрации частиц не оказывают цитотоксического воздействия, а в условиях внешней активации способны достоверно повышать жизнеспособность клеток. При исполь-

Адрес для переписки:

Усанина Дарья Игоревна
Институт экологии и генетики микроорганизмов
Уральского отделения Российской академии наук
614081, Россия, г. Пермь, ул. Голева, 13.
Тел.: 8 (342) 280-77-94.
Факс: 8 (342) 280-92-11.
E-mail: usanina_d@mail.ru

Address for correspondence:

Daria I. Usanina
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms,
Ural Branch, Russian Academy of Sciences
13 Golev St
Perm
614081 Russian Federation
Phone: +7 (342) 280-77-94.
Fax: +7 (342) 280-92-11.
E-mail: usanina_d@mail.ru

Образец цитирования:

Д.И. Усанина, М.С. Бочкова, В.П. Тимганова, С.А. Заморина «Влияние наночастиц оксида графена на функциональную активность клеток линии Jurkat» // Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 1. С. 33-38.
doi: 10.46235/1028-7221-16996-IOG

© Усанина Д.И. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

D.I. Usanina, M.S. Bochkova, V.P. Timganova, S.A. Zamorina "Influence of graphene oxide nanoparticles on functional activity of Jurkat cell line", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 1, pp. 33-38.
doi: 10.46235/1028-7221-16996-IOG

© Usanina D.I. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.46235/1028-7221-16996-IOG

зовании функционализации линейным ПЭГом частицы размерами 100–200 нм повышают уровень IL-2 и CD69. В условиях стимуляции наблюдается снижение уровня CD69 (при использовании частиц размерами 1–5 мкм, функционализированных разветвленным ПЭГом, в концентрации 25 мкг/мл).

Данное исследование впервые демонстрирует эффекты, оказываемые на функциональную активность клеток линии Jurkat наночастицами пегилированного оксида графена. Показана зависимость от размеров, концентрации и поверхностной функционализации частиц, а также наличия внешнего активатора.

Ключевые слова: оксид графена, Jurkat, CD69, IL-2, ФГА, жизнеспособность

INFLUENCE OF GRAPHENE OXIDE NANOPARTICLES ON FUNCTIONAL ACTIVITY OF JURKAT CELL LINE

Usanina D.I.^{a, b}, Bochkova M.S.^{a, b}, Timganova V.P.^a, Zamorina S.A.^{a, b}

^a Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

^b Perm State University, Perm, Russian Federation

Abstract. Graphene oxide offers properties that make it a promising material for numerous biomedical applications, including various cancer treatment methods. Nanomaterials may overcome certain limitations of conventional chemotherapy. In cancer research, cell lines like Jurkat (T cell acute lymphoblastic leukemia cells) serve as models for investigating tumor treatment strategies. Previous studies have explored the effect of pegylated graphene oxide nanoparticles on some parameters of Jurkat cells, such as metabolism and apoptosis. This study aims to investigate how pegylated graphene oxide nanoparticles, varying in size, surface functionalization, and concentration, influence the functional activity of Jurkat cells, including cell viability, IL-2 production, and CD69 expression, both spontaneously, and following external activation.

Jurkat cells were cultured with different types of graphene oxide nanoparticles (100–200 nm and 1–5 μm; functionalized with linear and branched polyethylene glycol (PEG)) at concentrations of 5 μg/mL and 25 μg/mL for 24 hours. For assessment of cell parameters under stimulation with different types of particles, phytohemagglutinin (PHA, 50 μg/mL) was used. Subsequently, the cells were stained with Zombie Aqua and CD69-APC antibody, followed by flow cytometry analysis (CytoFlex S) to determine the percentage of viable cells and CD69-expressing cells. The presence of IL-2 in cell culture supernatants was quantified using ELISA tests.

It was observed that nanoparticles at low concentrations did not induce cytotoxic effects; cell viability improved after PHA stimulation. Small particles (100–200 nm) coated with linear PEG induced IL-2 production and CD69 expression. However, 1–5 μm graphene oxide modified with branched PEG at a concentration of 25 μg/mL led to a decrease in CD69 expression following PHA-stimulation.

It was shown for the first time that pegylated graphene oxide nanoparticles affect the functional activity of Jurkat cells. The influence of particles is dependent on the size, concentration, surface functionalization of graphene oxide, and activation by PHA.

Keywords: graphene oxide, Jurkat cells, CD69, IL-2, phytohemagglutinin, cell viability

Работа выполнена в рамках государственного задания «Исследование функциональной активности лейкоцитов и клеток опухолевых линий в условиях хронических инфекций и под влиянием соединений химического и биологического происхождения», номер государственной регистрации темы: 124021900006-5.

Введение

Линия Jurkat представляет собой Т-лимфоцитарную линию клеток, полученную в 1977 году

из периферической крови 14-летнего мальчика с острым лимфобластным лейкозом [11]. Эти клетки широко используются как модель для изучения Т-клеточного рецептора, передачи сигналов, ВИЧ, а также различных методов борьбы со злокачественными опухолями [7]. В настоящее время для лечения различных типов раковых заболеваний используется химиотерапия, однако ее неизбирательная цитотоксичность приводит к нежелательным побочным эффектам, например ингибированию роста некоторых тканей (воло-

сяные фолликулы, клетки желудочно-кишечного тракта, костный мозг) [5]. Кроме того, современные химиотерапевтические методы сталкиваются с такими проблемами, как короткий период полувыведения лекарственных препаратов, их плохая растворимость, а также риск возникновения множественной лекарственной устойчивости [12]. Для преодоления данных трудностей предлагается использовать наноматериалы для таргетной, фотодинамической, фототермической, хемодинамической и сонодинамической терапии [5].

В качестве терапевтического агента при лечении раковых заболеваний возможно использование наночастиц различной природы, в том числе углеродных [10]. Они обладают рядом преимуществ: возможность модификации параметров (форма, размер, функционализация поверхности), загрузки лекарственных препаратов для таргетного и продолжительного воздействия, хорошая биосовместимость и пр. [10]. Некоторые из углеродных наноматериалов, такие как нанотрубки и графен, демонстрируют способность к интенсивному поглощению излучения в ближнем инфракрасном диапазоне, что позволяет использовать их для фототермической абляции опухолей [9].

Ранее было изучено воздействие наночастиц пегелированного оксида графена (ОГ) на клетки линии Jurkat в системе прижизненного наблюдения Cell-IQ [1], а также получены данные о метаболизме данной клеточной линии под влиянием ОГ [2]. **Целью данной работы** является продолжение изучения данной темы, а именно – исследование влияния наночастиц пегелированного ОГ с различными параметрами (размер, концентрация, тип поверхностной функционализации) на жизнеспособность, экспрессию CD69 и продукцию клетками Jurkat IL-2 в условиях спонтанной и стимулированной активации.

Материалы и методы

Для исследования были использованы наночастицы оксида графена (Ossila Ltd, Великобритания). До проведения процедур функционализации размеры частиц составляли 100-200 нм (ОГм) и 1-5 мкм (ОГб). Функционализация полиэтиленгликолем (ПЭГ) осуществлялась для снижения цитотоксических эффектов частиц. Для сравнения использовали 2 разновидности ПЭГ: линейный (П-ОГ) и разветвленный (рП-ОГ). Процедура модификации описана в предыдущей работе [8].

В качестве объекта исследования использовали иммортализованную клеточную линию Jurkat 5332 (Российская коллекция клеточных культур позвоночных Института цитологии РАН,

Санкт-Петербург). Клетки культивировали в среде RPMI-1640 с добавлением 2 мМ L-глутамин, 100 Ед пенициллина, 0,1 мг/мл стрептомицина, 2,5 мкг/мл амфотерицина В и 10% инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки. Клетки в концентрации 1 млн/мл помещали в 96-луночный планшет ($n = 4$) и добавляли различные виды пегелированного оксида графена в концентрациях 5 мкг/мл и 25 мкг/мл. Контролем служили клетки без добавления частиц. Для оценки параметров клеток в условиях внешней стимуляции были подготовлены аналогичные пробы со всеми типами частиц ОГ, в которые дополнительно вносили фитогемагглютинин (ФГА) в концентрации 50 мкг/мл.

Клетки культивировали в течение 24 часов во влажной атмосфере CO₂-инкубатора (37 °С, 5% CO₂). После окончания инкубации оценивали жизнеспособность и активацию клеток путем окрашивания красителем Zombie Aqua (BioLegend, США) и антителами к CD69-APC (Miltenyi Biotec, Германия). Для оценки адгезии наночастиц измеряли флуоресценцию в канале для PE-Cy7 ($\lambda_{ex} = 488$ нм; фильтр: 720-840 нм). Анализ проводили с использованием проточного цитофлуориметра CytoFlex S (Beckman Coulter, США). Полученные результаты обрабатывали с использованием программы KALUZA (Beckman Coulter, США).

После окончания инкубации в супернатантах культур оценивали уровень IL-2 методом иммуноферментного анализа (АО «Вектор-Бест», Россия).

Статистическую обработку данных проводили в программе GraphPad Prizm 8.0.1. Для оценки использовали тест Фридмана и post-hoc тест Данна для множественных сравнений. Результаты представляли в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей – Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}). Уровень значимости принимали за 0,05.

Результаты и обсуждение

Фитогемагглютинин (ФГА) используется для экзогенной активации Т-клеток путем связывания гликопротеинов на Т-клеточном рецепторе [4]. При активации клетки линии Jurkat экспрессируют CD69 и продуцируют IL-2 [6].

Полученные в ходе исследования данные по влиянию наночастиц пегелированного ОГ на жизнеспособность клеток линии Jurkat, экспрессию ими CD69 и продукцию IL-2 представлены в таблице 1.

При отсутствии внешней активации клеток обнаружено, что наночастицы пегелированного оксида графена в концентрации 5 мкг/мл не оказывали статистически значимого влияния на

ТАБЛИЦА 1. ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ГРАФЕНА НА ПАРАМЕТРЫ КЛЕТОК ЛИНИИ JURKAT
(n = 4; Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}))

TABLE 1. EFFECT OF GRAPHENE OXIDE NANOPARTICLES ON JURKAT CELL LINE'S PARAMETERS (n = 4; Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}))

Тип наночастиц Type of nanoparticles	Концентрация наночастиц Concentration of nanoparticles	Без ФГА Without PNA	С ФГА With PNA
Жизнеспособность, % / Viability, %			
Контроль / Control		97,49 (95,76-99,21)	92,05 (91,38-93,90)
П-ОГм / P-GOs	5 мкг/мл 5 µg/mL	97,63 (95,91-99,36)	93,64 (92,22-94,39)
рП-ОГм / bP-GOs		97,43 (95,70-99,15)	94,90 (93,22-96,58)
П-ОГб / P-GOb		97,53 (95,81-99,26)	95,15** (94,68-98,57)
рП-ОГб / bP-GOb		97,54 (95,82-99,27)	95,35 (92,91-97,78)
П-ОГм / P-GOs	25 мкг/мл 25 µg/mL	97,34 (95,62-99,06)	90,47 (88,96-92,14)
рП-ОГм / bP-GOs		97,55 (95,83-99,28)	94,54 (92,86-96,21)
П-ОГб / P-GOb		97,46 (95,73-99,18)	94,83 (94,35-96,74)
рП-ОГб / bP-GOb		96,40 (94,20-99,34)	95,37* (93,68-97,05)
Экспрессия CD69, % / CD69 expression, %			
Контроль / Control		3,45 (1,69-4,41)	80,64 (69,23-83,48)
П-ОГм / P-GOs	5 мкг/мл 5 µg/mL	4,18 (3,47-8,08)	76,58 (66,99-82,12)
рП-ОГм / bP-GOs		8,20 (4,03-10,48)	74,70 (64,13-77,33)
П-ОГб / P-GOb		6,07 (5,04-11,74)	73,71 (64,48-79,04)
рП-ОГб / bP-GOb		2,64 (1,30-3,37)	72,65 (62,37-75,21)
П-ОГм / P-GOs	25 мкг/мл 25 µg/mL	9,73* (8,08-15,60)	75,77 (66,28-81,25)
рП-ОГм / bP-GOs		3,76 (1,85-4,80)	77,08 (66,17-79,80)
П-ОГб / P-GOb		7,77 (6,45-15,02)	79,72 (69,74-85,49)
рП-ОГб / bP-GOb		1,91 (1,58-3,69)	64,85** (55,67-67,13)
IL-2, нг/мл / IL-2, ng/mL			
Контроль / Control		1,33 (1,11-1,55)	90,40 (89,08-91,71)
П-ОГм / P-GOs	5 мкг/мл 5 µg/mL	4,50* (4,40-4,52)	53,84 (52,08-58,23)
рП-ОГм / bP-GOs		2,01 (1,47-2,84)	80,84 (78,70-84,16)
П-ОГб / P-GOb		1,86 (1,45-2,13)	91,66 (90,25-93,37)
рП-ОГб / bP-GOb		1,57 (1,38-1,62)	97,71 (92,88-99,90)
П-ОГм / P-GOs	25 мкг/мл 25 µg/mL	4,74** (4,64-4,80)	59,69 (52,52-62,47)
рП-ОГм / bP-GOs		1,57 (1,38-1,62)	100,80 (99,56-101,80)
П-ОГб / P-GOb		1,86 (1,67-1,91)	87,57 (87,47-87,96)
рП-ОГб / bP-GOb		2,01 (1,69-2,62)	98,78 (96,98-104,70)

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

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

жизнеспособность и активацию клеток, а также продукцию ими IL-2.

В предыдущих исследованиях было показано, что при суточном сокультивировании наночастиц ОГ с клетками Jurkat низкие концентрации (5 мкг/мл) подавляют рост, не оказывая при этом влияния на метаболизм, жизнеспособность и апоптоз клеток [1, 2, 3].

При увеличении концентрации наночастиц ОГ до 25 мкг/мл наблюдается достоверное повышение флуоресценции в канале для PE-Cy7 (вне зависимости от размера частиц и их функционализации); ранее были получены данные об увеличении числа высокогранулярных клеток под воздействием наночастиц ОГ, что подтверждает данные об адгезии либо интернализации клетками наночастиц [1]. При этом лишь частицы размерами 100-200 нм, покрытые линейным ПЭГом (П-ОГм), приводили к усилению экспрессии CD69 и секреции IL-2 клетками.

При изучении метаболизма клеток линии Jurkat было установлено, что именно эти частицы стимулировали базальный гликолиз, снижая при этом интенсивность компенсаторного [2]. На фоне повышения уровня IL-2 и CD69 это может свидетельствовать о чрезмерной активации клеток. Кроме того, в присутствии высоких концентраций частиц (25 мкг/мл) клетки образуют агрегаты, а прирост клеточной массы снижается [1].

В условиях стимуляции клеток ФГА наблюдается повышение жизнеспособности клеток при добавлении крупных (1-5 мкм) частиц: покрытых линейным ПЭГом в концентрации 5 и покрытых разветвленным ПЭГом в концентрации 25 мкг/мл.

Несмотря на присутствие в культурах ФГА, выступающего в качестве активатора, не было обнаружено воздействия наночастиц ОГ на секрецию IL-2. Кроме того, экспрессия CD69 достоверно изменилась лишь при воздействии одного типа частиц (рП-ОГб в концентрации 25 мкг/мл), однако произошло ее понижение. Вероятно, наночастицы ОГ способны нивелировать стимулирующее действие ФГА.

Полученные данные свидетельствуют о том, что наночастицы ОГ в концентрации 5 мкг/мл не являются токсичными для леток линии Jurkat, а в условиях внешней стимуляции оказывают положительное влияние на жизнеспособность. Ранее нами также была показана биосовместимость частиц в низких дозах в отношении здоровых Т-клеток [3].

В то же время высокие концентрации ОГ приводят к активации клеток. Примечательно, что тип ПЭГ на поверхности частиц, а также их размеры имели значение.

Заключение

Итак, нами впервые изучено влияние наночастиц пегилированного ОГ на жизнеспособность клеток линии Jurkat, экспрессию ими CD69 и продукцию IL-2 в условиях спонтанной и стимулированной активации. Установлена зависимость оказываемых эффектов от размера, типа поверхностной функционализации и концентрации частиц, а также наличия внешней стимуляции. Полученные данные углубляют наше понимание воздействия частиц на раковые клетки, что поможет в разработке новых стратегий борьбы с опухолями.

Список литературы / References

1. Заморина С.А., Храмов П.В., Раев М.Б., Тимганова В.П., Бочкова М.С., Нечаев А.И., Шунькин Е.О., Хазиахматова О.Г., Малащенко В.В., Литвинова Л.С. Взаимодействие наночастиц оксида графена с клетками линии Jurkat в системе Cell-IQ // Доклады Российской академии наук. Науки о жизни, 2021. Т. 501, № 1. С. 573-579. [Zamorina S.A., Khrantsov P.V., Rayev M.B., Timganova V.P., Bochkova M.S., Nechaev A.I., Shunkin E.O., Khaziakhmatova O.G., Malaschenko V.V., Litvinova L.S. Graphene oxide nanoparticles interaction with Jurkat cell line in Cell-IQ system. *Doklady Rossiyskoy akademii nauk. Nauki o zhizni = Reports of the Russian Academy of Sciences. Life Sciences*, 2021, Vol. 501, no. 1, pp. 438-443. (In Russ.)]
2. Тимганова В.П., Власова В.В., Бочкова М.С., Шардина К.Ю., Ужвийук С.В., Храмов П.В., Раев М.Б., Заморина С.А. Влияние пегилированного оксида графена на метаболизм клеток линии Jurkat // Доклады российской академии наук. Науки о жизни, 2023. Т. 512, № 1. С. 288-291. [Timganova V.P., Vlasova V.V., Bochkova M.S., Shardina K.Yu., Uzhviyuk S., Khrantsov P.V., Rayev M.B., Zamorina S.A. Effect of PEGylated graphene oxide nanoparticles on the metabolism of jurkat cells. *Doklady Rossiyskoy akademii nauk. Nauki o zhizni = Reports of the Russian Academy of Sciences. Life Sciences*, 2023, Vol. 512, pp. 288-291. (In Russ.)]
3. Усанина Д.И., Ужвийук С.В., Заморина С.А. Влияние наночастиц оксида графена на апоптоз Т-лимфоцитов и клеток линии Jurkat // Российский иммунологический журнал, 2023. Т. 26, № 3. С. 409-414. [Usanina D.I., Uzhviyuk S.V., Zamorina S.A. Effect of graphene oxide nanoparticles on apoptosis of T-lymphocytes and Jurkat cells. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2023, Vol. 26, no. 3, pp. 409-414. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-9635-EOG.
4. Alhallak K., Sun J., Muz B., Jeske A., O'Neal J., Ritchey J.K., Achilefu S., DiPersio J.F., Azab A.K. Liposomal phytohemagglutinin: In vivo T-cell activator as a novel pan-cancer immunotherapy. *J. Cell. Mol. Med.*, 2022, Vol. 26, no. 3. pp. 940-944.

5. Cheng Z., Li M., Dey R., Chen Y. Nanomaterials for cancer therapy: current progress and perspectives. *J. Hematol. Oncol.*, 2021, Vol. 14, no. 1, 85. doi: 10.1186/s13045-021-01096-0.
6. Duong C.P., Westwood J.A., Yong C.S., Murphy A., Devaud C., John L.B., Darcy P.K., Kershaw M.H. Engineering T cell function using chimeric antigen receptors identified using a DNA library approach. *PLoS One*, 2013, Vol. 8, no. 5, e63037. doi: 10.1371/journal.pone.0063037.
7. Gioia L., Siddique A., Head S.R., Salomon D.R., Su A.I. A genome-wide survey of mutations in the Jurkat cell line. *BMC Genomics*, 2018, Vol. 19, no. 1, 334. doi: 10.1186/s12864-018-4718-6.
8. Khramtsov P., Bochkova M., Timganova V., Nechaev A., Uzhviyuk S., Shardina K., Maslennikova I., Rayev M., Zamorina S. Interaction of graphene oxide modified with linear and branched PEG with monocytes isolated from human blood. *Nanomaterials*, 2022, Vol. 12, no. 1, 126. doi: 10.3390/nano12010126.
9. Liu Z., Robinson J.T., Tabakman S.M., Yang K., Dai H. Carbon materials for drug delivery & cancer therapy. *Mater. Today*, 2011, Vol. 14, no. 7-8, pp. 316-323.
10. Priyam J., Saxena U. Therapeutic applications of carbon nanomaterials in renal cancer. *Biotechnol. Lett.*, 2023, Vol. 45, no. 11-12, pp. 1395-1416.
11. Schneider U., Schwenk H.-U., Bornkamm G. Characterization of ebv-genome negative null and t cell lines derived from children with acute lymphoblastic leukemia and leukemic transformed non-hodgkin lymphoma. *Int. J. Cancer*, 1977, Vol. 19, no. 5, pp. 621-626.
12. Wu Q., Yang Z., Nie Y., Shi Y., Fan D. Multi-drug resistance in cancer chemotherapeutics: mechanisms and lab approaches. *Cancer Lett.*, 2014, Vol. 347, no. 2, pp. 159-166.

Авторы:

Усанина Д.И. — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук; аспирант кафедры микробиологии и иммунологии биологического факультета ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

Бочкова М.С. — к.б.н., научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук; старший преподаватель кафедры микробиологии и иммунологии биологического факультета ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

Тимганова В.П. — к.б.н., научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь, Россия

Заморина С.А. — д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук; профессор кафедры микробиологии и иммунологии биологического факультета ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

Authors:

Usanina D.I., Junior Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Postgraduate Student, Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Biology, Perm State University, Perm, Russian Federation

Bochkova M.S., PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Cellular Immunology and Nanobiotechnology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Senior Lecturer, Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Biology, Perm State University, Perm, Russian Federation

Timganova V.P., PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Cellular Immunology and Nanobiotechnology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Zamorina S.A., PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Cellular Immunology and Nanobiotechnology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Professor, Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Biology, Perm State University, Perm, Russian Federation

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИММУНОТРОПНЫХ СВОЙСТВ НОВОГО БИОСОЕДИНЕНИЯ

Забокрицкий Н.А.

ФГБНУ «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 пробиотическими штаммами 59Т и 60Т сапрофитных микроорганизмов рода *Bacillus subtilis*. Данные штаммы представляются весьма перспективными для конструирования гепатопротекторов – новых лекарственных кандидатов – в создании и разработке нового фармакологического класса препаратов гепатопротекторов. В ранее проведенных исследованиях были показаны безопасность и гепатопротективное действие вышеуказанных биологически активных соединений. Сочетанное применение данных соединений обеспечивает потенцированный фармакологический эффект. Кроме того, имеются существенные основания полагать о наличии влияния изучаемых биологически активных веществ на звенья иммунной системы. 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 гуморальные факторы иммунной системы. Целью исследования было изучить влияние сочетанного применения БАВ, продуцируемых микроорганизмами сенной палочки на показатели гуморального иммунитета у лабораторных животных с острым токсическим гепатитом. Экспериментальную модель токсического поражения воспроизводили на белых лабораторных крысах при внутрижелудочном многократном введении четыреххлористого углерода. Препаратом сравнения был зарегистрированный гепатопротекторный препарат – урсосан. Действие БАВ на гуморальные показатели иммунной системы оценивали по следующим факторам: иммуноглобулиновый титр М, G, A, E, количественные показатели α -интерферона и циркулирующих иммунных комплексов. В результате выполненных исследований получены достоверные данные об увеличении количества всех типов иммуноглобулинов, индукцию эндогенного альфа-интерферона и антителобразующих клеток в условиях острого токсического поражения печени, а по истечении 15 суток под действием БАВ зарегистрировано достоверное возвращение всех измененных показателей до первоначальных значений факторов гуморального иммунитета. Полученные данные позволяют рекомендовать изучаемое биосоединение для создания новых лекарственных кандидатов микробиологического происхождения гепатопротекторных средств с иммуностропным действием.

Ключевые слова: пробиотики, гуморальный иммунитет, иммуностропная активность, метаболиты, сенная палочка, токсический гепатит, гепатопротекторы

Адрес для переписки:

Забокрицкий Николай Александрович
ФГБНУ «Институт иммунологии и физиологии»
Уральского отделения Российской академии наук
620049, Россия, г. Екатеринбург,
ул. Первомайская, 106.
Тел.: 8 (343) 374-00-70.
E-mail: pharmusma@rambler.ru

Address for correspondence:

Nikolay A. Zabokritskiy
Institute of Immunology and Physiology,
Ural Branch, Russian Academy of Sciences
106 Pervomayskaya St
Yekaterinburg
620049 Russian Federation
Phone: +7 (343) 374-00-70.
E-mail: pharmusma@rambler.ru

Образец цитирования:

Н.А. Забокрицкий «Экспериментальная оценка иммуностропных свойств нового биосоединения» // Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 1. С. 39-42.
doi: 10.46235/1028-7221-16959-EAO

© Забокрицкий Н.А., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

N.A. Zabokritskiy “Experimental assessment of the immunotropic properties of the new biocomplund”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 1, pp. 39-42.
doi: 10.46235/1028-7221-16959-EAO

© Zabokritskiy N.A., 2025

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16959-EAO

EXPERIMENTAL ASSESSMENT OF THE IMMUNOTROPIC PROPERTIES OF THE NEW BIOCOMPLUND

Zabokritskiy N.A.

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

Abstract. The article concerns topical issues of studying the new biocompound within a consortium of biologically active substances (BAS). These compounds (metabiotics) are produced by probiotic strains 59T and 60T of saprophytic microorganisms which belong to *Bacillus subtilis* genus. These strains seem to be quite promising for the design of hepatoprotectors, the new drug candidates, for creation and development of a new class of hepatoprotector drugs. Previous studies have shown safety and hepatoprotective effects of abovementioned BAS. It is important to note that the combined use of these compounds provides a potentiated pharmacological effect. Moreover, there are significant reasons to believe that these BAS may influence different compartments of immune system. In this regard, it seemed appropriate to perform experimental assessment of the immunotropic effect of BAS in laboratory animals using a model of toxic liver damage with carbon tetrachloride, in order to confirm the effect on the humoral factors of immunity. The purpose of the present study is to provide experimental comparative assessment of humoral immunity indexes upon combined usage of biologically active substances in acute toxic liver damage. The experimental model of toxic damage was reproduced in white laboratory rats with repeated intragastric administration of carbon tetrachloride. The comparison drug was ursosan, a registered hepatoprotective drug. The following factors of humoral immunity were measured to assess the effects of biologically active substances: immunoglobulins M, G, A, quantitative indices of α -interferon and circulating immune complexes (CIC). As a result of the studies performed, we obtained reliable data showing increased amounts of all Ig classes as well as induction of endogenous α -interferon and antibody-forming cells under the conditions of acute toxic liver damage. Meanwhile, a significant restoration of the humoral immunity indices to initial values was registered after the 15-day treatment with biologically active substances. The data obtained allow us to recommend the studied BAS for creation of new drug candidates of microbial origin, hepatoprotective agents with immunotropic effects.

Keywords: probiotics, humoral immunity, immunotropic activity, metabolites, Bacillus subtilis, toxic hepatitis, hepatoprotectors

Работа выполнена в рамках госзадания ИИФ УрО РАН (тема № 122020900136-4).

Введение

На сегодняшний день известно, что медицинские иммунобиологические препараты (МИП) являются весьма 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 иммунокоррекции. При этом фармакологическая активность и эффективность метабиотиков не уступает самим пробиотикам.

Целесообразно отметить, что сегодня активно ведется поиск новых направлений использования метабиотиков, например иммунопротекторов, иммунокорректоров, гепатопротекторов, иммуно-

модуляторов и др. [8]. В проведенных нами ранее исследованиях гепатопротекторов — перспективных биологически активных соединениях, продуцируемых микроорганизмами сенной палочки, были установлены гепатопротективные свойства. Кроме того, метаболиты штаммов 59Т и 60Т проявляли свойства индуктора α -интерферона. В связи с этим, представляется целесообразным выполнить исследования по оценке иммуностропных свойств на показатели гуморального иммунитета метаболитов данных штаммов в условиях острого токсического повреждения печени.

Цель исследования — изучить влияние сочетанного применения БАД, продуцируемых микроорганизмами сенной палочки на характеристики гуморального статуса у лабораторных животных с острым токсическим гепатитом.

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: полисахаридный и белковый комплексы 210-320 г/л; протеины и аминокислоты (свободные) – 110-190 г/л; гексозамин – 50-60 г/л; основания пуриновые и пиримидиновые (аденин 21-22 г/л; гуанин 3-4 г/л; цитозин г/л; тимин 4-6 г/л; урацил 14-16 г/л); витамины и витаминоподобные соединения: пиридоксин 2,0 г/л; рибофлавин 2,2 г/л; ферментные комплексы: ферменты: протеолитические 800-890 ед/г; амилитические 900-950 ед/г; антибиотики и антибиотикоподобные вещества 0,09-0,4%; другие соединения < 5%.

Воспроизведение модели острого токсического поражения печени осуществляли на лабораторных животных – белые крысы линии Wistar. В течение двухнедельного срока интрагастрально белым лабораторным животным вводили четыреххлористый углерод (40%-ный раствор расчета 2,0 dg.kg⁻¹). 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 каждом. 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 иммуотропного действия проводили по таким показателям, как: иммуноглобулиновый титр М, G, A, E, количественные показатели α -интерферона и циркулирующих иммунных комплексов.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с применением компьютерных программ Microsoft Office Excel 2019 и Statistica 23.0. Использовали метод дисперсионного анализа (ANOVA). Нормальность распределения полученных данных оценивали по методу Колмогорова–Смирнова. Применяли параметрический критерий Фишера в зависимости от нормальности распределения данных, также непараметрический W-критерий Вилкоксона при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследования установлено, что у животных с воспроизведенной мо-

делью острого токсического поражения печени на третьи сутки наблюдали возникновение иммуновоспалительного синдрома, о чем свидетельствует увеличении всех исследуемых параметров гуморального иммунитета. Так, следует отметить, что содержание иммуноглобулинов E увеличилось в 2,2 раза, количественный показатель IgM повысился в 4 раза, а титр циркулирующих иммунных комплексов – в 2,9 раза. При этом в экспериментальной группе отмечали индукцию эндогенного интерферона в 3,1 раза по сравнению с контрольной группой.

На четвертые сутки после начала введения исследуемых образцов в группах лабораторных животных, которым назначали начало достоверного снижения количественных показателей IgE, IgM и СІС. При этом установлено увеличение таких факторов, как IgG и IgA, а также повышение индукции α -интерферона 74,8±3,3 нг/л (группа I) 24,1±1,5 нг/л (группа V). В группе, где животные получали препарат сравнения (группа IV), данный показатель составлял 25,6±1,4 нг/л и достоверно коррелировал с группой V. Дальнейшего достоверного снижения во всех экспериментальных группах титра СІС не регистрировали.

На пятнадцатые сутки эксперимента установлена регрессия исследуемых показателей гуморального иммунитета во всех группах лабораторных животных. Однако титр IgM превышал в 4 раза, чем аналогичный показатель в контроле (группа VI). При этом остальные количественные параметры также оставались высокими. Кроме того, титр α -IFN в группе I составлял 59,1±2,7 нг/л по сравнению с группой IV 24,3±1,4 нг/л и группой V – 22,6±1,2 нг/л.

На двадцать четвертые сутки эксперимента в группе I отмечали возвращение показателей гуморального иммунитета до первоначальных величин. В группах II и III зарегистрирована регрессия всех показателей гуморального иммунитета до верхних границ нормальных величин только на тридцатые сутки. Следует отметить, что в группе IV сохранялся повышенный титр циркулирующих иммунных комплексов.

Заключение

В результате проведенных исследований получены достоверные данные об увеличении количества всех типов иммуноглобулинов, индукцию эндогенного альфа-интерферона и антителобразующих клеток в условиях острого токсического поражения печени, а по истечении 15 суток под действием БАВ зарегистрировано достоверное возвращение всех измененных показателей до первоначальных значений факторов гуморального иммунитета.

Таким образом, на основании выполненных исследований можно сделать заключение о потенцированном действии изучаемого БАД (метаболизмы 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. 22, № 2. 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. 22, no. 2, 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, № 5. С. 85-86. [Zabokritskiy N.A. Principal directions of scientific research on the justification and development of new immunobiological drugs. *Ekspierimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya = Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology*, 2018, Vol. 81, no. 5, pp. 85-86. (In Russ.)]
4. Забокрицкий Н.А., Сарапульцев П.А. Экспериментальное обоснование возможности создания нового метаболического препарата // Российский иммунологический журнал, 2018, Т. 12 (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. 12 (21), no. 3, pp. 295-300. (In Russ.)] doi: 10.31857/S102872210002398-2.
5. Забокрицкий Н.А. Фармакологическая оценка иммуностропной активности нового гелевого метаболита 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., Дарбеева 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 ФГБНУ «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, Yekaterinburg, Russian Federation

Поступила 22.04.2024
Принята к печати 31.07.2024

Received 22.04.2024
Accepted 31.07.2024

ПОЛУЧЕНИЕ КОЛОНИЕФОРМИРУЮЩИХ КЛЕТОК ИЗ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА И ОЦЕНКА ЧИСТОТЫ ПОПУЛЯЦИИ МЕТОДОМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ

Торгунакова Е.А., Матвеева В.Г., Антонова Л.В.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»,
г. Кемерово, Россия

Резюме. Колониеформирующие эндотелиальные клетки (ECFCs, КФЭК) — редкая популяция циркулирующих эндотелиальных клеток-предшественников (EPC), которая представляет интерес для тканевой инженерии, клеточной терапии и изучения патогенеза заболеваний, связанных с нарушением функции эндотелия. Реализация данных направлений подразумевает использование чистых культур эндотелиальных колониеформирующих клеток, которые могут быть получены из мононуклеарной фракции периферической крови человека. Достаточно точным методом оценки фенотипа и чистоты клеточной культуры может являться проточная цитометрия.

Цель данного исследования заключалась в том, чтобы получить популяцию колониеформирующих эндотелиальных клеток, и с помощью метода проточной цитометрии подтвердить фенотип и оценить чистоту популяции.

Для получения КФЭК использовали гепаринизированную донорскую кровь из периферической вены. Выделяли мононуклеарную фракцию на градиенте плотности Histopaque 1077. Полученные клетки культивировали в полной питательной среде EGM-2 MV с 5% FBS. На 11-е, 15-е и 18-е сутки культивирования клетки снимали трипсином, часть из которых отбирали для анализа на проточном цитометре, а оставшиеся переносили в планшет для дальнейшего культивирования до достижения 70%-ной конfluence. Фенотип полученных колоний оценивали с помощью метода проточной цитометрии. Пробоподготовку цельной периферической крови, мононуклеарной фракции и культуры клеток проводили по двум панелям флуорохром-меченых моноклональных антител. Методом фазово-контрастной микроскопии визуально оценивали рост колоний. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0.

До 9-х суток колонии клеток не были визуально обнаружены. При дальнейшем культивировании формировались разрастающиеся колонии типа «булыжной мостовой». С помощью проточной цито-

Адрес для переписки:

Торгунакова Евгения Александровна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»
650002, Россия, г. Кемерово, б-р имени академика
Л.С. Барбараша, 6.
Тел.: 8 (913) 400-09-96.
E-mail: evgeniyatorgunakova@mail.ru

Address for correspondence:

Evgeniya A. Torgunakova
Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular
Diseases
6 Barbarash Blvd
Kemerovo
650002 Russian Federation
Phone: +7 (913) 400-09-96.
E-mail: evgeniyatorgunakova@mail.ru

Образец цитирования:

Е.А. Торгунакова, В.Г. Матвеева, Л.В. Антонова
«Получение колониеформирующих клеток из
крови человека и оценка чистоты популяции
методом проточной цитометрии» // Российский
иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 1. С. 43–48.
doi: 10.46235/1028-7221-16987-IOC

© Торгунакова Е.А. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

E.A. Torgunakova, V.G. Matveeva, L.V. Antonova “Isolation
of colony-forming cells from human blood and evaluation
of population purity by flow cytometry”, *Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal*, 2025,
Vol. 28, no. 1, pp. 43–48.
doi: 10.46235/1028-7221-16987-IOC

© Torgunakova E.A. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16987-IOC

метрии детектировали две популяции: CD45⁺ и CD45⁻. В ходе исследования было выявлено, что при увеличении длительности культивирования популяция CD45⁺ уменьшалась, а CD45⁻ прогрессивно увеличивалась, что может быть связано с постепенным вытеснением клеток гемопоэза эндотелиальными колониеформирующими клетками.

В результате нашего исследования, обнаруженная популяция CD45⁺ соответствовала фенотипу клеток линии гемопоэза, тогда как популяция CD45⁻ соответствовал эндотелиальный фенотип – CD31⁺CD309⁺vWF⁺CD146⁺. К 18-м суткам степень чистоты культуры составляла 97,6%.

Ключевые слова: прочная цитометрия, эндотелиальные колониеформирующие клетки

ISOLATION OF COLONY-FORMING CELLS FROM HUMAN BLOOD AND EVALUATION OF POPULATION PURITY BY FLOW CYTOMETRY

Torgunakova E.A., Matveeva V.G., Antonova L.V.

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

Abstract. Endothelial colony-forming cells (ECFCs) represent a rare population of circulating endothelial progenitor cells (EPCs), which is of interest for tissue engineering, cell therapy, and studying disorders associated with endothelial dysfunction. Advances in this field imply isolation and pure culturing of endothelial colony-forming cells, which may be obtained from the mononuclear fraction of human peripheral blood. Flow cytometry may provide rather accurate phenotyping and checking purity of the cell cultures. The aim of this study was to obtain a population of colony-forming endothelial cells evaluated by flow cytometry in order to confirm the phenotype and assess the purity of the cell populations. Heparinized donor blood from peripheral vein was used to obtain ECFCs. The mononuclear cell fraction was isolated on a Histopaque 1077 density gradient. The obtained cells were cultured in complete nutrient medium EGM-2 MV with 5% FBS. On the 11th, 15th and 18th days of culture, the cells were detached with trypsin. Some cell aliquots were taken for flow cytometry, and the remaining cells were transferred to a plate for further cultivation until 70% confluency was reached. The phenotype of colonies obtained was evaluated by flow cytometry. Sample preparation of whole peripheral blood, mononuclear fraction and cell culture was performed using two panels of fluorochrome-labeled monoclonal antibodies. Colony growth was visually evaluated by phase-contrast microscopy. Statistical processing of the obtained results was performed using the applied program package “Statistica 6.0”. Up to 9 days, the cell colonies were not detectable visually. During further cultivation, the proliferating colonies of the “cobblestone” type were formed. Two populations were detected by flow cytometry: CD45⁺ and CD45⁻. In the course of our study, it was revealed that, with increasing cultivation terms, a decrease of CD45⁺ population was observed, along with progressive increase of CD45⁻ cells, which may be associated with the gradual displacement of hematopoiesis cells by endothelial colony-forming cells. As a result of our study, the detected CD45⁺ population had a phenotype of hematopoietic lineage cells, whereas the CD45⁻ population exhibited endothelial phenotype: CD31⁺CD309⁺vWF⁺CD146⁺. By 18 days, the purity of culture reached 97.6%.

Keywords: flow cytometry, endothelial colony-forming cells

Введение

Колониеформирующие эндотелиальные клетки (Endothelial Colony Forming Cells, ECFCs, КФЭК) представляют собой редкую популяцию поздних эндотелиальных клеток-предшественников (EPC), обладающих высоким пролиферативным потенциалом. В отличие от ранних эндотелиальных прогениторных клеток (eEPCs),

КФЭК способны непосредственно встраиваться в эндотелиальный слой поврежденных кровеносных сосудов, участвуя в процессе их регенерации. К тому же ранние эндотелиальные прогениторные клетки имеют гемопоэтическое происхождение, тогда как КФЭК считаются гомогенной популяцией истинных эндотелиальных прогениторов [1]. Они экспрессируют эндотелиальные маркеры, такие как CD31, VE-кадгерин, фактор

Виллебранда, CD146, VEGFR2, но не экспрессируют гемопоэтические маркеры CD45 и CD14. Эндотелиальные клетки, наряду с их прогениторами, играют важную роль в регуляции иммунного ответа, выступая в качестве активных участников острых или хронических воспалительных процессов, кроме того, они являются фагоцитирующими клетками [2].

КФЭК представляют интерес для многих приложений. КФЭК способны сформировать эндотелиальный монослой, который придаст функциональные свойства, улучшит тромбозостойкость и исход имплантации биоинженерных сердечно-сосудистых протезов [3, 4]. Научные исследования подтверждают, что клеточная терапия эндотелиальными прогениторными клетками ишемизированных тканей (например, при ишемической болезни сердца, инсульте и заболеваниях периферических артерий) способна улучшать процессы репарации, активизировать ангиогенез и снизить фиброзирование зоны повреждения [5, 6]. КФЭК могут выступать ценной моделью для изучения процессов ангиогенеза, эндотелиальной дисфункции и функционирования эндотелиального монослоя в норме и при ряде патологических состояний [7]. Реализация этих направлений подразумевает использование чистых культур эндотелиальных колониеформирующих клеток.

Эндотелиальные колониеобразующие клетки могут быть получены из моноклеарной фракции периферической крови, что подтверждается работами научных групп Medina, Colombo и др. [8, 9]. Проточная цитометрия является методом выбора для определения фенотипа полученной популяции клеток и оценки ее чистоты.

Материалы и методы

Материалом для получения КФЭК служила донорская кровь из периферической вены, забранная с гепарином. Моноклеарную фракцию (MNF) выделяли на градиенте плотности Histopaque 1077 (Sigma-Aldrich, США) в соответствии с инструкцией производителя. Полученные из интерфазы клетки дважды промывали избытком PBS с последующим центрифугированием, суспензию клеток ресуспендировали в полной питательной среде EGM-2 MV (Lonza, Швейцария) с 5% FBS (HyClone, США), 2% пенициллина/стрептомицина (Invitrogen, США) и 0,25 г/мл амфотерицина В (Invitrogen, США) и вносили на покрытые коллагеном культуральные планшеты 25 см².

Культивирование проводили в инкубаторе при 37 °С, 5% CO₂. В первые 2 суток среду меняли

ежедневно для удаления неадгезированных клеток и дебриса, в последующем через 2-3 суток. На 11-е, 15-е и 18-е сутки культивирования клетки снимали трипсином. Часть клеток отбирали для анализа, оставшиеся переносили в планшет, покрытый фибронектином, и далее продолжали культивирование в полной питательной среде до формирования 70% конфлюентной культуры, после чего выполняли пассаж. Визуальный контроль за ростом культуры осуществляли ежедневно. Образцы оценивали методом фазово-контрастной микроскопии на инвертированном микроскопе CarlZeiss.

Проточная цитометрия

Клетки отмывали PBS и окрашивали конъюгированными моноклональными антителами фирмы BioLegend (если не указано иное): флуоресцеин-изотиоцианат (FITC) – (CD34, vWF (abcam)); фикоэритрин (PE) – (KDR (BD)); аллоцикоцианин (APC) – (CD133, CD31); фикоэритрин – цианин 7 (PC7) CD146; Krome Orange (KroOr) CD45 (BC).

Пробоподготовка цельной периферической крови, MNF и культуры клеток проводили согласно протоколам фирм-производителей по двум панелям:

1. CD34, KDR, CD146, CD133, CD31, CD45.
2. CD146, vWF.

В пробу вносили от 2 мкл до 20 мкл соответствующих антител с дальнейшей инкубацией 30 мин при комнатной температуре в защищенном от света месте. Контролем служило внесение в образец равного объема антител соответствующего изотипического контроля, дальнейшую пробоподготовку выполняли аналогично основной пробе. Пробоподготовка крови дополнительно включала этапы лизирования эритроцитов раствором VersaLyse (BC) и отмывки образца PBS. При окрашивании внутриклеточного белка vWF выполняли фиксацию и пермеабиллизацию клеток с применением набора IntraPrep (BC). Окрашенные пробы ресуспендировали в PBS и анализировали на проточном лазерном цитометре CytoFlex (США) в программе CytExpert. Настройку прибора для каждой панели выполняли с использованием контрольных проб, окрашенных соответствующими изотипами, дальнейший анализ всех образцов на единых настройках прибора. Для исключения дуплетов клеток и дебриса выделяли целевой гейт по FSC-A и FSC-H с переносом на гистограмму FSC/SSC для последующих этапов гейтирования. Оценивали процент позитивных клеток в популяции для каждого целевого маркера.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Характер распределения в выборках оценивали при помощи критерия Колмогорова–Смирнова. Данные, имеющие нормальное распределение, представлены как среднее и стандартное отклонение, а в случае распределения, отличного от нормального – в виде медианы и квартилей (Me ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$) %). Статистическую значимость различий между двумя независимыми группами в зависимости от характера распределения оценивали с помощью t-критерия Стьюдента или U-критерия Манна–Уитни. Для проверки про-

стых гипотез использовали критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса. Достоверными считали различия при уровне значимости $p < 0.05$.

Результаты и обсуждение

До 8 суток клетки на культуральных планшетах визуально не детектировались. Через 10–18 дней зарегистрировано начало образования колоний с типичной морфологией «булыжной мостовой» (рис. 1А, Б). Пролиферирующие колонии сливались между собой, постепенно вытесняя остальные слабо адгезированные гемопоэтические клетки (рис. 1В).

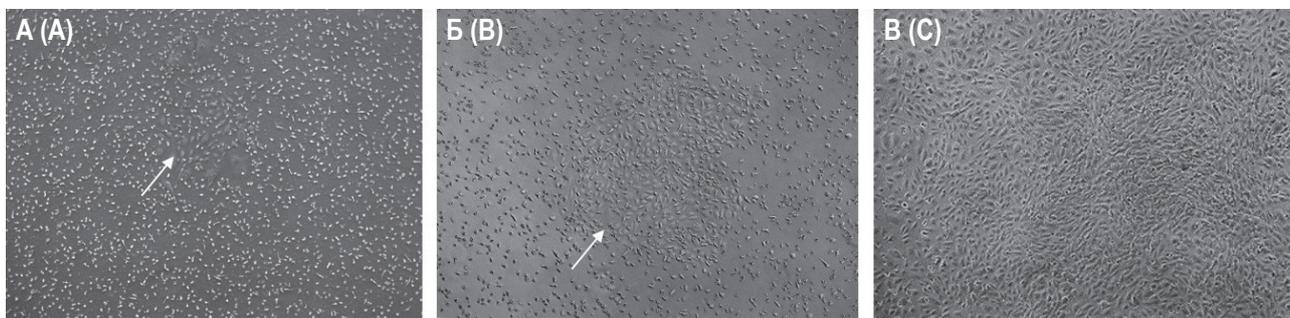


Рисунок 1. Типичный вид культур мононуклеаров периферической крови на 11-е сутки (А), 15-е сутки (Б) и 18-е сутки (В) культивирования (фазово-контрастная микроскопия, об $\times 5$)

Figure 1. Typical appearance of peripheral blood mononuclear cultures on day 11 (A), day 15 (B) and day 18 (C) of culturing (phase-contrast microscopy, vol $\times 5$)

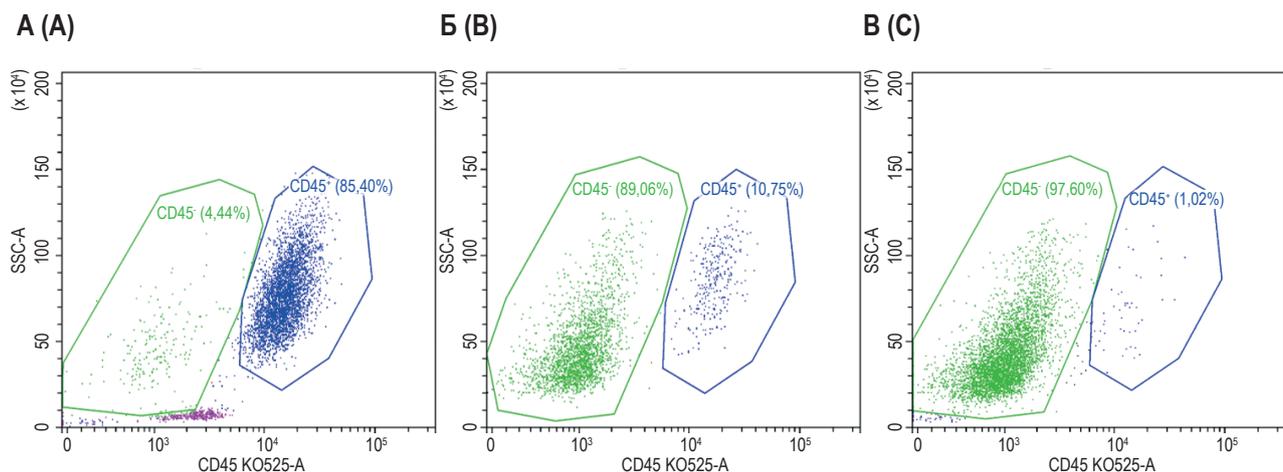


Рисунок 2. Типичные гистограммы распределения популяций CD45⁺ и CD45⁻ в культуре в зависимости от суток культивирования: А – 11 суток культивирования; Б – 15 суток культивирования; В – 18 суток культивирования (проточная цитометрия)

Figure 2. Typical histograms of CD45⁺ and CD45⁻ population distribution in culture depending on the day of cultivation: A, 11 days of cultivation; B, 15 days of cultivation; C, 18 days of cultivation (flow cytometry)

ТАБЛИЦА 1. ФЕНОТИП ПОПУЛЯЦИИ CD45⁻ НА РАЗЛИЧНЫХ СРОКАХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ (ПРОТОЧНАЯ ЦИТОМЕТРИЯ)

TABLE 1. PHENOTYPE OF CD45⁻ POPULATION AT DIFFERENT CULTURING TIMES (FLOW CYTOMETRY)

Популяция Population	Время культивирования Cultivation Period	CD34	CD309	CD146	CD133	CD31	vWF
CD45 ⁻	7-11-е сут. 7-11 days	0,1 0,0-2,6	83,3 75,0-84,1	93,7 88,9-98,3	0 0,0-0,5	94 93,6-94,4	89,9 85,1-96,5
	13-19 сут. 13-19 days	9,1 1,9-26,7	78,8 61,8-88,7	99,6 97,1-99,9	0 0,0-0,7	99,2 98,4-99,9	95,5 90,7-98,3

Проточная цитометрия культуры детектировала присутствие двух популяций клеток: CD45⁺ и CD45⁻. С увеличением суток культивирования количество клеток популяции CD45⁺ снижалось, тогда как количество клеток CD45⁻ прогрессивно увеличивалось, тем самым вытесняя клетки CD45⁺, популяцию, которая относится к клеткам гемопоэза. К 18-м суткам степень чистоты культуры по CD45⁻ составляла 97,6% (рис. 2).

Фенотип популяции CD45⁻ характеризовался максимальной экспрессией CD31⁺ (99-100% позитивных клеток), CD144⁺ (99-100% позитивных клеток) и vWF⁺ (89,9-95,5%), присутствием молекул CD34⁺ в 0,1-9,1% клеток и отсутстви-

ем линейного гемопоэтического маркера CD45 (табл. 1).

Заключение

Таким образом, в процессе культивирования мононуклеарной фракции периферической крови была получена популяция клеток CD45⁻, которая обладала фенотипом эндотелиальных клеток (CD146⁺CD31⁺CD144⁺CD309⁺vWF⁺CD34^{+/+}CD133⁻). После 10 суток культивирования наблюдалась естественная очистка культуры от гемопоэтических клеток (CD45⁺), к 18-м суткам чистота культуры достигала 96,7%.

Список литературы / References

1. Banno K., Yoder M.C. Tissue regeneration using endothelial colony-forming cells: promising cells for vascular repair. *Pediatr. Res.*, 2018, Vol 83, no. 1-2, pp. 283-290.
2. Colombo E., Calcaterra F., Cappelletti M., Mavilio D., Della Bella S. Comparison of fibronectin and collagen in supporting the isolation and expansion of endothelial progenitor cells from human adult peripheral blood. *PLoS One*, 2013, Vol. 8, no. 6, e66734. doi: 10.1371/journal.pone.0066734.
3. Go E., Yoder M.C. Identification of endothelial cells and their progenitors. *Methods Mol. Biol.*, 2021, no. 2206, pp. 27-37.
4. Lin Y., Weisdorf D.J., Solovey A., Hebbel R.P. Origins of circulating endothelial cells and endothelial outgrowth from blood. *J. Clin. Invest.*, 2000, Vol. 105, no. 1, pp. 71-77.
5. Medina R.J., Barber C.L., Sabatier F., Dignat-George F., Melero-Martin J.M., Khosrotehrani K., Ohneda O., Randi A.M., Chan J.K.Y., Yamaguchi T., van Hinsbergh V.W.M., Yoder M.C., Stitt A.W. Endothelial progenitors: a consensus statement on nomenclature. *Stem Cells Transl. Med.*, 2017, Vol. 6, no. 5, pp. 1316-1320.
6. Medina R.J., O'Neill C.L., Sweeney M., Guduric-Fuchs J., Gardiner T.A., Simpson D.A., Stitt A.W. Molecular analysis of endothelial progenitor cell (EPC) subtypes reveals two distinct cell populations with different identities. *BMC Med. Genomics*, 2010, Vol. 3, 18. doi: 10.1186/1755-8794-3-18.

7. Melero-Martin J.M., Khan Z.A., Picard A., Wu X., Paruchuri S., Bischoff J. In vivo vasculogenic potential of human blood-derived endothelial progenitor cells. *Blood*, 2007, Vol. 109, no. 11, pp. 4761-4768.
8. Moubarik C., Guillet B., Youssef B., Codaccioni J.L., Piercecchi M.D., Sabatier F., Lionel P., Dou L., Foucault-Bertaud A., Velly L., Dignat-George F., Pisano P. Transplanted late outgrowth endothelial progenitor cells as cell therapy product for stroke. *Stem Cell Rev. Rep.*, 2011, Vol. 7, no. 1, pp. 208-220.
9. Pober J.S., Sessa W.C. Evolving functions of endothelial cells in inflammation. *Nat. Rev. Immunol.*, 2007, Vol. 7, no. 10, pp. 803-815.

Авторы:

Торгунакова Е.А. — младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

Матвеева В.Г. — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

Антонова Л.В. — д.м.н., заведующая лабораторией клеточных технологий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

Authors:

Torgunakova E.A., Junior Research Associate, Laboratory of Cell Technologies, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

Matveeva V.G., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Cell Technologies, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

Antonova L.V., PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory of Cell Technologies, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

Поступила 15.05.2024
Отправлена на доработку 20.05.2024
Принята к печати 31.07.2024

Received 15.05.2024
Revision received 20.05.2024
Accepted 31.07.2024

ОСОБЕННОСТИ ЛЕГКОГО И СРЕДНЕТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ COVID-19 У НЕИММУНИЗИРОВАННЫХ ЛИЦ

Бердюгина О.В.

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

Резюме. Известно, что тяжесть течения COVID-19 ассоциирована с различными факторами. Целью исследования стал сравнительный анализ особенностей легкого и среднетяжелого течения инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2 в отсутствие иммунизации против новой коронавирусной инфекции с изучением возможности бинарной классификации.

Произведен анализ клинико-лабораторных данных 59 медицинских работников, переболевших легкой (группа № 1) или среднетяжелой (группа № 2) формой COVID-19. Полученные результаты проанализировали с использованием программ STATISTICA и GraphPad Prism.

Установлено, что при среднетяжелом течении болезни пациенты были на 12% старше, что численно соответствовало различию в 5 лет ($p = 0,019$). У мужчин в 1,5 раза чаще наблюдалось среднетяжелое течение болезни ($p = 0,000$). Часть респондентов использовала неспецифические иммунопрофилактические средства. Установлено, что прием колекальциферола (Colecalciferolum), риамиловира/триазаверина не влияли на тяжесть течения болезни, а применение IFN α -2b человеческого рекомбинантного для предупреждения инфицирования вирусом SARS-CoV-2 было ассоциировано с последующим легким течением COVID-19 ($p = 0,000$). Ухудшало течение новой коронавирусной инфекции одновременное применение нескольких неспецифических иммунопрофилактических средств, в частности аскорбиновой кислоты, соединений цинка, умифеновира гидрохлорида моногидрата ($p = 0,000$). Более высокий индекс массы тела также был ассоциирован с тяжелым течением болезни ($p = 0,034$).

Проведенный анализ показал, что: решена задача бинарной классификации больных с легким и среднетяжелым течением COVID-19 в отсутствие вакцинации (точность распознавания – 90,9%, $p < 0,0001$); риск среднетяжелого течения COVID-19 у неиммунизированных лиц обусловлен более высоким возрастом, гендерной принадлежностью к мужскому полу, повышенным индексом массы тела, наличием гипертонической болезни (угроза возрастает на 70%), одновременным использованием сразу нескольких неспецифических иммунопрофилактических средств для предотвращения

Адрес для переписки:

Бердюгина Ольга Викторовна
ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии»
Уральского отделения Российской академии наук
620049, Россия, г. Екатеринбург,
ул. Первомайская, 106.
Тел.: 8 (904) 988-43-82.
E-mail: berolga73@rambler.ru

Address for correspondence:

Olga V. Berdiugina
Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch,
Russian Academy of Sciences
106 Pervomayskaya St
Yekaterinburg
620049 Russian Federation
Phone: +7 (904) 988-43-82.
E-mail: berolga73@rambler.ru

Образец цитирования:

О.В. Бердюгина «Особенности легкого и среднетяжелого течения COVID-19 у неиммунизированных лиц» // Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 1. С. 49-56.
doi: 10.46235/1028-7221-16976-FOM

© Бердюгина О.В., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

O.V. Berdiugina "Factors of mild and moderate course of COVID-19 in non-immunized persons", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 1, pp. 49-56.
doi: 10.46235/1028-7221-16976-FOM

© Berdiugina O.V., 2025

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16976-FOM

инфицирования; наличие аллергических реакций и частота сезонных ОРВИ не оказывают влияния на тяжесть течения COVID-19; с легким течением инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, ассоциировано профилактическое использование IFN α -2b человеческого рекомбинантного.

Ключевые слова: тяжесть течения COVID-19, SARS-CoV-2, IFN α -2b человеческого рекомбинантный, риамиловир, постковидный синдром

FACTORS OF MILD AND MODERATE COURSE OF COVID-19 IN NON-IMMUNIZED PERSONS

Berdiugina O.V.

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

Abstract. Severity of COVID-19 is known to be related to various factors. The aim of the study was to perform comparative analysis of the features associated with mild and moderate course of infection caused by the SARS-CoV-2 virus in the absence of immunization against a new coronavirus infection, and looking for opportunities of binary classification.

We performed the analysis of clinical and laboratory data of 59 medical staff members who had a mild (group No. 1), or moderate (group No. 2) forms of COVID-19. The results were analyzed using STATISTICA and GraphPad Prism programs.

We have found that the patients with moderate course of the disease were 12% older, which numerically corresponded to a difference of 5 years ($p = 0.019$). Males were 1.5 times more likely to have a moderate course of the disease ($p = 0.000$). A part of respondents used non-specific immunoprophylactic agents. It was found that the intake of cholecalciferol, riamilovir/triazaverin did not affect the severity of disease, and the usage of human recombinant interferon alpha-2b in order to prevent SARS-CoV-2 virus infection was associated with subsequent mild course of COVID-19 ($p = 0.000$). More severe clinical course of COVID-19 was associated with simultaneous usage of several nonspecific immunoprophylactic agents, in particular, ascorbic acid, zinc compounds, umifenovir hydrochloride monohydrate ($p = 0.000$). Higher body mass index was also associated with a severe course of the disease ($p = 0.034$).

The analysis showed that the issue of binary classification for the patients with mild and moderate COVID-19 in the absence of vaccination may be resolved (recognition accuracy is 90.9%, $p < 0.0001$). The risk of moderate COVID-19 in non-immunized individuals is influenced by advanced age, gender factor, increased body mass index, presence of hypertension (70% hazard increase), as well as simultaneous use of several non-specific immunoprophylactic agents to prevent infection. Presence of allergic reactions and frequency of seasonal acute respiratory viral infections do not affect the severity of COVID-19. Prophylactic usage of human recombinant IFN α -2b is associated with milder course of infection caused by the SARS-CoV-2 virus.

Keywords: COVID-19, severity, SARS-CoV-2, human recombinant IFN α -2b, riamilovir, post-COVID syndrome

Работа выполнена по теме государственного задания НИР ФГБУН «ИИФ» УрО РАН № гос. регистрации 122020900136-4, руководитель — академик РАН А.В. Черешнев.

Введение

Известно, что тяжесть течения коронавирусной инфекции 2019 года (COVID-19), как и другие особенности болезни: риск возникновения жизнеугрожающих состояний, специфика лече-

ния, подходы к реабилитации — ассоциированы с различными факторами [11]. Скрининговые и многоцентровые исследования, метаанализы и систематические обзоры последних лет показали необходимость всестороннего изучения проблем, формирующих общий пул знаний о пандемии COVID-19 и ее отдаленных последствий.

Ретроспективное изучение особенностей течения COVID-19 разной степени тяжести в отсутствие специфической иммунопрофилактики может представлять интерес для сравнительного

исследования с данными, полученными при использовании вакцин [9]. **Целью данной работы** стал сравнительный анализ особенностей легкого и среднетяжелого течения инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2 в отсутствие иммунизации против новой коронавирусной инфекции с изучением возможности бинарной классификации.

Материалы и методы

Международные и российские нормативные документы (Хельсинкская декларация Всемирной медицинской ассоциации и ее последующие редакции, документы Организации Объединенных Наций, касающиеся прав пациента, Приказ МЗ РФ № 266 от 19.06.2003 «Об утверждении Правил клинической практики в Российской Федерации») легли в основу решения этического комитета медицинского учреждения для принятия решения об одобрении исследования, в котором жизнь и здоровье пациентов не должны были подвергаться опасности. Респонденты, участвовавшие в имперсональном научном исследовании, добровольно подписали форму информированного согласия. Экспертное заключение о возможности открытого опубликования данных утверждено членами экспертной комиссии ФГБУН ИИФ УрО РАН.

Ввиду преимуществ контролируемого исследования, изучены клиничко-лабораторные данные медицинских работников ГАУЗ СО «ДГКБ № 9» г. Екатеринбурга, однократно переболевших новой коронавирусной инфекцией в период с апреля по ноябрь 2020 года – всего 59 человек. Возбудитель заболевания – вирус SARS-CoV-2, дельта-штамм – циркулирующий вариант первой волны пандемии COVID-19 на территории Свердловской области. Все случаи верифицированы молекулярно-генетическим методом: биологический материал рото- и носоглотки исследован путем выполнения полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (реагенты ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора). Инструментальное подтверждение диагноза включало метод компьютерной томографии. Специфическая иммунопрофилактика COVID-19 отсутствовала, вакцин к новой коронавирусной инфекции не было. Для предупреждения заражения, согласно действовавшим на момент исследования временных методических рекомендаций МЗ РФ [4], использованы средства индивидуальной защиты (маски, щитки, очки, перчатки), меры физико-химического воздействия (дезинфицирующие растворы, ультрафиолетовое облучение), а также средства неспеци-

фической иммунопрофилактики (умифеновира гидрохлорида моногидрат, IFN α -2b человеческий рекомбинантный, аскорбиновая кислота, ацетат цинка, колекальциферол (Colecalciferolum), риамовир/триазаверин). Инфицирование происходило преимущественно в условиях выполнения профессиональной деятельности – оказания неотложной медицинской помощи больным, предварительно не обследованным на наличие рибонуклеиновой кислоты или антигенов вируса SARS-CoV-2. Изучены анкеты, заполненные медицинскими работниками, касающиеся преморбидного статуса (наличия заболеваний сердечно-сосудистой, дыхательной, эндокринной, иммунной систем, имеющих зависимость), характера течения новой коронавирусной инфекции (синдромы, терапия) и ее постморбидных осложнений (постковидный синдром, обострение хронических и возникновение новых заболеваний). Оценка постковидных изменений произведена через 2-3 месяца после перенесенного COVID-19.

Среди обследованных пациентов отсутствовали реанимационные больные, согласно действующей классификации [5] тяжесть перенесенной инфекции была легкой или среднетяжелой. В целях сравнительного анализа особенностей течения COVID-19 в отсутствие специфической иммунопрофилактики в группу № 1 были отнесены 33 человека (55,9% от всех обследованных) с легким течением новой коронавирусной инфекции (без пневмонии), в группу № 2 – 26 человек (44,1% от всех респондентов) со среднетяжелым течением болезни – перенесших вирусную пневмонию.

Медианный возраст и его межквартильный размах в группе № 1 был 42 (32-50) года, в группе № 2 – 47 (42-59) лет. В группе № 1 было 4 представителя мужского пола (12,1% от численности группы), в группе № 2 – 5 человек (19,2% от состава группы № 2). Медианный индекс массы тела и его межквартильный размах для группы № 1 составил 24,9 (22,7-28,4) кг/м², для группы № 2 – 29,4 (24,3-31,4) кг/м².

В группе № 1 было 11 врачей (33,3% от числа людей в группе), 18 медицинских сестер (54,5%), 2 санитарки (6,1%) и 2 человека иного персонала (6,1%). Группа № 2 включала 6 специалистов с высшим медицинским образованием (23,1%), 14 – со средним медицинским образованием (53,9%) и 6 человек вспомогательного персонала (23,0%). Отличий по медицинскому статусу среди сравниваемых групп не выявлено. Медианный стаж работы в медицинском учреждении и его

межквартильный размах для группы № 1 составил 10 (3-22) лет, для группы № 2 – 27 (9-34) лет.

Результаты синтеза антител вследствие инфицирования вирусом SARS-CoV-2 определены с использованием реагентов фирмы АО «Вектор-Бест», Новосибирск: SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-Бест и SARS-CoV-2-IgM-ИФА-Бест.

Статистические исследования проведены с использованием программы STATISTICA v. 12.5.192.5 (StatSoft Inc., США) в операционной среде Windows 10 (Microsoft Corp., США). По причине неподтверждения в ряде случаев гипотезы о нормальности распределения данных, для унификации представления сведения в целом, применены непараметрические методы. Для численного описания результатов использованы медиана (Me) и межквартильный размах ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$) данных, в ряде случаев – процент (%) числа случаев от общего количества человек в группе. Сравнение групп № 1 и № 2 произведено с применением критериев Манна–Уитни (Mann–Whitney U Test), Колмогорова–Смирнова (Kolmogorov–Smirnov Test) и Вальда–Вольфовица (Wald–Wolfowitz Runs Test), уровень значимости (p-value) – p_{m-w} , p_{k-s} и p_{w-w} соответственно для этих трех критериев считался приемлемым при величине менее 0,05. Для построения ROC-кривой использована программа GraphPad Prism v. 8.0.2 (GraphPad Software Inc., США).

Результаты и обсуждение

Сравнительная оценка групп базировалась на клинико-лабораторных данных.

Установлено, что возраст респондентов имел значимые отличия. Так при среднетяжелом течении болезни пациенты были на 12% старше, что численно соответствовало различию в 5 лет (Mann–Whitney U Test: $Z = -2,344$, $p_{m-w} = 0,019$). Стаж работы по специальности, по-видимому, связанный с возрастом показатель также отличался. На момент заболевания пациенты группы № 2 работали по специальности до 16,5 лет дольше, что было в 2,7 раза больше, чем в группе № 1 (Mann–Whitney U Test: $Z = -2,847$, $p_{m-w} = 0,004$). Для двух сравниваемых групп были установлены гендерные отличия, а именно: у мужчин в 1,5 раза чаще наблюдалось среднетяжелое течение болезни (Wald–Wolfowitz Runs Test: $Z = -4,286$, $p_{w-w} = 0,000$).

В каждой группе были респонденты, действовавшие в соответствии с временными методическими рекомендациями [4], используя неспецифические иммунопрофилактические средства.

Например, среди пациентов с легким течением болезни таких было 39,4%, а со среднетяжелым течением инфекции – 53,8%. Статистически значимых различий между когортами в использовании препаратов выявлено не было. Установлено, что прием колекальциферола, риамиловира/триазаверина не влияли на тяжесть течения последующей инфекции, а применение IFN α -2b человеческого рекомбинантного для предупреждения инфицирования вирусом SARS-CoV-2 было ассоциировано с последующим легким течением COVID-19 (Wald–Wolfowitz Runs Test: $Z = -5,352$, $p_{w-w} = 0,000$). Ухудшало течение новой коронавирусной инфекции одновременное применение нескольких неспецифических иммунопрофилактических средств, в частности аскорбиновой кислоты, соединений цинка, умифеновира гидрохлорида моногидрата (Wald–Wolfowitz Runs Test: $Z = -5,753$, $p_{w-w} = 0,000$).

Более высокий индекс массы тела также был ассоциирован с тяжелым течением болезни: у переболевших новой коронавирусной инфекцией с пневмонией показатель был на 18% больше, чем у больных с легким течением COVID-19 (Mann–Whitney U Test: $Z = -2,122$, $p_{m-w} = 0,034$). Наличие гипертонической болезни на момент инфицирования на 70% увеличивало риск среднетяжелого течения COVID-19 (Wald–Wolfowitz Runs Test: $Z = -3,220$, $p_{w-w} = 0,001$); в группе № 1 было 18,2% респондентов, имевших данное заболевание, в группе № 2 – таких было уже 30,8%.

Изучение дополнительных сведений о наличии заболеваний сердечно-сосудистой, дыхательной, эндокринной, иммунной систем до инфицирования вирусом SARS-CoV-2 не позволило установить новых данных о различии групп № 1 и № 2, вместе с тем удалось обнаружить, что наличие аллергических заболеваний в анамнезе не влияло на тяжесть инфекционного процесса, так же как и частота заболеваемости сезонными ОРВИ в годы, предшествующие пандемии COVID-19.

Одним из использованных диагностических методов был инструментальный. Согласно результатам компьютерной томографии, изменений тканей легких в группе № 1 выявлено не было, а при среднетяжелом течении инфекционной болезни медиана и межквартильный размах поражения площади легочной ткани составили 19 (10-25) %, что имело значимые различия с данными при легком течении COVID-19 (Wald–Wolfowitz Runs Test: $Z = -6,951$, $p_{w-w} = 0,000$, Kolmogorov–Smirnov Test: $D = 0,956$, $p_{k-s} = 0,000$, Mann–Whitney U Test: $Z = -6,504$, $p_{m-w} = 0,000$).

Частота неврологических расстройств при COVID-19 в группах варьировала от 18,2% до 42,3% от всех изученных случаев, однако значимых различий между группами выявить не удалось.

Установлено, что к моменту оценки постковидных изменений: в группе № 1 через 60 (24–90) суток после болезни, в группе № 2 – спустя 60 (20–89) суток – трудоспособность полностью восстановилась у 81% больных, частично восстановилась в группе № 1 – у 12,1% респондентов, в группе № 2 – у 19,2%, что имело значимые отличия (Wald–Wolfowitz Runs Test: $Z = -2,954$, $p_{w-w} = 0,003$) и не восстановилась полностью у 6,1% респондентов с легким течением болезни. Несмотря на то, что на утомляемость после болезни и появление мышечных и суставных болей после инфекции в группе № 2 жаловались почти вдвое чаще: 65,4% против 36,4% и 46,2% против 27,3% соответственно, значимых различий между когортами выявлено не было. Новых заболеваний после легкого течения COVID-19 не наблюдалось, при среднетяжелом течении было зарегистрировано 4 случая (15,4% от всех в группе), в частности отмечались изменения деятельности сердечно-сосудистой (гипертоническая болезнь), нервной (нарушение работы органов чувств) и иммунной (аллергические реакции) систем (Wald–Wolfowitz Runs Test: $Z = -5,618$, $p_{w-w} = 0,000$). Хронические заболевания активировались после легкого течения новой коронавирусной инфекции в одном случае (3% от всех наблюдений), при среднетяжелом – у 3 больных (11,5%), что имело значимые различия (Wald–Wolfowitz Runs Test: $Z = -5,085$, $p_{w-w} = 0,000$). К таким заболеваниям относились болезни сердечно-сосудистой системы, опорно-двигательного аппарата (остеохондроз), желудочно-кишечного тракта (язвенная болезнь), органов дыхания (длительный кашель). В этот же период, т. е. через 2 месяца после COVID-19 – обе группы были проанализированы на наличие антител к возбудителю заболевания – вирусу SARS-CoV-2. При легком течении болезни IgM через 60 суток после болезни не выявлялись, в группе № 2 – у двух пациентов были обнаружены антитела в количестве 4,6–4,8 BAU (binding antibody units)/мл (Wald–Wolfowitz Runs Test: $Z = -5,885$, $p_{w-w} = 0,000$). Медианные значения и межквартильный размах концентрации IgG в группе № 1 соответствовали значениям 5,2 (5,0–5,5) BAU/мл, в группе № 2 – 17,5 (12,4–19,5) BAU/мл (Wald–Wolfowitz Runs Test: $Z = -6,151$, $p_{w-w} = 0,000$, Kolmogorov–Smirnov

Test: $D = 0,951$, $p_{k-s} = 0,001$, Mann–Whitney U Test: $Z = -5,527$, $p_{m-w} = 0,000$).

Применение статистических методов исследования позволило решить задачу бинарной классификации больных: с легким и среднетяжелым течением COVID-19, которая включает использование данных 6 наиболее значимых критериев оценки, а именно: возраста (количества полных лет), гендерной принадлежности (с использованием двоичного кодирования), индекса массы тела (в размерности $\text{кг}/\text{м}^2$), наличия сведений о гипертонической болезни, превентивного использования IFN α -2b человеческого рекомбинантного в профилактических целях, а также данных результатов компьютерной томографии на момент заболевания (% поражения тканей легких) (рис. 1). Площадь под кривой (area under the ROC curve) составила 0,909, стандартная ошибка (Std. Error) – 0,039, доверительный интервал (95% confidence interval) – 0,831–0,987, $p < 0,0001$.

Изучение особенностей течения коронавирусной инфекции, вызвавшей пандемию, продолжается. Сравнительный анализ случаев заболевания до иммунизации и после ее проведения, показал, что перенесенная инфекция приводит к меньшему защитному эффекту при последующих контактах с вирусом, чем вакцинация [7],

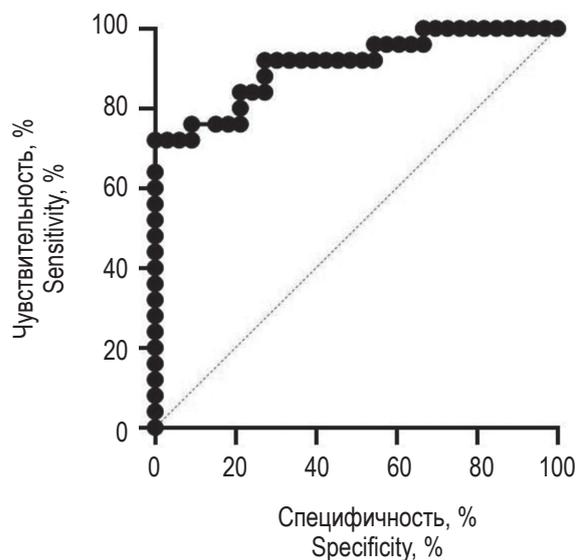


Рисунок 1. Результаты применения ROC-анализа для решения задачи бинарной классификации больных с легким и среднетяжелым течением COVID-19

Figure 1. Results application of ROC analysis to solve the problem of binary classification of patients with mild and moderate COVID-19

что предопределяет необходимость сравнительного анализа имеющихся данных и установления причин. В предшествующих исследованиях показано, что тяжесть течения COVID-19 связана с такими факторами, как возраст, наличие сопутствующих заболеваний и мужской пол [6], что подтверждается результатами этого исследования. Более того, эти факторы могут выступать в качестве критериев бинарной классификации больных в оценке тяжести инфекции. Установлено, что полученные результаты позволяют производить классификацию с точностью распознавания до 90,9% ($p < 0,0001$), что является высокопроизводительной моделью. Площадь под ROC-кривой – статистический показатель, представляющий вероятность правильной оценки в изучении нового случая болезни.

В ранее проведенных исследованиях нами были представлены данные, свидетельствующие о том, что прием колекальциферола, риамиловира/триазаверина с профилактической целью в период начала пандемии не влиял на тяжесть течения COVID-19 [2, 3], что дополнительно подтверждено и в данной работе. Ранее нами также было показано протективное действие IFN α -2b человеческого рекомбинантного в снижении числа случаев неврологических осложнений – вероятности развития anosmia/дисгевзии при заражении вирусом SARS-CoV-2 [1]. По результатам этого исследования, практика применения этого препарата позволила снизить количество случаев среднетяжелого течения COVID-19. Можно полагать, что использование IFN α -2b человеческого рекомбинантного наряду с современными иммуномодуляторами, например, пидотимодом, может быть применено для снижения риска развития тяжелых последствий при инфекции [10].

В связи с тем, что последствия перенесенного COVID-19 регистрируются у пациентов до настоящего времени, особое внимание уделялось изучению проявлений новой коронавирусной инфекции после возвращения к трудовой деятельности. Это один из немногих случаев оценки осложнений инфекции в отсутствие специфической иммунопрофилактики. Выяснилось, что к моменту получения данных: в группе № 1 через 60 (24-90) суток после болезни, в группе № 2 – спустя 60 (20-89) суток – трудоспособность полностью восстановилась у 81% больных, частично восстановилась в группе № 1 – у 12,1%, в группе № 2 – у 19,2%, что имело значимые отличия, не восстановилась полностью у 6,1% респондентов с легким течением болезни. Эти сведения служат дополнительным подтверждением отсутствия за-

висимости проявления постковидных изменений от тяжести болезни. Данные о появлении новых (до 15,4% от всех в группе) или обострении хронических заболеваний (11,5%), в том числе связанных с деятельностью органов дыхания при среднетяжелом течении инфекции, подтверждались ранее выявленными фактами наблюдения до 2/3 пациентов, госпитализированных с пневмонией, вызванной COVID-19, и стойкими нарушениями функции легких через три месяца после выписки [8]. Вместе с тем, различия в частоте случаев появления новых и обострения хронических заболеваний после новой коронавирусной инфекции вступают в некоторое противоречие с положением об отсутствии зависимости постковидных изменений от тяжести болезни. По-видимому, последнее утверждение все-таки не может рассматриваться как аксиома.

Ограничением полученных результатов исследования может являться небольшая выборка данных и отсутствие данных о новых вариантах SARS-CoV-2.

Заключение

Проведенный анализ показал, что:

1. Решена задача бинарной классификации больных с легким и среднетяжелым течением COVID-19 в отсутствие вакцинации (точность распознавания – 90,9%, $p < 0,0001$).
2. Риск среднетяжелого течения COVID-19 у неиммунизированных лиц обусловлен более высоким возрастом, гендерной принадлежностью к мужскому полу, повышенным индексом массы тела, наличием гипертонической болезни (угроза возрастает на 70%), одновременным использованием сразу нескольких неспецифических иммунопрофилактических средств для предотвращения инфицирования.
3. Наличие аллергических реакций и частота сезонных ОРВИ не оказывают влияния на тяжесть течения COVID-19.
4. С легким течением инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, ассоциировано профилактическое использование IFN α -2b человеческого рекомбинантного.

Благодарности

Автор выражает искреннюю благодарность Министру здравоохранения Свердловской области к.м.н. А.А. Карлову, заведующей эпидемиологическим отделом ГАУЗ СО «ДГКБ № 9» г. Екатеринбург Т.А. Катунцевой, директору ФГБУН

«ИИФ» УрО РАН г. Екатеринбурга д.ф.-м.н., профессору О.Э. Соловьевой за помощь в организации данного исследования, профессору Е.Ю. Гусеву за ценные замечания по анализу данных работы, а также сотрудникам ГАОУЗ СО «ДГКБ № 9» г. Екатеринбурга, оказавшим содействие в получении сведений о перенесенной инфекции.

Список литературы / References

1. Бердюгина О.В., Гусев Е.Ю. К вопросу о взаимосвязи anosmia/dysgeusia и неспецифической иммунопрофилактики COVID-19 // Российский иммунологический журнал, 2022. Т. 25, № 2. С. 117-124. [Berdyugina O.V., Gusev E.Yu. On the relationship between anosmia/dysgeusia and nonspecific immunoprophylaxis COVID-19. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2022, Vol. 25, no. 2, pp. 117-124. (In Russ.)] doi:10.46235/1028-7221-1109-OTR.
2. Бердюгина О.В., Гусев Е.Ю. Некоторые результаты применения риамиловира (триазавирина) медицинскими работниками для профилактики и лечения COVID-19 // Российский иммунологический журнал, 2023. Т. 26, № 3. С. 223-232. [Berdiugina O.V., Gusev E.Yu. Some results of riamilovir (triazavirine) usage in medical staff for prevention and treatment of COVID-19. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2023, Vol. 26, no. 3, pp. 223-232. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-9410-SRO.
3. Бердюгина О.В., Гусев Е.Ю. Холекальциферол в роли средства неспецифической иммунопрофилактики COVID-19 // Медицинская иммунология, 2023. Т. 25, № 4. С. 823-830. [Berdiugina O.V., Gusev E.Yu. Cholecalciferol as a means of nonspecific immunoprophylaxis against COVID-19. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2023, Vol. 25, no. 4, pp. 823-830. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-CAA-2849.
4. Временные методические рекомендации МЗ РФ от 16.04.2020 Лекарственная терапия острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) в амбулаторной практике в период эпидемии COVID-19. Версия 2. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://minzdrav.gov.ru/ministry/med_covid19/. [Methodological recommendations of the Ministry of Health of the Russian Federation dated April 16, 2020 Drug therapy of acute respiratory viral infections (ARVI) in outpatient practice during the COVID-19 epidemic. Version 2. [Electronic resource]. Access mode: https://minzdrav.gov.ru/ministry/med_covid19/. (In Russ.)]
5. Временные методические рекомендации МЗ РФ от 26.10.2023 Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 18. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_347896/. [Methodological recommendations of the Ministry of Health of the Russian Federation dated October 26, 2023 Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19). Version 18. [Electronic resource]. Access mode: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_347896/. (In Russ.)]
6. Mathioudakis N., Zachiotis M., Papadakis S., Triantafyllou M., Karapanou A., Samara S., Karamanakis G., Spandidos D.A., Papalexis P., Damaskos C., Tarantinos K., Fotakopoulos G., Sklapani P., Trakas N., Sipsas N.V., Georgakopoulou V.E. Onodera's prognostic nutritional index: Comparison of its role in the severity and outcomes of patients with COVID19 during the periods of alpha, delta and omicron variant predominance. *Exp. Ther. Med.*, 2022, Vol. 24, no. 5, 675. doi: 10.3892/etm.2022.11611.
7. Mongkolsucharitkul P., Surawit A., Pumeiam S., Sookrung N., Tungtrongchitr A., Phisalprapa P., Sayabovorn N., Srivanichakorn W., Washirasaksiri C., Auesomwang C., Sitasuwan T., Chaisathaphol T., Tinmanee R., Chayakulkeeree M., Phoompoung P., Tangjittipokin W., Senawong S., Sanpawitayakul G., Muangman S., Mayurasakorn K., On Behalf Of The Siriraj Population Health And Nutrition Research Sphere Group. SARS-CoV-2 antibody response against mild-to-moderate breakthrough COVID-19 in home isolation setting in Thailand. *Vaccines (Basel)*, 2022, Vol. 10, no. 7, 1131. doi: 10.3390/vaccines10071131.
8. Nirmal A.S., Venkitakrishnan R., Augustine J., Divya R., Cleetus M., Vijay A., John S. Delayed lung function testing after COVID-19 to detect persistent lung function abnormalities – The delta – COVID-19 lung function study. *J. Family Med. Prim. Care*, 2022, Vol. 11, no. 11, pp. 7351-7356.
9. Planas D., Veyer D., Baidaliuk A., Staropoli I., Guivel-Benhassine F., Rajah M.M., Planchais C., Porrot F., Robillard N., Puech J., Prot M., Gallais F., Gantner P., Velay A., Le Guen J., Kassis-Chikhani N., Edriss D., Belec L., Seve A., Courtellemont L., Péré H., Hocqueloux L., Fafi-Kremer S., Prazuck T., Mouquet H., Bruel T., Simon-Lorière E., Rey F.A., Schwartz O. Reduced sensitivity of SARS-CoV-2 variant Delta to antibody neutralization. *Nature*, 2021, Vol. 596, no. 7871, pp. 276-280.

10. Ucciferri C., Di Gasbarro A., Borrelli P., Di Nicola M., Vecchiet J., Falasca K. New Therapeutic Options in Mild Moderate COVID-19 Outpatients. *Microorganisms*, 2022, Vol. 10, no. 11, 2131. doi: 10.3390/microorganisms10112131
11. Yamaguchi D., Chimed-Ochir O., Yumiya Y., Kishita E., Akita T., Tanaka J., Kubo T. Potential risk factors to COVID-19 severity: comparison of SARS-CoV-2 delta- and omicron-dominant periods. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2024, Vol. 21, no. 3, 322. doi: 10.3390/ijerph21030322.

Автор:

Бердюгина О.В. — д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Author:

Berdiugina O.V., PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Inflammation Immunology, Research Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Поступила 13.05.2024
Принята к печати 31.07.2024

Received 13.05.2024
Accepted 31.07.2024

ИЗУЧЕНИЕ НАРУШЕНИЙ ФАГОЦИТАРНОЙ И БАКТЕРИЦИДНОЙ ФУНКЦИЙ НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С ПОСТКОВИДНЫМ СИНДРОМОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ПОРАЖЕНИЯ ЛЕГКИХ СОГЛАСНО ДАННЫМ КТ В ОСТРЫЙ ПЕРИОД КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Мосунов А.А.

ФБУН «Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций “Вирум”» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Екатеринбург, Россия

Резюме. К началу мая 2023 года эпидемическая ситуация по COVID-19 была оценена ВОЗ как благоприятная, что позволило снять режим международной чрезвычайной ситуации и 5 мая 2023 г. объявить о завершении пандемии. В настоящее время COVID-19 приобретает черты сезонной инфекции.

COVID-19 часто сопровождается дисбалансом в иммунной системе, включая снижение числа лейкоцитов и изменения в функциях клеток иммунной системы. Это может оказать влияние на активность нейтрофилов, в том числе на их фагоцитарные способности.

Около 48% пациентов, перенесших COVID-19, страдают постковидным синдромом. Под постковидным синдромом понимают ряд стойких нарушений иммунной системы, сохраняющихся более чем 6-12 месяцев после перенесенной острой инфекции.

Постковидные нарушения клеточного звена иммунной системы могут проявляться как снижением уровня различных субпопуляций лимфоцитов, например NK-клеток, Т-цитотоксических лимфоцитов, снижением экспрессии панлейкоцитарного маркера CD46 на Т-лимфоцитах, так и изменением количества и функциональности нейтрофилов, участвующих в противовирусном иммунном ответе.

Нейтрофилы, как ключевые клетки иммунной системы, играют важную роль в борьбе организма с инфекцией. Однако на сегодняшний день механизмы, ответственные за их функциональные изменения в контексте постковидного синдрома, остаются плохо изученными.

Результаты исследования показали, что у пациентов с постковидным синдромом нейтрофильно-лимфоцитарное отношение (НЛО) у пациентов с поражением легких менее 50% остается в диапазоне нормальных значений. У пациентов с поражением легких более 50% имеется тенденция к увеличению данного показателя, что может свидетельствовать о необходимости более глубокого изучения иммунитета у данных групп пациентов. Были выявлены статистически достоверные различия в по-

Адрес для переписки:

Мосунов Андрей Алексеевич
ФБУН «Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций “Вирум”»
620030, Россия, г. Екатеринбург, ул. Летняя, 23.
Тел.: 8 (902) 027-09-24.
E-mail: andrey.mosunov@list.ru

Address for correspondence:

Andrey A. Mosunov
Research Institute of Viral Infections “Virom”
23 Letnyaya St
Yekaterinburg
620030 Russian Federation
Phone: +7 (902) 027-09-24.
E-mail: andrey.mosunov@list.ru

Образец цитирования:

А.А. Мосунов «Изучение нарушений фагоцитарной и бактерицидной функций нейтрофилов у пациентов с постковидным синдромом в зависимости от степени поражения легких согласно данным КТ в острый период коронавирусной инфекции» // Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 1. С. 57-64.
doi: 10.46235/1028-7221-16973-SOA

© Мосунов А.А., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.A. Mosunov “Studies of altered phagocytic and bactericidal function of neutrophils in patients with post-COVID syndrome, depending on the degree of lung damage detected by computer tomography in acute period of coronavirus infection”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 1, pp. 57-64.
doi: 10.46235/1028-7221-16973-SOA

© Mosunov A.A., 2025

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16973-SOA

казателях врожденного иммунитета, касающихся фагоцитарной и бактерицидной активности нейтрофилов у пациентов в постковидный период с разной степенью поражения легких во время острого периода коронавирусной инфекции.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, COVID-19, постковидный синдром, фагоцитарная функция, бактерицидная функция, нейтрофилы, клеточный иммунитет

STUDIES OF ALTERED PHAGOCYtic AND BACTERICIDAL FUNCTION OF NEUTROPHILS IN PATIENTS WITH POST-COVID SYNDROME, DEPENDING ON THE DEGREE OF LUNG DAMAGE DETECTED BY COMPUTER TOMOGRAPHY IN ACUTE PERIOD OF CORONAVIRUS INFECTION

Mosunov A.A.

Research Institute of Viral Infections "Virom", Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. By the beginning of May 2023, the epidemic situation regarding COVID-19 was assessed by WHO as favorable, thus enabling to cancel the international emergency state and declare the end of the pandemic on May 5, 2023. Currently, COVID-19 is becoming a seasonal infection. COVID-19 is often accompanied by imbalanced immune response including decreased number of white blood cells and functional changes of immune cells, e.g., affecting activity of neutrophils, including their phagocytic abilities. About 48% of patients who suffered from COVID-19 developed a post-COVID syndrome which is referred to a number of persistent immune disorders which persist for more than 6-12 months after acute infection. Post-COVID-19 disorders of the cellular component of the immune system can manifest with decreased levels of various lymphocyte subpopulations, e.g., NK cells, T cytotoxic lymphocytes, reduced expression of pan-leukocyte CD46 marker on T lymphocytes, as well as changed number and functionality of neutrophils involved in the antiviral immune response. The neutrophils, as a key population of immune system, play an important role in the response to the infection. So far, however, the mechanisms responsible for their functional changes in the context of the post-COVID syndrome remain poorly understood. The results of the study showed that, in patients with post-COVID syndrome, the neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) remains within normal range in patients with lung damage of less than 50%. In patients with lung damage of more than 50%, there is a trend for increase of this index, which may suggest a need for in-depth study of immunity in these groups of patients. Statistically significant differences in the innate immunity indexes were detected with respect to phagocytic and bactericidal activity of neutrophils in patients over post-COVID period who showed different extent of lung damage during the acute phase of coronavirus infection.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, postcovid syndrome, phagocytic function, bactericidal function, neutrophils, cellular immunity

Работа выполнена по теме гос. заданий НИИ-ВИ «ВИРОМ» «Изучение механизмов формирования хронической вирусной инфекции у пациентов с постковидным синдромом и нарушением функций иммунной системы. Разработка патогенетических подходов к эффективной профилактике и иммунокоррекции выявленных нарушений у пациентов с «постковидным синдромом» № гос. регистрации 124031800093-5.

Введение

Во время коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2, наблюдаются нарушения в различных компонентах иммунной системы. Это включает дисбаланс в клеточном звене им-

мунитета, такой как субпопуляции Т-хелперов (CD45⁺CD3⁺CD4⁺) [10], Т-цитотоксических (CD45⁺CD3⁺CD8⁺) [11] и NK-клеток [13]. Эти изменения приводят к гиперпродукции провоспалительных цитокинов и могут способствовать развитию полиорганной недостаточности, что может приводить к летальному исходу [12].

Кроме того, SARS-CoV-2 также оказывает влияние на фагоцитарное звено иммунитета. Нейтрофилы являются частью врожденного иммунного ответа, участвуют в том числе в противовирусной защите организма. Их функции могут быть нарушены как во время инфекции, так и в постинфекционном периоде. Они выступают в роли фагоцитов, провоцируют цитокиновый шторм и участвуют в антигенной презентации.

Эти изменения функций нейтрофилов могут принимать различные формы: гиподисфункция, гиперфункция а также дисфункция, что приводит к неадекватному иммунному ответу. Такое нарушение в функционировании нейтрофилов может способствовать развитию осложнений COVID-19 [16, 17].

Нейтрофилы мигрируют в легкие и участвуют в первой линии защиты против SARS-CoV-2. Однако активация нейтрофилов и массовая миграция в очаг воспаления в ответ на внедрение вируса может вызывать цитокиновый шторм. Это может привести к нарушениям всей иммунной системы, а также повлечь за собой летальный исход [9].

Нейтрофилы являются возможными факторами хронического воспаления и повреждения дыхательной системы при COVID-19 [15]. Исследование формирования нейтрофильных ловушек (NETosis) играет важную роль в понимании противовирусного ответа нейтрофилов и его связи с возможной активацией цитокинового шторма, который ведет к негативным последствиям для организма [10].

Около 48% пациентов, перенесших COVID-19, страдают постковидным синдромом. Под постковидным синдромом понимают ряд стойких нарушений иммунной системы, сохраняющихся более чем 6-12 месяцев после перенесенной острой инфекции [5, 6].

Постковидные нарушения клеточного звена иммунной системы могут проявляться как снижением уровня различных субпопуляций лимфоцитов, например NK-клеток, Т-цитотоксических лимфоцитов, снижению экспрессии панлейкоцитарного маркера CD46 на Т-лимфоцитах, так и изменением количества и функциональности нейтрофилов, участвующих в противовирусном иммунном ответе [2, 3, 4].

Материалы и методы

Были исследованы 55 пациентов из числа перенесших SARS-CoV-2-инфекцию. Критерием включения в группы исследований были: подтвержденный диагноз «COVID-19» методом ПЦР, наличие IgA, IgM, IgG к вирусу SARS-CoV-2, данные компьютерной томографии о перенесенной пневмонии (варианты: без поражения легких, поражение менее 25% легких, поражение менее 26-50% легких, поражение менее 51-75% легких, поражение менее 76-100% легких). Кроме того, критериями включения являлись наличие жалоб на усталость, боль, учащение обострений хронических инфекционных заболеваний кожи, клер, слизистых, верхних и нижних дыхательных путей, почек. Критерием исключения из групп исследования были: острые воспалительные процессы, хронические вирусные инфекции (герпес-вирусные инфекции, ВПЧ, гепатит В, гепатит С).

Исследование проводилось не менее чем через 6 месяцев после перенесенной SARS-CoV-2-инфекции. Все пациенты были предварительно обследованы врачом-терапевтом и иммунологом-аллергологом, для выявления сопутствующих заболеваний.

На первом этапе пациенты, участвующие в исследовании, были разделены по степени поражения. Таким образом, нами было выделено 5 групп сравнения:

Группа 1 – постковидные пациенты без поражения легких, n = 20.

Группа 2 – постковидные пациенты с поражением легких менее 25%, n = 10.

Группа 3 – постковидные пациенты с поражением легких менее 50%, n = 16.

Группа 4 – постковидные пациенты с поражением легких менее 75%, n = 7.

Группа 5 – постковидные пациенты с поражением легких менее 100%, n = 2.

На втором этапе пациенты были разделены по степени поражения легких в зависимости от значений отношения нейтрофилов к лимфоцитам (табл. 1). Было сформировано 5 групп:

Группа 1 – постковидные пациенты без поражения легких, n = 20.

Группа 2 – постковидные пациенты с поражением легких менее 25%, n = 10.

Группа 3 – постковидные пациенты с поражением легких менее 50%, n = 16.

Группа 4 – постковидные пациенты с поражением легких менее 75%, n = 7.

Группа 5 – постковидные пациенты с поражением легких менее 100%, n = 2.

На третьем этапе исследования пациенты также были разделены по степени поражения легких в зависимости от нарушения бактерицидной и фагоцитарной функции нейтрофилов (табл. 2). Таким образом, было сформировано 5 групп сравнения:

Группа 1 – постковидные пациенты без поражения легких, n = 20.

Группа 2 – постковидные пациенты с поражением легких менее 25%, n = 10.

Группа 3 – постковидные пациенты с поражением легких менее 50%, n = 16.

Группа 4 – постковидные пациенты с поражением легких менее 75%, n = 7.

Группа 5 – постковидные пациенты с поражением легких менее 100%, n = 2.

Все исследования были одобрены Независимым локальным этическим комитетом при ГАУЗ ОТКЗ «Городская клиническая больница № 1» г. Челябинска, протокол № 8 от 11.04.2022, на базе которой проводились данные исследования.

Клинические исследования

Анкетирование пациентов с помощью анкеты иммунологического мониторинга пациентов, данные историй болезни из программы для ЭВМ

ТАБЛИЦА 1. ПАЦИЕНТЫ С ПОСТКОВИДНЫМ СИНДРОМОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ПОРАЖЕНИЯ ЛЕГКИХ И НЕЙТРОФИЛЬНО-ЛИМФОЦИТАРНОГО ОТНОШЕНИЯ (НЛО)

TABLE 1. PATIENTS WITH POSTCOVID SYNDROME DEPENDING ON THE DEGREE OF LUNG DAMAGE AND NEUTROPHIL-LYMPHOCYTE RATIO (NLR)

Показатель Indicator	Группа 1 КТ0 Group 1 КТ0 n = 20	Группа 2 КТ1 Group 2 КТ1 n = 10	Группа 3 КТ2 Group 3 КТ2 n = 16	Группа 4 КТ3 Group 4 КТ3 n = 7	Группа 5 КТ4 Group 5 КТ4 n = 2	p
Сегментоядерные лейкоциты, % Segmented white blood cells, %	49,1±2,9	46,30±2,92	53,44±1,42	38,57±2,88	29,50±0,59	p < 0,05 ₁₋₄ p < 0,05 ₁₋₅
Лимфоциты периферической крови, % Peripheral blood lymphocytes, %	39,15±3,51	40,10±2,87	35,06±1,64	49,29±3,34	48,50±0,98	p < 0,05 ₁₋₄ p < 0,05 ₁₋₅
НЛО NLR	1,44±0,23	1,26±0,15	1,65±0,17	0,85±0,12	0,61±0,02	p < 0,05 ₁₋₄ p < 0,05 ₁₋₅

«БАРС.ЗДРАВООХРАНЕНИЕ-МИС» ГАУЗ ОТКЗ «Городская клиническая больница № 1» г. Челябинска.

Гематологические исследования

Общий анализ крови (исследовано 25 параметров: лейкоцитарный, эритроцитарный и тромбоцитарный ростки кроветворения), количественный и качественный состав ростков кроветворения проведен стандартизованным методом на гематологическом анализаторе Medonic M20 (Швеция).

Иммунологические исследования

Из иммунологических показателей проводилась оценка фагоцитарной активности частиц латекса диаметром 1,7 мкм нейтрофилами (активность фагоцитоза, интенсивность фагоцитоза, фагоцитарное число); спонтанная и индуцированная НСТ-активность нейтрофилов определялись морфологическим методом (световая микроскопия с использованием микроскопов Olimpus (Япония). Фагоцитарную активность нейтрофилов определяли по их способности поглощать частицы латекса [1, 8].

Выбор методики оценки фагоцитарной и бактерицидной функции нейтрофилов в данном исследовании был обоснован несколькими факторами. Во-первых, необходимость выбора методики, которая была бы надежной, воспроизводимой и способной обеспечить точные результаты в условиях изучения COVID-19, где требуется высокая чувствительность и специфичность. Во-вторых, учитывалась применимость методики к исследованию фагоцитарной и бактерицидной активности нейтрофилов в контексте вирусной инфекции, такой как COVID-19. Нитросиний тетразолий тест (НСТ) представляет собой ши-

роко используемый метод оценки функциональной активности нейтрофилов, который основан на способности живых нейтрофилов окрашивать водорастворимый тетразолийный кристалл, что связано с их метаболической активностью. Данный тест обладает высокой чувствительностью к изменениям в физиологических условиях нейтрофилов и может использоваться для оценки как фагоцитарной, так и бактерицидной функции нейтрофилов. Благодаря преимуществам НСТ-теста, таким как его относительная простота и быстрота выполнения, а также его широкое использование в клинической практике, этот метод является предпочтительным для исследований, направленных на оценку функциональной активности нейтрофилов при COVID-19. В контексте данного исследования, где требуется оценка фагоцитарной и бактерицидной активности нейтрофилов у пациентов с разной степенью поражения легких, НСТ-тест обеспечивает возможность получения объективных и надежных результатов, которые могут быть использованы для более глубокого понимания иммунологических механизмов при COVID-19.

Статистическая обработка данных

Статистическая обработка результатов исследований проводилась стандартными методами с определением средней арифметической вариационного ряда (M) и ошибки средней арифметической (m). Результаты исследования количественных параметров в группах сравнения представлены в виде M±m, где M – средняя арифметическая, m – стандартная ошибка средней.

Из-за недостаточного размера выборок использовались непараметрические методы ана-

ТАБЛИЦА 2. РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ФАГОЦИТАРНОЙ И БАКТЕРИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ У ПОСТКОВИДНЫХ ПАЦИЕНТОВ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ПОРАЖЕНИЯ ЛЕГКИХ В ОСТРЫЙ ПЕРИОД КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

TABLE 2. THE RESULTS OF THE ASSESSMENT OF THE PHAGOCYtic AND BACTERICIDAL ACTIVITY OF NEUTROPHILS IN POSTCOVID PATIENTS WITH VARYING DEGREES OF LUNG DAMAGE IN THE ACUTE PERIOD OF CORONAVIRUS INFECTION

Показатель Indicator	Группа 1 КТ0 Group 1 КТ0 n = 20	Группа 2 КТ1 Group 2 КТ1 n = 10	Группа 3 КТ2 Group 3 КТ2 n = 16	Группа 4 КТ3 Group 4 КТ3 n = 7	Группа 5 КТ4 Group 5 КТ4 n = 2	p
Активность фагоцитоза нейтрофилов Neutrophil phagocytosis activity	41,45±5,45	39,00±6,98	42,69±4,65	22,71±4,91	31,50±8,04	p < 0,05 ₁₋₂ p < 0,05 ₁₋₃ p < 0,05 ₂₋₃
Индекс фагоцитоза нейтрофилов Neutrophil phagocytosis index	1,04±0,15	1,78±0,50	1,92±0,49	0,95±0,42	0,59±0,17	p < 0,05 ₁₋₃ p < 0,05 ₂₋₃ p < 0,05 ₃₋₄
Фагоцитарное число нейтрофилов Phagocytic number of neutrophils	2,55±0,22	4,20±0,97	4,41±1,04	2,70±0,77	1,65±0,14	p < 0,05 ₁₋₃ p < 0,05 ₂₋₃ p < 0,05 ₃₋₄
НСТ-спонтанная активность NBT-spontaneous activity	23,90±5,68	16,70±2,89	22,70±3,57	28,86±7,22	27,00±5,88	p < 0,05 ₁₋₃ p < 0,05 ₂₋₃ p < 0,05 ₃₋₄
НСТ-спонтанная индекс NBT is a spontaneous index	0,38±0,10	0,25±0,04	0,34±0,06	0,74±0,14	0,47±0,12	p < 0,05 ₁₋₃ p < 0,05 ₂₋₃
НСТ-индуцированная активность NBT-induced activity	52,55±5,74	58,70±4,85	60,6±4,3	54,14±5,44	61,50±6,08	p < 0,05 ₁₋₃ p < 0,05 ₂₋₃
НСТ-индуцированная индекс NBT-induced index	0,68±0,09	0,77±0,09	0,72±0,06	0,71±0,10	0,74±0,06	p < 0,05 ₁₋₃ p < 0,05 ₂₋₃

Примечание. Достоверность различий между группами рассчитана согласно критерию Манна–Уитни.

Note. The reliability of the differences between the groups was calculated according to the Mann–Whitney criterion.

лиза вместо параметрического. Согласно литературным данным, непараметрические методы обладают хорошей чувствительностью и могут выявить даже малые различия между группами. Для оценки достоверности различий использовался критерий Манна–Уитни (U), изменения считались статистически значимыми при значении $p < 0,05$ [7].

Результаты и обсуждение

НЛО помогает быстро оценить состояние иммунной системы. Значительные отклонения от

нормы могут свидетельствовать о наличии инфекционного или воспалительного процесса, что требует дальнейшего обследования.

Таблица 1 демонстрирует как по мере увеличения объема поражения легких, определенного с помощью компьютерной томографии (КТ), снижается показатель нейтрофильно-лимфоцитарного отношения (НЛО).

Снижение НЛО может указывать на истощение нейтрофилов и снижение их функциональной активности, что приводит к увеличению риска развития осложнений и вторичных инфекций. Это связано с тем, что при значительном

поражении легких иммунная система подвергается чрезмерной нагрузке, что может привести к нарушению баланса между различными типами иммунных клеток и их способности адекватно реагировать на патогены.

Определение нейтрофильно-лимфоцитарного отношения у данных групп пациентов было проведено для определения наличия или отсутствия более выраженных нарушений в клеточном звене врожденного иммунитета. Полученные данные позволяют судить о наличии таких нарушений у пациентов с постковидным синдромом.

Данный вид анализа и расчет данного показателя могут быть использованы в клинической практике как финансово выгодный предиктор тяжести выраженности постковидного синдрома.

В ходе исследования при делении выборки по степени поражения легких в зависимости от показателей нейтрофильно-лимфоцитарного отношения были получены следующие достоверные различия в группах пациентов с поражением легких более 50% в острый период COVID-19 (табл. 1).

Таким образом, анализ данных из таблицы 1 позволяет сделать вывод о статистически значимом различии в процентах сегментоядерных лейкоцитов, лимфоцитов и нейтрофильно-лимфоцитарного отношения между группами с поражением легких КТ3 и Т4 по сравнению с контрольной группой КТ0. Не наблюдается снижения данных показателей у групп пациентов с поражением легких до 50% ни между собой, ни по сравнению с пациентами без поражения легких в острый период коронавирусной инфекции. Эти результаты подчеркивают важность учета степени поражения легких при анализе влияния COVID-19 на иммунную систему.

На втором этапе работы исследуемые пациенты с постковидным синдромом были разделены в зависимости от степени поражения легких в острый период коронавирусной инфекции (табл. 2).

Таким образом, проанализировав данные таблицы номер 2, можно сделать некоторые выводы. Наблюдается инверсия в фагоцитарной функции нейтрофилов у пациентов с постковидным синдромом с разной степенью поражения легких в острый период коронавирусной инфекции. У пациентов с поражением легких до 25% наблюдается статистически значимое снижение активности фагоцитоза нейтрофилов, в индексе фагоцитоза нейтрофилов и фагоцитарном числе нейтрофилов. У пациентов со степенью поражения легких 26-50% наоборот наблюдается повышение данных показателей фагоцитарной функции нейтрофилов. У пациентов с поражением легких более 50% можно наблюдать статистически значимое снижение фагоцитарной функции нейтрофилов (активность фагоцитоза, индекс фагоцитоза и фагоцитарное число) в сравнении с

группами пациентов с поражением легких до 50% и пациентов без поражения легких.

Бактерицидная функция нейтрофилов менялась похожим образом — у пациентов с поражением менее 50% наблюдается снижение показателей бактерицидной функции нейтрофилов (показатели НСТ-теста) по сравнению с пациентами без поражения легких. У пациентов с поражением легких более 50% нет статистически значимого повышения значений НСТ-теста, кроме НСТ спонтанной активности, но имеет тенденцию к увеличению данных показателей согласно расчету доверительных интервалов.

Выводы

Статистический анализ данных показал следующие изменения в бактерицидной и фагоцитарной функции нейтрофилов.

1. Нейтрофильно-лимфоцитарное отношение (НЛО) достоверно снижено у пациентов с поражением легких более 50% в остром периоде COVID-19 по сравнению с пациентами без поражения легких.

2. Данные НСТ-теста показывают, что с увеличением тяжести и объема поражения легких у пациентов, перенесших COVID-19, функциональная активность нейтрофилов сначала имеет тенденцию к увеличению (поражение до 50%), а затем возможность нейтрофилов адекватно реагировать на патоген снижается в зависимости от увеличения объема поражения легких.

3. У пациентов без поражения легких не выявлено нарушений в функциях нейтрофилов и нейтрофильно-лимфоцитарном отношении. Достоверные нарушения появляются при поражении легких более 50% и более тяжелом протекании коронавирусной инфекции.

4. У пациентов с объемом поражения легких в острый период до 50% в постковидный период неспецифических клеточный иммунный ответ остается перестимулированным. Тогда как НЛО остается в пределах нормы. Нейтрофилы остаются в состоянии повышенной активации и могут усиленно отвечать на патоген, что может приводить системному воспалению организма.

5. У пациентов с постковидным синдромом, у которых объем поражения легких в острый период COVID-19 более 50%, наступает истощение функций нейтрофилов в рамках неспецифического клеточного иммунного ответа. А НЛО этих групп пациентов свидетельствует об истощении количества нейтрофилов. Это может приводить к осложненному протеканию бактериальных инфекций и риску развития осложнений после заболеваний.

Заключение

Коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2, впервые зафиксирована в де-

кабре 2019 года в городе Ухань, Китай. Эпидемия, начавшаяся в Китае, быстро распространилась по всему миру, что привело к объявлению пандемии COVID-19 Всемирной организацией здравоохранения в марте 2020 года. Ситуация с COVID-19 оценивалась как благоприятная к маю 2023 года, когда пандемия была официально объявлена завершенной. Однако около половины пациентов, перенесших COVID-19, страдают постковидным синдромом, что является серьезной проблемой для общественного здоровья.

COVID-19 может вызывать широкий спектр клинических симптомов и приводить к различным нарушениям иммунной системы. Степень поражения легких играет важную роль в развитии постковидного синдрома. У пациентов с постковидным синдромом часто наблюдаются дисбаланс в иммунной системе, снижение числа лейкоцитов и изменения в функциях клеток иммунной системы, включая нейтрофилы.

Нейтрофилы, как часть врожденного иммунитета, играют важную роль в защите организма от инфекций, в том числе от SARS-CoV-2. Однако их функции могут быть нарушены во время инфекции и в постинфекционном периоде, что может привести к развитию осложнений COVID-19. Активация нейтрофилов и их миграция в очаг

воспаления может вызвать цитокиновый шторм, который в свою очередь приводит к нарушениям иммунной системы и тяжелым последствиям для организма.

Статистические данные показывают значимые различия в фагоцитарной и бактерицидной активности нейтрофилов у пациентов с разной степенью поражения легких.

При поражении легких до 50% наблюдается гиперактивация неспецифического клеточного иммунного ответа, тогда как НЛО остается в пределах нормы. Нейтрофилы остаются гиперактивными, что может приводить к системному воспалению, аутоиммунным заболеваниям (СКВ и РА) и тромбообразованию.

У пациентов с поражением легких более 50% происходит истощение функций нейтрофилов. НЛО у этих пациентов указывает на дефицит нейтрофилов. Это состояние может приводить к повышенной восприимчивости к инфекциям, хронизации инфекций и увеличенному риску онкологических заболеваний.

Эти результаты подчеркивают важность дальнейшего изучения изменений в иммунной системе у пациентов с COVID-19, особенно с учетом степени поражения легких, для разработки эффективных стратегий лечения и реабилитации.

Список литературы / References

1. Виксман М.Е., Маянский А.Н. Способ оценки функциональной активности нейтрофилов человека по реакции восстановления нитросинего тетразолия. Метод. рекомендации. М-во здравоохранения РСФСР. Казань, 1979. 14 с. [Viksmann M.E., Mayansky A.N. A method for assessing the functional activity of human neutrophils using the reduction reaction of nitroblue tetrazolium. Method. recommendations]. Ministry of Health of the RSFSR. Kazan, 1979. 14 p.
2. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Комелькова М.В., Luo S., Семенова Д.А. Оценка взаимосвязи нарушения цитотоксических Т-лимфоцитов с другими компартментами иммунной системы у постковидных пациентов // Вестник уральской медицинской академической науки, 2022. Т. 19, № 3. С. 294-303. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Komelkova M.V., Luo S., Semenova D.A. Assessment of the relationship between the disturbance of cytotoxic T-lymphocytes and other compartments of the immune system in post-Covid patients. *Vestnik uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki = Bulletin of the Ural Medical Academic Science*, 2022, Vol. 19, no. 3, pp. 294-303. (In Russ.)]
3. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Комелькова М.В., Ло Ш. Исследование нарушения натуральных киллеров у пациентов, перенесших COVID-19 // Российский иммунологический журнал, 2022. Т. 25, № 2. С. 161-166. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Komelkova M.V., Lo Sh. Study of natural killer cell disorders in patients who have had COVID-19. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2022, Vol. 25, no. 2, pp. 161-166. (In Russ.)] doi:10.22138/2500-0918-2022-19-3-294-303]
4. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Комелькова М.В., Ло Ш., Зурочка В.А., Ху Д., Рябова Л.В., Сарапульцев А.П. Исследование экспрессии CD45⁺ и CD46⁺ на субпопуляциях лимфоцитов периферической крови постковидных пациентов // Российский иммунологический журнал, 2022. Т. 25, № 4. С. 431-436. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Komelkova M.V., Lo Sh., Zurochka V.A., Hu D., Ryabova L.V., Sarapultsev A.P. Study of CD45⁺ and CD46⁺ expression in subpopulations peripheral blood lymphocytes of post-Covid patients. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2022, Vol. 25, no. 4, pp. 431-436. (In Russ.)] doi:10.46235/1028-7221-1160-SOC.
5. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Зурочка В.А., Рябова Л.В., Сарапульцев А.П. Формирование подходов к иммунокоррекции нарушений иммунной системы у постковидных пациентов // Российский иммунологический журнал, 2023. Т. 26, № 4. С. 641-646. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Zurochka V.A., Ryabova L.V., Sarapultsev A.P. Formation of approaches to immunoreaction of immune system disorders in post-Covid patients. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2023, Vol. 26, no. 4, pp. 641-646. (In Russ.)] doi:10.46235/1028-7221-13492-ATC.
6. Добрынина М.А., Ибрагимов Р.В., Крицкий И.С., Верховская М.Д., Мосунов А.А., Сарапульцев Г.П., Зурочка А.В., Зурочка В.А., Сарапульцев А.П., Комелькова М.В., Рябова Л.В., Праскурничий Е.А. Постковид-

ный синдром иммунопатологии. Характеристика фенотипических изменений иммунной системы у постковидных пациентов // Медицинская иммунология, 2023. Т. 25, № 4. С. 791-796. [Dobrynina M.A., Ibragimov R.V., Kritsky I.S., Verkhovskaya M.D., Mosunov A.A., Sarapultsev G.P., Zurochka A.V., Zurochka V.A., Sarapultsev A.P., Komelkova M.V., Ryabova L.V., Praskurnichiy E.A. Post-Covid immunopathology syndrome. Characteristics of phenotypic changes in the immune system in post-Covid patients. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2023, Vol. 25, no. 4, pp. 791-796. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-PCI-2707.

7. Лакин Г.Ф., Медик В.А. Статистика в медицине и биологии. Теоретическая статистика. М.: Медицина, 2000. Т. 1. 454 с. [Lakin G.F., Medic V.A. Statistics in medicine and biology. Theoretical statistics]. Moscow: Meditsina, 2000. Vol. 1. 454 p.

8. Фрейдлин И.С. Методы изучения фагоцитирующих клеток при оценке иммунного статуса человека: учебное пособие. Ленинград, 1986. 37 с. [Freidlin I.S. Methods for studying phagocytic cells when assessing a person's immune status: a textbook]. Leningrad, 1986. 37 p.

9. Barnes J.B., Adrover M.J., Stoltzfus A.B., Borczuk A., Lartigue J.C., Crawford J.M., Plenker D.J., Guerci P. Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps. *J. Exp. Med.*, 2020, Vol. 217, no. 6, e20200652. doi:10.1084/jem.20200652.

10. Borges L., Pithon-Curi T.C., Curi R., Hatanaka E. COVID-19 and neutrophils: the relationship between hyperinflammation and neutrophil extracellular traps. *Mediators Inflamm.*, 2020, Vol. 2020, 8829674. doi: 10.1155/2020/8829674.

11. Gozzi-Silva S.C., Oliveira L.M., Alberca R.W., Pereira N.Z. Generation of cytotoxic T cells and dysfunctional CD8 T cells in severe COVID-19 patients. *Cells*, 2022, Vol. 11, no. 21, 3359. doi:10.3390/cells11213359.

12. Lowery S.A., Sariol A., Perlman S. Innate immune and inflammatory responses to SARS-CoV-2: Implications for COVID-19. *Cell Host Microbe*, 2021, Vol. 29, no. 7, pp. 1052-1062.

13. Masselli E., Macarize M., Carubbi C., Pozzi G. NK cells: A double edge sword against SARS-CoV-2. *Adv. Biol. Regul.*, 2020, Vol. 77, 100737. doi: 10.1016/j.biro.2020.100737.

14. Meckiff B.J., Ciro Ramirez S.C., Fajardo V., Chee J.S. Imbalance of regulatory and cytotoxic SARS-CoV-2-reactive CD4⁺ T cells in COVID-19. *Cell*, 2020, Vol. 183, no. 5, pp. 1340-1353.e16.

15. Shi H., Zuo Y., Yalavarthi S., Gockman K., Zuo M., Madison J.A., Blair C., Woodward W., Lezak S.P. Neutrophil calprotectin identifies severe pulmonary disease in COVID-19. *J. Leukoc. Biol.*, 2021, Vol. 109, no. 1, pp. 67-72.

16. Steenblock C., Todorov V., Kanczkowski W., Eisenhofer G., Schedl A., Wong M., Licinio J., Bauer M., Young A.H., Gainetdinov R.R., Bornstein S.R. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and the neuroendocrine stress axis. *Mol. Psychiatry*, 2020, Vol. 25, no. 8, pp. 1611-1617.

17. Zhang R., Sun C., Han Y., Huang L., Sheng H., Wang J., Zhang Y., Lai J., Yuan J., Chen X., Jiang C., Wu F., Wang J., Fan X., Wang J. Neutrophil autophagy and NETosis in COVID-19: perspectives. *Autophagy*, 2023, Vol. 19, no. 3, pp. 758-767.

Автор:

Мосунов А.А. — стажер лаборатории трансмиссивных вирусных инфекций ФБУН «Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций «Вирум»» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Екатеринбург, Россия

Author:

Mosunov A.A., Intern, Laboratory of Transmissible Viral Diseases, Research Institute of Viral Infections "Virom", Yekaterinburg, Russian Federation

Поступила 11.05.2024
Принята к печати 31.07.2024

Received 11.05.2024
Accepted 31.07.2024

ПОВЫШАЕТ ЛИ НОВАЯ КОРОНАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ РИСК РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКОГО СИСТЕМНОГО ГИПЕРВОСПАЛЕНИЯ И НИЗКОИНТЕНСИВНОГО СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ?

Сабадаш Е.В.¹, Журавлёва Ю.А.², Скорняков С.Н.¹, Гусев Е.Ю.²,
Зотова Н.В.², Ершова А.В.¹, Яркиева А.А.³

¹ Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

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

³ ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Развитие новой коронавирусной инфекции сопровождается повышением провоспалительного и протромботического потенциала эндотелия микрососудов. Отличительной особенностью инфекции SARS-CoV-2 является развитие постковидного синдрома, характеризующегося долгосрочными нарушениями со стороны различных органов и систем. Особого внимания заслуживает иммунопатогенез последствий перенесенной новой коронавирусной инфекции у пациентов с туберкулезом легких ввиду наличия у них фонового провоспалительного статуса. Цель исследования – проанализировать влияние новой коронавирусной инфекции на вероятность развития хронического системного гипервоспаления и низкоинтенсивного системного воспаления у пациентов с туберкулезом легких.

Две основные группы составили пациенты с туберкулезом легких, перенесшие COVID-19 (в легкой форме) 3 месяца назад и ранее: имеющие симптомы постковидного синдрома и не имеющие данных симптомов. В группу сравнения вошли пациенты с туберкулезом легких, не имеющие в анамнезе COVID-19. Контрольную группу составили здоровые доноры крови. У пациентов в плазме крови методом иммуноферментного анализа измеряли концентрации IL-6, IL-10, фактора некроза опухоли альфа (TNF α), D-димеров, тропонина I, кортизола, эндотелина I (ET-I). На основании этих маркеров рассчитывали интегральные показатели системной воспалительной реакции (СВР) – уровень

Адрес для переписки:

Журавлёва Юлия Александровна
ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии»
Уральского отделения Российской академии наук
620049, Россия, г. Екатеринбург,
ул. Первомайская, 106.
Тел./факс: 8 (343) 374-00-70.
E-mail: jazhur@mail.ru

Address for correspondence:

Yulia A. Zhuravleva
Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch,
Russian Academy of Sciences
106 Pervomayskaya St
Yekaterinburg
620049 Russian Federation
Phone/fax: +7 (343) 374-00-70.
E-mail: jazhur@mail.ru

Образец цитирования:

Е.В. Сабадаш, Ю.А. Журавлёва, С.Н. Скорняков,
Е.Ю. Гусев, Н.В. Зотова, А.В. Ершова, А.А. Яркиева
«Повышает ли новая коронавирусная инфекция риск
развития хронического системного гипервоспаления
и низкоинтенсивного системного воспаления
у пациентов с туберкулезом легких?» // Российский
иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 1. С. 65-72.
doi: 10.46235/1028-7221-16989-DNC

© Сабадаш Е.В. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

E.V. Sabadash, Yu.A. Zhuravleva, S.N. Skorniyakov,
E.Yu. Gusev, N.V. Zotova, A.V. Ershova, A.A. Yarkieva “Does
novel coronavirus infection increase the risk of chronic systemic
hyperinflammation and low-grade systemic inflammation
in patients with pulmonary tuberculosis?” , Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025,
Vol. 28, no. 1, pp. 65-72.
doi: 10.46235/1028-7221-16989-DNC

© Sabadash E.V. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16989-DNC

реактивности (УР) – и хронического системного гипервоспаления (ХрСВ). При отсутствии ХрСВ, но при одновременном наличии уровня D-димеров > 250 нг/мл и уровне ET-I > 90 пг/мл у пациента регистрировали низкоинтенсивное системное воспаление (НИСВ).

У пациентов с туберкулезом легких среди симптомов постковидного синдрома наиболее часто отмечались тахикардия, артралгии, критерии синдрома хронической усталости, что в целом согласуется с общепопуляционными данными. По всем эмпирическим показателям группы пациентов с туберкулезом были сопоставимы между собой ($p > 0,05$) и статистически значимо отличались от контроля. Однако более принципиальное значение для оценки «системности» процесса имеет расчет интегральных показателей. Так, у 23-50% пациентов с туберкулезом легких развивалась некротическая СВР (УР = 1-2), которая являлась проявлением ХрСВ в 7,1-13,6% случаев (как у реконвалесцентов COVID-19, так и у пациентов, не перенесших COVID-19). В то же время по частоте развития НИСВ и эндотелиальной дисфункции группы пациентов с туберкулезом статистически значимо не отличались ($p > 0,05$), однако наблюдалась тенденция к росту этих показателей в ряду: туберкулез без COVID-19 – туберкулез + COVID-19 – туберкулез + COVID-19 + симптомы постковидного синдрома.

Для большинства пациентов с туберкулезом легких не характерно развитие хронического системного гипервоспаления. Наиболее вероятным типовым патологическим процессом при туберкулезной инфекции является НИСВ. При этом наибольший вклад в развитие НИСВ вносит туберкулезная инфекция, поскольку частота и выраженность НИСВ и его отдельных признаков не зависят от перенесенной новой коронавирусной инфекции и наличия симптомов постковидного синдрома.

Ключевые слова: хроническое системное гипервоспаление, низкоинтенсивное системное воспаление, туберкулез, COVID-19, постковидный синдром, эндотелиальная дисфункция

DOES NOVEL CORONAVIRUS INFECTION INCREASE THE RISK OF CHRONIC SYSTEMIC HYPERINFLAMMATION AND LOW-GRADE SYSTEMIC INFLAMMATION IN PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS?

Sabadash E.V.^a, Zhuravleva Yu.A.^b, Skornyakov S.N.^a, Gusev E.Yu.^b, Zotova N.V.^b, Ershova A.V.^a, Yarkieva A.A.^c

^a Ural Research Institute of Phthisiopulmonology, Branch of the National Medical Research Center for Phthisiopulmonology and Infectious Diseases, Yekaterinburg, Russian Federation

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

^c Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. The development of new coronavirus infectious disease (COVID-19) is associated with an increase in the pro-inflammatory and pro-thrombotic potential of microvascular endothelium. A specific feature of SARS-CoV-2 infection is the post-COVID syndrome that is characterised by long-term impairment of various organs and systems. The immune pathogenesis of post-COVID syndrome in patients with pulmonary tuberculosis requires special attention due to their baseline pro-inflammatory status. The objective of this study was to evaluate the effect of novel coronavirus infection on the risk of chronic systemic hyper-inflammation and low-grade systemic inflammation in patients with pulmonary tuberculosis.

Two main groups consisted of patients with pulmonary tuberculosis who had survived COVID-19 (mild form) 3 months ago, or at earlier terms, including the subjects with post-COVID symptoms and those free of these symptoms. The comparison group included patients with pulmonary tuberculosis without a history of COVID-19. The control group was presented by healthy blood donors. Concentrations of IL-6, IL-10, tumor necrosis factor alpha (TNF α), D-dimers, troponin I, cortisol, and endothelin I (ET-I) were measured in patients' plasma by immunoassay technique. On the basis of these markers, we calculated integral indices of systemic inflammatory response (SIR) – the levels of reactivity (RL), and chronic systemic hyper-inflammation (ChSI). Low-grade systemic inflammation (LGSi) was diagnosed in absence of ChSI, but in cases of simultaneous increase of D-dimer levels > 250 ng/mL and ET-I levels > 90 pg/mL in the patient.

The most prevalent symptoms of post-COVID in patients with pulmonary tuberculosis were tachycardia, arthralgia, and chronic fatigue syndrome, which correspond to the population-wide data. By all empirical parameters, the groups of tuberculosis patients were comparable to each other ($p > 0.05$) and significantly differed from control group. However, evaluation of integral indexes is more crucial for assessing the 'systemic' origin of the process. Thus, 23-50% of patients with pulmonary tuberculosis developed subcritical SIR (RL = 1-2), being a feature of ChSI in 7.1-13.6% of cases (both in COVID-19 convalescents and non-COVID-19 patients). Meanwhile, all patient groups did not show significant difference in the frequency of LGSI and endothelial dysfunction ($p > 0.05$). However, there was a trend towards an increase of these scores in the following sequence: tuberculosis without COVID-19 – tuberculosis + COVID-19 – tuberculosis + COVID-19 + post-COVID syndrome.

Most patients with pulmonary tuberculosis are not characterized by the development of chronic systemic hyperinflammation. LGSI is the most probable feature of general pathology in tuberculosis infection. Tuberculosis infection sufficiently contributes to the development of LGSI, since the frequency and severity of LGSI and its individual manifestations are independent on the new coronavirus infection and signs of post-COVID syndrome.

Keywords: chronic systemic inflammation, low-grade systemic inflammation, tuberculosis, COVID-19, post-COVID syndrome, endothelial dysfunction

Работа выполнена в рамках совместной реализации госзадания УНИИФ (№ гос. регистрации 122030100396-9) и госзадания ИИФ УрО РАН (№ гос. регистрации 122020900136-4).

Введение

Общеизвестно, что развитие новой коронавирусной инфекции сопровождается повышением провоспалительного и протромботического потенциала эндотелия микрососудов как в острый период, так и спустя длительное время после клинического выздоровления. Патологические проявления, сохраняющиеся на протяжении более 3 месяцев после перенесенного COVID-19, объединены в дефиницию «постковидный синдром» (постострые проявления COVID-19). К числу отсроченных признаков перенесенной коронавирусной инфекции относятся нарушения со стороны центральной нервной, бронхо-легочной и сердечно-сосудистой систем, желудочно-кишечного тракта, костно-суставные нарушения [11]. Данные о частоте развития постковидного синдрома очень гетерогенны и варьируют от 10% до 70% [11], при этом его проявления не зависят от тяжести перенесенной коронавирусной инфекции. Среди причин постострых проявлений COVID-19 выделяют длительную персистенцию вируса SARS-CoV-2 в различных органах, включая головной мозг, кишечник, репродуктивную систему, мышцы [12], результатом которой является сохраняющаяся воспалительная реактивность тканей.

Особого внимания заслуживают пациенты с туберкулезной инфекцией ввиду наличия у них фонового провоспалительного статуса, обусловленного персистенцией возбудителя *M. tuberculosis*. Уровень воспалительной реактивности у таких пациентов зависит от сбалансированности иммунных и воспалительных

механизмов. Индуцибельная продукция провоспалительных медиаторов способствует образованию гранулем и элиминации возбудителя, однако длительное воздействие провоспалительных триггеров приводит к активации эндотелия с повышением экспрессии и накоплением в крови молекул адгезии и факторов тромбогенности с последующим усилением миграции клеток-эффекторов воспаления и развитием системных микроциркуляторных расстройств [5]. Эндотелиальная дисфункция на фоне повышения продукции провоспалительных факторов у пациентов с туберкулезом может быть проявлением как хронического системного гипервоспаления (ХрСВ), так и низкоинтенсивного системного воспаления (НИСВ).

В настоящее время данные, касающиеся развития COVID-19 и его осложнений у пациентов с туберкулезом, весьма противоречивы [6].

Цель исследования – проанализировать влияние новой коронавирусной инфекции на вероятность развития хронического системного гипервоспаления и низкоинтенсивного системного воспаления у пациентов с туберкулезом легких.

Материалы и методы

Исследование было проведено на базе Уральского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии – филиала ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Минздрава России (УНИИФ).

На первом этапе исследования все пациенты прошли анкетирование на наличие симптомов постковидного синдрома (неосвежающий сон, постоянная усталость, недомогание после физической или эмоциональной нагрузки, когнитивные нарушения, ортостатические нарушения, артралгии, бессонница, учащение гипертонических кризов, тахикардия) [3]. Далее пациенты были разделены на 4 группы:

1. Пациенты с туберкулезом легких, перенесшие COVID-19 не ранее, чем за 3 месяца до момента обследования и имеющие симптомы постковидного синдрома ($n = 22$), наличие хотя бы одного из симптомов являлось основанием для включения пациента в данную группу исследования.

2. Пациенты с туберкулезом легких, перенесшие COVID-19 не ранее, чем за 3 месяца до момента обследования и не имеющие симптомов постковидного синдрома ($n = 13$). У всех пациентов 1-й и 2-й групп COVID-19 протекал в легкой форме (КТ 0-1).

3. Группа сравнения – пациенты с туберкулезом легких, не имеющие в анамнезе COVID-19 ($n = 14$).

Группы пациентов были сопоставимы по терапии основного заболевания. Критерием исключения для всех групп было наличие других медленно прогрессирующих вирусных инфекций: ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С.

4. Контрольная группа – здоровые доноры крови ($n = 89$).

Исследование проводилось в соответствии с правилами Хельсинкской декларации 1975 г., пересмотренной в 2013 г. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом УНИИФ.

У обследуемых лиц в цитратной плазме крови методом иммуноферментного анализа (Lazurite, Dynex Technologies, Inc., США) измеряли концентрации IL-6, IL-10, TNF α , на основании которых рассчитывали интегральный показатель системной воспалительной реакции (СВР) – уровень реактивности (УР) [15], а также концентрации D-димеров, тропонина I, кортизола. С учетом вышеуказанных показателей по оригинальной авторской методике [15] рассчитывалась вероятность развития хронического системного гипервоспаления (ХрСВ). Также определяли уровни маркера эндотелиальной дисфункции – эндотелина I (ЕТ-I). При отсутствии ХрСВ, но при одновременном наличии уровня D-димеров > 250 нг/мл и уровне эндотелина I > 90 пг/мл у пациента регистрировали низкоинтенсивное системное воспаление (НИСВ).

Статистический анализ проводили с использованием программного пакета Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., США). Поскольку распределение данных в группах не было нормальным, использовались непараметрические методы анализа и представления данных. Сравнение абсолютных показателей производилось методом Манна–Уитни (критерий U), категориальных переменных – с помощью критерия Хи-квадрат (χ^2). Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Среди симптомов постковидного синдрома, которые сохранялись не менее трех месяцев после перенесенной коронавирусной инфекции, у пациентов основной группы наблюдались: неосвежающий сон – 40%, недомогание после физической или эмоциональной нагрузки – 20%, когнитивные нарушения – 20%, ортостатические нарушения – 15%, артралгии – 55%, миалгии – 10%, бессонница – 35%, учащение гипертонических кризов – 10%, тахикардия – 70%. При этом наличие только 1 симптома отмечали 25% пациентов, 2 симптомов – 15%, 3 симптомов – 15%, 4 симптомов – 20%, 5 и более симптомов – 25%. Ни один пациент не отметил такие проявления, как головные боли, депрессивные состояния, длительные нарушения вкуса и обоняния, выпадение волос, расстройства ЖКТ, диарея, возникающая волнообразно и не зависящая от диеты либо приема лекарств, стеснение в груди, чувство нехватки воздуха.

Анализ маркеров воспаления в исследуемых группах (табл. 1) показал, что у реконвалесцентов COVID-19 с наличием симптомов постковидного синдрома наблюдалась тенденция к повышению большинства показателей воспаления по сравнению с другими группами пациентов с туберкулезом, однако эти различия не были статистически значимыми ($p > 0,05$). Поскольку медианы уровней биомаркеров у пациентов без COVID-19 в анамнезе были наиболее близки к таковым у пациентов без симптомов постковидного синдрома, на следующем этапе было проведено сравнение этих групп, в результате чего было выявлено, что по большинству эмпирических показателей (кроме TNF α) эти группы также сопоставимы между собой ($p > 0,05$). Сравнение уровней биомаркеров во всех группах пациентов с туберкулезом относительно контрольных значений (у доноров) показало их статистически значимое повышение при туберкулезной инфекции (кроме IL-10).

Однако с общепатологических позиций для оценки ХрСВ и НИСВ принципиально важно не просто повышение уровней биомаркеров, а частота превышения значений, являющихся критериями для их развития, а также анализ интегральных показателей, включающих в себя значения нескольких биомаркеров, что было осуществлено на следующем этапе работы (табл. 2). Так, интегральный показатель УР в контрольной группе только у одного обследуемого достиг значения УР = 1, что может свидетельствовать о развитии некритической СВР (возможно, вследствие субклинического воспаления, эмоционального стресса), в остальных случаях СВР не регистрировалась. У части пациентов с туберкулезом, независимо от перенесенной коронавирусной

инфекции и наличия постковидных осложнений, выявлены УР = 1-2, что может свидетельствовать о развитии протективной СВР в ответ на наличие очага воспаления, развитии НИСВ или ХрСВ. Для уточнения характера воспалительного процесса был проведен анализ не только СВР, но и других феноменов системного воспаления. Так, у пациентов с туберкулезом примерно в половине случаев выявлена высокая частота развития дистресса гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси. Другим наиболее выраженным феноменом являлось системное микротромбообразование (7,7-36,4%). Однако, несмотря на тенденцию к росту частоты выявления этих феноменов при наличии постковидного синдрома, статистически значимые отличия по критерию Хи-квадрат между всеми тремя группами пациентов отсутствовали. Сходная картина наблюдалась и по вероятности развития хронического системного гипервоспаления (ХрСВ) в целом: развитие ХрСВ выявлено как у реконвалесцентов коронавирусной инфекции, так и у пациентов, не переболевших COVID-19. По наличию критериев НИСВ (D-димеры > 250 нг/мл + ЕТ-I > 90 пг/мл) группы пациентов также статистически значимо не отличались (табл. 2), однако частота регистрации паракоагуляции у лиц с симптомами постковидного синдрома была значимо выше, чем при его отсутствии.

У пациентов с туберкулезом легких среди симптомов постковидного синдрома наиболее часто отмечаются тахикардия, артралгии, критерии синдрома хронической усталости, что в целом согласуется с общемировыми данными [11]. Вероятным механизмом их развития может являться повышение продукции эндогенного кортизола

вследствие дисфункции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, которая рассматривается как одна из наиболее важных эндокринных мишеней SARS-CoV-2 [8]. Однако следует учитывать, что у пациентов с туберкулезной инфекцией эти симптомы могут быть обусловлены эффектами химиотерапевтических препаратов и непосредственным влиянием возбудителя *M. tuberculosis*, что подтверждается кортизолемией у пациентов с туберкулезом, независимо от наличия COVID-19 в анамнезе и развития постковидного синдрома.

Согласно современным представлениям, в развитии постковидного синдрома ведущую роль играют нарушения в системе врожденного [2] и адаптивного [3, 9] иммунитета, а также воспалительная активность эндотелия микрососудов вследствие длительной персистенции вируса SARS-CoV-2 [14], которую с общепатологических позиций можно охарактеризовать как провоспалительный стресс эндотелиоцитов [7]. В зависимости от интенсивности и органоспецифичности клеточного провоспалительного стресса он может проявляться в виде классического воспаления с образованием очага, а также системного гипервоспаления или системного воспаления низкой интенсивности [7], о наличии и выраженности которых нужно судить не столько по единичным биомаркерам, сколько по их совокупности. Так, все три группы пациентов с туберкулезом легких значимо отличались от здоровых лиц по большинству эмпирических значений воспалительных маркеров и по частоте развития основных феноменов ХрСВ и НИСВ. Сходная картина наблюдалась и при анализе интегральных показателей, включающих в себя зна-

ТАБЛИЦА 1. УРОВНИ ОСНОВНЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ МАРКЕРОВ В ГРУППАХ, Ме (Q_{0,25}-Q_{0,75}) %

TABLE 1. VALUES OF KEY MARKERS OF INFLAMMATION IN THE GROUPS, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}) %

Маркер Marker	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3	Контрольная группа Control group
IL-6, пг/мл IL-6, pg/mL	0 (0,0-2,7)	0 (0-0)	0 (0,0-0,9)	0,8 (0,4-1,4)
TNFα, пг/мл TNFα, pg/mL	7,0 (0,0-10,1)	8,3 (0,0-9,4)	10,0 (9,1-12,2)	0 (0,0-0,4)
IL-10, пг/мл IL-10, pg/mL	3,8 (0,0-6,3)	0 (0,0-4,0)	0 (0,0-2,6)	0,6 (0,0-1,9)
Эндотелин I, пг/мл Endothelin I, pg/mL	277,5 (102,0-319,2)	175,1 (61,2-286,2)	67,1 (53,1-173,3)	18,4 (14,7-21,6)
Кортизол, нмоль/л Cortisol, nmol/L	967,0 (735,0-1200,0)	816,0 (613,0-916,0)	708,5 (414,0-1200,0)	358,3 (278,2-450,1)
Тропонин I, нг/мл Troponin I, ng/mL	0 (0,00-0,01)	0,01 (0,00-0,03)	0,04 (0,00-0,13)	0 (0-0)
D-димеры, нг/мл D-dimers, ng/mL	331,5 (260,0-562,0)	237,0 (201,0-382,0)	406,5 (235,0-479,0)	11,5 (4,9-30,3)

ТАБЛИЦА 2. ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ ХрСВ И НИСВ И ИХ ОСНОВНЫХ ФЕНОМЕНОВ В ГРУППАХ (В %)

TABLE 2. FREQUENCY OF ChSI AND ChLGSi AND THEIR BASIC PHENOMENA IN GROUPS OF PATIENTS (IN %)

		Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3	Контрольная группа Control group
Феномены ХрСВ / ChSI phenomena					
УР RL	УР = 0 RL = 0	50	76,9	64,3	98,9
	УР = 1 RL = 1	40,9	23,1	28,6	1,1
	УР = 2 RL = 2	9,1	0	7,1	0
Дистресс гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (кортизол > 690 нмоль/л) Distress of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (Cortisol > 690 nmol/L)		68,2	46,2	57,1	3,4
Микротромбообразование (D-димеры > 500 нг/мл) Microthrombosis (D-dimers > 500 ng/mL)		36,4	7,7	14,3	0
Системная альтерация (тропонин I > 0,2 нг/мл) Systemic alteration (Troponin I > 0.2 ng/mL)		0	0	21,4	0
ХрСВ ChSI		13,6	0	7,1	0
Феномены НИСВ / LGSi phenomena					
Эндотелиоз (Эндотелин I > 90 пг/мл) Endotheliosis (Endothelin I > 90 pg/mL)		77,3	61,5	42,9	0
Паракоагуляция (D-димеры > 250 нг/мл) Paracoagulation (D-dimers > 250 ng/mL)		77,3	38,5*	71,4	0
НИСВ ChLGSi		40,9	23,1	28,6	0

Примечание. * – наличие статистически значимых отличий между группами пациентов с наличием и отсутствием симптомов постковидного синдрома (U, p < 0,05).

Note. *, significant difference between groups of patients with and without post-COVID symptoms (U, p < 0.05).

чения нескольких биомаркеров и имеющих более принципиальное значение для оценки «системности» и выраженности процесса. Так, у 23-50% пациентов с туберкулезом легких развивалась не критическая СВР (УР = 1-2), которая являлась проявлением ХрСВ в 7,1-13,6% случаев (как у реконвалесцентов COVID-19, так и у пациентов, не перенесших COVID-19), у остальных пациентов она была не связана с ХрСВ и, соответственно, могла развиваться вследствие ответа на очаг воспаления или НИСВ. В то же время необходимо учитывать, что СВР не является атрибутивным проявлением НИСВ, повышение С-реактивного белка и провоспалительных цитокинов обычно находится в пограничном для нормы диапазоне [10]. Наиболее значимым феноменом НИСВ является эндотелиальная дисфункция, характеризующаяся дисбалансом между продукцией вазодилатирующих, ангиопротективных, анти-

пролиферативных факторов, с одной стороны, и вазоконстрикторных, протромботических, пролиферативных факторов – с другой [1, 7]. Наличие системной эндотелиальной дисфункции у пациентов с туберкулезом было выявлено нами в предыдущих исследованиях с помощью оптической когерентной томографии [4]. Проведенная в настоящем исследовании оценка функционального состояния эндотелия с помощью молекулярных маркеров показала, что у большинства пациентов с туберкулезом легких, независимо от перенесенной коронавирусной инфекции и наличия симптомов постковидного синдрома, повышается сывороточный уровень ET-I. При этом, несмотря на тенденцию к росту частоты эндотелиальной дисфункции в ряду: туберкулез без COVID-19 – туберкулез + COVID-19 – туберкулез + COVID-19 + симптомы постковидного синдрома, различия между ними незначимы, что

свидетельствует о сопоставимости групп по этому феномену. Однако, возможно, эти различия будут более выражены при лабораторных и клинических исследованиях в динамике. По частоте развития НИСВ (около трети случаев) группы пациентов с туберкулезом также были сопоставимы, однако у пациентов с симптомами постковидного синдрома наблюдался повышенный риск развития паракоагуляционных расстройств.

Заключение

Для большинства пациентов с туберкулезом легких не характерно развитие хронического

системного гипервоспаления. Наиболее вероятным типовым патологическим процессом при туберкулезной инфекции является НИСВ, проявления которого – эндотелиальная дисфункция и паракоагуляция – выявлены у большинства пациентов. При этом наибольший вклад в развитие НИСВ вносит туберкулезная инфекция, поскольку частота и выраженность НИСВ и его отдельных признаков не зависят от перенесенной новой коронавирусной инфекции и наличия симптомов постковидного синдрома. Однако при длительном течении туберкулезного процесса не исключается более выраженная COVID-индуцированная нестабильность гомеостаза.

Список литературы / References

1. Власов Т.Д., Нестерович И.И., Шиманьски Д.А. Эндотелиальная дисфункция: от частного к общему. Возврат к «старой парадигме»? // Регионарное кровообращение и микроциркуляция, 2019. Т. 8, № 2. С. 19-27. [Vlasov T.D., Nesterovich I.I., Shimanski D.A. Endothelial Dysfunction: from the Particular to the General. Return to the “Old Paradigm”? *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya = Regional Hemodynamics and Microcirculation*, 2019, Vol. 18, no. 2, pp. 19-27. (In Russ.)]
2. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Комелькова М.В., Зурочка В.А., Праскурничий Е.А., Рябова Л.В., Сарапульцев А.П. Изменения врожденных факторов иммунной системы по данным изучения иммунной системы периферической крови у постковидных пациентов // Инфекция и иммунитет, 2023. Т. 13, № 5. С. 864-872. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Komelkova M.V., Zurochka V.A., Praskurnichiy E.A., Ryabova L.V., Sarapultsev A.P. Alteration in innate immune cues assessed by analyzing peripheral blood immune system in post-COVID patients. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2023, Vol. 13, no. 5, pp. 864-872. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-AII-9641.
3. Мухоморова Л.В., Вельков В.В. Постковидный синдром – длинный КОВИД. Патофизиология, риски, биомаркеры, диагноз, прогноз // Лабораторная и клиническая медицина. Фармация, 2022. Т. 2, № 3. С. 57-64. [Mukhomorova L.V., Velkov V.V. Postcovid syndrome – long COVID. Pathophysiology, risks, biomarkers, diagnosis, prognosis. *Laboratornaya i klinicheskaya meditsina. Farmatsiya = Laboratory and Clinical Medicine. Pharmacy*, 2022, Vol. 2, no. 3, pp. 57-64. (In Russ.)]
4. Сабадаш Е.В., Скорняков С.Н., Медвинский И.Д., Красноборова С.Ю., Бурьлова Е.А., Телицина Э.В. Оптическая когерентная томография: новые возможности выявления доклинической патологии органа зрения у пациентов с ВИЧ-инфекцией и туберкулезом // Туберкулез и болезни лёгких, 2021. Т. 99, № 4. С. 44-50. [Sabadash E.V., Skorniyakov S.N., Medvinskiy I.D., Krasnoborova S.Yu., Burylova E.A., Telitsina E.V. Optical coherence tomography: new opportunities for detecting preclinical vision disorders in patients with HIV infection and tuberculosis. *Tuberkulioz i bolezni liogkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2021, Vol. 99, no. 4, pp. 44-50 (In Russ.)]
5. Amaral E.P., Vinhaes C.L., Oliveira-de-Souza D., Nogueira B., Akrami K.M., Andrade B.B. The interplay between systemic inflammation, oxidative stress, and tissue remodeling in tuberculosis. *Antioxid. Redox Signal.*, 2021, Vol. 34, no. 6, pp. 471-485.
6. González-Domenech C.M., Pérez-Hernández I., Gómez-Ayerbe C., Viciano Ramos I., Palacios-Muñoz R., Santos J. A pandemic within other pandemics. When a multiple infection of a host occurs: SARS-CoV-2, HIV and Mycobacterium tuberculosis. *Viruses*, 2021, Vol. 13, no. 5, 931. doi: 10.3390/v13050931.
7. Gusev E., Zhuravleva Y. Inflammation: A new look at an old problem. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, Vol. 23, no. 9, 4596. doi: 10.3390/ijms23094596.
8. Jensterle M., Herman R., Janež A., Mahmeed W.A., Al-Rasadi K., Al-Alawi K., Banach M., Banerjee Y., Ceriello A., Cesur M., Cosentino F., Galia M., Goh S.Y., Kalra S., Kempler P., Lessan N., Lotufo P., Papanas N., Rizvi A.A., Santos R.D., Stoian A.P., Toth P.P., Viswanathan V., Rizzo M. The Relationship between COVID-19 and hypothalamic–pituitary–adrenal axis: a large spectrum from glucocorticoid insufficiency to excess – the CAPISCO International Expert Panel. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, Vol. 23, no. 13, 7326. doi: 10.3390/ijms23137326.
9. Keruevan J., Staropoli I., Slama D., Jeger-Madiot R., Donnadiou F., Planas D., Pietri M.P., Lohmari-Bouchneb W., Alaba Tanah M., Robinot R., Boufassa F., White M., Salmon-Ceron D., Chakrabarti L.A. Divergent adaptive immune responses define two types of long COVID. *Front. Immunol.*, 2023, Vol. 14, 1221961. doi: 10.3389/fimmu.2023.1221961.
10. Kopp L., Schweinlin A., Tingö L., Hutchinson A.N., Feit V., Jähnichen T., Lehnert K., Vetter W., Rings A., Jensen M.G., Brummer R.J., Bischoff S.C. Potential modulation of inflammation and physical function by combined probiotics, omega-3 supplementation and vitamin D supplementation in overweight/obese patients with chronic low-grade inflammation: a randomized, placebo-controlled trial. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, Vol. 24, no. 10, 8567. doi: 10.3390/ijms24108567.

11. Ramakrishnan R.K., Kashour T., Hamid Q., Halwani R., Tleyjeh I.M. Unraveling the mystery surrounding post-acute sequelae of COVID-19. *Front. Immunol.*, 2021, Vol. 12, 686029. doi: 10.3389/fimmu.2021.686029.
12. Stein S.R., Ramelli S.C., Grazioli A., Chung J.Y., Singh M., Yinda C.K., Winkler C.W., Sun J., Dickey J.M., Ylaya K., Ko S.H., Platt A.P., Burbelo P.D., Quezado M., Pittaluga S., Purcell M., Munster V.J., Belinky F., Ramos-Benitez M.J., Boritz E.A., Lach I.A., Herr D.L., Rabin J., Saharia K.K., Madathil R.J., Tabatabai A., Soherwardi S., McCurdy M.T., NIH COVID-19 Autopsy Consortium, Peterson K.E., Cohen J.I., de Wit E., Vannella K.M., Hewitt S.M., Kleiner D.E., Chertow D.S. SARS-CoV-2 infection and persistence in the human body and brain at autopsy. *Nature*, 2022, Vol. 612, no. 7941, pp. 758-763.
13. Sunada N., Honda H., Nakano Y., Yamamoto K., Tokumasu K., Sakurada Y., Matsuda Y., Hasegawa T., Otsuka Y., Obika M., Hanayama Y., Hagiya H., Ueda K., Kataoka H., Otsuka F. Hormonal trends in patients suffering from long COVID symptoms. *Endocr. J.*, 2022, Vol. 69, no. 10, pp. 1173-1181.
14. Xu S.W., Ilyas I., Weng J.P. Endothelial dysfunction in COVID-19: an overview of evidence, biomarkers, mechanisms and potential therapies. *Acta Pharmacol. Sin.*, 2023, Vol. 44, no. 4, pp. 695-709.
15. Zotova N., Zhuravleva Y., Chereshev V., Gusev E. Acute and chronic systemic inflammation: features and differences in the pathogenesis, and integral criteria for verification and differentiation. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, Vol. 24, no. 2, 1144. doi: 10.3390/ijms24021144.

Авторы:

Сабадаш Е.В. — к.м.н., заведующая научно-клинической лабораторией сочетанных социально-значимых заболеваний, Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Журавлёва Ю.А. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Скорняков С.Н. — д.м.н., заведующий научным отделом, Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Гусев Е.Ю. — д.м.н., профессор, заведующий лабораторией иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

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

Ершова А.В. — к.б.н., научный сотрудник научно-исследовательского отдела микробиологии и доклинических исследований, Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Яркиева А.А. — ординатор кафедры инфекционных болезней, фтизиатрии и пульмонологии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Authors:

Sabadash E.V., PhD (Medicine), Head, Research and Clinical Laboratory of Combined Socially Significant Diseases, Ural Research Institute of Phthiopulmonology, Branch of the National Medical Research Center for Phthiopulmonology and Infectious Diseases, Yekaterinburg, Russian Federation

Zhuravleva Yu.A., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Inflammation Immunology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Skornyakov S.N., PhD, MD (Medicine), Head, Research Department, Ural Research Institute of Phthiopulmonology, Branch of the National Medical Research Center for Phthiopulmonology and Infectious Diseases, Yekaterinburg, Russian Federation

Gusev E.Yu., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Inflammation Immunology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Zotova N.V., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Inflammation Immunology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Ershova A.V., PhD (Biology), Research Associate, Research Department of Microbiology and Preclinical Research, Ural Research Institute of Phthiopulmonology, Branch of the National Medical Research Center for Phthiopulmonology and Infectious Diseases, Yekaterinburg, Russian Federation

Yarkieva A.A., Medical Resident, Department of Infectious Diseases, Phthiology and Pulmonology, Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ ОТ МАТЕРЕЙ, ПЕРЕНЕСШИХ COVID-19 ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Чистякова Г.Н., Бычкова С.В., Ремизова И.И., Ягубова Г.Х.

*ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества»
Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия*

Резюме. Тема отдаленных последствий COVID-19 остается приоритетной. Особого внимания заслуживает состояние здоровья новорожденных, матери которых перенесли коронавирусную инфекцию во время беременности.

Цель исследования – оценить клинико-иммунологические показатели у доношенных новорожденных от матерей, перенесших COVID-19 во время беременности.

Проведено проспективное когортное сравнительное исследование. Группа доношенных новорожденных от матерей, перенесших COVID-19 легкой и средней степени тяжести в разные сроки беременности ($n = 134$), сравнивали с группой новорожденных от матерей, которые не переболели ОРВИ, COVID-19 в беременности ($n = 84$). Также оценивали отдельные показатели здоровья и иммунологическую характеристику в возрасте 3 месяцев жизни детей.

Для статистического анализа применяли пакет компьютерных программ Microsoft Excel (2010), SPSS Statistics версия 22.0 (IBM Microsoft, США). Проверка статистических гипотез об отсутствии межгрупповых различий количественных признаков осуществлялись с использованием U-критерия Манна–Уитни, критерия Стьюдента, качественных признаков – с использованием критерия хи-квадрат (χ^2). Качественные данные представлены как абсолютное значение (n) и %. Результаты считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Установлено, что в неонатальный период статистически значимых различий по гендерным признакам, антропометрическим характеристикам и оценке по шкале Апгар в группах не выявлено. Не выявлено различий в уровне заболеваемости в неонатальный период. В возрасте 3 месяцев жизни отмечалась более высокая частота соматической и неврологической заболеваемости у детей, матери которых перенесли новую коронавирусную инфекцию во время беременности (ОШ = 3,78 (1,5; 9,51); $p < 0,001$).

Установлено, что у новорожденных детей в I группе статистически значимо ниже уровень гематокрита ($p = 0,001$), лимфоцитов ($p < 0,001$), тромбоцитов ($p < 0,001$). При анализе уровня цитокинов

Адрес для переписки:

*Ремизова Ирина Ивановна
ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт
охраны материнства и младенчества» Министерства
здравоохранения РФ
620028, Россия, г. Екатеринбург, ул. Репина, 1.
Тел.: 8 (982) 627-95-36.
E-mail: RemizovaII@yandex.ru*

Address for correspondence:

*Irina I. Remizova
Ural Research Institute for Maternal and Child Care
1 Repin St
Yekaterinburg
620028 Russian Federation
Phone: +7 (982) 627-95-36.
E-mail: RemizovaII@yandex.ru*

Образец цитирования:

*Г.Н. Чистякова, С.В. Бычкова, И.И. Ремизова,
Г.Х. Ягубова «Клинико-иммунологическая
характеристика доношенных детей от матерей,
перенесших COVID-19 во время беременности»
// Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28,
№ 1. С. 73-82.
doi: 10.46235/1028-7221-16998-CAI*

© Чистякова Г.Н. и соавт., 2025

*Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0*

For citation:

*G.N. Chistyakova, S.V. Bychkova, I.I. Remizova,
G.Kh. Yagubova “Clinical and immunological characteristics
of full-term newborns from mothers with COVID-19 during
pregnancy”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 1, pp. 73-82.
doi: 10.46235/1028-7221-16998-CAI*

© Chistyakova G.N. et al., 2025

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16998-CAI

пуповинной крови двух групп установлено, что уровни TNF, IL-6, VEGF-A, IL-10, IL-1 α , IL-1 β , IL-8 ($p \leq 0,001$) были выше в I группе по сравнению со II группой. Уровни цитокинов у матери показали положительную корреляцию с их аналогами в пуповинной крови. Сильные положительные связи были найдены в паре мать-ребенок в третьем триместре по показателям TNF α , IL-1 β , умеренные положительные IL-8, IL-10.

Несмотря на отсутствие клинических проявлений инфекционного процесса и других нарушений ранней неонатальной адаптации, лабораторные изменения в общем анализе крови и активная экспрессия провоспалительных цитокинов у новорожденных, матери которых перенесли COVID-19 во время беременности, может свидетельствовать о наличии фетального системного воспалительного ответа. Результатом низкоактивного воспаления может быть повышенная заболеваемость в возрасте 3 месяцев жизни.

Ключевые слова: доношенный новорожденный, цитокины, COVID-19, перинатальные нарушения

CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF FULL-TERM NEWBORNS FROM MOTHERS WITH COVID-19 DURING PREGNANCY

Chistyakova G.N., Bychkova S.V., Remizova I.I., Yagubova G.Kh.

Ural Research Institute for Maternal and Child Care, Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. The long-term consequences of COVID-19 still remain among priority issues. Special attention should be paid to the state of health of newborns whose mothers suffered a coronavirus infection during pregnancy. The aim of our study was to evaluate clinical and immunological parameters in full-term newborns from mothers who underwent COVID-19 during pregnancy.

We have performed a prospective cohort comparative study. A group of full-term newborns from mothers who had mild or moderate COVID-19 at different stages of pregnancy ($n = 134$) was compared with a group of newborns from mothers who were not exposed to SARS-CoV-2 infection during their pregnancy ($n = 84$). Individual health indices and immunological characteristics were also evaluated at the age of 3 months of infants' life. For statistical analysis, the Microsoft Excel computer software package (2010), SPSS Statistics version 22.0 (IBM Microsoft, USA) was used. Statistical hypotheses about the absence of intergroup differences in quantitative characteristics were tested using the Mann–Whitney U criterion, the Student's criterion, and binary characteristics were assessed with Chi-square test (χ^2). Qualitative data are presented as an absolute value (n) and percentages. The results were considered reliable at a significance level of $p < 0.05$.

It was found that, in the neonatal period, there were no statistically significant differences in gender characteristics, anthropometric characteristics and Apgar scores between the groups. There were no differences in the incidence rate in the neonatal period. At the age of 3 months of life, there was a higher incidence of somatic and neurological morbidity in children whose mothers had suffered a new coronavirus infection during pregnancy (OR = 3.78 (1.5; 9.51); $p < 0.001$). It was found that the levels of hematocrit ($p = 0.001$), lymphocytes ($p < 0.001$), platelets ($p < 0.001$) were statistically significantly lower in newborns in group I. When analyzing the levels of umbilical cord blood cytokines in the two groups, it was found that the levels of TNF, IL-6, VEGF-A, IL-10, IL-1 α , IL-1 β , IL-8 ($p \leq 0.001$) were higher in group I compared with group II. The levels of cytokines in their mothers showed a positive correlation with appropriate indexes in umbilical cord blood. Strong positive associations were found in the mother-child pairs on the 3rd trimester of pregnancy, in terms of TNF α , IL-1 β , moderate positive correlations were revealed for IL-8, IL-10. Hence, despite the absence of clinical manifestations of infectious process and other disorders of early neonatal adaptation, the laboratory changes in general blood counts and active expression of proinflammatory cytokines in newborns whose mothers suffered COVID-19 during pregnancy may suggest the presence of a fetal systemic inflammatory response. An increased morbidity at the age of 3 months may be the result of low-level inflammation.

Keywords: full-term newborn, cytokines, COVID-19, perinatal disorders

Введение

Коронавирус (SARS-CoV-2) является возбудителем пандемии 2019 года, унесшей жизни 6,9 миллионов человек и поразившей более 765 миллионов [17]. Это заболевание стало серьезной проблемой здравоохранения во всем мире, и даже после пика пандемии тема отдаленных последствий для здоровья населения не стала менее приоритетной. Особого внимания заслуживает состояние здоровья новорожденных, матери которых перенесли коронавирусную инфекцию во время беременности, и детей, родившихся во время пандемии [1, 5].

Передается ли SARS-CoV-2 от матери к плоду через плаценту? Мнения ученых в этом вопросе неоднозначны. Одни авторы считают, что существует возможность вертикальной передачи SARS-CoV-2. Основным аргументом за возможность вертикальной передачи является тот факт, что SARS-CoV-2 способен реплицироваться в клетках плаценты человека [10, 11, 16]. Также возможность трансплацентарной передачи COVID-19 доказывает присутствие частиц вируса SARS-CoV-2 в плаценте и околоплодных водах, что предполагает возможное заражение плода [6, 7, 9, 10]. SARS-CoV характеризуется вторичной иммунодепрессией, которая проявляется поздним началом синтеза интерферонов и активацией ключевого фактора воспаления NLRP3-инфламмосомы, что обусловлено обширным набором структурных и неструктурных белков, обладающих провоспалительными и иммунодепрессивными свойствами. Отсроченный синтез интерферона позволяет вирусу активно и беспрепятственно реплицироваться. В тот момент, когда организм запускает синтез интерферона-I, его действие оказывалось вредным и сопровождалось утяжелением течения инфекции, из-за чего SARS можно отнести к числу иммунозависимых инфекций с выраженным иммунопатологическим компонентом [4]. Другие авторы считают, что вертикальная передача вируса невозможна. Mahyuddin A.P. и соавт. (2020) при проведении гистологического исследования обнаружили наличие редких вирусных частиц, мальперфузии сосудов и воспаления в плаценте у беременных женщин с COVID-19. Недостаточная плацентарная коэкспрессия ACE-2 и TMPRSS2, двух рецепторов, участвующих в проникновении SARS-CoV-2 в цитоплазму, может объяснить его относительную нечувствительность и сложность трансплацентарной передачи [11, 12].

Во время COVID-19 уровни цитокинов значительно повышаются и могут достигать нг/мл при

тяжелом течении заболевания. Эти показатели часто коррелируют с тяжестью заболевания, что связывает их с неблагоприятными исходами. Цитокины, такие как интерлейкин IL-1, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, гамма-интерферон (IFN γ), фактор некроза опухоли альфа (TNF α) и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, были идентифицированы как молекулы, которые образуют цитокиновый шторм [8, 13, 14]. Иммунные механизмы цитокинового шторма при COVID-19 до конца не изучены. Есть мнения, предполагающие, что материнские провоспалительные цитокины проникают через плацентарный барьер и стимулируют воспалительные реакции и активацию иммунной системы у плода, что может привести к повреждению многих органов с негативными последствиями для развития новорожденного. В исследовании Moreira A.L.E. и соавт. (2023) клеточный иммунный ответ новорожденных от матерей с COVID-19 показал увеличение экспрессии цитокинов на 803,2% по сравнению с группой новорожденных, матери которых не переболели COVID-19 во время беременности [14].

Неконтролируемое системное воспаление также может вызвать неблагоприятные исходы беременности — выкидыши, преждевременные роды, дистресс плода, задержку внутриутробного роста плода и повышенную неонатальную заболеваемость и смертность, а также синдром фетального воспалительного ответа (СФВО) [13, 15, 18]. СФВО имеет место при COVID-19 и характеризуется активацией фетальной иммунной системы и повышенной продукцией провоспалительных цитокинов. Тяжесть заболевания у беременной не коррелирует с тяжестью течения СФВО в неонатальном периоде и может варьировать от минимальных изменений на уровне лабораторных показателей до развития осложнений со стороны органов и систем [2].

Цель исследования — оценить клинико-иммунологические показатели у доношенных новорожденных от матерей, перенесших COVID-19 во время беременности.

Материалы и методы

Для оценки особенностей иммунного статуса матерей, перенесших COVID-19 во время беременности, и их новорожденных проведено проспективное когортное сравнительное одноцентровое исследование. Группа доношенных новорожденных от матерей, перенесших COVID-19 легкой и средней степени тяжести в разные сроки беременности, сравнивали с группой детей от ма-

терей, которые не переболели ОРВИ, COVID-19 во время беременности.

I группа (основная) – доношенные новорожденные от матерей, которые перенесли COVID-19 в разные сроки беременности (легкой и средней степени тяжести) (n = 134).

II группа (сравнения) – доношенные новорожденные от матерей, которые не болели ОРВИ, COVID-19 в течение настоящей беременности (n = 84).

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Пациенты наблюдались в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Всем пациентам проводились необходимые клинические и лабораторные исследования в рамках общепринятых стандартов и существующих методических рекомендаций. О тяжести состояния судили по клинической картине, данных инструментальных и лабораторных исследований. Эффективность лечения оценивалась по срокам нормализации общего клинического состояния, лабораторных показателей. Для оценки уровня

цитокинов в паре мать-ребенок забиралась венозная кровь матери перед родоразрешением и пуповинная кровь ребенка.

Количество мальчиков и девочек в обеих группах не имело статистически значимой разницы.

Матери обследуемых детей перенесли COVID-19 в легкой и средней степени тяжести, женщины с тяжелой формой COVID-19 не были включены в исследование. Все дети родились после клинического выздоровления матери и отрицательного теста ПЦР к SARS-CoV-2 (исследование образцов носоглоточного/ротоглоточного экссудата). В I триместре беременности COVID-19 перенесли 30 (22,4%) женщин, больше половины (57,5% женщин, 69 человек) перенесли COVID-19 во II триместре беременности, в III триместре заболели 35 (26,1%) женщин. Обследованные женщины обеих групп были сопоставимы по социальному статусу, возрасту.

Для оценки отдельных показателей здоровья в возрасте 3 месяцев жизни ребенка был проведен анализ амбулаторных карт 112/у (n = 91, среди них из первой группы 53 ребенка, из второй – 38 детей). Оценивался уровень отдельных цитокинов крови. Статистически значимые значения были проанализированы.

Дизайн исследования Research design

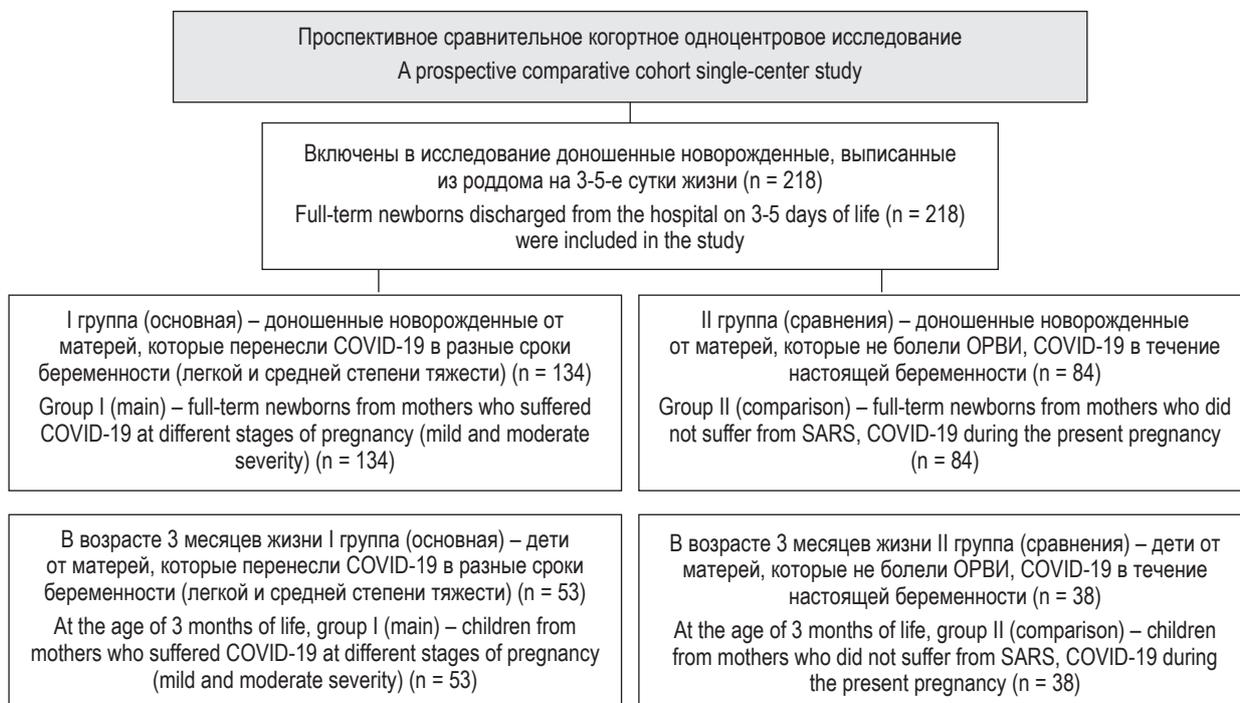


Рисунок 1. Дизайн исследования

Figure 1. Research design

Исследование одобрено этическим комитетом Уральского научно-исследовательского института охраны материнства и младенчества (протокол № 12 от 21.09.2020 г.).

Статистические методы

Для статистического анализа и построения графиков применяли пакет компьютерных программ Microsoft Excel (2010), SPSS Statistics версия 22.0 (IBM Microsoft, США). В большинстве случаев характер распределения показателей отличался от нормального, поэтому были использованы непараметрические методы математической статистики. Наряду со средним арифметическим и среднеквадратическим (стандартным) отклонением данные были охарактеризованы медианой (Me), нижним (25%) и верхним (75%) квартилями. Проверка статистических гипотез об отсутствии межгрупповых различий количественных признаков осуществлялись с использованием U-критерия Манна–Уитни, критерия Стьюдента, качественных признаков – с использованием критерия хи-квадрат (χ^2). Качественные данные представлены как абсолютные (n) и относительные (%) значения. Результаты считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Для выявления шансов наступления определенного события у пациентов основной группы, подвергшихся фактору риска, по отношению к группе сравнения, проводили расчет отношения шансов (ОШ) с доверительным интервалом 95% (95% ДИ).

Направление и силу связи признаков определяли методом корреляционного анализа с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r): корреляционную связь с коэффициентом корреляции $r < 0,25$ расценивали как слабую, $r = 0,25-0,5$ – как умеренную и $r = 0,5-1$ – как сильную [3].

Результаты и обсуждение

Клиническая характеристика наблюдаемых детей

Статистически значимых различий по гендерным признакам, по антропометрическим характеристикам и оценке по шкале Апгар в группах не выявлено.

При анализе клинических характеристик новорожденных двух групп (табл. 1) сравнивались такие нозологические формы, как транзиторное тахипноэ (P22.0), гипербилирубинемия новорожденных (P59), внутрижелудочковое кровоизлияние (нетравматическое) 1-й степени у плода и новорожденного (P52.0), кровоизлияние в кожу у новорожденного (P54.5), гипоксическая ише-

мическая энцефалопатия новорожденного (P91), врожденные пороки развития, замедленный рост и недостаточность питания плода (P05), инфекция, специфичная для перинатального периода неуточненная (P39). Значимых различий между группами не выявлено.

В возрасте 3 месяцев жизни отмечалась более высокая частота соматической и неврологической заболеваемости у детей, матери которых перенесли новую коронавирусную инфекцию во время беременности (ОШ = 3,78 (1,5; 9,51); $p < 0,001$).

На диспансерном учете у профильных специалистов состояли 43 (32%) ребенка первой и 6 (7,1%) детей второй группы ($p < 0,001$). Большая часть (29 детей (21,6%) основной и 6 (7,1%) контрольной группы) обследуемых детей находилась под наблюдением детского невролога с синдромом двигательных нарушений, синдромом повышенной внутричерепной гипертензии, синдромом вегетативных дисфункций ($p < 0,001$). В I группе 17 (12,7%) детей находились под наблюдением кардиолога с функциональными нарушениями сердечно-сосудистой системы, во II группе таких детей не выявлено ($p < 0,0001$). Восемь (6,0%) детей I группы состояли на учете у хирурга по причине других уточненных поражений суставов, не классифицируемых в других рубриках (M24.8), оперированной пупочной грыжи (K42) и других врожденных деформаций стопы (Q66.8), во II группе таких патологий не обнаружено $p = 0,022$.

Лабораторные показатели

Анализируя показатели гемограммы наблюдаемых детей в первые сутки (табл. 2) было установлено, что у новорожденных детей в I группе статистически значимо ниже уровень гематокрита ($p = 0,001$), лимфоцитов ($p < 0,001$), тромбоцитов ($p < 0,001$), а уровни моноцитов и сегментоядерных нейтрофилов, напротив, статистически значимо выше ($p = 0,013$ и $p = 0,001$ соответственно).

В биохимическом анализе крови в первые сутки жизни отмечено повышение АЛТ ($p = 0,001$), а на третьи сутки жизни – повышение уровня прямого билирубина ($p = 0,005$). В первые сутки жизни не было отмечено более высокой частоты эпизодов гипогликемии у детей I группы.

Иммунологические показатели наблюдаемых детей

При анализе уровня цитокинов пуповинной крови новорожденных обеих групп (табл. 3, рис. 2) установлено, что уровни TNF α ($p < 0,001$), IL-6 ($p < 0,001$), VEGF-A ($p < 0,001$), IL-10 ($p < 0,001$), IL-1 α ($p < 0,001$), IL-8 ($p = 0,003$) были выше в I группе по сравнению со II группой. Однако

ТАБЛИЦА 1. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАБЛЮДАЕМЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ

TABLE 1. CLINICAL CHARACTERISTICS OF THE NEWBORNS

Нозологические формы (МКБ-10) Nosological forms (ICD-10)	I группа (новорожденные от женщин с COVID-19) Group I (newborns from women with COVID-19) n = 134	II группа (новорожденные от женщин без COVID-19) Group II (newborns from women without COVID-19) n = 84	Уровень значимости различий (p) Level of significance of the differences (p)	Отношение шансов (95% ДИ) Odds ratio (95% CI)
P22.1 Транзиторное тахипноэ P22.1 Transient tachypnea	13 (9,7%)	3 (3,6%)	p = 0,28	0,497 (0,14; 1,82)
P59. Гипербилирубинемия P59. Hyperbilirubinemia	14 (10,4%)	11 (13,0%)	p = 0,12	1,98 (0,83; 4,7)
P52.0 Внутрижелудочковое кровоизлияние I P52.0 Intraventricular hemorrhage I	2 (1,5%)	0 (0%)	p = 0,35	0,984 (0,96; 1,06)
P54.5 Кровоизлияния в кожу P54.5 Skin hemorrhages	6 (4,5%)	0 (0%)	p = 0,09	0,952 (0,91; 0,99)
P91. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия P91. Hypoxic ischemic encephalopathy	34 (25,4%)	24 (28,6%)	p = 0,20	1,81 (0,87; 1,76)
Врожденные пороки развития Congenital malformations	4 (2,98%)	0 (0%)	p = 0,18	0,968 (0,93; 0,99)
P39. Инфекция перинатального периода неуточненная P39. Infection of the perinatal period	2 (1,5%)	0 (0%)	p = 0,35	0,984 (0,96; 1,06)

Примечание. Общее количество наблюдений не соответствует 100% вследствие выявления нескольких патологических признаков у одного и того же ребенка, * p < 0,05.

Note. The total number of observations does not correspond to 100% due to the detection of several pathological signs in the same child, * p < 0.05.

концентрация IL-1β у детей от женщин, перенесших COVID-19, была в 2,1 раза ниже (p < 0,001).

Уровни цитокинов у матери показали прямые положительные корреляции с их аналогами в пуповинной крови ребенка. Сильные положительные связи были найдены в паре мать-ребенок в третьем триместре по показателям TNFα, IL-1β, (r ≥ 0,7, p < 0,05), умеренные положительные IL-8, IL-10 (r = 0,4, p < 0,05). Уровень VEGF-A значительно превышал показатели матери и, если мать переносила COVID-19 во втором и третьем триместре, был почти в 2 раза выше, чем в пуповинной крови детей, матери которых болели в 1-м триместре.

При анализе динамики IL-8 в пуповинной крови новорожденных (рис. 2) установлено, что чем меньше прошло времени между инфицированием и родами, тем выше его уровень в пуповинной крови у новорожденного.

В возрасте 3 месяцев в I группе уровень TNF был статистически ниже (p < 0,001), а IL-10, напротив, выше (p = 0,009) (табл. 4, рис. 4). Стоит отметить, что в динамике к 3 месяцам жизни уровни TNF и IL-10 в I группе практически не поменялись, но при этом во II группе произошел значительное повышение TNF и снижение уровня IL-10. Статистически значимых различий в уровне IL-8 в возрасте 3 месяцев не было выявлено.

ТАБЛИЦА 2. ПОКАЗАТЕЛИ ГЕМОГРАММЫ НАБЛЮДАЕМЫХ ДЕТЕЙ (1-Е СУТКИ ЖИЗНИ)

TABLE 2. HEMOGRAM OF THE CHILDREN (1ST DAY OF LIFE)

Показатели Indicators	I группа (новорожденные от женщин с COVID-19) Group I (newborns from women with COVID-19) n = 134	II группа (новорожденные от женщин без COVID-19) Group II (newborns from women without COVID-19) n = 84	Уровень значимости различий (p) Level of significance of the differences (p)
	Me (Q _{0,25} -Q _{0,75})	Me (Q _{0,25} -Q _{0,75})	
Гемоглобин, г/л Hemoglobin, g/L	178 (165,25-193,00)	174 (165,50-187,50)	p ₁₋₂ = 0,45
Эритроциты, 10 ¹² /л Red blood cells, 10 ¹² /L	4,78 (4,47-5,14)	4,97 (4,66-5,39)	p ₁₋₂ = 0,06
Гематокрит, % Hematocrit, %	50 (46,30-54,60)	50,6 (47,60-54,55)	p ₁₋₂ = 0,01*
Лейкоциты, 10 ⁹ /л White blood cells, 10 ⁹ /L	16,45 (13,94-21,24)	16,5 (14,15-20,60)	p ₁₋₂ = 0,90
Эозинофилы, % Eosinophils, %	2,0 (1,00-3,00)	3 (2,00-5,00)	p ₁₋₂ = 0,09
Палочкоядерные нейтрофилы, % Rod-shaped neutrophils, %	6,0 (4,00-6,75)	8 (5,00-10,00)	p ₁₋₂ = 0,42
Сегментоядерные нейтрофилы, % Segmented neutrophils, %	55 (49-61)	43 (36,5-51,5)	p ₁₋₂ = 0,01*
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	27 (23-34)	36 (30,5-42,0)	p ₁₋₂ = 0,001*
Моноциты, % Monocytes, %	9 (7-11)	8 (6-10)	p ₁₋₂ = 0,01*
Тромбоциты, 10 ⁹ /л Platelets, 10 ⁹ /L	276 (231,00-313,75)	328 (286-357)	p ₁₋₂ = 0,00*

Примечание. * p < 0,05.

Note. * p < 0.05.

ТАБЛИЦА 3. ПОКАЗАТЕЛИ УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ ПУПОВИННОЙ КРОВИ

TABLE 3. CYTOKINE LEVEL INDICATORS IN THE CORD BLOOD OF NEWBORNS

Показатели Indicators	I группа (новорожденные от женщин с COVID-19) Group I (newborns from women with COVID-19) n = 134	II группа (новорожденные от женщин без COVID-19) Group II (newborns from women without COVID-19) n = 84	Уровень значимости различий (p) Level of significance of the differences (p)
	Me (Q _{0,25} -Q _{0,75})	Me (Q _{0,25} -Q _{0,75})	
IL-8	40,56 (9,21-133,56)	14,31 (7,84-57,30)	p ₁₋₂ = 0,003*
TNF	7,94 (6,23-23,13)	2,52 (1,58-4,23)	p ₁₋₂ = 0,001*
IL-6	5,47 (3,59-8,18)	2,83 (1,76-5,90)	p ₁₋₂ = 0,001*
VEGF-A	725,7 (428,45-976,41)	233,0 (107,65-631,83)	p ₁₋₂ = 0,003*
IL-10	5,55 (3,75-15,41)	1,06 (0,65-3,78)	p ₁₋₂ = 0,001*
IL-1α	0,06 (0,02-0,10)	0,86 (0,62-2,05)	p ₁₋₂ = 0,030*
IL-1β	10,62 (4,11-32,31)	21,9 (7,50-72,50)	p ₁₋₂ = 0,024*

Примечание. * p < 0,05.

Note. * p < 0.05.

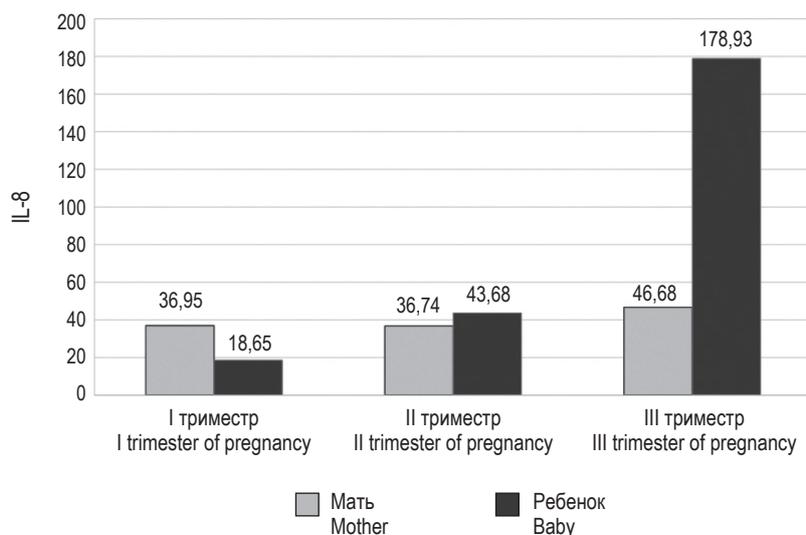


Рисунок 2. Динамика IL-8 пуповинной крови в зависимости от триместра беременности, в котором женщина перенесла COVID-19, пг/мл

Figure 2. Dynamics of IL-8 in cord blood depending on the trimester of pregnancy in which a woman had COVID-19, pg/mL

ТАБЛИЦА 4. ПОКАЗАТЕЛИ УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ В ВОЗРАСТЕ 3 МЕСЯЦЕВ ЖИЗНИ

TABLE 4. CYTOKINE LEVEL AT 3 MONTHS OF LIFE

Показатели Indicators	I группа (дети в 3 месяца от женщин с COVID-19) Group I (children at 3 months of age from women with COVID-19) n = 53	II группа (дети в 3 месяца от женщин без COVID-19) Group II (children at 3 months of age from women without COVID-19) n = 38	Уровень значимости различий (p) Level of significance of the differences (p)
	Me (Q _{0,25} -Q _{0,75})	Me (Q _{0,25} -Q _{0,75})	
IL-8	5,11 (4,92-12,95)	20,4 (15,52-59,36)	p ₁₋₂ = 0,26
TNF	0,38 (0,13-0,86)	5,99 (4,78-8,21)	p ₁₋₂ = 0,001*
IL-10	4,25 (3,87-6,99)	1,06 (0,88-3,35)	p ₁₋₂ = 0,01*

Примечание. * p < 0,05.

Note. * p < 0.05.

Заключение

Таким образом, несмотря на отсутствие клинических проявлений инфекционного процесса, и других нарушений ранней неонатальной адаптации, лабораторные изменения в общем анализе крови и активная экспрессия провоспалительных цитокинов у новорожденных, матери которых перенесли COVID-19 во время беременности, может свидетельствовать о развитии воспалительного ответа. Результатом низкоактивного воспаления может быть повышенная заболеваемость (синдром двигательных нарушений, синдром повышенной внутричерепной гипертензии, синдром вегетативных дисфункций, функциональные нарушения сердечно-со-

судистой системы, поражения суставов, оперированная пупочная грыжа и другие врожденных деформаций стопы) и повышенная частота наблюдения у узких специалистов (невролог, детский хирург, детский эндокринолог) в возрасте 3 месяцев жизни.

В возрасте 3 месяцев жизни у детей основной группы выявлено снижение уровня провоспалительных цитокинов, тогда как в группе сравнения не наблюдалось такой динамики и уровни цитокинов существенно не изменились по сравнению с неонатальным периодом, что может свидетельствовать о снижении/истощении продукции интерлейкинов на фоне сохраняющегося низкоактивного воспаления.

Список литературы / References

1. Адамян Л.В., Вечорко В.И., Коньшева О.В. Беременность и COVID-19: актуальные вопросы (обзор литературы) // Проблемы репродукции, 2021. Т. 27, № 3. С. 70-77. [Adamyan L.V., Vechorko V.I., Konysheva O.V. Pregnancy and COVID-19: current issues (literature review). *Problemy reprodukcii = Problems of Reproduction*, 2021. Vol. 27, no. 3, pp. 70-77. (In Russ.)]
2. Гашимова Н.Р., Панкратьева Л.Л., Бицадзе В.О., Хизроева Д.Х., Макацария Н.А. Внутриутробная активация иммунной системы плода в ответ на COVID-19 у матери // Акушерство, гинекология и репродукция, 2023. Т.17, № 2. С. 188-201. [Gashimova N.R., Pankratieva L.L., Bitsadze V.O., Khizroeva D.H., Makatsaria N.A. Intrauterine activation of the fetal immune system in response to COVID-19 in the mother. *Akusherstvo, ginekologiya i reprodukcija = Obstetrics, Gynecology and Reproduction*, 2023, Vol. 17, no. 2, pp. 188-201. (In Russ.)]
3. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: МедиаСфера, 2003. 312 с. [Rebrova O.Yu. Statistical analysis of medical data. Using the STATISTICA application package]. Moscow: MediaSfera, 2003. 312 p.
4. Смирнов В.С., Тотолян А.А. Врожденный иммунитет при коронавирусной инфекции // Инфекция и иммунитет, 2020. Т. 10, № 2. С. 259-268. [Smirnov V.S., Totolyan A.A. Innate immunity during coronavirus infections. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2020, Vol. 10, no. 2, pp. 259-268. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-III-1440.
5. Allotey J., Vivanti A.J., Vauloup-Fellous C., Prevot S. Clinical manifestations, risk factors, and maternal and perinatal outcomes of coronavirus disease 2019 in pregnancy: living systematic review and meta-analysis. *BMJ*, 2020, Vol. 370, m3320. doi: 10.1136/bmj.m3320.
6. Argueta L.B., Lacko L.A., Bram Y., Tada T., Carrau L., Zhang T., Uhl S., Lubor B.C., Chandar V., Gil C., Zhang W., Dodson B., Bastiaans J., Prabhu M., Salvatore C.M., Yang Y.J., Baergen R.N., Landau N.R., Chen S., Schwartz R.E., Stuhlmann H. SARS-CoV-2 Infects Syncytiotrophoblast and Activates Inflammatory Responses in the Placenta. *BioRxiv*, 2021, Vol. 25, no. 5, 40. doi: 10.1101/2021.06.01.446676.
7. Bahadur G., Bhat M., Acharya S., Janga D., Cambell B., Huirne J., Yoong W., Govind A., Pardo J., Homburg R. Retrospective observational RT-PCR analyses on 688 babies born to 843 SARS-CoV-2 positive mothers, placental analyses and diagnostic analyses limitations suggest vertical transmission is possible. *Facts Views Vis. Obgyn*, 2021, Vol. 13, no. 1, pp. 53-66.
8. Chang C., Dela Cruz L., Sharma D. Beneficial and detrimental effects of cytokines during influenza and COVID-19. *Viruses*, 2024, Vol. 16, no. 2, 308. doi: 10.3390/v16020308.
9. Cribiu F.M., Erra R., Pugni L., Rubio-Perez C., Alonso L., Simonetti S., Croci G.A., Serna G., Ronchi A., Pietrasanta C., Lunghi G., Fagnani A.M., Pinana M., Matter M., Tzankov A., Terracciano L., Anton A., Ferrazzi E., Ferrero S., Iurlaro E., Seoane J., Nuciforo P. Severe SARS-CoV-2 placenta infection can impact neonatal outcome in the absence of vertical transmission. *J. Clin. Invest.*, 2021, Vol. 131, no. 6, e145427. doi: 10.1172/JCI145427.
10. Jin J.C., Ananthanarayanan A., Brown J.A., Rager S.L., Bram Y., Sanidad K.Z., Amir M., Baergen R.N., Stuhlmann H., Schwartz R.E., Perlman J.M., Zeng M.Y. SARS CoV-2 detected in neonatal stool remote from maternal COVID-19 during pregnancy. *Pediatr. Res.*, 2022, Vol. 93, no. 5, pp. 1375-1382.
11. Mahyuddin A.P., Kanneganti A., Wong J.J.L., Dimri P.S., Su L.L., Biswas A., Illanes S.E., Mattar C.N.Z., Huang R.Y., Choolani M. Mechanisms and evidence of vertical transmission of infections in pregnancy including SARS-CoV-2s. *Prenat. Diagn.*, 2020, Vol. 40, no. 13, pp. 1655-1670.
12. Marin Gabriel M.A., Cuadrado I., Fernández B.A., Gonzalez Carrasco E., Alonso Diaz C., Llana Martin I., Sanchez L., Olivas C., de las Heras S., Criado E. Multicentre Spanish study found no incidences of viral transmission in infants born to mothers with COVID-19. *Acta Paediatr.*, 2020, Vol. 109, no. 11, pp. 2302-2308.
13. Mehta P., McAuley D.F., Brown M., Sanchez E., Tattersall R.S., Manson J.J. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet*, 2020, Vol. 395, pp. 1033-1034.
14. Moreira A.L.E., Silva P.A.N.D., Gomes R.S., Ito C.R.M., Barbosa L.C.G., Souza P.P., Peixoto F.A.O., Wastowski I.J., Carneiro L.C., Avelino M.A.G. Characterization of T helper 1 and 2 cytokine profiles in newborns of mothers with COVID-19. *Biomedicines*, 2023, Vol. 11, no. 3, 16. doi: 10.3390/biomedicines11030910.
15. Muyayalo K.P., Huang D.H., Zhao S.J. COVID-19 and Treg/Th17 imbalance: Potential relationship to pregnancy outcomes. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2020, Vol. 84, no. 5, e13304. doi: 10.1111/aji.13304.

16. Pulinx B., Kieffer D., Michiels I., Petermans S., Strybol D., Delvaux S., Baldewijns M., Raymaekers M., Cartuyvels R., Maurissen W. Vertical transmission of SARS-CoV-2 infection and preterm birth. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2020, Vol. 39, no. 12, pp. 2441-2445.
17. Shama, Mahmood A., Mehmood S., Zhang W. Pathological effects of SARS-CoV-2 associated with hematological abnormalities. *Curr. Issues Mol. Biol.*, 2023, Vol. 45, no. 9, pp. 7161-7182.
18. Vivanti A.J., Vauloup-Fellous C., Prevot S. Transplacental transmission of SARS-CoV-2 infection. *Nat. Commun.*, 2020, Vol. 11, no. 1, 3572. doi: 10.1038/s41467-020-17436-6.

Авторы:

Чистякова Г.Н. — д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, руководитель научного отделения микробиологии, иммунологии, патоморфологии и цитодиагностики ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Бычкова С.В. — к.м.н., руководитель отделения физиологии и патологии новорожденных и детей раннего возраста ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Ремизова И.И. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунологии и клинической микробиологии ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Ягубова Г.Х. — врач-неонатолог ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Authors:

Chistyakova G.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Research Department of Immunology, Microbiology, Pathomorphology and Cytodiagnostics, Ural Research Institute for Maternal and Child Care, Yekaterinburg, Russian Federation

Bychkova S.V., PhD (Medicine), Head, Department of Physiology and Pathology of Newborns and Young Children, Ural Research Institute for Maternal and Child Care, Yekaterinburg, Russian Federation

Remizova I.I., PhD (Biology), Senior Research Associate, Department of Immunology, Microbiology of Pathomorphology and Cytodiagnostics, Ural Research Institute for Maternal and Child Care, Yekaterinburg, Russian Federation

Yagubova G.Kh., Neonatologist, Ural Research Institute for Maternal and Child Care, Yekaterinburg, Russian Federation

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОЙ ВАКЦИНАЦИИ ОТ ГРИППА И COVID-19: АСПЕКТЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ

Ли Ю.А.¹, Дмитраченко М.Н.¹, Маркелова Е.В.¹, Костинов М.П.^{2,3},
Королев И.Б.¹, Ковальчук В.К.¹, Ямилова О.Ю.¹, Немцева И.Ю.¹

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

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва,
Россия

³ ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова»
(Сеченовский университет), Москва, Россия

Резюме. Анализ динамики цитокинов на фоне вакцинации представляет важный аспект в оценке эффективности вакцинопрофилактики и персонализации подхода к сочетанной вакцинации. Цель – изучить воздействие вакцинации от гриппа и COVID-19 на врожденный иммунитет у молодых пациентов путем оценки динамики цитокинового профиля.

Исследуемая группа – 76 юношей 19 лет. В сыворотках венозной крови проводились исследования цитокинов методом иммуоферментного анализа. Первый забор крови – до вакцинации от гриппа, второй забор – через 1 месяц после вакцинации от гриппа и до вакцинации от COVID-19, третий – через 1 месяц после вакцинации от COVID-19 и 2 месяца после вакцинации от гриппа. Обработка результатов производилась при помощи программ Statistica-10 и SPSS v. 20. Наблюдение за вакцинированными осуществлялось в течение 6 месяцев после вакцинации.

Уровни IL-8, IL-17 до вакцинации были выше нормы у 100% испытуемых; IL-6 – выше нормы у 76%, а IL-1 β , IL-4 и IL-10 были ниже нормы более чем у 50% обследованных. После вакцинации от гриппа наблюдалось значительное снижение уровней цитокинов: IL-1 β – ниже нормы у 89%, IL-4 – ниже нормы у 100%, IL-6 – ниже нормы у 79%, IL-8 – ниже нормы у 74%, IL-10 – ниже нормы у 89%, IFN γ – ниже нормы у 63%, TNF α – ниже нормы у 76% и лишь IL-17 был в норме у 72% обследованных. После вакцинации от COVID-19 и гриппа продолжилось более стремительное снижение уровней цитокинов: IL-1 β – ниже исходных значений у 95%, IL-6, IL-8, IFN γ и TNF α – ниже исходных

Адрес для переписки:

Ли Юлия Александровна
ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
690011, Россия, г. Владивосток,
ул. Можайская, 22, кв. 121.
Тел.: 8 (914) 976-59-36.
E-mail: julianochka160188@gmail.com

Address for correspondence:

Yulia A. Li
Pacific State Medical University
22 Mozhaiskaya St, Apt 121
Vladivostok
690011 Russian Federation
Phone: +7 (914) 976-59-36.
E-mail: julianochka160188@gmail.com

Образец цитирования:

Ю.А. Ли, М.Н. Дмитраченко, Е.В. Маркелова,
М.П. Костинов, И.Б. Королев, В.К. Ковальчук,
О.Ю. Ямилова, И.Ю. Немцева «Динамика показателей
врожденного иммунитета при последовательной
вакцинации от гриппа и COVID-19: аспекты
эффективности» // Российский иммунологический
журнал, 2025. Т. 28, № 1. С. 83-90.
doi: 10.46235/1028-7221-16990-SVA

© Ли Ю.А. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

Yu.A. Li, M.N. Dmitrachenko, E.V. Markelova,
M.P. Kostinov, I.B. Korolev, V.K. Kovalchuk, O.Yu. Yamilova,
I.Yu. Nemtseva “Sequential vaccination against influenza and
COVID-19, and innate immunity indexes: efficiency aspects”,
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 1, pp. 83-90.
doi: 10.46235/1028-7221-16990-SVA

© Li Yu.A. et al., 2025

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16990-SVA

значений у 100%, IL-10 – ниже исходных значений у 90% участников исследования, отмечалась нормализация противовоспалительного цитокина – IL-4. Несмотря на существенное снижение показателей, были зарегистрированы множественные сильные разнонаправленные корреляционные связи между цитокинами, особенно значимыми стали – IL-1 β , IL-6, IL-8. В ходе наблюдения, в течение 6 месяцев после вакцинации было зафиксировано 2 случая COVID-19, подтвержденных методом ПЦР, что составило – 2,6%. Случаев заболеваний гриппом зарегистрировано не было.

До начала исследования наблюдался благоприятный цитокиновый фон для эффективной вакцинации. После вакцинации от COVID-19 и гриппа зарегистрировано снижение уровня про- и противовоспалительных цитокинов, при этом определены сильные корреляционные взаимосвязи, что свидетельствует об усилении напряженности иммунной системы в ответ на вакцинацию. На всех ключевых этапах вакцинации лидирующие позиции занимали IL-1 β , IL-6, IL-8.

Ключевые слова: вакцинация, последовательная вакцинация, цитокиновый профиль, врожденный иммунитет, грипп, COVID-19

SEQUENTIAL VACCINATION AGAINST INFLUENZA AND COVID-19, AND INNATE IMMUNITY INDEXES: EFFICIENCY ASPECTS

Li Yu.A.^a, Dmitrachenko M.N.^a, Markelova E.V.^a, Kostinov M.P.^{b, c},
Korolev I.B.^a, Kovalchuk V.K.^a, Yamilova O.Yu.^a, Nemtseva I.Yu.^a

^a Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

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

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

Abstract. Evaluation of cytokine dynamics during vaccination is an important aspect in assessing the vaccine preventive efficiency and personalized approach to combined vaccination. Our aim was to study the impact of influenza and COVID-19 vaccination on innate immunity in young patients by assessing the time-related changes of cytokine profile.

The study group included 76 young adults of 19 years old. The cytokine contents were studied in venous blood sera by enzyme immunoassay. The first series of blood samples was taken before influenza vaccination; the second sampling was performed 1 month after influenza vaccination and before COVID-19 vaccination; the third series was carried out 1 month after COVID-19 vaccination and 2 months after influenza vaccination. The results were processed by Statistica-10 and SPSS v. 20 software. The vaccinated persons were monitored for 6 months after vaccination.

IL-8, IL-17 levels before vaccination were above normal in 100% of subjects; IL-6, in 76% of cases. IL-1 β , IL-4 and IL-10 levels were under normal levels in more than 50% of cases. After influenza vaccination, a significant decrease in cytokine levels was observed: IL-1 β content was below normal values in 89%; IL-4, in 100% of cases, as well as IL-6 (in 79%), IL-8 (in 74%), IL-10 (in 89%), IFN γ (in 63%), TNF α (in 76%), and only IL-17 was within normal ranges in 72% of cases. After vaccination against COVID-19 and influenza, a more rapid decrease in cytokine levels was observed: IL-1 β was below baseline values in 95%, IL-6, IL-8, IFN γ and TNF α were reduced in 100%; IL-10, in 90% of cases, along with normalization of anti-inflammatory IL-4 cytokine. Despite a significant decrease of the indexes, we revealed multiple strong multidirectional correlations between the cytokine contents, being especially significant between IL-1 β , IL-6, and IL-8. During 6-mo observation after vaccination, two cases of COVID-19 (2.6%) were documented and confirmed by PCR test. No influenza cases have been detected over this period.

At the beginning of the study, a favorable cytokine background for effective vaccination was observed. After vaccination against COVID-19 and influenza, a decrease of the pro- and anti-inflammatory cytokine levels was recorded, and strong correlations were found, thus suggesting an increase in the immune response following vaccination. The changes of IL-1 β , IL-6, IL-8 were most remarkable at all stages of vaccination,

Keywords: vaccination, sequential vaccination, cytokine profile, innate immunity, influenza, COVID-19

Введение

В современном мире тема эффективности вакцинопрофилактики относится к числу наиболее актуальных [9]. Наибольшую важность этот вопрос приобретает, когда речь идет о вакцинопрофилактике, как о массовом мероприятии, особенно в случае с гриппом и COVID-19 [2, 3]. Всемирная организация здравоохранения в отчете по гриппу за 2022 г. рекомендовала странам подготовиться к совместной циркуляции вирусов гриппа и SARS-CoV-2, усилить комплексный эпидемиологический надзор для одновременного мониторинга гриппа и COVID-19, а также активизировать прививочную кампанию по вакцинации от гриппа для предотвращения тяжелых заболеваний и госпитализаций. Эти рекомендации были разработаны в связи с тем, что получены данные о снижении числа летальных случаев от сочетанной инфекции (грипп + COVID-19) на фоне вакцинации от гриппа [10]. Также имеются публикации о положительном влиянии предшествующей вакцинации от гриппа на заболеваемость и тяжесть течения коронавирусной инфекции у разных категорий пациентов [5]. В связи с этим рассматривается вопрос об одновременной вакцинации против гриппа и COVID-19 [1]. В настоящее время выполняется последовательная вакцинация от гриппа и COVID-19 в различных декретированных группах (военнослужащие, медицинский персонал и др.). Тем не менее три года пандемии COVID-19, появление и циркуляция новых штаммов коронавируса, постепенное исчезновение прослойки населения, никогда «не встречавшихся» с COVID-19, ставят новые актуальные вопросы для исследования. Показатели врожденного иммунитета играют важную роль в оценке индивидуальной эффективности вакцинации и формировании иммунного ответа [7]. Анализ динамики ключевых для патогенеза COVID-19 и гриппа цитокинов на фоне вакцинации позволит охарактеризовать особенности иммунной регуляции данного процесса, разработать рейтинг значимости критериев эффективности вакцинации, персонализировать подход к сочетанной вакцинации.

Цель исследования – изучить воздействие вакцинации от гриппа и COVID-19 на врожденный иммунитет у молодых пациентов путем оценки динамики цитокинового профиля.

Материалы и методы

Группа испытуемых

Настоящее исследование основано на анализе результатов комплексного клинико-лабораторного обследования 76 студентов высшего образовательного учреждения закрытого типа.

Возраст участников исследования 19 лет (100%). Наблюдение за вакцинированным контингентом осуществлялось в течение 6 месяцев после вакцинации.

Материал для исследования

Для проведения лабораторных анализов материалом исследования служила сыворотка/плазма крови. Забор венозной крови для определения уровня цитокинов (в объеме 9 мл) проводился стерильным шприцем из локтевой вены путем венепункции в утренние часы натощак с последующим центрифугированием и отделением сыворотки. Всего за период наблюдения для целей исследования от испытуемых собиралось 27 мл крови. Забор материала проводился трехкратно: до вакцинации от гриппа; через 1 мес. после вакцинации от гриппа и до вакцинации от COVID-19; через 1 мес. после вакцинации от COVID-19. Пробам каждого испытуемого присваивался индивидуальный номер, который заносился в журнал лабораторных исследований, там же фиксировалась дата забора материала. Материал хранился замороженным в пробирках с герметичными крышками типа «Эппендорф» в морозильной камере (-76 °C) в лаборатории.

Вакцины

Для вакцинации от гриппа использовалась инактивированная субъединичная вакцина «Совигрипп». Производитель АО НПО «Микроген», Россия. Для вакцинации от COVID-19 использовалась биотехнологическая вакцина «Спутник Лайт» с рекомбинантным аденовирусным вектором. Производитель НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Россия.

Иммунологические исследования. В сыворотке крови испытуемых определяли уровни цитокинов (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IFN γ , TNF α) с использованием тест – систем ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск), сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа [8], согласно прилагаемой инструкции. Учет результатов проводили с помощью автоматического иммуноферментного анализатора Multiscan (Китай). Расчет количественных параметров проводили путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы. Концентрацию цитокинов выражали в пикограммах на миллилитр (пг/мл). Сравнение результатов до вакцинации происходило с референсными значениями, взятыми из литературных источников [4]. Показатели после вакцинации от гриппа и COVID-19 сравнивались с показателями включенных в исследование до вакцинации, т. к. данная группа состоит из здоровых молодых людей одного возраста.

Статистическая обработка результатов. Статистическая обработка полученных результатов

проведена в операционных системах Windows 10 с использованием пакета прикладных программ Statistica-10 и SPSS v. 20. Нормальность распределения совокупностей количественных данных оценивалась по критерию Колмогорова–Смирнова. Количественные данные представлены в виде $Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$ – медианы и интерквартильного размаха (25-й и 75-й перцентили), качественные – в виде абсолютных и относительных частот ($n (%)$). Корреляционный анализ признаков выполнялся с использованием непараметрического метода Спирмена (коэффициент корреляции – r_s). Для определения статистической значимости при сравнении двух попарно не связанных между собой вариационных рядов при ненормальном распределении количественных признаков использовался непараметрический U-критерия Манна–Уитни. Уровень доверительной вероятности был задан равным 95%. Таким образом, нулевые гипотезы отвергались в том случае, когда достигнутый уровень значимости (p) используемого статистического критерия принимал значения менее 5% [6].

Результаты и обсуждение

Исходные данные

В результате проведенного исследования было выявлено, что исходно уровни IL-8 и IL-17 были выше нормы (29,9 (19,51-32,14) и 7,33 (6,82-8,58) пг/мл соответственно), а IFN γ – ниже нормы (0,7 (0,4-0,9) пг/мл) в 100% случаев ($n = 76$). IL-4 (1,02 (0,75-1,28) пг/мл) – ниже нормы у 86% ($n = 65$) – IL-1 β (5,6 (3,1-14,2) пг/мл) – ниже нормы у 82% ($n = 62$); IL-10 (4,47 (1,84-14,75) пг/мл)

у 50% ($n = 38$) – ниже нормы, у 25% ($n = 19$) – норма и у 25% ($n = 19$) – выше нормы; TNF α (3,9 (2,2-6,4) пг/мл) находился в норме у 92% ($n = 70$) включенных в исследование, а у 8% ($n = 6$) – ниже нормы; IL-6 (27,8 (7,1-59,9) пг/мл) у 76% ($n = 58$) – выше нормы, у 19% ($n = 19$) – в пределах нормы, 5% ($n = 4$) – ниже нормы (табл. 1).

При корреляционном анализе исходных уровней цитокинов было выявлено, что между IL-1 β и IL-10 прослеживается значимая обратная корреляционная взаимосвязь ($r_s = -0,54$), а также значимые прямые корреляции между IL-1 β и IL-6 ($r_s = 0,8$), IL-6 и TNF α ($r_s = 0,85$), TNF α и IL-8 ($r_s = 0,85$).

Через 1 мес. после вакцинации от гриппа и перед вакцинацией от COVID-19

Через 1 месяц после вакцинации от гриппа наблюдалось снижение уровней всех цитокинов. Уровень IL-4 (0,82 (0,34-1,12) пг/мл) был ниже нормы у всех обследуемых ($n = 76$ (100%)); IL-1 β (2 (1,1-3,9) пг/мл) и IL-10 (5,21 (2,56-10,83) пг/мл) – ниже нормы у 89% ($n = 68$); IL-6 (2,4 (1-14,8) пг/мл) – ниже нормы у 79% ($n = 60$); TNF α (1,2 (0,4-4,7) пг/мл) – ниже нормы у 76% ($n = 58$); IL-8 (16,45 (3,2-120,7) пг/мл) – ниже нормы у 74% ($n = 56$); IFN γ (0,6 (0,4-1,1) пг/мл) – ниже нормы у 63% ($n = 48$), и только значения IL-17 (7,19 (6,81-8,55) пг/мл) нормализовались у 72% ($n = 55$) обследуемых (табл. 1, 2).

При оценке корреляционной взаимосвязи между цитокинами через 1 месяц после вакцинации от гриппа между провоспалительными цитокинами определялись множественные сильные корреляционные взаимосвязи, а именно: между TNF α и IL-8 ($r_s = 0,87$), IL-6 и IL-8 ($r_s = 0,74$).

ТАБЛИЦА 1. КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ УРОВНЕЙ ЦИТОКИНОВ (пг/мл), $Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$

TABLE 1. QUANTITATIVE INDICATORS OF CYTOKINE LEVELS (pg/mL), $Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$

	До вакцинации Before vaccination	После вакцинации от гриппа After flu vaccination	После вакцинации от COVID-19 и гриппа After COVID-19 and influenza vaccination
IL-1 β	5,6 (3,1-14,2)	2 (1,1-3,9)*	1,6 (1,4-2,2)***
IL-4	1,02 (0,75-1,28)	0,82 (0,34-1,12)	0,84 (0,59-1,12)
IL-6	27,8 (7,1-59,9)	2,4 (1,0-14,8)**	1,2 (0,6-1,7)***
IL-8	29,9 (19,51-32,14)	16,45 (3,2-120,7)*	10,1 (3,8-28,9)***
IL-10	4,47 (1,84-14,75)	5,21 (2,56-10,83)*	5,84 (1,00-9,99)
IL-17	7,33 (6,82-8,58)	7,19 (6,81-8,55)	7,1 (5,82-8,32)
IFN γ	0,7 (0,4-0,9)	0,6 (0,4-1,1)	0,6 (0,3-0,8)
TNF α	3,9 (2,2-6,4)	1,2 (0,4-4,7)*	0,6 (0,3-1,9)

Примечание. Степень достоверности различий показателей между группами: * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$ – до и после вакцинации от гриппа; *** – $p \leq 0,05$ – до и после вакцинации от COVID-19.

Note. The degree of reliability of the differences in indicators between the groups: *, $p \leq 0.05$; **, $p \leq 0.01$, before and after influenza vaccination; ***, $p \leq 0.05$, before and after vaccination against COVID-19.

ТАБЛИЦА 2. ДИНАМИКА ЦИТОКИНОВ ПОСЛЕ ВАКЦИНАЦИЙ

TABLE 2. CYTOKINES DYNAMICS AFTER VACCINATIONS

Показатели (пг/мл) Indicators (pg/mL)	После вакцинации от гриппа After flu vaccination			После вакцинации от COVID-19 и гриппа After COVID-19 and influenza vaccination			После вакцинации от COVID-19 и гриппа (Сравнение с исходными значениями до вакцинаций) After COVID-19 and influenza vaccination (Comparison with baseline values before vaccinations)		
	↑	Исх. знач. Ex. value	↓	↑	Исх. знач. Ex. value	↓	↑	Исх. знач. Ex. value	↓
IL-1 β	5%	5%	89%	10%	80%	10%	0%	5%	95%
IL-4	0%	0%	100%	25%	75%	0%	8%	5%	87%
IL-6	21%	0%	79%	0%	51%	49%	0%	0%	100%
IL-8	26%	0%	74%	10%	82%	8%	0%	0%	100%
IL-10	11%	0%	89%	25%	33%	42%	4%	5%	90%
IL-17	8%	72%	20%	7%	70%	23%	8%	70%	22%
IFN γ	32%	5%	63%	27%	44%	29%	0%	0%	100%
TNF α	17%	7%	76%	0%	65%	35%	0%	0%	100%

Примечание. ↑ – выше исходных значений; Исх. знач – исходные значения; ↓ – ниже исходных значений.

Note. ↑, above the initial values; Ex. value, initial values; ↓, below the initial values.

Через 1 мес. после вакцинации от COVID-19

При анализе динамики уровня цитокинов через 1 месяц после вакцинации от COVID-19 (и 2 месяца после вакцинации от гриппа) наблюдалась нормализация уровней большинства показателей: IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, TNF α , а при сравнении их с уровнями до вакцинации – также прослеживалась дальнейшая тенденция к снижению уровней всех цитокинов, за исключением IL-4, который в ряде случаев либо повышался, либо нормализовался (табл. 2). Показатели уровней IL-6 (1,2 (0,6-1,7) пг/мл), IL-8 (10,1 (3,8-28,9) пг/мл), IFN γ (0,6 (0,3-0,8) пг/мл) и TNF α (0,6 (0,3-1,9) пг/мл) находились ниже нормы у всех обследуемых; IL-1 β (1,6 (1,4-2,2) пг/мл) – ниже нормы у 95% (n = 72); IL-10 (5,84 (1-9,99) пг/мл) – ниже нормы у 91% (n = 69); IL-4 (0,84 (0,59-1,12) пг/мл) – ниже нормы у 87% (n = 66) (табл. 1, 2). Через 1 месяц после вакцинации от COVID-19 (и через 2 месяца после вакцинации от гриппа) IL-1 β , IL-6, IL-8 и TNF α также значимо коррелировали между собой.

Важно отметить, что наше исследование стартовало в сентябре месяце, когда студенты возвращаются к учебе после относительно длительного перерыва – после каникул. Несмотря на то, что группа испытуемых была практически однородной – молодые, здоровые парни одного возраста, в исходных показателях в 100% случаев отмечалось значительное повышение уровней IL-8 и

IL-17 по сравнению с нормами, которые обычно используются в клинической практике [4]. Данный факт, вероятнее всего, связан с явлением «проэпидемичивания» лиц в закрытых коллективах.

В целом при оценке динамики показателей уровней цитокинов отмечалось снижение количественного содержания всех цитокинов уже после вакцинации от гриппа. После вакцинации от COVID-19 были установлены незначительные увеличения IL-4 и IL-10; остальные же показатели, провоспалительные цитокины: IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IFN γ , TNF α – достоверно снижались (табл. 1, 2).

На всех этапах исследования выявлялись различной степени силы прямые и обратные корреляционные связи между всеми цитокинами, как про-, так и противовоспалительными ($r_s \geq \pm 0,5$). Несомненно, это свидетельствует о напряженности иммунитета в ответ на последовательную вакцинацию. Эффективность же такого взаимодействия про- и противовоспалительного иммунитета оценить достаточно сложно, так как существуют противоречивые данные о влиянии вакцин при последовательном их применении [11]. Исходя из этого, также был рассчитан коэффициент соотношения про- и противовоспалительных цитокинов (К). Числитель в данном коэффициенте – это сумма провоспалительных, а в знаменателе – сумма противовоспалительных

цитокинов («К» = $(IL-1\beta + IL-6 + IL-8 + TNF\alpha + IFN\gamma) / (IL-4 + IL-10)$).

Таким образом, после вакцинации от гриппа среднее значение коэффициента воспаления увеличилось в 6 раз (с 10,00 (5,17-44,44) до 59,21 (6,98-101,16) соответственно). После вакцинации от COVID-19 наоборот определялось значительное снижение коэффициента воспаления – в 11,4 раза по сравнению с поствакцинальным периодом после вакцинации от гриппа (59,21 (6,98-101,16) и 5,18 (1,02-11,11) соответственно), и в 2 раза – по сравнению с исходным значением до вакцинаций (10,00 (5,17-44,44) и 5,18 (1,02-11,11) соответственно).

В ходе наблюдения за исследуемой группой в течение 6 мес. после вакцинации от гриппа и COVID-19 было зафиксировано всего 4 случая острой респираторной вирусной инфекции (ОРВИ), что составило – 5,3% и 2 случая COVID-19, подтвержденных методом ПЦР, что составило – 2,6%. Заболевания новой коронавирусной инфекцией проходили в легкой форме, без осложнений. Случаев заболеваний гриппом зарегистрировано не было.

Исходя из полученных данных, можно предположить, что вакцинация оказалась эффективной, т. к. на передний план вышли провоспалительные биологически активные вещества. Таким образом, в ходе анализа уровней цитокинов до и после вакцинации было выявлено, что на достижение клинической эффективности вакцинации, возможно, в той или иной степени достоверно влияли исходные уровни IL-1 β и IL-10,

а также уровни IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-17 и TNF α после вакцинации.

Заключение

Исходно наблюдался потенциально благоприятный цитокиновый фон для эффективной вакцинации: значение коэффициента соотношения про- и противовоспалительных цитокинов «К», значимая прямая корреляционная связь между IL-1 β и IL-10, клиническая эффективность (отсутствие эпизодов заболеваемости COVID-19 и гриппа в течение 6 мес. после вакцинации). После вакцинации от гриппа и COVID-19 также отмечались сильные корреляционные связи между IL-1 β , IL-6, IL-8 и TNF α – провоспалительные биологически активные вещества, отвечающие за координацию клеточно-опосредованного иммунного ответа и оказывающие решающую роль в модуляции иммунной системы. После проведенной вакцинации от гриппа и COVID-19 уровни про- и противовоспалительных цитокинов достоверно снижались, тем не менее сохранялись разнонаправленные, достоверные корреляционные связи между цитокинами, что свидетельствует об усилении напряженности иммунной системы в ответ на вакцинацию.

Тем не менее многие вопросы остаются открытыми и требуется дальнейшее изучение взаимосвязей иммунных показателей, в том числе показателей оценки специфического иммунного ответа и индивидуальных особенностей исследуемого контингента.

Список литературы / References

1. Заплатников А.Л., Бурцева Е.И., Гирина А.А., Свинцицкая В.И., Леписева И.В. Активная специфическая иммунопрофилактика гриппа в условиях пандемии COVID-19 и начало вакцинации против коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2 // Педиатрия. Приложение к журналу Consilium Medicum, 2020. № 4. С. 12-16. [Zaplatnikov A.L., Burtseva E.I., Girina A.A., Svintsitskaya V.I., Lepiseva I.V. Active specific immunoprevention of influenza during the COVID-19 pandemic and the start of vaccination against coronavirus infection caused by the SARS-CoV-2 virus. *Pediatriya. Prilozhenie k zhurnalu Consilium Medicum = Pediatrics. Supplement to the Journal Consilium Medicum*, 2020, no. 4, pp. 12-16. (In Russ.)]
2. Костинов М.П., Свитич О.А., Маркелова Е.В. Потенциальная иммунопрофилактика COVID-19 у групп высокого риска инфицирования. Временное пособие для врачей. М.: Группа МДВ, 2020. 64 с. [Kostinov M.P., Svitich O.A., Markelova E.V. Potential immunoprophylaxis of COVID-19 in groups at high risk of infection. *Temporary allowance for doctors*. Moscow: MDV Group, 2020, 64 p.
3. Костинов М.П., Хромова Е.А., Костинова А.М. Может ли вакцинация против гриппа быть неспецифической профилактикой SARS-COV-2 и других респираторных инфекций? // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение, 2020. Т. 9, № 3. С. 36-40. [Kostinov M.P., Khromova E.A., Kostinova A.M. Can influenza vaccination be a nonspecific prevention of SARS-COV-2 and other respiratory infections? *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obucheniye = Infectious Diseases: News, Opinions, Training*, 2020, Vol. 9, no. 3, pp. 36-40. (In Russ.)]
4. Крылова Н.В., Леонова Г.Н., Павленко Е.В. Особенности цитокинового профиля на ранних стадиях инфицирования вирусом клещевого энцефалита у вакцинированных и невакцинированных людей // Тихоокеанский медицинский журнал, 2012. № 4. С. 78-81. [Krylova N.V., Leonova G.N., Pavlenko E.V. Features of the cytokine profile in the early stages of infection with tick-borne encephalitis virus in vaccinated and unvaccinated people. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2012, no. 4, pp. 78-81. (In Russ.)]
5. Лазарева И.А., Орлова С.Н., Дудник О.В. Влияние вакцинации против гриппа на заболеваемость, смертность и тяжесть течения новой коронавирусной инфекции // Вестник ИвГМА, 2022. Т. 27, № 1.

C. 47-50. [Lazareva I.A., Orlova S.N., Dudnik O.V. Influence vaccination on mortality, mortality and severity of new coronavirus infection. *Vestnik IvGMA = Bulletin of IvSMA*, 2022, Vol. 27, no. 1, pp. 47-50. (In Russ.)]

6. Мамаев А.Н. Основы медицинской статистики. М.: Практическая медицина, 2011. 121 с. [Mamaev A.N. Fundamentals of medical statistics]. Moscow: Prakticheskaya meditsina, 2011, 121 p.

7. Садыков В.Ф., Полтавцева Р.А., Чаплыгина А.В., Бобкова Н.В. Иммунный статус и спектр цитокинов как прогностические признаки риска тяжелого течения заболевания и эффективности интенсивной терапии пациентов с коронавирусной инфекцией COVID-19 // Анализ риска здоровью, 2022. № 4. С. 148-158. [Sadykov V.F., Poltavtseva R.A., Chaplygina A.V., Bobkova N.V. Immune status and spectrum of cytokines as prognostic signs of the risk of severe disease and the effectiveness of intensive care in patients with coronavirus infection COVID-19. *Analiz riska zdorov'yu = Health Risk Analysis*, 2022, no. 4, pp. 148-158. (In Russ.)]

8. Хаитов Р.М. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 352 с. [Khaitov R.M. Manual of Clinical Immunology. Diagnosis of immune system diseases]. Moscow: GEOTAR-Media, 2009. 352 p.

9. Хасанова Г.Р., Малинина Л.А., Ильина О.А. Эффективность вакцинации от COVID-19: результаты исследования «случай-контроль» // Медицинский альманах, 2023. Т. 76, № 3. С. 55-62. [Khasanova G.R., Malinina L.A., Ilyina O.A. Effectiveness of vaccination against COVID-19: results of a case-control study. *Meditsinskiy almanakh = Medical Almanac*, 2023, Vol. 76, no. 3, pp. 55-62. (In Russ.)]

10. Achdout H., Vitner E.B., Politi B., Melamed S., Yahalom-Ronen Y., Tamir H., Erez N., Avraham R., Weiss S., Cherry L., Bar-Haim E., Makdasi E., Gur D., Aftalion M., Chitlaru T., Vagima Y., Paran N., Israely T. Increased lethality in influenza and SARS-CoV-2 coinfection is prevented by influenza immunity but not SARS-CoV-2 immunity. *Nat. Commun.*, 2021, Vol. 12, 5819. doi: 10.1038/s41467-021-26113-1.

11. Lu D., Han Y., Xu R., Qin M., Shi J., Zhang C., Zhang J., Ye F., Luo Z., Wang Y., Wang C., Wang C. Evaluation of the efficacy, safety and influencing factors of concomitant and sequential administration of viral respiratory infectious disease vaccines: a systematic review and meta-analysis. *Front. Immunol.*, 2023, Vol. 14, 1259399. doi: 10.3389/fimmu.2023.1259399.

Авторы:

Ли Ю.А. — к.м.н., врач-инфекционист, майор медицинской службы, преподаватель военного-учебного центра ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Дмитраченко М.Н. — студентка лечебного факультета ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

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

Костинов М.П. — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заведующий лабораторией вакцинопрофилактики и иммунотерапии аллергических заболеваний ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»; заведующий кафедрой эпидемиологии и современных технологий вакцинации ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» (Сеченовский университет), Москва, Россия

Authors:

Li Yu.A., PhD (Medicine), Clinical Infectiologist, Major of Medical Service, Lecturer, Military Training Center, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Dmitrachenko M.N., Student, Medical Faculty, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

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

Kostinov M.P., PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Vaccination and Immunotherapy of Allergic Diseases, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera; Head, Department of Epidemiology and Modern Technologies of Vaccination, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Королев И.Б. — к.м.н., полковник медицинской службы, начальник военного-учебного центра ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

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

Ямилова О.Ю. — к.м.н., доцент института профилактической медицины ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Немцева И.Ю. — студентка лечебного факультета ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Korolev I.B., PhD (Medicine), Colonel of Medical Service, Head, Military Training Center at the Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

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

Yamilova O.Yu., PhD (Medicine), Associate Professor, Institute of Preventive Medicine, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Nemtseva I.Yu., Student, Medical Faculty, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Поступила 15.05.2024
Принята к печати 31.07.2024

Received 15.05.2024
Accepted 31.07.2024

ОСОБЕННОСТИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ЛИЦ С ПОСТКОВИДНЫМ СИНДРОМОМ, С ОТЯГОЩЕННЫМ АЛЛЕРГОАНАМНЕЗОМ

Верховская М.Д.

ФБУН «Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций “Вирум”» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Екатеринбург, Россия

Резюме. С декабря 2019 года по март 2020 года человечество столкнулось с новой коронавирусной инфекцией COVID-19, вызванной вирусом SARS-CoV-2, пандемия которой привела к глобальной заболеваемости и высокой смертности во всем мире. Несмотря на то, что с течением времени характерные особенности коронавирусной инфекции стали больше напоминать сезонную инфекцию, учеными было доказано, что после перенесенного заболевания начали выявляться многочисленные ухудшения, как в области общего состояния здоровья пациентов, так и в случаях осложнения уже имеющихся хронических заболеваний, в том числе ухудшение по аллергическому синдрому. После выявления данных фактов одним из крайне важных аспектов продолжающихся исследований COVID-19 стало изучение постковидного синдрома (post-COVID syndrome).

В последние десятилетия было засвидетельствовано, что количество людей, страдающих различными видами аллергических реакций, растет с каждым годом, поэтому изучение аллергопатологии в структуре post-COVID синдрома является одним из наиболее актуальных вопросов современности. Помимо изучения случаев усугубления аллергических реакций были досконально изучены и проанализированы данные о том, что побочные реакции, обусловленные перенесенной коронавирусной инфекцией, проявляются с новых сторон, характеризуясь нарушениями в работе систем приобретенного и врожденного иммунитета, вызывая все более тяжелые последствия для иммунной системы и организма в целом. В настоящее время особенности гуморального иммунного ответа при постковидном синдроме изучены недостаточно. Ввиду этого, в данном исследовании были изучены особенности гуморального иммунитета у пациентов с постковидным синдромом, с клинически подтвержденным аллергоанамнезом.

В ходе исследования были выявлены изменения в системе гуморального иммунитета, свидетельствующие о том, что наиболее значимые изменения наблюдаются у постковидных пациентов с отя-

Адрес для переписки:

*Верховская Мария Дмитриевна
ФБУН «Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций “Вирум”»
620030, Россия, г. Екатеринбург, ул. Летняя, 23.
Тел.: 8 (912) 511-69-43.
E-mail: maria.verh1@mail.ru*

Address for correspondence:

*Maria D. Verkhovskaya
Research Institute of Viral Infections “Virom”
23 Letnyaya St
Yekaterinburg
620030 Russian Federation
Phone: +7 (912) 511-69-43.
E-mail: maria.verh1@mail.ru*

Образец цитирования:

*М.Д. Верховская «Особенности гуморального иммунитета у лиц с постковидным синдромом, с отягощенным аллергоанамнезом» // Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 1. С. 91-102.
doi: 10.46235/1028-7221-16972-FOH*

© Верховская М.Д., 2025

*Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0*

For citation:

*M.D. Verkhovskaya “Features of humoral immunity in persons with post-COVID syndrome burdened by history of allergy”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskiy Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 1, pp. 91-102.
doi: 10.46235/1028-7221-16972-FOH*

© Verkhovskaya M.D., 2025

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16972-FOH

гощенным аллергоанамнезом, что в свою очередь требует более детального исследования иммунного статуса для формирования индивидуального подхода к иммунокоррекции этих нарушений у данной группы пациентов.

Ключевые слова: вирус SARS-CoV-2, COVID-19, постковидный синдром, аллергический синдром, гуморальный иммунитет, система комплемента, общие иммуноглобулины A, общие иммуноглобулины M, общие иммуноглобулины G

FEATURES OF HUMORAL IMMUNITY IN PERSONS WITH POST-COVID SYNDROME BURDENED BY HISTORY OF ALLERGY

Verkhovskaya M.D.

Research Institute of Viral Infections "Virom", Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. From December 2019 to March 2020, the human population faced a new coronavirus pandemic, COVID-19, caused by SARS-CoV-2, which led to global morbidity and high mortality worldwide. Typical features of coronavirus infection tended to resemble a seasonal infection over time. Despite this fact, it has been proven that, after acute disease, numerous disorders are detected in the patients, manifesting both with general health disturbances and as complications of pre-existing chronic diseases, including allergic syndrome. On the basis of these findings, the study of post-COVID syndrome became an important aspect of the ongoing COVID-19 research. It has been shown over recent decades that the number of people suffering from various types of allergic reactions is growing every year. Therefore, the studies in allergic pathology in the structure of post-COVID syndrome are among the most pressing issues. In addition to studying exacerbations of allergic reactions, a thorough analysis has shown that adverse reactions caused by coronavirus infection are viewed from new aspects, being characterized by functional disorders of acquired and innate immune response, causing increasingly severe consequences for the immune system and the whole body. Currently, the features of humoral immune response in post-COVID syndrome have not been sufficiently studied. In this respect, we have evaluated the features of humoral immunity in patients with post-COVID syndrome, with clinically confirmed allergic anamnesis. The study revealed changes in humoral immune system, indicating that the most significant changes are observed in post-COVID patients with a burdened history of allergies, thus requiring a more detailed study of immune status in order to develop an individualized approach to immunocorrection of these disorders in this group of patients.

Keywords: SARS-CoV-2 virus, COVID-19, post-COVID syndrome, allergy, humoral immunity, complement system, immunoglobulins A, immunoglobulins M, immunoglobulins G

Работа выполнена по теме гос. заданий НИИ-ВИ «ВИРОМ» «Изучение механизмов формирования хронической вирусной инфекции у пациентов с постковидным синдромом и нарушением функций иммунной системы. Разработка патогенетических подходов к эффективной профилактике и иммунокоррекции выявленных нарушений у пациентов с «постковидным синдромом» № гос. регистрации 124031800093-5.

Введение

С декабря 2019 года по март 2020 года человечество столкнулось с новой коронавирусной инфекцией COVID-19, вызванной вирусом SARS-CoV-2, пандемия которой привела к глобальной заболеваемости и высокой смертности во всем мире [3, 13, 18]. Несмотря на то, что с течением времени характерные особенности коронавирусной инфекции стали больше напоминать

сезонную инфекцию, учеными было доказано, что после перенесенного заболевания начали выявляться многочисленные ухудшения как в области общего состояния здоровья пациентов, так и в случаях осложнения уже имеющихся хронических заболеваний, в том числе ухудшение по аллергическому синдрому [1, 2, 6, 10]. После выявления данных фактов одним из крайне важных аспектов продолжающихся исследований COVID-19 стало изучение постковидного синдрома (post-COVID syndrome) [6].

В последние десятилетия было засвидетельствовано, что количество людей, страдающих различными видами аллергических реакций, растет с каждым годом, поэтому изучение аллергопатологии в структуре post-COVID синдрома является одним из наиболее актуальных вопросов современности. Помимо изучения случаев усугубления аллергических реакций, были досконально изучены и проанализированы данные о том, что побочные реакции, обусловленные перенесенной коронавирусной инфекцией, проявляются с новых сторон, характеризуясь нарушениями в работе систем приобретенного и врожденного иммунитета, вызывая все более тяжелые последствия для иммунной системы и организма в целом [2, 10, 11]. В настоящее время особенности гуморального иммунного ответа при постковидном синдроме изучены недостаточно. Ввиду этого, в данном исследовании были изучены особенности гуморального иммунитета у пациентов с постковидным синдромом, с клинически подтвержденным аллергоанамнезом.

Материалы и методы

Было обследовано 56 пациентов из числа не болевших COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза, не болевших COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом, переболевших COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза и переболевших COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом. Критерием включения в группы исследований были: подтвержденный диагноз «SARS-CoV-2-инфекции» методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), наличие IgA, IgM, IgG к вирусу SARS-CoV-2-инфекции, наличие аллергоанамнеза, подтвержденного данными истории болезни (система БАРС).

Исследование проводилось не менее чем через 6 месяцев после перенесенной SARS-CoV-2-инфекции.

Определение групп сравнения проводилось по наличию зависимости Увыч. у болевших и не болевших COVID-19 пациентов с отягощенным и неотягощенным аллергоанамнезом от уровня IgA, IgM, IgG, а также по наличию зависимости Увыч. у болевших и не болевших COVID-19 пациентов с отягощенным и неотягощенным аллергоанамнезом от уровня С1-ингибитора, С3а-фрагмента комплемента, С5а-фрагмента комплемента.

Первым этапом работы был расчет рангов по критерию Манна–Уитни, согласно уровню общих иммуноглобулинов А, М, G (IgA, IgM, IgG) в группах пациентов, болевших и не болевших COVID-19, с отягощенным и неотягощенным аллергоанамнезом (табл. 1). Таким образом, было сформировано 4 группы сравнения:

1. Контрольная группа 1 (К1) – пациенты, не болевшие COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза, n = 16.

2. Контрольная группа 2 (К2) – пациенты, не болевшие COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом, n = 12.

3. Группа исследования 1 (Г1) – пациенты, переболевшие COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза, n = 16.

4. Группа исследования 2 (Г2) – пациенты, переболевшие COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом, n = 12.

На втором этапе работы был проведен расчет различий уровней общих IgA, IgM, IgG у пациентов с отягощенным и неотягощенным аллергоанамнезом, болевших и неболевших COVID-19 при уровне достоверности $p < 0,01$ (табл. 2) и расчет различий уровней общих IgA, IgM, IgG у пациентов с отягощенным и неотягощенным аллергоанамнезом, болевших и неболевших COVID-19 при уровне достоверности $p < 0,05$ (табл. 3). Таким образом, было сформировано 4 группы сравнения:

1. Контрольная группа 1 (К1) – пациенты, не болевшие COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза, n = 16.

2. Контрольная группа 2 (К2) – пациенты, не болевшие COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом, n = 12.

3. Группа исследования 1 (Г1) – пациенты, переболевшие COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза, n = 16.

4. Группа исследования 2 (Г2) – пациенты, переболевшие COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом, n = 12.

ТАБЛИЦА 1. СРАВНЕНИЕ РАНГОВ ПО КРИТЕРИЮ МАННА-УИТНИ, СОГЛАСНО УРОВНЮ ОБЩИХ IgA, IgM, IgG В ГРУППАХ ПАЦИЕНТОВ С ОТЯЖОЩЕННЫМ И НЕОТЯЖОЩЕННЫМ АЛЛЕРГОАНАМНЕЗОМ, БОЛЕВШИХ И НЕ БОЛЕВШИХ COVID-19

TABLE 1. COMPARISON OF RANKS ACCORDING TO THE MANN-WHITNEY CRITERION, ACCORDING TO THE LEVEL OF TOTAL IgA, IgM, IgG IN GROUPS OF PATIENTS WITH A BURDENED AND UNBURDENED ALLERGIC ANAMNESIS, WHO HAD AND DID NOT HAVE COVID-19

	Уровень общего IgA The level of total IgA		Уровень общего IgM The level of total IgM		Уровень общего IgG The level of total IgG	
	Ранг К1 The rank of the C1	Ранг К2 The rank of the C2	Ранг К1 The rank of the C1	Ранг К2 The rank of the C2	Ранг К1 The rank of the C1	Ранг К2 The rank of the C2
Контроль 1 (n = 16) против Контроль 2 (n = 12) Control 1 (n = 16) versus the Control 2 (n = 12)	237,5	168,5	238	168	224	182
	Ранг К1 The rank of the C1	Ранг Г1 The rank of the G1	Ранг К1 The rank of the C1	Ранг Г1 The rank of the G1	Ранг К1 The rank of the C1	Ранг Г1 The rank of the G1
Контроль 1 (n = 16) против Группы исследования 1 (n = 16) Control 1 (n = 16) versus the Study Group 1 (n = 16)	332	196	308	220	267	261
	Ранг К1 The rank of the C1	Ранг Г2 The rank of the G2	Ранг К1 The rank of the C1	Ранг Г2 The rank of the G2	Ранг К1 The rank of the C1	Ранг Г2 The rank of the G2
Контроль 1 (n = 16) против Группы исследования 2 (n = 12) Control 1 (n = 16) versus the Study Group 2 (n = 12)	285,5	120,5	224,5	181,5	217	189
	Ранг К2 The rank of the C2	Ранг Г1 The rank of the G1	Ранг К2 The rank of the C2	Ранг Г1 The rank of the G1	Ранг К2 The rank of the C2	Ранг Г1 The rank of the G1
Контроль 2 (n = 12) против Группы исследования 1 (n = 16) Control 2 (n = 12) versus the Study Group 1 (n = 16)	204,5	201,5	198	208	187	219
	Ранг К2 The rank of the C2	Ранг Г2 The rank of the G2	Ранг К2 The rank of the C2	Ранг Г2 The rank of the G2	Ранг К2 The rank of the C2	Ранг Г2 The rank of the G2
Контроль 2 (n = 12) против Группы исследования 2 (n = 12) Control 2 (n = 12) versus the Study Group 2 (n = 12)	175	125	145	155	152	148
	Ранг Г1 The rank of the G1	Ранг Г2 The rank of the G2	Ранг Г1 The rank of the G1	Ранг Г2 The rank of the G2	Ранг Г1 The rank of the G1	Ранг Г2 The rank of the G2
Группа исследования 1 (n = 16) против Группы исследования 2 (n = 12) Study Group 1 (n = 16) versus the Study Group 2 (n = 12)	235	171	201	205	222	184
	Ранг К1 The rank of the C1	Ранг Г2 The rank of the G2	Ранг К1 The rank of the C1	Ранг Г2 The rank of the G2	Ранг К1 The rank of the C1	Ранг Г2 The rank of the G2

Примечание. Контрольная группа 1 (К1) – пациенты без отягощенного аллергоанамнеза, не болевшие COVID-19; контрольная группа 2 (К2) – пациенты с отягощенным аллергоанамнезом, не болевшие COVID-19; группа исследования 1 (Г1) – пациенты без отягощенного аллергоанамнеза, переболевшие COVID-19; группа исследования 2 (Г2) – пациенты с отягощенным аллергоанамнезом, переболевшие COVID-19.

Note. Control group 1 (C1), patients without a burdened allergic anamnesis, who were not ill with COVID-19; control group 2 (C2), patients with a burdened allergic anamnesis, who were not ill with COVID-19; study group 1 (G1), patients without a burdened allergic anamnesis, who were ill with COVID-19; study group 2 (G2), patients with a complicated allergic anamnesis who have been ill with COVID-19.

ТАБЛИЦА 2. РАЗЛИЧИЕ УРОВНЯ ОБЩИХ IgA, IgM, IgG У ПАЦИЕНТОВ С ОТЯГОЩЕННЫМ И НЕОТЯГОЩЕННЫМ АЛЛЕРГОАНАМНЕЗОМ, БОЛЕВШИХ И НЕ БОЛЕВШИХ COVID-19 ПРИ ДОСТОВЕРНОСТИ РАЗЛИЧИЙ $p < 0,01$

TABLE 2. THE DIFFERENCE IN THE LEVEL OF TOTAL IgA, IgM, IgG IN PATIENTS WITH A BURDENED AND UNBURDENED ALLERGIC ANAMNESIS, WHO HAD AND DID NOT HAVE COVID-19 WITH A SIGNIFICANT DIFFERENCE OF $p < 0.01$

Показатель Indicator	Группа 1 К1 Group 1 C1 n = 16	Группа 2 К2 Group 2 C2 n = 12	Группа 3 Г1 Group 3 G1 n = 16	Группа 4 Г2 Group 4 G2 n = 16	p
Уровень общего IgA, г/л Total IgA level, g/L	2,55±0,50	3,86±1,87	1,52±0,21	1,48±0,17	$p < 0,01_{1-3}$ $p < 0,01_{1-4}$
Уровень общего IgM, г/л Total IgM level, g/L	1,15±0,26	1,32±0,56	0,90±0,34	1,42±0,56	
Уровень общего IgG, г/л Total IgG level, g/L	12,73±1,69	16,80±4,94	13,23±2,58	13,40±2,32	

Примечание. К1 – контрольная группа 1; К2 – контрольная группа 2; Г1 – группа исследования 1; Г2 – группа исследования 2; p – достоверность различий ($p < 0,01$).

Note. C1, control group 1; C2, control group 2; G1, study group 1; G2, study group 2; p, the significance of the differences ($p < 0.01$).

ТАБЛИЦА 3. РАЗЛИЧИЕ УРОВНЯ ОБЩИХ IgA, IgM, IgG У ПАЦИЕНТОВ С ОТЯГОЩЕННЫМ И НЕОТЯГОЩЕННЫМ АЛЛЕРГОАНАМНЕЗОМ, БОЛЕВШИХ И НЕ БОЛЕВШИХ COVID-19 ПРИ ДОСТОВЕРНОСТИ РАЗЛИЧИЙ $p < 0,05$

TABLE 3. THE DIFFERENCE IN THE LEVEL OF TOTAL IgA, IgM, IgG IN PATIENTS WITH A BURDENED AND UNBURDENED ALLERGIC ANAMNESIS, WHO HAD AND DID NOT HAVE COVID-19 WITH A SIGNIFICANT DIFFERENCE OF $p < 0.05$

Показатель Indicator	Группа 1 К1 Group 1 C1 n = 16	Группа 2 К2 Group 2 C2 n = 12	Группа 3 Г1 Group 3 G1 n = 16	Группа 4 Г2 Group 4 G2 n = 16	p
Уровень общего IgA, г/л Total IgA level, g/L	2,55±0,50	3,86±1,87	1,52±0,21	1,48±0,17	$p < 0,05_{1-3}$ $p < 0,05_{1-4}$
Уровень общего IgM, г/л Total IgM level, g/L	1,15±0,26	1,32±0,56	0,90±0,34	1,42±0,56	
Уровень общего IgG, г/л Total IgG level, g/L	12,73±1,69	16,80±4,94	13,23±2,58	13,40±2,32	

Примечание. К1 – контрольная группа 1; К2 – контрольная группа 2; Г1 – группа исследования 1; Г2 – группа исследования 2; p – достоверность различий ($p < 0,05$).

Note. C1, control group 1; C2, control group 2; G1, study group 1; G2, study group 2; p, the significance of the differences ($p < 0.05$).

ТАБЛИЦА 4. СРАВНЕНИЕ РАНГОВ ПО КРИТЕРИЮ МАННА-УИТНИ, СОГЛАСНО УРОВНЮ С1-ИНГИБИТОРА, С3а-ФРАГМЕНТА КОМПЛЕМЕНТА, С5а-ФРАГМЕНТА КОМПЛЕМЕНТА В ГРУППАХ ПАЦИЕНТОВ С ОТЯГОЩЕННЫМ И НЕОТЯГОЩЕННЫМ АЛЛЕРГОАНАМНЕЗОМ, БОЛЕВШИХ И НЕ БОЛЕВШИХ COVID-19

TABLE 4. COMPARISON OF RANKS ACCORDING TO THE MANN-WHITNEY CRITERION, ACCORDING TO THE LEVEL OF C1-INHIBITOR, C3a COMPLEMENT FRAGMENT, C5a COMPLEMENT FRAGMENT IN GROUPS OF PATIENTS WITH A BURDENED AND UNBURDENED ALLERGIC ANAMNESIS, WHO HAD AND DID NOT HAVE COVID-19

	Уровень С1-ингибитора The level of the C1-inhibitor		Уровень С3а-фрагмента комплемента Complement fragment level C3a		Уровень С5а-фрагмента комплемента Complement fragment level C5a	
	Ранг К1 The rank of the C1	Ранг К2 The rank of the C2	Ранг К1 The rank of the C1	Ранг К2 The rank of the C2	Ранг К1 The rank of the C1	Ранг К2 The rank of the C2
Контроль 1 (n = 16) против Контроль 2 (n = 12) Control 1 (n = 16) versus the Control 2 (n = 12)	237,5	168,5	238	168	224	182
Контроль 1 (n = 16) против Группы исследования 1 (n = 16) Control 1 (n = 16) versus the Study Group 1 (n = 16)	332	196	308	220	267	261
Контроль 1 (n = 16) против Группы исследования 2 (n = 12) Control 1 (n = 16) versus the Study Group 2 (n = 12)	285,5	120,5	224,5	181,5	217	189
Контроль 2 (n = 12) против Группы исследования 1 (n = 16) Control 2 (n = 12) versus the Study Group 1 (n = 16)	204,5	201,5	198	208	187	219
Контроль 2 (n = 12) против Группы исследования 2 (n = 12) Control 2 (n = 12) versus the Study Group 2 (n = 12)	175	125	145	155	152	148
Группа исследования 1 (n = 16) против Группы исследования 2 (n = 12) Study Group 1 (n = 16) versus the Study Group 2 (n = 12)	235	171	201	205	222	184

Примечание. Контрольная группа 1 (К1) – пациенты без отягощенного аллергоанамнеза, не болевшие COVID-19; контрольная группа 2 (К2) – пациенты с отягощенным аллергоанамнезом, не болевшие COVID-19; группа исследования 1 (Г1) – пациенты без отягощенного аллергоанамнеза, переболевшие COVID-19; группа исследования 2 (Г2) – пациенты с отягощенным аллергоанамнезом, переболевшие COVID-19.

Note. Control group 1 (C1), patients without a burdened allergic anamnesis, who were not ill with COVID-19; control group 2 (C2), patients with a burdened allergic anamnesis, who were not ill with COVID-19; study group 1 (G1), patients without a burdened allergic anamnesis, who were ill with COVID-19; study group 2 (G2), patients with a complicated allergic anamnesis who have been ill with COVID-19.

Третий этап работы заключался в подсчете рангов по критерию Манна–Уитни, согласно уровню С1-ингибитора, С3а-фрагмента комплемента, С5а-фрагмента комплемента в группах пациентов болевших и не болевших COVID-19, с отягощенным и неотягощенным аллергоанамнезом (табл. 4). Таким образом, было сформировано 4 группы сравнения:

1. Контрольная группа 1 (К1) – пациенты, не болевшие COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза, n = 16.

2. Контрольная группа 2 (К2) – пациенты, не болевшие COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом, n = 12.

3. Группа исследования 1 (Г1) – пациенты, переболевшие COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза, n = 16.

4. Группа исследования 2 (Г2) – пациенты, переболевшие COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом, n = 12.

Заключительный (четвертый) этап работы заключался в проведении расчетов различий уровней С1-ингибитора, С3а-фрагмента комплемента, С5а-фрагмента комплемента в группах пациентов с отягощенным и неотягощенным аллергоанамнезом, болевших и неболевших COVID-19 при уровне достоверности $p < 0,01$ (табл. 5) и расчетов различий уровней С1-ингибитора, С3а-фрагмента комплемента, С5а-фрагмента комплемента в группах пациентов с отягощенным и неотягощенным аллергоанамнезом, болевших и неболевших COVID-19 при уровне достоверности $p < 0,05$ (табл. 6). Таким образом, было сформировано 4 группы сравнения:

1. Контрольная группа 1 (К1) – пациенты, не болевшие COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза, n = 16.

2. Контрольная группа 2 (К2) – пациенты, не болевшие COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом, n = 12.

ТАБЛИЦА 5. РАЗЛИЧИЕ УРОВНЯ С1-ИНГИБИТОРА, С3а-ФРАГМЕНТА КОМПЛЕМЕНТА И С5а-ФРАГМЕНТА КОМПЛЕМЕНТА У ПАЦИЕНТОВ С ОТЯГОЩЕННЫМ И НЕОТЯГОЩЕННЫМ АЛЛЕРГОАНАМНЕЗОМ, БОЛЕВШИХ И НЕ БОЛЕВШИХ COVID-19, ПРИ ДОСТОВЕРНОСТИ РАЗЛИЧИЙ $p < 0,01$

TABLE 5. DIFFERENCE IN THE LEVEL OF C1-INHIBITOR, C3a COMPLEMENT FRAGMENT AND C5a COMPLEMENT FRAGMENT IN PATIENTS WITH A BURDENED AND UNENCUMBERED ALLERGIC ANAMNESIS, WHO HAD AND DID NOT HAVE COVID-19 WITH A SIGNIFICANT DIFFERENCE $p < 0.01$

Показатель Indicator	Группа 1 К1 Group 1 C1 n = 16	Группа 2 К2 Group 2 C2 n = 12	Группа 3 Г1 Group 3 G1 n = 16	Группа 4 Г2 Group 4 G2 n = 12	p
Уровень С1-ингибитора, мкг/мл C1-inhibitor level, mcg/mL	287,23±31,21	354,60±63,08	168,95±19,58	218,76±28,98	$p < 0,01^{1-3}$ $p < 0,01^{1-4}$ $p < 0,01^{2-3}$ $p < 0,01^{2-4}$
Уровень С3а-фрагмента комплемента, нг/мл Complement fragment C3a level, ng/mL	119,66±18,26	101,42±17,12	100,93±5,32	114,06±6,87	
Уровень С5а-фрагмента комплемента, нг/мл Complement fragment C5a level, ng/mL	15,13±2,73	16,51±3,89	42,20±10,92	27,44±3,83	$p < 0,01^{1-3}$ $p < 0,01^{1-4}$ $p < 0,01^{2-3}$ $p < 0,01^{2-4}$

Примечание. К1 – контрольная группа 1; К2 – контрольная группа 2; Г1 – группа исследования 1; Г2 – группа исследования 2; p – достоверность различий ($p < 0,01$).

Note. C1, control group 1; C2, control group 2; G1, study group 1; G2, study group 2; p, the significance of the differences ($p < 0.01$).

ТАБЛИЦА 6. РАЗЛИЧИЕ УРОВНЯ С1-ИНГИБИТОРА, С3а-ФРАГМЕНТА КОМПЛЕМЕНТА И С5а-ФРАГМЕНТА КОМПЛЕМЕНТА У ПАЦИЕНТОВ С ОТЯГОЩЕННЫМ И НЕОТЯГОЩЕННЫМ АЛЛЕРГОАНАМНЕЗОМ, БОЛЕВШИХ И НЕ БОЛЕВШИХ COVID-19, ПРИ ДОСТОВЕРНОСТИ РАЗЛИЧИЙ $p < 0,05$

TABLE 6. DIFFERENCE IN THE LEVEL OF C1-INHIBITOR, C3a COMPLEMENT FRAGMENT AND C5a COMPLEMENT FRAGMENT IN PATIENTS WITH A BURDENED AND UNENCUMBERED ALLERGIC ANAMNESIS, WHO HAD AND DID NOT HAVE COVID-19 WITH A SIGNIFICANT DIFFERENCE $p < 0.05$

Показатель Indicator	Группа 1 К1 Group 1 C1 n = 16	Группа 2 К2 Group 2 C2 n = 12	Группа 3 Г1 Group 3 G1 n = 16	Группа 4 Г2 Group 4 G2 n = 12	p
Уровень С1-ингибитора, мкг/мл C1-inhibitor level, mcg/mL	287,23±31,21	354,60±63,08	168,95±19,58	218,76±28,98	$p < 0,05_{1-3}$ $p < 0,05_{1-4}$ $p < 0,05_{2-3}$ $p < 0,05_{2-4}$ $p < 0,05_{3-4}$
Уровень С3а-фрагмента комплемента, нг/мл Complement fragment C3a level, ng/mL	119,66±18,26	101,42±17,12	100,93±5,32	114,06±6,87	$p < 0,05_{3-4}$
Уровень С5а-фрагмента комплемента, нг/мл Complement fragment C5a level, ng/mL	15,13±2,73	16,51±3,89	42,20±10,92	27,44±3,83	$p < 0,05_{1-3}$ $p < 0,05_{1-4}$ $p < 0,05_{2-3}$ $p < 0,05_{2-4}$

Примечание. К1 – контрольная группа 1; К2 – контрольная группа 2; Г1 – группа исследования 1; Г2 – группа исследования 2; p – достоверность различий ($p < 0,05$).

Note. C1, control group 1; C2, control group 2; G1, study group 1; G2, study group 2; p, the significance of the differences ($p < 0.05$).

3. Группа исследования 1 (Г1) – пациенты, переболевшие COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза, n = 16.

4. Группа исследования 2 (Г2) – пациенты, переболевшие COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом, n = 12.

Все исследования были одобрены Независимым локальным этическим комитетом при ГАУЗ ОТКЗ «Городская клиническая больница № 1» г. Челябинска, протокол № 8 от 11.04.2022 на базе которой проводились данные исследования.

Клинические исследования

Анкетирование пациентов с помощью анкеты иммунологического мониторинга пациентов, данные историй болезни из программы для ЭВМ «БАРС.ЗДРАВООХРАНЕНИЕ-МИС» ГАУЗ ОТКЗ «Городская клиническая больница № 1» г. Челябинска.

Иммунологические исследования

Уровни общих IgM, IgG, IgA, специфических IgM, IgG к коронавирусу COVID-19, С1-

ингибитора, С3а и С5а компонентов комплемента проводилось методом иммуноферментного на иммуноферментном анализаторе Multiscan FC Thermo Scientific (Китай) с использованием наборов реагентов АО «Вектор-Бест» (Россия).

Гематологические исследования

Общий анализ крови (исследовано 25 параметров: лейкоцитарный, эритроцитарный и тромбоцитарный ростки кроветворения), количественный и качественный состав ростков кроветворения проведен стандартизованным методом на гематологическом анализаторе Medonic M20 (Швеция).

Статистическая обработка данных

Обработка и анализ данных лабораторных исследований осуществлялись с помощью Microsoft Excel версии 16.16.27 (201012). Ввиду малого объема выборок, использованные статистические критерии были непараметрическими. Для оценки достоверности различий использовался кри-

терий Манна–Уитни (U) изменения считались значимыми при значениях $p < 0,01$ и $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Первым этапом исследования были расчет и сравнение рангов по критерию Манна–Уитни, согласно уровню общих иммуноглобулинов А, М, G (IgA, IgM, IgG) в группах пациентов, болевших и не болевших COVID-19, с отягощенным и неотягощенным аллергоанамнезом (табл. 1).

Согласно данным, полученным при расчете рангов по критерию Манна–Уитни, уровень общих IgA, М, G выше в группе Контроль 1 (пациенты, не болевшие COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза) по сравнению с остальными группами. Тогда как уровень IgA в группе Контроль 2 (пациенты, не болевшие COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом) выше по сравнению с группами Г1 (пациенты, переболевшие COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза) и Г2 (пациенты, переболевшие COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом). Уровень IgM общего в группе пациентов, переболевших COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом (Г2) выше, чем в группе пациентов, переболевших COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза (Г1), а уровень IgM общего в группе Г1 (пациенты, переболевшие COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза) больше, чем в группе пациентов, не болевших COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом (Контроль 2). Уровень IgG в группе Г1 (пациенты, переболевшие COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза) больше, чем в группе Контроль 2 (пациенты, не болевшие COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом), а тот в свою очередь больше, чем в группе пациентов, переболевших COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом (Г2) [2, 8, 9].

На втором этапе работы был проведен расчет различий уровней общих IgA, IgM, IgG у пациентов с отягощенным и неотягощенным аллергоанамнезом, болевших и неболевших COVID-19 при уровне достоверности $p < 0,01$ (табл. 2) и расчет различий уровней общих IgA, IgM, IgG у пациентов с отягощенным и неотягощенным аллергоанамнезом, болевших и неболевших COVID-19 при уровне достоверности $p < 0,05$ (табл. 3).

Таким образом, достоверные различия как при достоверности $p < 0,01$, так и при достоверности $p < 0,05$, выявлены только между группами р1 и р3 (пациенты, не болевшие COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза и пациенты,

переболевшие COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза), а также между группами р1 и р4 (пациенты, не болевшие COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза и пациенты, переболевшие COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом) по уровням IgA общего. Уровень IgA достоверно выше в группе пациентов с неотягощенным аллергоанамнезом, не болевших COVID-19, по сравнению с группами болевших COVID-19 с отягощенным и неотягощенным аллергоанамнезом, что, по данным некоторых авторов, может свидетельствовать о дефиците общего иммуноглобулина А [16, 17]. Достоверных различий в уровнях иммуноглобулинов М и G общих в группах не выявлено.

Третий этап работы заключался в подсчете рангов по критерию Манна–Уитни, согласно уровню С1-ингибитора, С3а-фрагмента комплемента, С5а-фрагмента комплемента в группах пациентов болевших и не болевших COVID-19, с отягощенным и неотягощенным аллергоанамнезом (табл. 4).

Согласно данным, полученным при расчете рангов по критерию Манна–Уитни уровень С1-ингибитора, располагается по убыванию: К1, К2, Г2, Г1. Уровень С3а-фрагмента комплемента располагается по убыванию: К1, Г2, Г1, К2. Уровень С5а-фрагмента комплемента выше всего в группе Г1, далее по убыванию: Г2, К1, К2.

На следующем этапе работы было решено проверить достоверность этих данных путем расчетов различий уровней С1-ингибитора, С3а-фрагмента комплемента, С5а-фрагмента комплемента в группах пациентов с отягощенным и неотягощенным аллергоанамнезом, болевших и неболевших COVID-19 при уровне достоверности $p < 0,01$ (табл. 5) и расчетов различий уровней С1-ингибитора, С3а-фрагмента комплемента, С5а-фрагмента комплемента в группах пациентов с отягощенным и неотягощенным аллергоанамнезом, болевших и неболевших COVID-19 при уровне достоверности $p < 0,05$ (табл. 6).

Таким образом, достоверные различия ($p < 0,01$) между уровнями С1-ингибитора и С5а-фрагмента комплемента наблюдались в следующих группах: не болевшие COVID-19 пациенты с неотягощенным аллергоанамнезом в сравнении с болевшими COVID-19 пациентами с неотягощенным аллергоанамнезом, а также болевшими COVID-19 пациентами с отягощенным аллергоанамнезом. Уровень С1-ингибитора достоверно выше в группе К1 (пациенты, не болевшие

COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза) ($p < 0,01$), чем во всех остальных группах, а уровень С1-ингибитора в группе К2 (пациенты, не болевшие COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом) выше, чем в Г2 (пациенты перенесшие COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом) и Г1 (пациенты перенесшие COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза) [4, 5, 7, 11, 14, 15]. Достоверной разницы уровня С3а-фрагмента комплемента в группах не выявлено. Уровень С5а-фрагмента комплемента достоверно выше в группе пациентов перенесших COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза (Г1), по сравнению с группами пациентов, не болевших COVID-19, без отягощенного и с отягощенным аллергоанамнезом соответственно (К1 и К2) и в группе пациентов, перенесших COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом (Г2), по сравнению с К1 и К2 (пациенты, не болевшие COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза, и пациенты, не болевшие COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом) [12].

Таким образом, достоверные различия ($p < 0,05$) между уровнями С1-ингибитора и С5а-фрагмента комплемента наблюдались в следующих группах: не болевшие COVID-19 пациенты с неотягощенным аллергоанамнезом в сравнении с болевшими COVID-19 пациентами с неотягощенным аллергоанамнезом, а также болевшими COVID-19 пациентами с отягощенным аллергоанамнезом. Уровень С1-ингибитора достоверно выше в группе пациентов, не болевших COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза (К1) ($p < 0,05$) по сравнению со всеми остальными группами, уровень С1-ингибитора в группе пациентов, не болевших COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом (К2) выше, чем в группах пациентов перенесших COVID-19, без отягощенного и с отягощенным аллергоанамнезом соответственно (Г2 и Г1), а в группе Г2 (пациенты, переболевшие COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом) выше, чем в Г1 (пациенты, переболевшие COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза). Уровень С3а-фрагмента комплемента достоверно выше в группе пациентов, переболевших COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом (Г2), чем в группе пациентов, переболевших COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза (Г1) [4, 5, 7, 11, 14, 15]. Уровень С5а-фрагмента комплемента достоверно выше в группе Г1 (пациенты, переболевшие COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза), по сравнению с группами

К1 и К2 (пациенты, не болевшие COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза, и пациенты, не болевшие COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом) и в группе пациентов, переболевших COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом (Г2), по сравнению с пациентами, не болевшими COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза, и пациентами, не болевшими COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом (К1 и К2) [12].

Выводы

1. Уровень общего IgA достоверно выше у пациентов, не болевших COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза, чем у пациентов, переболевших COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом.

2. Достоверных различий в уровнях иммуноглобулинов М и G общих в группах не выявлено.

3. Уровень С1-ингибитора достоверно выше в группе пациентов, не болевших COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза ($p < 0,01$), чем во всех остальных группах, а его уровень в группе пациентов, не болевших COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом выше, чем в группах пациентов, переболевших COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом и без отягощенного аллергоанамнеза. При увеличении уровня статистической значимости до $p < 0,05$ также возникают достоверные различия между группами пациентов, перенесших COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом и пациентами, перенесшими COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза – в группе пациентов, переболевших COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом уровень С1-ингибитора достоверно выше.

4. Уровень С3а-фрагмента комплемента, при уровне статистической значимости $p < 0,05$, достоверно выше в группе пациентов перенесших COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом, чем в группе пациентов, переболевших COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза. Между другими группами достоверных различий не выявлено.

5. Уровень С5а-фрагмента комплемента достоверно выше в группе пациентов, перенесших COVID-19, без отягощенного аллергоанамнеза, по сравнению с группами пациентов, не болевших COVID-19, без отягощенного и с отягощенным аллергоанамнезом. В группе пациентов,

перенесших COVID-19, с отягощенным аллергоанамнезом уровень C5a-фрагмента комплемента выше по сравнению с группами пациентов, не болевших COVID-19, без отягощенного и с отягощенным аллергоанамнезом.

Выявленные изменения в системе гуморального иммунитета свидетельствуют о том, что

наиболее значимые изменения наблюдаются у постковидных пациентов с отягощенным аллергоанамнезом, что в свою очередь требует более детального исследования их иммунного статуса для формирования индивидуального подхода к иммунокоррекции этих нарушений у данной группы пациентов.

Список литературы / References

1. Абдурахимов А.Х., Хегай Л.Н., Юсупова Ш.К. COVID-19 и его осложнения // *Re-health journal*, 2021. № 4 (12). С. 61-74. [Abdurakhimov A.Kh., Hegai L.N., Yusupova S.K. COVID-19 and its complications. *Re-health journal = Re-health Journal*, 2021, no. 4 (12), pp. 61-74. (In Russ.)]
2. Амвросьева Т.В., Поклонская Н.В., Бельская И.В., Богуш З.Ф., Казинец О.Н., Анисько Л.А., Рогачева Т.А., Колтунова Ю.Б. Показатели гуморального иммунитета у пациентов с COVID-19 // *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия медицинских наук*, 2020. Т. 17, № 4. С. 437-443. [Amvrosyeva T.V., Poklonskaya N.V., Belskaya I.V., Bogush Z.F., Kazinets O.N., Anisko L.A., Rogacheva T.A., Koltunova Yu.B. Indicators of humoral immunity in patients with COVID-19. *Izvestiya Natsionalnoy akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. A Series of Medical Sciences*, 2020, Vol. 17, no. 4, pp. 437-443 (In Russ.)]
3. Временные методические рекомендации профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (covid-19) версия 18 (26.10.2023). [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/064/610/original/BMP_COVID-19_V18.pdf. [Temporary guidelines for prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (covid-19) version 18 (10.26.2023). [Electronic resource]. Access mode: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/064/610/original/BMP_COVID-19_V18.pdf.]
4. Добрынина М.А., Ибрагимов Р.В., Крицкий И.С., Верховская М.Д., Мосунов А.А., Сарапульцев Г.П., Зурочка А.В., Зурочка В.А., Сарапульцев А.П., Комелькова М.В., Рябова Л.В., Праскурничий Е.А. Постковидный синдром иммунопатологии. Характеристика фенотипических изменений иммунной системы у постковидных пациентов // *Медицинская иммунология*, 2023, Т. 25, № 4, стр. 791-796. [Dobrynina M.A., Ibragimov R.V., Kritsky I.S., Verkhovskaya M.D., Mosunov A.A., Sarapultsev G.P., Zurochka A.V., Zurochka V.A., Sarapultsev A.P., Komelkova M.V., Ryabova L.V., Praskurnichy E.A. Postcovid syndrome of immunopathology. Characteristics of phenotypic changes in the immune system in postcovid patients. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2023, Vol. 25, no. 4, pp. 791-796. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-PCI-2707.
5. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Комелькова М.В., Ло Ш., Зурочка В.А., Ху Д., Рябова Л.В., Сарапульцев А.П. Исследование экспрессии CD45⁺ и CD46⁺ на субпопуляциях лимфоцитов периферической крови постковидных пациентов // *Российский иммунологический журнал*, 2022. Т. 25, № 4. С. 431-436. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Komelkova M.V., Lo Sh., Zurochka V.A., Hu D., Ryabova L.V., Sarapultsev A.P. Investigation of CD45⁺ and CD46⁺ expression on peripheral blood lymphocyte subpopulations of postcovid patients. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2022, Vol. 25, no. 4, pp. 431-436. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-1160-SOC.
6. Канорский С.Г. Постковидный синдром: распространенность и патогенез органических поражений, направления коррекции. Систематический обзор // *Кубанский научный медицинский вестник*, 2021. Т. 28, № 6. С. 90-116. [Kanorsky S.G. Postcovid syndrome: prevalence and pathogenesis of organ lesions, directions of correction. Systematic review. *Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik = Kuban Scientific Medical Bulletin*, 2021, Vol. 28, no. 6, pp. 90-116. (In Russ.)]
7. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. Т. II / Под ред. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 808 с. [Clinical laboratory diagnostics: national guidelines: in 2 vols. Vol. II / edited by V.V. Dolgov, V.V. Menshikov]. Moscow: GEOTAR-Media, 2012. 808 p.
8. Крюкова Н.О., Хасанова А.А., Баранова И.А., Костинов М.П., Свитич О.А., Чучалин А.Г. Гуморальный иммунный ответ слизистых дыхательных путей у медицинских работников в постковидном периоде // *Российский иммунологический журнал*, 2023. Т. 26, № 4. С. 633-640. [Kryukova N.O., Khasanova A.A., Baranova I.A., Kostinov M.P., Svitich O.A., Chuchalin A.G. Humoral immune response of the mucous membranes of the respiratory tract in medical workers in the postcovid period. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2023. Vol. 26, no. 4. pp. 633-640. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-13921-MHI.

9. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Лукичева Л.А., Никитина Л.И., Лялина Л.В., Смирнова В.С., Кольцов Н.С., Ермакова М.В., Кубашев А.К., Кузнецова В.В., Денисова Т.В., Гурина Н.В., Зиборова И.В., Грязова И.В., Панькова Н.А., Коношкин П.И., Михеева Н.И., Шарова А.А., Тотолян А.А. Гуморальный иммунитет к SARS-CoV-2 у населения Мурманской области на фоне заболеваемости COVID-19 // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2021. Т. 13, № 1. С. 17-27. [Popova A.Yu., Yezhova E.B., Melnikova A.A., Lukicheva L.A., Nikitina L.I., Lyalina L.V., Smirnova V.S., Koltsov N.S., Ermakova M.V., Kubashev A.K., Kuznetsova V.V., Denisova T.V., Gurina N.V., Ziborov I.V., Gryazova I.V., Pankova N.A., Konoshkin P.I., Mikheeva N.I., Sharova A.A., Totolyan A.A. Humoral immunity to SARS-CoV-2 in the population of the Murmansk region against the background of the incidence of COVID-19. *VICH-infektsiya i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppression*, 2021, Vol. 13, no. 1, pp. 17-27. (In Russ.)]
10. Пуляк А.В., Куньявская М.И., Синкевич Е.В. Аллергические реакции после COVID-19 // Международный студенческий научный вестник, 2021. № 6. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://eduherald.ru/ru/article/view?id=20751>. [Pulyak A.V., Kunyavskaya M.I., Senkevich E.V. Allergic reactions after COVID-19. *Mezhdunarodnyu studencheskiy nauchnyy vestnik = International Student Scientific Bulletin*, 2021, no. 6. [Electronic resource]. Access mode: <https://eduherald.ru/ru/article/view?id=20751>. (In Russ.)]
11. Хаитов Р.М. Иммунология: учебник. 4-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021. 520 с. [Khaitov R.M. Immunology: textbook. 4th ed., reprint. and additional]. Moscow: GEOTAR-Media, 2021. 520 p.
12. Carvelli J., Demaria O., Vély F., Batista L., Benmansour N.-C., Fares J., Carpentier S., Thibult M.-L., Morel A., Remark R., André P., Represa A., Piperoglou C., Explore COVID-19 IPH group, Explore COVID-19 Marseille Immunopole group, Cordier P.-Y., le Dault E., Guervilly C., Simeone P., Gainnier M., Morel Y, Ebbo M., Schleinitz N., Vivier E. Association of COVID-19 inflammation with activation of the C5a-C5aR1 axis. *Nature*, 2020, Vol. 588, no. 7836, pp. 146-150.
13. COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU) // John Hopkins Coronavirus Resource Center. Available at: <https://coronavirus.jhu.edu/>.
14. Dobrynina M.A., Ibragimov R.V., Kritsky I.S., Verkhovskaya M.D., Mosunov A.A., Sarapultsev G.P., Zurochka A.V., Zurochka V.A., Sarapultsev A.P., Komelkova M.V., Ryabova L.V., Praskurnichiy E.A. Post-COVID immunopathology syndrome: characteristics of phenotypical changes in the immune system in post-COVID patients. *Medical Immunology (Russia)*, 2023, Vol. 25, 4, pp. 791-796. doi: 10.15789/1563-0625-PCI-2707.
15. Sacks S.H. Complement fragments C3a and C5a: the salt and pepper of the immune response. *Eur. J. Immunol.*, 2010, Vol. 40, no. 3, pp. 668-670.
16. Vosughimotlagh A., Rasouli S.E., Rafiemanesh H., Safarirad M., Sharifinejad N., Madanipour A., Marluce Dos Santos Vilela M., Heropolitańska-Pliszka E., Azizi G. Clinical manifestation for immunoglobulin A deficiency: a systematic review and meta-analysis. *Allergy Asthma Clin. Immunol.*, 2023, Vol. 19, 75. doi: 10.1186/s13223-023-00826-y.
17. Wang C.J., Cheng S.L., Kuo S.H. Asthma and COVID-19 Associations: Focus on IgE-related immune pathology. *Life (Basel)*, 2022, Vol. 12, no. 2, 153. doi: 10.3390/life12020153.
18. WHO Coronavirus (COVID-19) dashboard. COVID-19 deaths (dashboard) // World Health Organization. Available at: <https://www.who.int/>.

Автор:

Верховская М.Д. – стажер лаборатории трансмиссивных вирусных инфекций ФБУН «Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций «Виром»» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Екатеринбург, Россия

Author:

Verkhovskaya M.D., Intern, Laboratory of Transmissible Viral Diseases, Research Institute of Viral Infections «Virom», Yekaterinburg, Russian Federation

Поступила 11.05.2024
Принята к печати 31.07.2024

Received 11.05.2024
Accepted 31.07.2024

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ VEGF И TGF- β В СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ КАК ПРЕДИКТОР РЕАКЦИИ ОТТОРЖЕНИЯ ТРАНСПЛАНТАТА РОГОВИЦЫ

Быстров А.М., Кузнецов А.А.

ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», г. Челябинск, Россия

Резюме. Реакция отторжения трансплантата является наиболее распространенной причиной неудачной пересадки роговицы. Несмотря на то, что роговица является иммунопривилегированным органом, отторжение трансплантата роговицы до сих пор является актуальной проблемой. Одну из ключевых ролей в запуске реакции отторжения трансплантата роговицы занимает васкуляризация. В зависимости от состояния ложа реципиента можно выделить кератопластику «высокого риска» и «низкого риска» отторжения. В первом случае механизмы иммунной привилегии и толерантности нарушены. В случае кератопластики «низкого риска» трансплантация происходит в бессосудистое и невоспаленное ложе, что прогностически является более благоприятным вариантом. Целью исследования явилась оценка уровней фактора роста эндотелия сосудов и трансформирующего фактора роста β в слезной жидкости пациентов до и после сквозной кератопластики.

В исследовании приняли участие 42 пациента (42 глаза): 28 женщин (61,54%) и 14 мужчин (38,46%) в возрасте от 31 до 65 лет, средний возраст составил $53,1 \pm 4,38$ года. Пациенты были разделены на группы «высокого риска» и «низкого риска» в зависимости от анамнестической и объективной клинической картины. Уровни цитокинов в слезной жидкости определяли при помощи мультиплексного анализа на иммуноанализаторе LumineX Magpix 100 (США) с использованием тест-системы для мультиплексного анализа Bio-Rad (США) в динамике до хирургического лечения, через 1 и 6 месяцев послеоперационного периода.

В ходе исследования показана повышенная концентрация фактора роста эндотелия сосудов и, напротив, снижение концентрации трансформирующего фактора роста β у пациентов группы «высокого риска». Обратная картина, сравнимая с показателями здоровых лиц контрольной группы, наблюдалась у пациентов из группы «низкого риска», где определялись низкие фоновые концентрации фактора роста эндотелия сосудов и высокие уровни трансформирующего фактора роста β , в целом свидетельствующие о сохранности механизмов иммунной толерантности внутренних сред глаза, соблюдении баланса неоваскуляризации и, как следствие, низком риске отторжения трансплантата.

Адрес для переписки:

Быстров Алексей Михайлович
ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница»
454048, Россия, г. Челябинск, ул. Воровского, 70.
Тел.: 8 (919) 327-51-78.
E-mail: highvision@bk.ru

Address for correspondence:

Aleksey M. Bystrov
Chelyabinsk Regional Clinical Hospital
70 Vorovsky St
Chelyabinsk
454048 Russian Federation
Phone: +7 (919) 327-51-78.
E-mail: highvision@bk.ru

Образец цитирования:

А.М. Быстров, А.А. Кузнецов «Динамика показателей VEGF и TGF- β в слезной жидкости как предиктор реакции отторжения трансплантата роговицы» // Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 1. С. 103-108.
doi: 10.46235/1028-7221-16977-DOV

© Быстров А.М., Кузнецов А.А., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.M. Bystrov, A.A. Kuznetsov "Dynamics of VEGF and TGF- β indices in lacrimal fluid as a predictor of corneal transplant rejection", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 1, pp. 103-108.
doi: 10.46235/1028-7221-16977-DOV

© Bystrov A.M., Kuznetsov A.A., 2025

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16977-DOV

Риски отторжения трансплантата роговицы возрастают по мере снижения концентрации иммуносупрессивных факторов, таких как трансформирующий фактор роста, и, напротив, повышаются при изменении уровней вазоформных цитокинов, способствующих неоваскуляризации роговицы.

Ключевые слова: кератопластика, иммуносупрессивная интраокулярная среда, TGF- β , фактор роста эндотелия

DYNAMICS OF VEGF AND TGF- β INDICES IN LACRIMAL FLUID AS A PREDICTOR OF CORNEAL TRANSPLANT REJECTION

Bystrov A.M., Kuznetsov A.A.

Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. Graft rejection is the most common cause of corneal transplant failure. Despite the fact that the cornea is an immunoprivileged organ, corneal transplant rejection is still a pressing problem. Vascularization plays one of the key roles in triggering corneal transplant rejection. Depending on the condition of the recipient's tissue bed, keratoplasty may be classified into "high-risk" and "low-risk" rejection. In the first case, the mechanisms of immune privilege and tolerance are disturbed. In the case of "low-risk" keratoplasty, transplantation occurs at avascular and non-inflamed bed, which is a more favorable prognostic option. The aim of our study was to evaluate the levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and transforming growth factor β (TGF- β) in the tear fluid of patients before and after penetrating keratoplasty.

42 patients (84 eyes) participated in the study, including 28 women (61.54%) and 14 men (38.46%) aged from 31 to 65 years, the average age was 53.1 ± 4.38 years. Patients were divided into "high-risk" and "low-risk" groups depending on their medical history and objective clinical pattern. The levels of cytokines in the tear fluid were determined using a multiplex analysis on a Luminex Magpix 100 immunoanalyzer (USA) using a Bio-Rad multiplex analysis test system (USA) over time before surgical treatment and after 1 and 6 months of the postoperative period.

The study showed an increased concentration of vascular endothelial growth factor and, conversely, a decrease in the concentration of transforming growth factor β in patients at high risk. The opposite picture, if compared to the indices of healthy controls, was observed in patients from the "low-risk" group, where low background concentrations of vascular endothelial growth factor and high levels of transforming growth factor β were determined. This finding suggests preservation of immune tolerance at the internal media of the eye, maintaining a balance of neovascularization, thus being associated with low risk of graft rejection.

The risks of more frequent corneal transplant rejection as the concentration of immunosuppressive factors (e.g., TGF) decreases, and, *vice versa*, the risks increase with changing levels of vasoform cytokines that promote corneal neovascularization.

Keywords: keratoplasty, intraocular environment, immunosuppressive, TGF- β , endothelial growth factor

Введение

С момента проведения первой трансплантации роговицы человеку Эдуардом Зирмом в 1905 году сквозная кератопластика является наиболее распространенной формой пересадки твердых тканей. В 2023 году в США было выполнено около 70 000 трансплантаций роговицы с использованием консервированной ткани (Eye Bank Association of America / U.S. Government Information on Organ Donation and Transplantation).

Несмотря на то, что роговица считается иммунопривилегированной тканью, трансплантация всегда сопряжена с риском отторжения из-за несоответствия антигенного репертуара донора и реципиента. Однако пересадка роговицы, в отличие от трансплантации других органов, более успешна, что обусловлено в первую очередь ее иммунными преимуществами [5].

Выделяют следующие основные механизмы, ответственные за иммунную привилегию ро-

говицы: механизм лимфангиогенной и гемангиогенной привилегии, феномен иммунного отклонения (ACAID) и внутриглазное иммуносупрессивное микроокружение [7]. Механизм лимфангиогенной и гемангиогенной привилегии основан на отсутствии кровеносных и лимфатических сосудов в роговице, что с одной стороны делает роговицу оптически прозрачной, а с другой — защищенной от собственной иммунной системы. В норме кровеносные сосуды образуют петлистую сеть, окружающую роговицу и расположенную на 1–5 мм за пределами лимба, в то время как лимб имеет естественные барьеры, к которым относятся мембрана Боумана и стромальные коллагены I и V типов, не позволяющие лимбальным сосудам прорасти в прилежащую роговицу. Последние являются ингибиторами стромальных проангиогенных факторов, регулирующих сосудистую инвазию стромы роговицы. Немаловажную роль в барьерной функции играют и пероциты [7, 14]. Кроме того, гуморальные факторы, присутствующие в роговице и водянистой влаге, включают целый каскад ангиостатических инструментов. В частности, эпителий роговицы секретирует тромбоспондин-1 (TSP-1), растворимый FLT-1 (sFLT-1), рецептор VEGF3 (VEGFR-3), фактор пигментного эпителия (PEDF), эндостатин и лиганд, индуцирующий апоптоз, связанный с семейством TNF. Водянистая влага содержит несколько факторов, включая трансформирующий фактор- β 2 (TGF- β 2), α -меланоцитстимулирующий гормон (α -MSH) и вазоинтестинальный пептид (VIP) [7, 10]. Лимб роговицы содержит меланоциты, экспрессирующие тирозиназу — медьсодержащую монофенольную монооксигеназу, ингибирующую ферментативные реакции, дефицит которой индуцирует лимфатический рост в лимбе роговицы [5, 14]. TSP-1 является негативным регулятором ангиогенеза роговицы и действует путем связывания с TGF- β и взаимодействия с эндотелиальными клетками сосудов, вызывая апоптоз [3]. sFLT-1 обычно обнаруживается в роговице, и любой его дефицит может привести к VEGF-A-зависимому росту сосудов лимба [1]. VEGFR-3 действует как рецептор-ловушка для ангиогенного фактора роста VEGF-C [4]. PEDF ингибирует ангиогенез роговицы, индуцированный основным фактором роста фибробластов. TRAIL ингибирует как лимфангиогенез, так и ангиогенез [2, 5, 7].

Вышеописанный комплекс анатомических, клеточных и гуморальных механизмов позволяет выделить кератопластику группы «низкого риска» отторжения, так как пересадка аллотран-

сплантата роговицы в данном случае происходит в бессосудистое ложе реципиента и послеоперационный прогноз достаточно благоприятный. Выживаемость трансплантата в таких условиях составляет около 90% через 1 год и 55% через 15 лет [12]. Феномен иммунного отклонения, связанный с передней камерой глаза, является одним из ключевых иммуносупрессивных Fas-опосредованных механизмов [8]. Защиту трансплантата в регионарных лимфатических узлах глаза обеспечивают IL-10, трансформирующий фактор роста (TGF- β), и T-регуляторные (Treg) клетки, экспрессирующие FoxP3 [6].

Целью исследования явилось определение концентрации фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и трансформирующего фактора роста- β (TGF- β) в слезной жидкости в динамике послеоперационного периода сквозной кератопластики у пациентов групп «высокого риска» и «низкого риска».

Материалы и методы

Проведено проспективное нерандомизированное исследование биоматериала собранного у 42 пациентов с патологией роговицы, которым на базе отделения офтальмологии ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница» проводилось выполнение сквозной кератопластики. Среди пациентов было 28 женщин (61,54%) и 14 мужчин (38,46%) в возрасте от 31 до 65 лет, средний возраст составил $53,1 \pm 4,4$ года. Отбор пациентов для исследования осуществляли методом сплошной выборки согласно критериям включения: любая патология роговицы, требующая проведения сквозной кератопластики. Хирургический компонент лечения заключался в проведении сквозной аллотрансплантации донорской консервированной в среде Борзенка–Мороз роговицы. Начиная с 1-го дня послеоперационного периода всем пациентам проводилась стандартная антибактериальная и локальная противовоспалительная терапия стероидными гормонами. Пациенты основной группы до начала оперативного лечения были разделены на 2 подгруппы: 2а, включающую пациентов «низкого риска», т. е. имеющих аваскулярное ложе в исходе эктазии роговицы, буллезной кератопатии, являющейся вторичной эндотелиально-эпителиальной дистрофией, возникшей после проведения хирургических операций на переднем отделе глаза, или генетически детерминированной дистрофией Фукса — всего 16 пациентов (16 глаз); вторую подгруппу 2б составили пациенты «высокого риска», имеющие признаки васкуляризации ложа в ис-

ходе кератитов вирусной этиологии (рис. 1А, см. 2-ю стр. обложки), посттравматических рубцовых помутнений роговицы, язв роговицы, а также случаи рекератоластики – 15 пациентов (15 глаз).

Контрольная (3) группа включала 10 человек (10 глаз), в ходе осмотра у которых не было выявлено глазных заболеваний. Иммунологическое исследование в слезной жидкости пациентов концентрации фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и трансформирующего фактора роста-β (TGF-β) проводилось до начала хирургического лечения и в динамике послеоперационного периода через 1 и 6 месяцев. Иммунологическое исследование выполнено методом мультиплексного анализа на иммуноанализаторе Luminex Magpix 100 (США) с использованием тест-системы Bio-Rad (США). От пациентов были получено письменное информированное согласие о цели забора биологического материала.

Статистическая обработка результатов осуществлялась с применением методов непараметрической статистики, выполнена с помощью Windows XP и пакета прикладных программ Statistica v.10.0 for Windows. Статистически значи-

мыми считались различия при $p \leq 0,05$. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха – Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$).

Результаты и обсуждение

Референсные значения изучаемых факторов роста VEGF и TGF-β, детектируемые в слезной жидкости здоровых глаз, составили, соответственно, 86,7 (68,3-92,5 пг/мл) и 42,3 (38,4-54,1 пг/мл), продемонстрировав наличие иммуносупрессивной интраокулярной среды, способствующей подавлению активации иммунных клеток мукозо-ассоциированной ткани региона глаза.

Исследования содержания изучаемых факторов в динамике послеоперационного периода после сквозной кератоластики представлены в таблице 1.

Концентрация вазоформного цитокина VEGF и иммуносупрессивного трансформирующего фактора роста-β в слезной жидкости пациентов «низкого риска» до оперативного лечения и в динамике через 1 и 6 месяцев наблюдения не имела значимых различий с показателями группы здо-

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ VEGF И TGF-β В СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ В ДИНАМИКЕ ПОСЛЕ КЕРАТОПЛАСТИКИ, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

TABLE 1. CONTENT OF VEGF AND TGF-β IN LACRIMAL FLUID IN DYNAMICS AFTER KERATOPLASTY, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Биологически активные вещества, пг/мл Biologically active substances, pg/mL	Подгруппа 2а «низкий риск», n = 16 глаз Subgroup 2a "low risk", n = 16 eyes	Подгруппа 2б «высокий риск», n = 15 глаз Subgroup 2b "high risk", n = 15 eyes
До кератоластики Before keratoplasty		
VEGF	85,1 (79,2-91,4)	95,2 (88,6-102,3)
TGF-β	41,3 (38,8-46,7)	21,2 (19,4-26,1)*, **
Через 1 месяц после кератоластики 1 month after keratoplasty		
VEGF	84,3 (75,3-89,7)	198,7 (171,5-209,1)*, **
TGF-β	45,4 (40,4-52,3)	19,2 (17,5-25,4)*, **
Через 6 месяцев после кератоластики 6 months after keratoplasty		
VEGF	84,5 (72,3-91,7)	111,2 (109,7-125,6)*, **
TGF-β	49,2 (37,4-56,4)	13,3 (10,5-18,1)*, **

Примечание. * – значимые ($p \leq 0,05$) различия с подгруппой 2а; ** – с показателями здоровых глаз согласно непараметрическому критерию Манна–Уитни.

Note. *, significant ($p \leq 0.05$) differences with subgroup 2a; **, with indicators of healthy eyes according to the nonparametric Mann–Whitney test.

ровых доноров, что является отражением сохранности механизмов, препятствующих иммуносенсибилизации роговицы после кератопластики и является предиктором благоприятного исхода оперативного лечения (рис. 1Г, см. 2-ю стр. обложки).

В группе пациентов «высокого риска» нами отмечено значимое снижение в слезной жидкости TGF- β до начала хирургического этапа лечения, что свидетельствует о снижении иммуносупрессивного фона внутренних сред глаза. В динамике после кератопластики концентрация TGF- β прогрессивно снижалась, достигнув минимального значения через 6 месяцев после оперативного лечения. Известно, что TGF- β способен подавлять иммунные реакции [9], оказывать негативную регуляцию в отношении дифференцировки и активации Т, В-лимфоцитов и NK-клеток [7, 15]. Установлено его участие в процессах подавления реакции отторжения трансплантата, индукции апоптоза новообразованных эндотелиоцитов и ингибирования лимфангиогенеза, имеющих значение в поддержании аваскулярности роговицы, а его снижение свидетельствует о высоком риске отторжения донорской роговицы.

Концентрация VEGF в подгруппе 26 пациентов с высоким риском отторжения трансплантата на этапе до оперативного лечения не выходила за пределы референсных значений, однако через 1 месяц нами зафиксирован значимый рост пока-

зателя, почти двукратно превышающий исходные значения и некоторую тенденцию к снижению через 6 месяцев наблюдения. Исходом оперативного лечения пациентов «высокого риска» часто является реакция отторжения и активная неоваскуляризация трансплантата (рис. 1Б, В; см. 2-ю стр. обложки).

VEGF-зависимая неоваскуляризация ткани дополнительно усиливает кинетику и выраженность иммунного ответа против собственных антигенов глаза, обеспечивая транспортировку аллоантигенов с поверхности глаза к периферическим лимфоидным органам и последующую вторичную миграцию сенсibilизированных эффекторных иммунных клеток обратно в аллотрансплантат [11, 13].

Заключение

Установленный нами в группе пациентов «высокого риска» дисбаланс факторов, обеспечивающих в норме поддержание иммуносупрессивной интраокулярной среды, увеличивает риски отторжения трансплантата донорской роговицы, возрастающие по мере снижения концентрации иммуносупрессивных факторов, таких как трансформирующий фактор роста- β и повышения концентрации вазоформных цитокинов, в частности VEGF, способствующих иммунной сенсibilизации и нелимфаногенезу тканей роговицы.

Список литературы / References

1. Ambati B.K., Nozaki M., Singh N., Takeda A., Jani P.D., Suthar T., Ambati J. Corneal avascularity is due to soluble VEGF receptor-1. *Nature*, 2006, Vol. 443, no. 7114, pp. 993-997.
2. Bock F., Maruyama K., Regenfuss B., Hos D., Steven P., Heindl L.M., Cursiefen C. Novel anti (lymph) angiogenic treatment strategies for corneal and ocular surface diseases. *Prog. Retin. Eye Res.*, 2013, Vol. 37, pp. 89-124.
3. Cursiefen C., Maruyama K., Bock F., Saban D., Sadrai Z., Lawler J., Masli S. Thrombospondin 1 inhibits inflammatory lymphangiogenesis by CD36 ligation on monocytes. *J. Exp. Med.*, 2011, Vol. 208, no. 5, pp. 1083-1092.
4. Dohlman T.H., Omoto M., Hua J., Stevenson W., Lee S.M., Chauhan S.K., Dana R. VEGF-trap aflibercept significantly improves long-term graft survival in high-risk corneal transplantation. *Transplantation*, 2015, Vol. 99, no. 4, pp. 678-686.
5. Hori J., Yamaguchi T., Keino H., Hamrah P., Maruyama K. Immune privilege in corneal transplantation. *Prog. Retin. Eye Res.*, 2019, Vol. 72, 100758. doi: 10.1016/j.preteyeres.2019.04.002.
6. Janyst M., Kaleta B., Janyst K., Zagożdżon R., Kozłowska E., Lasek W. Comparative study of immunomodulatory agents to induce human T regulatory (Treg) cells: preferential Treg-stimulatory effect of prednisolone and rapamycin. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 2020, Vol. 68, no. 4, 20. doi: 10.1007/s00005-020-00582-6.
7. Maharana P.K., Mandal S., Kaweri L., Sahay P., Lata S., Asif M.I., Sharma N. Immunopathogenesis of corneal graft rejection. *Ind. J. Ophthalmol.*, 2023, Vol. 5, no. 71, pp. 1733-1738.
8. Major J., Foroncewicz B., Szaflik J.P., Mucha K. Immunology and donor-specific antibodies in corneal transplantation. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 2021, Vol. 69, no. 1, 32. doi: 10.1007/s00005-021-00636-3.
9. Massagué J., Sheppard D. TGF- β signaling in health and disease. *Cell*, 2023, Vol. 186, no. 19, pp. 4007-4037.
10. Oka M., Iwata C., Suzuki H.I., Kiyono K., Morishita Y., Watabe T., Miyazono K. Inhibition of endogenous TGF-beta signaling enhances lymphangiogenesis. *Blood*, 2008, Vol. 111, no. 9, pp. 4571-4579.

11. Salabarria A.C., Braun G., Heykants M., Koch M., Reuten R., Mahabir E., Bock F. Local VEGF-A blockade modulates the microenvironment of the corneal graft bed. *Am. J. Transplant.*, 2019, Vol. 19, no. 9, pp. 2446-2456.
12. Schoenberg A., Hamdorf M., Bock F. Immunomodulatory strategies targeting dendritic cells to improve corneal graft survival. *J. Clin. Med.*, 2020, Vol. 9, no. 5, 1280. doi: 10.3390/jcm9051280.
13. Singh R.B., Marmalidou A., Amouzegar A., Chen Y., Dana R. Animal models of high-risk corneal transplantation: A comprehensive review. *Exp. Eye Res.*, 2020, Vol. 9, no. 198, pp. 108-122.
14. Taylor A.W. Ocular immune privilege and transplantation. *Front. Immunol.*, 2016, Vol. 7, 37. doi: 10.3389/fimmu.2016.00037.
15. Wilson S.E. TGF beta -1, -2 and -3 in the modulation of fibrosis in the cornea and other organs. *Exp. Eye Res.*, 2021, Vol. 207, 108594. doi: 10.1016/j.exer.2021.108594.

Авторы:

Быстров А.М. — врач офтальмологического отделения № 1 ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», г. Челябинск, Россия

Кузнецов А.А. — к.м.н., заведующий офтальмологическим центром ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», г. Челябинск, Россия

Authors:

Bystrov A.M., Clinical Ophthalmologist, Ophthalmology Department No. 1, Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russian Federation

Kuznetsov A.A., PhD (Medicine), Head, Ophthalmology Center, Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russian Federation

Поступила 13.05.2024
Принята к печати 31.07.2024

Received 13.05.2024
Accepted 31.07.2024

СОДЕРЖАНИЕ НЕЙРОИММУНОВАСКУЛЯРНЫХ ФАКТОРОВ И СОСТОЯНИЕ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ БУЛЬБАРНОЙ КОНЬЮНКТИВЫ ПРИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ СТРЕССОВОМ РАССТРОЙСТВЕ У ВETERANОВ СОВРЕМЕННЫХ БОЕВЫХ КОНФЛИКТОВ

Пашнин С.Л.¹, Давыдова Е.В.^{1, 2}, Альтман Д.Ш.¹

¹ ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», г. Челябинск, Россия

² ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Резюме. Хроническое воздействие разномодального стресса, т. е. аллостатическая перегрузка приводит к дезадаптивным реакциям в различных органах и запускает патофизиологические механизмы, способствующие формированию постстрессовых расстройств у ветеранов современных боевых конфликтов. Головной мозг является ключевым органом реакции на стресс, при этом мгновенное соответствие кровотока метаболическим потребностям мозга обеспечивается сигнальными механизмами нейроиммуноваскулярного взаимодействия.

Целью исследования явилось изучение содержания нейроиммуноваскулярных факторов и состояние микроциркуляции бульбарной конъюнктивы при посттравматическом стрессовом расстройстве (ПТСР) у ветеранов современных боевых конфликтов.

В исследовании приняли участие 35 ветеранов специальной военной операции на территории Украины (УСВО), имеющих документально подтвержденный диагноз ПТСР (МКБ-10: F43.1; МКБ-11: 6B40) в возрасте от 25 до 60 лет. Биомикроскопию бульбарной конъюнктивы глаза проводили с помощью щелевой лампы фирмы К. Цейсс SLR 100 (Германия). В крови проводилось определение уровней вазоактивных факторов ИФА методом: фактор роста эндотелия сосудов VEGF (тест-система eBioscience, BenderMedSystems, Австрия); эндотелин-1 (BioMedica, Австрия). Концентрацию нитритов определяли с помощью реакции Гриса, используя метод Н.Л. Емченко. Цитокиновый профиль крови исследовали при помощи мультиплексного анализа на иммуноанализаторе Luminex Magpix 100 (США) с использованием тест-системы мультиплексного анализа Bio-Plex (MERZ, Германия) для определения IL-6, TNF α . Сравнение данных проводили с помощью программы SPSS.

Адрес для переписки:

Давыдова Евгения Валерьевна
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
454048, Россия, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.
Тел.: 8 (351) 749-37-75.
E-mail: davidova-ev.med@yandex.ru

Address for correspondence:

Evgeniya V. Davydova
South Ural State Medical University
64 Vorovsky St
Chelyabinsk
454048 Russian Federation
Phone: +7 (351) 749-37-75.
E-mail: davidova-ev.med@yandex.ru

Образец цитирования:

С.Л. Пашнин, Е.В. Давыдова, Д.Ш. Альтман
«Содержание нейроиммуноваскулярных факторов
и состояние микроциркуляции бульбарной
конъюнктивы при посттравматическом стрессовом
расстройстве у ветеранов современных боевых
конфликтов» // Российский иммунологический журнал,
2025. Т. 28, № 1. С. 109-116.
doi: 10.46235/1028-7221-16983-CON

© Пашнин С.Л. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

S.L. Pashnin, E.V. Davydova, D.Sh. Altman "Contents
of neuroimmunovascular factors and the state of
microcirculation of bulbar conjunctiva in post-traumatic stress
disorder in veterans of modern combat conflicts", Russian
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 1, pp. 109-116.
doi: 10.46235/1028-7221-16983-CON

© Pashnin S.L. et al., 2025

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

DOI: 10.46235/1028-7221-16983-CON

При исследовании микрогемодикуляции конъюнктивы ветеранов с ПТСР установлено преобладание спастико-атонических изменений, преимущественно за счет капиллярно-венулярного компонента, появление артерио-венозных анастомозов, аневризм, способствующих нарастанию гипоксически-ишемических изменений мозговой ткани, дистрофическим изменениям, редукции мозгового кровотока и, как следствие, ремоделингу и неоваскуляризации. В крови установлен дисбаланс vasoактивных молекул с преобладанием vasoконстрикторных влияний за счет увеличения уровня эндотелина-1, фактора роста эндотелия сосудов на фоне снижения концентрации нитрит-ионов. Показано увеличение в системной циркуляции провоспалительных цитокинов IL-6 и TNF α , способствующих развитию нейровоспалительных и нейротоксических процессов в мозговой ткани.

Формирование нейрокогнитивных постстрессовых расстройств происходит на фоне накопления «аллостатического груза» и сопровождается дезадаптивными изменениями микрогемодикуляции мозговой ткани в виде нарушения ангиоархитектоники, дисбаланса vasoактивных молекул и роста провоспалительных цитокинов.

Ключевые слова: боевой стресс, аллостатический груз, посттравматическое стрессовое расстройство, микрогемодикуляция, vasoактивные факторы, провоспалительные цитокины

CONTENTS OF NEUROIMMUNOVASCULAR FACTORS AND THE STATE OF MICROCIRCULATION OF BULBAR CONJUNCTIVA IN POST-TRAUMATIC STRESS DISORDER IN VETERANS OF MODERN COMBAT CONFLICTS

Pashnin S.L.^a, Davydova E.V.^{a, b}, Altman D.Sh.^a

^a Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russian Federation

^b South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. Chronic exposure to multimodal stress, e.g., allostatic overload leads to dysadaptive response of various organs and triggers pathophysiological mechanisms that contribute to development of post-stress disorders in veterans of modern military conflicts. Brain is a key stress response organ, and sustained matching of blood flow to metabolic demands of the brain is ensured by signaling mechanisms of neuroimmunovascular interaction. The purpose of the study was to assess the contents of humoral neuroimmunovascular factors, and the state of microcirculation at the ocular bulbar conjunctiva in post-traumatic stress disorder (PTSD) in veterans of modern military conflicts. Materials and methods: 35 veterans of a special military operation on the territory of Ukraine with a documented diagnosis of PTSD (ICD-10: F43.1; ICD-11: 6B40) aged from 25 to 60 years participated in the study. Biomicroscopy of the ocular bulbar conjunctiva was performed using a slit lamp SLR 100 (K. Zeiss, Germany). The levels of following vasoactive factors were determined in blood by ELISA method: vascular endothelial growth factor VEGF (eBioscience test system, BenderMedSystems, Austria); endothelin-1 (BioMedica, Austria). The concentration of nitrites was determined by Gries reaction using the technique of N. Emchenko. The blood cytokine profile was studied with a Luminex Magpix 100 immunoanalyzer (USA), using Bio-Plex multiplex test system (MERZ, Germany), in order to determine IL-6, TNF α . The data were evaluated with SPSS program. Results and discussion: a study of blood microcirculation at the bulbar conjunctiva of veterans with PTSD revealed the predominance of spastic-atonic changes, mainly due to the capillary-venular component, emergence of arterial-venous anastomoses, aneurysms contributing to increase of hypoxic-ischemic changes in brain tissue, dystrophic changes, reduction of cerebral blood flow, being a consequence of vascular remodeling and neovascularization. There is an imbalance of vasoactive molecules in blood, with predominance of vasoconstriction effects associated with increased levels of endothelin-1, a vascular endothelial growth factor along with decreased concentrations of nitrite ions. We have shown increased systemic circulation of pro-

inflammatory cytokines IL-6 and TNF α which may promote neuroinflammatory and neurotoxic processes in brain tissue. Conclusion. Development of neurocognitive post-stress disorders occurs in presence of accumulating “allostatic cargo”, being accompanied by maladaptive changes in the microcirculation of brain tissue along with disturbances in angioarchitecture, imbalance of vasoactive molecules, and increased contents of pro-inflammatory cytokines.

Keywords: combat stress, allostatic load, post-traumatic stress disorder, microcirculation, vasoactive factors, proinflammatory cytokines

Введение

Посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) возникает после перенесенных травм или хронического дистресса. Нейробиология ПТСР связана с накоплением аллостатического груза, формированием системных дезадаптивных реакций, неспособностью отличать опасность от безопасности, когнитивными расстройствами, нарушением исчезновения страха и сенсibilизацией нейрохимических реакций [2, 7, 11].

Формирование ПТСР у комбатантов сопровождается морфологическими изменениями тканей гиппокампа, миндаины и областей коры головного мозга, возможно, отражающими ранее существовавшие факторы уязвимости или последствия расстройства. Воспалительные иммунные изменения, вариации микробиоты, генетические и эпигенетические исследования предикторов ПТСР являются предметом научной дискуссии последних лет [6, 11, 13]. В то же время хронический боевой стресс вызывает многогранные функциональные нарушения церебральной микроциркуляции, играющие важнейшую роль в патогенезе связанных со стрессом нейрокогнитивных нарушений и ряда цереброваскулярных событий [4].

Значение термина «боевой стресс» неоднозначно и часто относится к жизненным и связанным с выполнением профессионального долга событиям, которые рассматриваются преимущественно как негативные, отражающие субъективное восприятие неблагоприятных изменений окружающей среды, вызывающие активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) [13]. Именно головной мозг является ключевым органом реакции на стресс, при этом мгновенное соответствие кровотока метаболическим потребностям мозга обеспечивается сигнальными механизмами нейроиммуноваскулярного взаимодействия. Нейроиммуноваскулярный интерфейс мозга состоит из микрососудов головного мозга, глиальных клеток, выполняющих функцию иммунного надзо-

ра (астроглии, микроглии и олигодендроглии) и нейронов. Для обеспечения нормального мозгового кровообращения необходимо поддерживать гармоничное взаимодействие между нейрональными, иммунными и эндотелиальными клетками. Состояние хронического боевого стресса нарушает этот баланс, в том числе посредством изменения морфологии и экспрессии астроцитарных белковых молекул, активации иммунных провоспалительных генов и молекул адгезии [9].

Исследование микроциркуляторного бассейна конъюнктивы глаза отражает изменения во всей микроциркуляторной системе организма.

Целью исследования явилось изучение содержания нейроиммуноваскулярных факторов и состояние микроциркуляции бульбарной конъюнктивы при посттравматическом стрессовом расстройстве у ветеранов современных боевых конфликтов.

Материалы и методы

В рамках поставленной цели на базе отделения реабилитации для ветеранов современных военных конфликтов ГБУЗ «Челябинский областной клинический терапевтический госпиталь для ветеранов войн» обследовано 35 ветеранов специальной военной операции на территории Украины (УСВО), имеющих документально подтвержденный диагноз «ПТСР» (МКБ-10: F43.1; МКБ-11: 6B40) в возрасте от 25 до 60 лет (основная группа 1). Средняя продолжительность пребывания в зоне СВО 1,3 года. Группу референсных значений (2) составили 20 здоровых военнослужащих, не принимавших участия в боевых действиях (средний возраст 48,7 \pm 3,6 года). Проводимые исследования рассмотрены с позиций биомедицинской этики на заседании этического комитета ООО «ДокторЛаб» (протокол № 3 от 17.10.2020 г.). Права исследователей и пациентов оформлены в виде подписания информированного согласия пациента. Диагноз «ПТСР» выставлен в соответствии рекомендациями ФГБУ «НМИЦ психиатрии и неврологии имени В.М. Бехтерева» МЗ РФ (Санкт-Петербург) на

основании нейропсихологического и патофизиологического тестирования. Диагноз «ПТСР» верифицирован в соответствии с диагностическими критериями МКБ-10 (F43.1 ПТСР), МКБ-11 «Расстройства, непосредственно связанные со стрессом: ПТСР (6B40)» и DSM-IV (рубрика «Тревожные расстройства» (300.xx)), с учетом изменений указанных в DSM-V пересмотра. Исключены из исследования комбатанты, имеющие в анамнезе тяжелые ЧМТ, психоорганическую патологию, с наличием любой декомпенсированной соматической патологией, употребляющие наркотические и психотропные средства.

Исследование микрогемоциркуляции конъюнктивы переднего отрезка глаза и оценку степени выраженности расстройств проводили на щелевой лампе фирмы К. Цейсс SLR 100 (Германия). Венозную кровь для иммунологического исследования собирали в утренние часы, натощак. Концентрацию вазоактивных пептидов детектировали на иммуноферментном анализаторе, фактор роста эндотелия (VEGF, пг/мл) при помощи тест-системы eBioscience, BenderMedSystems (Австрия), эндотелин-1 (ЭТ-1, фмоль/л) набором реагентов BioMedica (Австрия). Определение количества финальных метаболитов оксида азота проводили согласно методу Н.Л. Емченко и соавт. (1994) на кадмиевой колонке с добавлением N-нафтилэтилендиаминдигидрохлорида, определение концентрации нитратов и нитритов проводили по графику зависимости концентрации от оптической плотности [1].

Уровни стресс-индуцированных цитокинов IL-6, TNF α в сыворотке крови определяли при помощи мультиплексного анализа на иммуноанализаторе Luminex Magpix 100 (США), с набором Bio-Plex (MERZ, Германия).

Сравнение полученных результатов осуществляли применяя пакет прикладных программ Statistical Package for the Social Sciences (SPSS Statistics). Данные в таблицах представлены в абсолютных и относительных значениях, а также посредством вычисления медианы и интерквартильного размаха — Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}). Использовали точный критерий Фишера и Манна-Уитни для независимых выборок, при достижении уровня значимости (p) не более 0,05.

Результаты и обсуждение

Мультимодальная настройка мозгового кровотока, соответствующая реальным метаболическим потребностям, осуществляется рядом механизмов, включающих миогенный, химический, метаболический и нейрогенный компоненты.

Ключевую роль в изменении тонуса сосудов ЦНС играют механизмы симпатической нервной системы, препятствующие чрезмерному растяжению артериол головного мозга. У ветеранов с ПТСР при помощи биомикроскопии бульбарной конъюнктивы глаза нами установлены значимые изменения морфоархитектоники и микрогемодинамики сосудов микроциркуляторного русла (табл. 1).

В группе ветеранов с ПТСР отмечена неравномерность калибра и аневризматические изменения на уровне капилляров и вен, наличие меандрической извитости артериол и капилляров, наличие артериовенозных анастомозов, что отражает выраженные стрессиндуцированные изменения ангиоархитектоники МЦР конъюнктивы, а следовательно, и мозговой ткани. Более чем у половины обследуемых комбатантов с ПТСР зафиксировано замедление кровотока, у трети пациентов отмечались явления блокады и ретроградного кровотока. Преобладание спастико-атонических изменений, появление аневризм преимущественно за счет капиллярно-венулярного компонента МЦР, а также появление артерио-венозных анастомозов отражают застойные, дистонические явления МЦР, способствующие нарастанию гипоксически-ишемических изменений мозговой ткани, дистрофическим изменениям, редукции мозгового кровотока и, как следствие, ремоделингу и неоваскуляризации. Исследования гемодинамических реакций, проведенные с помощью функциональной магнитно-резонансной томографии во время острого психоэмоционального стресса, показали способность компонентов адренергической системы регулировать мозговой кровоток в зонах повышенной нейрональной активности [9]. Однако следует принимать во внимание, что хроническое перенапряжение систем быстрого реагирования приводит к запуску и реализации синергичных программ со стороны иммунной, метаболической и сердечно-сосудистой систем, отражающих наличие аллостатической перегрузки [7]. На экспериментальной модели непредсказуемого хронического легкого стресса (UCMS) для индуцирования депрессивноподобного поведения у грызунов, включая ангедонию и приобретенную беспомощность, характерных также для ситуации боевого стресса комбатантов показано, что патологическая адаптация кровотока имеет место в крупных проксимальных артериях мозга, в виде недостаточной реакции вазодилатации средней мозговой артерии (СМА) под действием ацетилхолина и, напротив, чрезмерную реакцию констрикции СМА на серотонин и эндоте-

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ МОРФОАРХИТЕКТониКИ И МИКРОГЕМОЦИРКУЛЯЦИИ КОНЪЮНКТИВЫ ВЕТЕРАНОВ С ПТСР

TABLE 1. INDICATORS OF MORPHOARCHITECTURE AND MICROCIRCULATION OF THE CONJUNCTIVA OF VETERANS WITH PTSD

Данные морфометрии МЦР конъюнктивы (в процентах) Morphometric data of the MCR of the conjunctiva (in percentages)	Группа 1 Здоровые военнослужащие Group 1 Healthy military personnel n = 20	Группа 2 Ветераны с ПТСР Group 2 Veterans with PTSD n = 35
Неравномерность калибра сосудов МЦР Uneven caliber of MCR vessels		
Артерии Arteries	2 (10%)	9 (25,7%)
Капилляры Capillaries	5 (25%)	32 (91,4%)*
Вены Veins	6 (30%)	30 (85,7%)*
Наличие меандрической извитости сосудов МЦР Presence of meandering tortuosity of MCR vessels		
Артерии Arteries	1 (5%)	8 (22,8%)*
Капилляры Capillaries	6 (30%)	34 (97,1%)*
Вены Veins	9 (45%)	21 (60%)
Наличие аневризматических изменений сосудов МЦР Presence of aneurysmal changes in the vessels of the MCR		
Капилляры Capillaries	1 (5%)	23 (65,7%)*
Вены Veins	1 (5%)	12 (34,2%)*
Сосудистые клубочки Vascular glomeruli	5 (25%)	16 (45,7%)
Артериовенозные анастомозы Arteriovenous anastomoses		
Артериовенозные анастомозы Arteriovenous anastomoses	1 (5%)	19 (54,2%)*
Скорость и характер кровотока Speed and nature of blood flow		
Замедление Slowdown	1 (5%)	24 (68,5%)*
Ретроградный кровоток Retrograde blood flow	1 (5%)	12 (34,2%)*

Примечание. * – значимые ($p \leq 0,05$) различия с группой контроля, рассчитанные согласно критерию Фишера.

Note. *, significant ($p \leq 0.05$) differences with the control group, calculated according to Fisher's test.

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ НЕЙРОИММУНОВАСКУЛЯРНЫХ ФАКТОРОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ВЕТЕРАНОВ С ПТСР, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 2. CONTENT OF NEUROIMMUNOVASCULAR FACTORS IN THE BLOOD SERUM OF VETERANS WITH PTSD, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели Indicators	Группа 1 Здоровые военнослужащие Group 1 Healthy military personnel n = 20	Группа 2 Вeterаны с ПТСР Group 2 Veterans with PTSD n = 35
Нитрит-ионы (NO ₂), мкмоль/л Nitrite ions (NO ₂), μmol/L	3,9 (2,3-3,7)	1,3 (1,2-2,1)*
Эндотелин-1, фмоль/мл Endothelin-1, fmol/mL	1,9 (0,58-2,69)	9,9 (5,2-11,3)*
VEGF, пг/мл VEGF, pg/mL	25,6 (19,3-34,2)	68,8 (52,1-78,4)*
TNFα, пг/мл TNFα, pg/mL	6,5 (4,5-8,2)	9,6 (8,4-14,6)*
IL-6, пг/мл IL-6, pg/mL	3,8 (2,5-4,9)	10,6 (8,9-12,7)*

Примечание. * – значимые (p ≤ 0,05) различия с группой контроля, рассчитанные согласно непараметрическому критерию Манна–Уитни.

Note. *, significant (p ≤ 0.05) differences with the control group, calculated according to the nonparametric Mann–Whitney test.

лин-1 [8], как следствие дезадаптивных сосудистых реакций, связанных с активацией процессов окислительного стресса и снижением биодоступности NO в сосудах головного мозга. Постулировано, что хронический стресс характеризуется снижением экспрессии нейронной NO-синтазы и гемоксигеназы-2, повышенной экспрессией индуцированной NO-синтазы (iNOS) преимущественно макрофагального происхождения, повышенная экспрессия которой, наряду с ростом концентрации провоспалительных цитокинов IL-6 и TNFα, приводит к явлениям нейротоксичности [10]. Содержание и соотношение ряда ключевых нейроиммуноваскулярных факторов, влияющих на мозговой кровоток, представлено в таблице 2.

Из таблицы 2 следует, что уровень эндотелина-1 у ветеранов с ПТСР почти в 3 раза превышал аналогичный показатель в группе контроля, в то время как концентрация нитритов напротив оказалась сниженной, что свидетельствует о дисбалансе вазоактивных факторов на фоне постстрессовых расстройств. Кроме вазоконстрикторных эффектов ЭТ-1 известна его роль в процессах индукции воспаления за счет повышения сосудистой проницаемости, активации нейтрофилов, Т-лимфоцитов, стимуляции синтеза цитокинов, экспрессии интегринов.

Известно, что повышенный уровень кортизола снижает биодоступность оксида азота за счет прямого ингибирования эндотелиальной и нейрональной форм NO-синтаз [10]. Стресс-индуцированный окислительный профиль клетки способствует смещению функционального баланса NO с полезной генерации NO эндотелиальной NO-синтазой (eNOS) на патологическую генерацию супероксида из NO.

Учитывая роль VEGF в процессах неогенеза, способность воздействовать на сократительность сосудистой стенки, опосредованную стимуляцией экспрессии эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) через PI3K/Akt- и MAPK-пути, нами показано значимое снижение данного вазоформного цитокина в крови ветеранов с ПТСР. В литературе описано значительное снижение плотности микрососудов головного мозга у мышей-самцов после 8 недель UCMS [8]. Механизм, с помощью которого хронический стресс приводит к снижению ангиогенеза в головном мозге, до конца не изучен, однако имеются данные о прогрессировании разрежения микрососудов при нарушении баланса между молекулами прооксидантов, уровнем тромбоспондина-1 (TSP-1), являющегося белком внеклеточного матрикса и способного тормозить капиллярогенез и критически зависит от экспрессии триггера для запуска

ангиогенеза – VEGF [5]. Так, например, при повышении уровня TSP-1 сигнальные пути VEGF могут эндогенно подавляться, а NO одновременно вызывает расширение сосудов и усиливает экспрессию VEGF [5].

Цитокинопосредованное нейровоспаление и окислительный стресс участвуют в реализации дезадаптивных реакций микрососудов за счет особой восприимчивости мозговой ткани к окислительному стрессу вследствие высокого содержания ПНЖК, низкого уровня механизмов антиоксидантной защиты и высокой потребности мозга в кислороде. Нами показано увеличение в системной циркуляции уровней провоспалительных цитокинов IL-6 и TNF α на фоне ПТСР. На территории ЦНС TNF α и IL-6 активируют микроглию, реализуют свое нейротоксическое влияние путем индукции апоптоза нейронов, приводят к снижению активности кальций/кальмодулинзависимой протеинкиназы типа (САМК) IV и внеклеточной сигнально-регулируемой киназы (ERK) -1/2 в гиппокампе [3, 12]. Между тем, известно, что кальций (Ca²⁺) является универсальным вторичным мессенджером, регулирующим ряд важнейших процессов, таких как клеточная пролиферация, дифферен-

цировка, рост, локомоция, секреция, обучение и память, дефицит которого в клетках мозга неизбежно приводит к нейрональным потерям и развитию нейрокогнитивной симптоматики [3].

Заключение

Накопление «аллостатического груза» у ветеранов современных боевых конфликтов с ПТСР сопровождается формированием разноуровневых дезадаптивных изменений, в том числе в виде церебральной микрососудистой дисфункции, характеризующейся изменением ангиоархитектоники микроциркуляторного русла, наличием спастико-атонических и застойных явлений на уровне капиллярно-венулярного звена, наряду с дисбалансом гуморальных вазоактивных факторов, ростом уровней провоспалительных цитокинов, способствует развитию дистрофических изменений в мозговой ткани, цитокин-индуцированного нейровоспаления, снижению капиллярной плотности МЦР, редукции мозгового кровотока, создавая благоприятную почву для формирования нейрокогнитивных постстрессовых расстройств.

Список литературы / References

1. Емченко Н.Л., Цыганенко О.И., Ковалевская Т.В. Универсальный метод определения нитратов в биосредах организма // Клиническая лабораторная диагностика. 1994. № 6. С. 19-20. [Emchenko N.L., Tsyganenko O.I., Kovalevskaya T.V. Universal method for determining nitrates in biological media of the body. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 1994, no. 6, pp. 19-20. (In Russ.)]
2. Севрюкова Г.А. Реостаз, аллостаз и аллостатическая нагрузка: что понимается под этими терминами? // Международный научно-исследовательский журнал, 2022. № 10 (124). [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://research-journal.org/archive/10-124-2022-october/10.23670/IRJ.2022.124.22>. [Sevryukova G.A. Rheostasis, allostasis and allostatic load: what is meant by these terms? *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal = International Scientific Research Journal*, 2022, no. 10 (124). [Electronic resource]. Access mode: <https://research-journal.org/archive/10-124-2022-october/10.23670/IRJ.2022.124.22>. (In Russ.)]
3. Bernberg E., Ulleryd M.A., Johansson M.E., Bergström G.M. Social disruption stress increases IL-6 levels and accelerates atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice. *Atherosclerosis*, 2012, Vol. 221, no. 2, pp. 359-365.
4. Burrage E., Marshall K.L., Santanam N., Chantler P.D. Cerebrovascular dysfunction with stress and depression. *Brain Circ.*, 2018, Vol. 4, no. 2, pp. 43-53.
5. Chu L.Y., Ramakrishnan D.P., Silverstein R.L. Thrombospondin-1 modulates VEGF signaling via CD36 by recruiting SHP-1 to VEGFR2 complex in microvascular endothelial cells. *Blood*, 2013, Vol. 5, no. 122 (10), pp. 1822-1832.
6. Griffin B.J., Purcell N., Burkman K., Litz B.T., Bryan C.J., Schmitz M., Villierme C., Walsh J., Maguen S. Moral Injury: An Integrative Review. *J. Trauma Stress*, 2019, Vol. 32, no. 3, pp. 350-362.
7. McEwen B.S., Gianaros P.J. Central role of the brain in stress and adaptation: links to socioeconomic status, health, and disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2010, no. 1186, pp. 190-222.
8. Mineur Y.S., Prasol D.J., Belzung C., Crusio W.E. Agonistic behavior and unpredictable chronic mild stress in mice. *Behav. Genet.*, 2003, Vol. 33, no. 5, pp. 513-519.
9. Lee S., Kang B.M., Shin M.K., Min J., Heo C., Lee Y., Baeg E., Suh M. Chronic stress decreases cerebrovascular responses during rat hindlimb electrical stimulation. *Front. Neurosci.*, 2015, Vol. 9, 462. doi: 10.3389/fnins.2015.00462.

10. Liu Y., Mladinov D., Pietrusz J.L., Usa K., Liang M. Glucocorticoid response elements and 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenases in the regulation of endothelial nitric oxide synthase expression. *Cardiovasc. Res.*, 2009, Vol. 81, no. 1, pp. 140-147.

11. Phelps A.J., Steel Z., Metcalf O. Key patterns and predictors of response to treatment for military veterans with post-traumatic stress disorder: a growth mixture modelling approach. *Psychol. Med.*, 2018, Vol. 48, no. 1, pp. 95-103.

12. Toussaint F., Charbel C., Allen B.G., Ledoux J. Vascular CaMKII: heart and brain in your arteries. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2016, Vol. 311, no. 3, pp. 462-478.

13. Williamson V., Murphy D., Stevelink S.A.M., Allen S., Jones E., Greenberg N. Delivering treatment to morally injured UK military personnel and Veterans: The clinician experience. *Mil. Psychol.*, 2021, Vol. 33, no. 2, pp. 115-123.

Авторы:

Пашнин С.Л. — врач-нейрохирург, заслуженный врач РФ, заведующий отделением нейрохирургии ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», г. Челябинск, Россия

Давыдова Е.В. — д.м.н., доцент, профессор кафедры медицинской реабилитации и спортивной медицины ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; заведующая отделением ранней медицинской реабилитации ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», г. Челябинск, Россия

Альтман Д.Ш. — д.м.н., профессор, заслуженный врач РФ, главный врач ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», г. Челябинск, Россия

Authors:

Pashnin S.L., Neurosurgeon, Honored Doctor of Russian Federation, Head, Department of Neurosurgery, Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russian Federation

Davydova E.V., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Professor, Department of Medical Rehabilitation and Sports Medicine, South Ural State Medical University; Head, Department of Early Medical Rehabilitation, Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russian Federation

Altman D.Sh., PhD, MD (Medicine), Professor, Honored Physician of the Russian Federation, Chief Physician, Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russian Federation

Поступила 14.05.2024
Принята к печати 31.07.2024

Received 14.05.2024
Accepted 31.07.2024

ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ С ЭФФЕКТИВНЫМ КРОВОТОКОМ: ДИНАМИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Соломатина Л.В.¹, Бочкарев П.Ю.², Береснева Н.С.², Зудова А.И.¹,
Гусев Е.Ю.¹

¹ ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук,
г. Екатеринбург, Россия

² ГАУЗ Свердловской области «Свердловская областная клиническая больница № 1», г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Все больше данных свидетельствуют о том, что инсульт является системным заболеванием, поражающим многие системы органов. При этом связанные с геморрагическим инсультом системная воспалительная реакция и иммунная дисрегуляция могут играть важную роль в травме головного мозга, выздоровлении и исходе инсульта. Но стоит отметить, что классические представления о воспалении в патофизиологии и общей патологии, с нашей точки зрения, не отвечают потребностям современной медицинской практики. Наличие этой проблемы характерно как для оценки патогенеза, так и для оптимизации патогенетической терапии тяжелых инсультов. Поэтому в рамках данной работы произведено динамическое наблюдение и оценка патогенеза тяжёлого внутримозгового кровоизлияния с помощью критериев шкалы системного воспаления. В исследование были включены пациенты с внутримозговым кровоизлиянием и с эффективным мозговым кровотоком. Забор крови производился на 1-3-и и 5-7-е сутки после манифестации внутримозгового кровоизлияния. Для определения маркеров системного воспаления в плазме крови пациентов исследовали уровни IL-6, IL-8, IL-10, TNF α , прокальцитонина, кортизола, миоглобина, тропонина I и D-димеров с помощью иммуноферментного анализа. Критерий Колмогорова–Смирнова использовался для подтверждения нормальности распределения данных. Дальше сравнение количественных данных проводилось с использованием непараметрического критерия Вилкоксона для парных сравнений. Все результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$. У пациентов с внутримозговым кровоизлиянием на 1-3-и и 5-7-е сутки статистически значимые различия не отмечались практически по всем исследуемым маркерам системного воспаления, кроме IL-8 и фактора некроза опухоли- α . Такое увеличение содержания провоспалительных цитокинов может указывать на усиление системного воспаления в

Адрес для переписки:

Соломатина Лилия Владимировна
ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии»
Уральского отделения Российской академии наук
620078, Россия, г. Екатеринбург,
ул. Первомайская, 106.
Тел./факс: 8 (343) 374-00-70.
E-mail: slv10@list.ru

Address for correspondence:

Liliya V. Solomatina
Institute of Immunology and Physiology
106 Pervomayskaya St
Yekaterinburg
620078 Russian Federation
Phone/fax: +7 (343) 374-00-70.
E-mail: slv10@list.ru

Образец цитирования:

Л.В. Соломатина, П.Ю. Бочкарев, Н.С. Береснева,
А.И. Зудова, Е.Ю. Гусев «Показатели системного
воспаления при геморрагическом инсульте
с эффективным кровотоком: динамическое
наблюдение» // Российский иммунологический журнал,
2025. Т. 28, № 1. С. 117-122.
doi: 10.46235/1028-7221-16979-IOS

© Соломатина Л.В. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

L.V. Solomatina, P.Yu. Bochkarev, N.S. Beresneva,
A.I. Zudova, E.Yu. Gusev "Indexes of systemic inflammation
in hemorrhagic stroke with effective blood flow: a dynamic
observation", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 1, pp. 117-122.
doi: 10.46235/1028-7221-16979-IOS

© Solomatina L.V. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16979-IOS

динамике при внутримозговом кровоизлиянии и эффективном мозговом кровотоке. Следовательно, состояние таких пациентов может ухудшаться на 5-7-е сутки после манифестации внутримозгового кровоизлияния, что требует большего контроля за показателями крови у пациентов и терапии, направленной на подавление усиливающегося воспаления.

Ключевые слова: геморрагический инсульт, интерлейкины, TNF α , прокальцитонин, D-димеры, миоглобин, тропонин I

INDEXES OF SYSTEMIC INFLAMMATION IN HEMORRHAGIC STROKE WITH EFFECTIVE BLOOD FLOW: A DYNAMIC OBSERVATION

Solomatina L.V.^a, Bochkarev P.Yu.^b, Beresneva N.S.^b, Zudova A.I.^a, Gusev E.Yu.^a

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

^b Regional Clinical Hospital No. 1, Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. Increasing evidence suggests that stroke is a systemic disease affecting multiple organs. Systemic inflammatory response and immune dysregulation associated with hemorrhagic stroke, may play an important role in brain injury, its recovery, and stroke outcomes. However, it is worth of note that, from our point of view, the classical concepts about inflammation in pathophysiology and general pathology do not entirely meet the needs of modern medical practice. The existence of this problem is also typical for assessing pathogenesis, as well as for optimizing pathogenetic therapy of severe strokes. Therefore, within the framework of this work, a dynamic observation and assessment of pathogenesis in severe intracerebral hemorrhage was carried out using the criteria of a systemic inflammation scale. The study included patients with intracerebral hemorrhage and effective cerebral blood flow. Blood sampling was carried out on days 1-3 and 5-7 after clinical manifestation of intracerebral hemorrhage. To determine markers of systemic inflammation in the blood plasma of patients, the levels of IL-6, IL-8, IL-10, TNF α , procalcitonin, cortisol, myoglobin, troponin I and D-dimers were examined using an enzyme-linked immunosorbent assay. The Kolmogorov–Smirnov test was used to confirm the normal data distribution. Further comparison of quantitative data was carried out using the nonparametric Wilcoxon test for paired comparisons. All results were considered statistically significant at $p < 0.05$. In patients on days 1-3 and 5-7, statistically significant differences were not observed in almost all studied markers of systemic inflammation, except for IL-8 and tumor necrosis factor- α . Such increased contents of pro-inflammatory cytokines may indicate increased systemic inflammation over time in the patients with intracerebral hemorrhage and effective cerebral blood flow. Hence, the condition of such patients may worsen on days 5-7 after manifestations of intracerebral hemorrhage, thus requiring more careful monitoring of patients' blood counts and therapy aimed at suppression of increasing inflammation.

Keywords: hemorrhagic stroke, interleukins, TNF α , procalcitonin, D-dimers, myoglobin, troponin I

Работа выполнена в рамках гос. задания ИИФ УрО РАН № гос. регистрации 122020900136-4.

Введение

Воспаление и провоспалительные механизмы клеточного и тканевого стресса составляют основу большинства патологий человека. В на-

стоящее время общепризнано, что экспансия провоспалительных механизмов на системном уровне, включая феномен «цитокинового шторма», лежит в основе патогенеза критических (реанимационных) состояний различной этиологии [2]. Эти процессы связывают с системным воспалением. Характеристика СВ как общепатологического процесса, в том числе и на примерах

тяжелого геморрагического инсульта, является актуальной проблемой современной медицины.

Острый инсульт является одной из основных причин смертности в развитых странах [6]. Геморрагические инсульты составляют примерно от 5% до 21% от числа острых инсультов, а основными причинами этого заболевания являются гипертония, атеросклероз и другие вазопатии [3]. Все больше данных свидетельствуют о том, что инсульт является системным заболеванием, поражающим многие системы органов, лежащие вне границ/пределов головного мозга. Связанная с геморрагическим инсультом (спонтанные нетравматические внутримозговые кровоизлияния – ВМК) системная воспалительная реакция (СВР) и иммунная дисрегуляция могут играть важную роль в травме головного мозга, выздоровлении и исходе инсульта [5]. При этом отмечается прямая связь системных и локальных проявлений ВМК с развитием воспалительного процесса в мозге и за его пределами [4]. Проблема заключается в том, что классические представления о воспалении в системе знаний патофизиологии и общей патологии, с нашей точки зрения, устарели и не отвечают потребностям медицинской практики. Это обстоятельство требует нового подхода в рациональной классификации и характеристике различных вариантов воспаления с позиции теории общепатологических (типовых патологических) процессов и применения этой теории для решения практических задач современной медицины [1]. Наличие этой проблемы характерно и для оценки патогенеза, как и для оптимизации патогенетической терапии тяжелых инсультов.

В рамках данной работы проведено динамическое наблюдение и оценка патогенеза тяжелого, критичного для жизни ВМК с помощью критериев, входящих в шкалу СВ.

Материалы и методы

Пациенты

В исследование были включены пациенты с внутримозговым кровоизлиянием (ВМК) и эффективным мозговым кровотоком, госпитализированные в РАО Государственного автономного учреждения здравоохранения Свердловской области «Свердловская областная клиническая больница № 1» (ГАУЗ СО СОКБ № 1), г. Екатеринбург.

Внутримозговое кровоизлияние подтверждалось данными компьютерной и/или магниторезонансной томографии головного мозга. Па-

циенты включались в исследование, если у них также были диагностированы синдром полиорганной недостаточности (нарушение функции двух и более систем органов) и кома в первые сутки манифестации внутримозгового кровоизлияния. Пациенты с септическими осложнениями (в период госпитализации) и наличием острых инфекционных заболеваний (при манифестации ВМК) – в исследование не были включены.

Исследование проводилось в соответствии с правилами Хельсинкской декларации 1975 года (пересмотр 2013 г.). Получено одобрение этических комитетов ФГБУН ИИФ УрО РАН и ГАУЗ СО СОКБ № 1 г. Екатеринбурга. Информированное добровольное согласие пациентов оформлено в соответствии с Федеральным законом от 21.11.2011 № 323-ФЗ (ред. от 28.12.2022) «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» (с изм. и доп., вступ. в силу с 11.01.2023).

Определение биомаркеров

Забор крови производился на 1-3-и и 5-7-е сутки от начала клинических проявлений ВМК. Плазма была стабилизирована раствором цитрата натрия (3,2%) и замораживалась при температуре – 20 °С. В дальнейшем, с помощью иммуноферментного анализа на автоматическом анализаторе Dynex Lazurite (Dynex Technologies, VA, США) определялись уровни маркеров системного воспаления: IL-6, IL-8, IL-10, TNF α , прокальцитонина, кортизола, миоглобина, тропонина I и D-димеров.

Статистический анализ

Описательная статистика представлена как медиана (межквартильный размах) (Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})).

Критерий Колмогорова–Смирнова был использован для подтверждения нормальности распределения данных. Далее сравнение количественных данных проводилось с использованием непараметрического критерия Вилкоксона для парных сравнений. Все результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

По данным таблицы 1, у пациентов на 1-3-и и 5-7-е сутки манифестации внутримозгового кровоизлияния статистически значимые различия ($p < 0,05$) не отмечались практически по всем исследуемым маркерам системного воспаления.

Однако на 5-7-е сутки после внутримозгового кровоизлияния отмечались существенно более высокие значения IL-8 и фактора некроза

ТАБЛИЦА 1. ОПИСАТЕЛЬНАЯ СТАТИСТИКА ИССЛЕДУЕМЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

TABLE 1. DESCRIPTIVE STATISTICS OF THE INDICATORS, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Показатели Parameter	Группы (№) Groups (No.)	Контроль состояния (1-3-и сутки) (№ 1) Condition monitoring (1-3 days) (No. 1)	Контроль состояния (5-7-е сутки) (№ 2) Condition monitoring (5-7 days) (No. 2)
Кортизол, нмоль/л Cortisol, nmol/L		848,78 (458,45-1198,60)	955,61 (557,73-1200,00)
Тропонин I, нг/мл Troponin I, ng/mL		0,04 (0,02-0,47)	0,07 (0,03-0,47)
Миоглобин, нг/мл Myoglobin, ng/mL		84,37 (44,20-209,90)	138,90 (41,91-231,00)
D-димеры, нг/мл D-dimers, ng/mL		1494,49 (628,95-3000,00)	2688,70 (1306,80-3000,00)
Прокальцитонин, нг/мл Procalcitonin, ng/mL		1,43 (0,48-2,96)	1,26 (0,55-5,19)
IL-6, пг/мл IL-6, pg/mL		90,20 (51,48-232,22)	199,13 (85,20-300,00)
IL-8, пг/мл IL-8, pg/mL		11,60 (4,43-38,20) ²	46,55 (7,57-97,83) ¹
IL-10, пг/мл IL-10, pg/mL		12,41 (6,90-22,89)	16,21 (10,90-25,14)
TNF α , пг/мл TNF α , pg/mL		1,06 (0,00-3,53) ²	2,76 (0,51-32,20) ¹

Примечание. ¹ – статистически значимые отличия (критерий Вилкоксона для парных сравнений, $p < 0,05$) от группы № 1; ² – статистически значимые отличия (критерий Вилкоксона для парных сравнений, $p < 0,05$) от группы № 2.

Note. ¹, statistically significant differences (Wilcoxon test for paired comparisons, $p < 0.05$) from group No. 1; ², statistically significant differences (Wilcoxon test for paired comparisons, $p < 0.05$) from group No. 2.

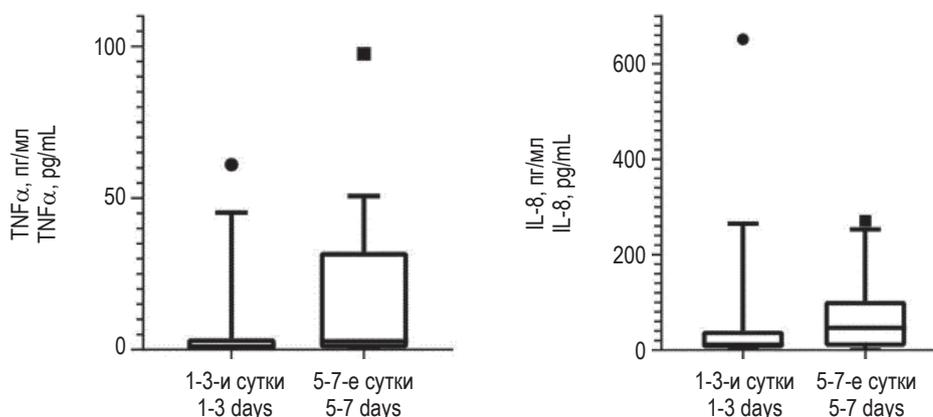


Рисунок 1. Уровни TNF α и IL-8 на 1-3-и и 5-7-е сутки манифестации внутримозгового кровоизлияния

Figure 1. Levels of TNF α and IL-8 on days 1-3 and 5-7 of the manifestation of intracerebral hemorrhage

опухоли- α по сравнению со значениями на 1-3-е сутки после манифестации (рис. 1).

Такое увеличение содержания провоспалительных цитокинов может указывать на усиление системного воспаления в динамике при внутримозговом кровоизлиянии и эффективном мозговом кровотоке. Следовательно, состояние таких пациентов может ухудшаться на 5-7-е сутки после манифестации внутримозгового кровоизлияния, что требует большего контроля за показателями

крови у пациентов и терапии, направленной на подавление усиливающегося воспаления.

Выводы

Наличие у пациентов внутримозгового кровоизлияния с эффективным мозговым кровотоком сопровождается повышением уровней IL-8 и TNF α на 5-7-е сутки после манифестации, что свидетельствует о выраженности системного воспаления и требует дальнейшей терапии/купирования данного процесса.

Список литературы / References

1. Fajgenbaum D.C., June C.H. Cytokine storm. *N. Engl. J. Med.*, 2020, Vol. 383, no. 23, pp. 2255-2273.
2. Gusev E., Zhuravleva Y. Inflammation: A new look at an old problem. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, Vol. 23, no. 9, 4596. doi: 10.3390/ijms23094596.
3. Knight-Greenfield A., Nario J.J.Q., Gupta A. Causes of acute stroke: a patterned approach. *Radiol. Clin. North Am.*, 2019, Vol. 57, no. 6, pp. 1093-1108.
4. Ohashi S.N., DeLong J.H., Kozberg M.G., Mazur-Hart D.J., van Veluw S.J., Alkayed N.J., Sansing L.H. Role of inflammatory processes in hemorrhagic stroke. *Stroke*, 2023, Vol. 54, no. 2, pp. 605-619.
5. Saand A.R., Yu F., Chen J., Chou S.H. Systemic inflammation in hemorrhagic strokes – A novel neurological sign and therapeutic target? *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2019, Vol. 39, no. 6, pp. 959-988.
6. Yang Q., Tong X., Schieb L., Vaughan A., Gillespie C., Wiltz J.L., King S.C., Odom E., Merritt R., Hong Y., George M.G. Vital signs: recent trends in stroke death rates – United States, 2000-2015. *MMWR*, 2017, Vol. 66, no. 35, pp. 933-939.

Авторы:

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

Бочкарев П.Ю. – заведующий отделением лабораторной диагностики ГАУЗ Свердловской области «Свердловская областная клиническая больница № 1», г. Екатеринбург, Россия

Береснева Н.С. – врач отделения лабораторной диагностики ГАУЗ Свердловской области «Свердловская областная клиническая больница № 1», г. Екатеринбург, Россия

Authors:

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

Bochkarev P.Yu., Head, Department of Laboratory Diagnostics, Regional Clinical Hospital No. 1, Yekaterinburg, Russian Federation

Beresneva N.S., Doctor of Laboratory Diagnostics, Department of Laboratory Diagnostics, Regional Clinical Hospital No. 1, Yekaterinburg, Russian Federation

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

Гусев Е.Ю. — д.м.н., профессор, заведующий
лабораторией иммунологии воспаления ФГБУН
«Институт иммунологии и физиологии» Уральского
отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург,
Россия

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

Gusev E. Yu., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief,
Laboratory of Inflammation Immunology, Institute of
Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy
of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Поступила 15.05.2024
Принята к печати 31.07.2024

Received 15.05.2024
Accepted 31.07.2024

МИССЕНС-МУТАЦИЯ 1234C>T ГЕНА TOLL-ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА 3 ПРИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОМ ЯЗВЕННОМ КОЛИТЕ

Абубакирова Э.А., Сташкевич Д.С., Евдокимов А.В.

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

Резюме. Поддержание кишечного гомеостаза – процесс динамического взаимодействия иммунной системы макроорганизма и местной микробиоты. Нарушенный иммунный ответ, генетическая предрасположенность и изменения в составе микробиоты приводят к хроническому воспалению в кишечнике, что является основой для развития иммунопатологии ВЗК. Резидентные кишечные вирусы также обладают иммуномодулирующим действием при ВЗК. Toll-подобные рецепторы, распознающие РAMPs, проникающие через кишечный барьер, важное звено воспалительного процесса при неспецифическом язвенном колите. Вирусная двухцепочечная РНК распознается *TLR3* на эндосомах. Нашей целью было выявить ассоциацию аллелей, генотипов гена *TLR3* и его гаплотипов, образованных с генами *TLR2*, *TLR1*, *TLR6*, с НЯК в популяции русских Челябинской области. В исследуемые группы вошли 96 пациентов больных НЯК и 86 условно здоровых лиц. ДНК было выделено из цельной крови колоночным методом, полиморфные участки генов амплифицировались методом аллель-специфической ПЦР и ПДРФ, продукты амплификации детектировались электрофорезом в 3%-ном агарозном геле с УФ-визуализацией. Был протипирован SNP 1234C>T (Leu412Phe) в гене *TLR3*. Оценка параметров неравновесного сцепления проводилась для указанного SNP *TLR3* и SNP 1805T>G (Ser602Ile) в гене *TLR1*, 2258G>A (Arg753Gln) в гене *TLR2*, 745C>T (Ser249Pro) в гене *TLR6*. Анализ распределения частот встречаемости аллелей и генотипов SNP 1234C>T *TLR3* показал статистически значимое повышение частоты мутантного аллеля Т (p = 0,019; OR = 1,72; 95% ДИ: 1,09-2,71) и гомозиготного генотипа ТТ в группе больных НЯК (p = 0,011; OR = 4,72; 95% ДИ: 1,31-17,05). В результате оценки параметров неравновесного сцепления обнаружено два гаплотипа, которые могут быть факторами предрасположенности к НЯК. Это гаплотип 1234*Т ~ 2258*А, образованный сцеплением мутантных аллелей SNPs 1234C>T *TLR3* и 2258G>A *TLR2* (p = 0,006; OR = 12,42; 95% ДИ: 1, 61-95, 97), а также гаплотип 1234*Т ~ 1805*Т, образованный сцеплением мутантного аллеля SNP 1234C>T *TLR3* с предковым аллелем SNP 1805T>G *TLR1* (p = 0,009; OR = 2,94; 95% ДИ: 1,35-6,42).

Ключевые слова: гомеостаз кишечника, генетическая предрасположенность, неспецифический язвенный колит, Toll-подобные рецепторы, полиморфизм гена *TLR3*, однонуклеотидная замена

Адрес для переписки:

Абубакирова Эльвира Айдаровна
ФГБОУ ВО «Челябинский государственный
университет»
454001, Россия, г. Челябинск,
ул. Бр. Кашириных, 129.
Тел.: 8 (351) 799-71-54.
E-mail: alveera@mail.ru

Address for correspondence:

Elvira A. Abubakirova
Chelyabinsk State University
129 Kashirin St
Chelyabinsk
454001 Russian Federation
Phone: +7 (351) 799-71-54.
E-mail: alveera@mail.ru

Образец цитирования:

Э.А. Абубакирова, Д.С. Сташкевич, А.В. Евдокимов
«Миссенс-мутация 1234C>T гена Toll-подобного
рецептора 3 при неспецифическом язвенном колите»
// Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28,
№ 1. С. 123-128.
doi: 10.46235/1028-7221-16986-ММО

© Абубакирова Э.А. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

E.A. Abubakirova, D.S. Stashkevich, A.V. Evdokimov
“Missense mutation 1234C>T of Toll-like receptor 3 gene in
ulcerative colitis”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 1, pp. 123-128.
doi: 10.46235/1028-7221-16986-ММО

© Abubakirova E.A. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16986-ММО

MISSENSE MUTATION 1234C>T OF TOLL-LIKE RECEPTOR 3 GENE IN ULCERATIVE COLITIS

Abubakirova E.A., Stashkevich D.S., Evdokimov A.V.

Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. Maintenance of intestinal homeostasis suggests dynamic interaction between the host immune system and local microbiota. Impaired immune response, genetic predisposition and changes in microbiota composition lead to chronic gut inflammation, which is the basis for the development of immune pathology accompanying inflammatory bowel disease (IBD). Resident enteric viruses also have immunomodulatory effects in IBD. Toll-like receptors recognizing PAMPs penetrating intestinal barrier are an important component of the inflammatory process in ulcerative colitis (UC). Viral double-stranded RNA is recognized by endosomal *TLR3*. Our goal was to identify the association between alleles, genotypes of the *TLR3* gene and its haplotypes formed with *TLR2* genes, *TLR1*, *TLR6*, and UC in Russian population of the Chelyabinsk Region. The study groups included 96 patients with UC and 86 healthy individuals. DNA was isolated from whole blood using a column method, polymorphic gene regions were amplified using allele-specific PCR and RFLP, amplification products were detected by gel electrophoresis in a 3% agarose with UV-visualization. The SNP 1234C>T (Leu412Phe) of the *TLR3* gene were typed. Linkage disequilibrium parameters were evaluated for the mentioned *TLR3* SNP and other SNPs, i.e., 1805T>G (Ser602Ile) in *TLR1* gene, 2258G>A (Arg753Gln) in *TLR2* gene, 745C>T (Ser249Pro) in *TLR6* gene. The frequency analysis of alleles and genotypes of *TLR3* SNP 1234C>T showed a statistically significant increase of the mutant T allele frequency ($p = 0.019$; OR = 1.72; 95% CI: 1.09-2.71), and higher frequency of homozygous TT genotype among the patients with UC ($p = 0.011$; OR = 4.72; 95% CI: 1.31-17.05). By assessing the parameters of linkage disequilibrium, two haplotypes were discovered that may be predisposition factors for UC, i.e., haplotype 1234*T ~ 2258*A, with linkage of mutant alleles of SNPs 1234C>T *TLR3* and 2258G>A *TLR2* ($p = 0.006$; OR = 12.42; 95% CI: 1.61-95.97), as well as haplotype 1234*T ~ 1805*T, with linkage of the mutant allele of SNP 1234C>T *TLR3* to wild allele of SNP 1805T>G *TLR1* ($p = 0.009$; OR = 2.94; 95% CI: 1.35-6.42).

Keywords: intestinal homeostasis, genetic predisposition, ulcerative colitis, Toll-like receptors, *TLR3* gene polymorphism, single nucleotide polymorphism

Введение

Гомеостаз кишечника поддерживается за счет динамического взаимодействия иммунной системы хозяина и местной микробиоты, которая состоит из бактерий, архей, грибов и вирусов. Соответственно, нарушение равновесия обусловлено не только изменением состава микробиоты, но и гипер- или гипоактивацией иммунного ответа, мутациями в генах иммунной системы. Принято считать, что воспалительным заболеваниям кишечника (ВЗК) характерна сложная этиопатология, в которой участвуют иммунная система, генетическая предрасположенность и микробиота [2].

Первой линией взаимодействия с микробиотой и патоген-ассоциированными молекулярными паттернами (PAMPs) являются Toll-подобные рецепторы (TLR) – трансмембранные белки, расположенные на внешней мембране клеток и на эндосомах.

В желудочно-кишечном тракте TLRs распознают микроорганизмы, проникающие через кишечный барьер, однако сильный сигнал акти-

вации может привести к хроническим воспалительным процессам. Поэтому иммунный ответ, опосредованный данными рецепторами, а также их влияние на восприимчивость к заболеванию является важным объектом исследования при ВЗК [7].

В результате метагеномных исследований было обнаружено, что в здоровом кишечнике обитает множество резидентных вирусов. Резидентные кишечные вирусы могут оказывать не только иммуномодулирующее действие, но и вызывать хронические вирусные инфекции, например герпесвирусы и эндогенные ретровирусы, что также связывают с возникновением и обострением ВЗК [9].

Вирусные PAMPs, а именно двух- и одноцепочечные РНК, распознаются, соответственно, *TLR3* и *TLR7*, расположенными на мембранах эндосом. Сигнальный комплекс «*TLR3* – двухцепочечная РНК (дцРНК)» образован двумя молекулами *TLR3* и одной молекулой дцРНК [5].

В исследовании Yang J.Y. и соавт. на мышинных моделях было показано, что у мышей, получавших противовирусный коктейль, развивается бо-

лее тяжелая форма экспериментального колита, вызванного декстрансульфатом натрия (DSS), по сравнению с мышами, не получавшими коктейль. Когда мышам вводили агонисты *TLR3* или *TLR7*, либо инактивированный ротавирус, симптомы колита значительно улучшались. Мыши с дефицитом как *TLR3*, так и *TLR7* были более восприимчивы к экспериментальному колиту. Также авторы обнаружили, что у людей сочетание генетических вариаций *TLR3* и *TLR7* значительно влияло на тяжесть НЯК. Комбинированные мутации двух генов значительно повлияли на исход заболевания у пациентов с НЯК [9].

Ранее сообщалось, что уровень экспрессии *TLR3* значительно снижен в эпителиоцитах пациентов с активным ВЗК [1]. В другом исследовании экспрессии TLRs в период ремиссии НЯК обнаружено снижение экспрессии *TLR1*, *TLR3*, *TLR6*. А в образцах нормальной слизистой оболочки и активного НЯК экспрессия данных TLR была выше, чем при ремиссии. Авторы предполагают, что НЯК может быть связан со специфическими изменениями в селективной экспрессии TLRs в эпителии кишечника [3].

На активность рецептора влияет не только уровень его экспрессии, но и наличие однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в гене, приводящие к различным изменениям в структуре белка, например в участке связывания с лигандом. Одним из таких вариантов является миссенс-мутация 1234C>T в 4 экзоне гена *TLR3*, которая вызывает изменение кодона аминокислот с лейцина на фенилаланин в положении 412 [5]. Этот SNP не влияет на уровень транскрипции *TLR3*, но снижает способность рецептора присоединяться к дцРНК, что приводит к гипоактивности *TLR3* в организме человека. В данном случае структура белка становится нестабильной, так как эктодомен рецептора *TLR3*, сформированный вариацией Leu412Phe, находится близко к месту гликозилирования (Asn413) и является важной областью димеризации домена на мембране эндосомы [5].

Цель настоящего исследования — выявить ассоциацию аллелей, генотипов гена эндосомального рецептора *TLR3* и его гаплотипов с Toll-подобными рецепторами субсемейства *TLR2* (*TLR1*, *TLR2*, *TLR6*) с неспецифическим язвенным колитом в популяции русских Челябинской области.

Материалы и методы

Для исследования было отобрано 96 лиц с диагностированным неспецифическим язвенным колитом и 86 условно здоровых лиц из числа потенциальных доноров стволовой клетки ГБУЗ «ЧОСПК». Принадлежность обследуемых лиц к

русской этнической группе была подтверждена данными генеалогического анамнеза в трех поколениях.

Материал был получен из цельной крови путем выделения образцов ДНК колоночным методом (Protrans DNA Box 500, ФРГ). Полиморфные участки генов амплифицировались методом аллель специфической ПЦР и ПДРФ (ООО НПФ «Литех», Россия), продукты амплификации детектировались электрофорезом в 3%-ном агарозном геле с УФ-визуализацией. Был протипирован однонуклеотидный полиморфизм (SNP) 1234C>T (Leu412Phe) в гене *TLR3*. Для оценки параметров неравновесного сцепления использовались ранее полученные данные для следующих SNP: 1805T>G (Ser602Ile) в гене *TLR1*, 2258G>A (Arg753Gln) в гене *TLR2*, 745C>T (Ser249Pro) в гене *TLR6*. Частоты встречаемости аллелей, генотипов и гаплотипов сравнивались с использованием критерия Пирсона (χ^2), критерия χ^2 с поправкой Йетса, точного критерия Фишера. Показатели сцепления гаплотипов рассчитывались в программе Arlequin ver. 3.5. По значениям показателя отношения шансов (OR) оценивали силу ассоциаций аллелей, генотипов и гаплотипов с риском развития НЯК. Данные считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$, промежуточные значения $0,05 < p \leq 0,1$ считали тенденцией к различиям, при $p > 0,10$ — незначимыми.

Результаты и обсуждение

В рамках настоящего исследования были оценены частоты встречаемости аллелей и генотипов SNP 1234C>T в гене *TLR3*. Полученные результаты представлены в таблице 1. Из таблицы видно, что в группе больных НЯК частота мутантного аллеля Т в процентном соотношении выше примерно на 10, чем в контрольной группе (36,5% против 25,0%). Различия имеют статистическую значимость ($p = 0,019$; OR = 1,72; 95% ДИ: 1,09-2,71).

В частотах встречаемости генотипов в группе больных НЯК наблюдается повышенная частота гомозиготного генотипа Т/Т, образованного мутантным аллелем. Величина параметра отношения шансов (OR), полученная при сравнении частот генотипов Т/Т против С/С + С/Т, указывает на то, что генотип Т/Т может являться фактором риска развития неспецифического язвенного колита ($p = 0,011$; OR = 4,72; 95% ДИ: 1,31-17,05).

Следующим этапом исследования была оценка параметров неравновесного сцепления и частот двухлокусных гаплотипов, образованных такими SNPs, как 1234C>T *TLR3*, 2258G>A *TLR2*, 745C>T *TLR6*, 1805T>G *TLR1*. Выбор рецепторов и их полиморфизмов для оценки обусловлен

ТАБЛИЦА 1. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ ВСТРЕЧАЕМОСТИ АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ SNPs ГЕНА TLR3 В ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУППАХ

TABLE 1. DISTRIBUTION OF ALLELE AND GENOTYPE FREQUENCIES OF SNPs OF TLR3 GENE IN THE STUDIED GROUPS

Аллели / генотипы Alleles / genotypes	Группа больных НЯК Group of patients with UC	Группа сравнения Control	Сравнение χ^2 , p, OR, 95% ДИ Comparison χ^2 , p, OR, 95% CI
	n = 96 Абс. частота (%) Absolute frequency (%)	n = 86 Абс. частота (%) Absolute frequency (%)	
SNP 1234C>T TLR3			
С	122 (63,5)	129 (75,0)	$\chi^2 = 5,56$ p = 0,019 OR = 1,72 (1,09-2,71)
Т	70 (36,5)	43 (25,0)	
С/С	40 (41,7)	46 (53,5)	$\chi^2 = 2,54$ p = 0,11
С/Т	42 (43,7)	37 (43,0)	$\chi^2 = 0,01$ p = 0,92
Т/Т	14 (14,6)	3 (3,5)	$\chi^2 = 6,59$ p = 0,011 OR = 4,72 (1,31-17,05)

расположением генов указанных TLRs на одной (четвертой) хромосоме. Частоты встречаемости двухлокусных гаплотипов представлены в таблице 2.

Необходимо отметить, что аллели сцеплены в исследуемых группах по разному и не образуют устойчивые гаплотипы. За основу были взяты гаплотипические сочетания, обнаруженные в группе больных НЯК и сравнены с группой контроля. Рассмотрим более подробно каждое из них.

Для пары TLR3(1234C>T)-TLR2(2258G>A) обнаружено два гаплотипа: неравновесное сцепление предковых аллелей 1234*С ~ 2258*G и мутантных аллелей 1234*Т ~ 2258*А. Данные гаплотипические сочетания в группе больных НЯК устойчивые ($D' = 0,4$; $\chi^2 = 6,6$; p = 0,01). При сравнении частот встречаемости указанных гаплотипов в группах больных НЯК и контроля обнаружены статистически значимые различия, однако частоты гаплотипа 1234*С ~ 2258*G, образованного предковыми аллелями, не несут прогностического значения (p = 0,052; OR = 0,651; 95% ДИ: 0,42-1,004). Напротив, гаплотип 1234*Т ~ 2258*А, образованный сцеплением мутантных аллелей, может быть ассоциирован с риском развития НЯК, о чем свидетельствует анализ отношения шансов (p = 0,006; OR = 12,42; 95% ДИ: 1,61-95,97).

Гаплотипы, обнаруженные в паре TLR3(1234C>T)-TLR1(1805T>G), образованы неравновесным сцеплением мутантного аллеля с предковым 1234*Т ~ 1805*Т, и наоборот 1234*С ~ 1805*G. Устойчивость гаплотипических сочетаний в группе больных НЯК была высокая ($D' = 0,38$; $\chi^2 = 16,1$; p = 0,0001). Анализ частот распределения гаплотипов в группах показал, что частоты гаплотипов 1234*Т ~ 1805*Т и 1234*С ~ 1805*G были выше в группе больных НЯК, чем группе сравнения (15% против 6%, 57% против 47% соответственно). Однако для гаплотипа 1234*С ~ 1805*G по данному параметру статистически значимых различий в исследуемых группах не обнаружено ($\chi^2 = 1,34$; p = 0,25). Для гаплотипа 1234*Т ~ 1805*Т были показаны статистически значимые различия в распределении частот в двух группах. Данный гаплотип может быть фактором предрасположенности к неспецифическому язвенному колиту (p = 0,009; OR = 2,94; 95% ДИ: 1,35-6,42).

Обнаруженные гаплотипы для пары TLR3(1234C>T)-TLR6(745C>T) были образованы сцеплением двух предковых 1234*С ~ 745*С и двух мутантных аллелей 1234*Т ~ 745*Т. Данные гаплотипические сочетания были одинаковые для исследуемых групп и в обеих группах демонстрировали устойчивость ($D' = 0,56$; $\chi^2 = 13,3$;

ТАБЛИЦА 2. ЧАСТОТЫ ВСТРЕЧАЕМОСТИ ДВУХЛОКУСНЫХ ГАПЛОТИПОВ В ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУППАХ

TABLE 2. FREQUENCIES OF OCCURRENCE OF BILOCUS HAPLOTYPES IN THE STUDIED GROUPS

Гаплотипы Haplotypes	Частота гаплотипа ± ошибка среднего Haplotype frequency ± standard error		Сравнение χ^2 , p, OR, 95% ДИ Comparison χ^2 , p, OR, 95% CI
	Группа больных НЯК Group of patients with UC n = 96	Группа сравнения Control n = 86	
<i>TLR3 ~ TLR2</i>			
1234*С ~ 2258*G	0,590±0,036	0,690±0,035	$\chi^2 = 3,79$ p = 0,052 OR = 0,651 (0,420-1,004)
1234*Т ~ 2258*А	0,070±0,018	0,006±0,006	$\chi^2 = 7,80$ p = 0,006 OR = 12,42 (1,61-95,97)
<i>TLR3 ~ TLR6</i>			
1234*С ~ 745*С	0,380±0,037	0,370±0,035	$\chi^2 = 0,07$ p = 0,79
1234*Т ~ 745*Т	0,200±0,031	0,260±0,032	$\chi^2 = 1,64$ p = 0,20
<i>TLR3 ~ TLR1</i>			
1234*Т ~ 1805*Т	0,150±0,026	0,060±0,019	$\chi^2 = 6,96$ p = 0,009 OR = 2,94 (1,35-6,42)
1234*С ~ 1805*G	0,570±0,036	0,47±0,04	$\chi^2 = 1,34$ p = 0,25

p = 0,0003 для группы больных НЯК; D' = 0,39; $\chi^2 = 14,8$; p = 0,0001 для контрольной группы). Но частоты данных двухлокусных гаплотипов в исследуемых группах мало отличались в процентном соотношении и не имели статистически значимых различий ($\chi^2 = 0,07$; p = 0,79 для гаплотипа 1234*С ~ 745*С; $\chi^2 = 1,64$; p = 0,20 для гаплотипа 1234*Т ~ 745*Т). Таким образом, двухлокусные гаплотипы, образованные SNPs 1234С>Т(*TLR3*) и 745С>Т(*TLR6*), не могут быть факторами предрасположенности к НЯК в наших исследуемых группах.

Заключение

Представленные результаты являются предварительными данными исследования, посвященного ассоциации генетических комбинаций генов системы TLRs с неспецифическим язвенным колитом. Обычно объектами таких исследований являются TLRs, расположенные на наружных мембранах клеток и распознающие микробные PAMPs – липопроtein, пептидогликаны, липополисахариды (*TLR1*, *TLR2*, *TLR4*, *TLR6*) [4, 6]. Для некоторых SNPs в их генах обнаружена связь с риском развития НЯК [7, 8].

Исследований, изучающих ассоциацию однонуклеотидных полиморфизмов в генах *TLR3*, *TLR7*, *TLR8* с ВЗК немного, что связано с эндосомальным расположением и лигандами этих рецепторов (дцРНК и оцРНК вирусов). Однако в кишечнике обнаружено большое количество резидентных вирусов, которые обладают иммуномодулирующим действием и могут участвовать в развитии патологического процесса при ВЗК [9].

Именно поэтому в своей работе мы оценивали частоты распределения аллелей и генотипов SNP 1234С>Т в гене *TLR3*, а также частоты гаплотипов, образованных с TLRs субсемейства *TLR2* (*TLR1*, *TLR2*, *TLR6*), гены которых расположены на одной с *TLR3* хромосоме. В нашей работе наличие мутантного аллеля Т и гомозиготного генотипа ТТ в гене *TLR3* были ассоциированы с предрасположенностью к неспецифическому язвенному колиту. Также гаплотипы 1234*Т ~ 2258*А (*TLR3 ~ TLR2*) и 1234*Т ~ 1805*Т (*TLR3 ~ TLR1*) были связаны с риском развития данного заболевания в популяции русских Челябинской области.

Список литературы / References

1. Cario E., Podolsky D.K. Differential alteration in intestinal epithelial cell expression of toll-like receptor 3 (TLR3) and TLR4 in inflammatory bowel disease. *Infect. Immun.*, 2000, Vol. 68, no. 12, pp. 7010-7017.
2. Carriere J., Darfeuille-Michaud A., Nguyen H.T. Infectious etiopathogenesis of Crohn's disease. *World J. Gastroenterol.*, 2014, Vol. 20, no. 34, pp. 12102-12117.
3. Fenton C.G., Taman H., Florholmen J., Sørbye S.W., Paulssen R.H. Transcriptional signatures that define ulcerative colitis in remission. *Inflamm. Bowel Dis.*, 2021, Vol. 27, no. 1, pp. 94-105.
4. Pierik M., Joossens S., van Steen K., van Schuerbeek N., Vlietinck R., Rutgeerts P., Vermeire S. Toll-Like receptor-1, -2, and -6 polymorphisms influence disease extension in inflammatory bowel diseases. *Inflamm. Bowel Dis.*, 2006, Vol. 12, pp. 1-8.
5. Silva M.J.A., Silva C.S., da Silva Vieira M.C., dos Santos P.A.S., Frota C.C., Lima K.V.B., Lima L.N.G.C. The relationship between *TLR3* rs3775291 polymorphism and infectious diseases: a meta-analysis of case-control studies. *Genes*, 2023, Vol. 14, 1311. doi: 10.3390/genes14071311.
6. Tan Y., Zou Kf., Qian W., Chen S., Hou Xh. Expression and implication of toll-like receptors *TLR2*, *TLR4* and *TLR9* in colonic mucosa of patients with ulcerative colitis. *J. Huazhong Univ. Sci. Technol. (Med. Sci.)*, 2014, Vol. 34, pp. 785-790.
7. Török H.P., Bellon V., Konrad A., Lacher M., Tonenchi L., Siebeck M., Brand S., de Toni E. Functional Toll-Like Receptor (TLR)2 polymorphisms in the susceptibility to inflammatory bowel disease. *PLoS One*, 2017, Vol. 12, no. 4, e0175180. doi: 10.1371/journal.pone.0175180.
8. Wang H., Zhou S., Zhang J., Lei S., Zhou J. Correlations between TLR polymorphisms and inflammatory bowel disease: a meta-analysis of 49 case-control studies. *Immunol. Res.*, 2019, Vol. 67, pp. 142-150.
9. Yang J.Y., Kim M.S., Kim E., Cheon J.H., Lee Y.S., Kim Y., Lee S.H., Seo S.U., Shin S.H., Choi S.S., Kim B., Chang S.Y., Ko H.J., Bae J.W., Kweon M.N. Enteric viruses ameliorate gut inflammation via Toll-like receptor 3 and Toll-like receptor 7-mediated interferon- β production. *Immunity*, 2016, Vol. 44, no. 4, pp. 889-900.

Авторы:

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

Сташкевич Д.С. — к.б.н., доцент, декан биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

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

Authors:

Abubakirova E.A., Postgraduate Student, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Biological Faculty, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Stashkevich D.S., PhD (Biology), Associate Professor, Dean, Biological Faculty, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Evdokimov A.V., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Biological Faculty, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Поступила 15.05.2024
Принята к печати 31.07.2024

Received 15.05.2024
Accepted 31.07.2024

ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЦИТОКИНЫ, ХЕМОКИН CXCL17 И БЕЛКИ ТЕПЛООВОГО ШОКА ПРИ ОСТЕОАРТРИТЕ КОЛЕННОГО СУСТАВА

Плехова Н.Г., Кабалык М.А., Просекова Е.В., Шуматов В.Б.

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

Резюме. Распространенное многофакторное заболевание опорно-двигательного аппарата остеоартрит (ОА) относится к ведущей причине инвалидности населения. Одним из наиболее важных факторов его патогенеза является нарушение баланса цитокинов в сторону провоспалительных, повышение уровня которых приводит к дисфункции клеток хрящевой ткани с ее повреждением.

Цель исследования – изучение диагностической значимости показателей содержания наиболее важных цитокинов и хемокинов, участвующих в патогенезе ОА.

В исследовании принимало участие 50 пациентов, находящихся на стационарном лечении в КГБУЗ «Госпиталь для ветеранов войн» (г. Владивосток) с установленным диагнозом «ОА коленных суставов». В качестве медиаторов принимающих участие в развитии воспаления, проанализировано содержание методом ELISA в сыворотке крови больных интерлейкинов IL-1 β , IL-6, хемокина CXCL17, фактора некроза опухоли TNF α и белков теплового шока HSP27, HSP70.

Показано, что уровни интерлейкинов IL-1 β и IL-6, TNF α и CXCL17 у больных ОА превышали показатели для здоровых лиц. Показатели содержания цитокинов IL-1 β , IL-6, хемокина CXCL17 и TNF α в сыворотке крови больных ОА составили 7,4 (6,4-8,9), 33,7 (26,5-68,4); 33,8 (29,8-61,0) и 6,5 (4,94-8,59) пг/мл, соответственно, что достоверно превышало значения для здоровых лиц (1,3 (1,2-1,4), 5,8 (4,2-6,3), 24,9 (19,1-29,9) и 2,7 (2,1-3,1) пг/мл, $p < 0,05$). У больных ОА концентрация TNF α имела прямую связь с показателем хемокина CXCL17 ($r = 0,83$, $p < 0,05$). Концентрации белков теплового шока HSP27, HSP70 и их соотношение были достоверно ниже у больных ОА по сравнению с контрольной группой (соответственно: $z = -3,06$, $p = 0,002$; $z = -4,41$, $p = 0,00001$; $z = -2,05$, $p = 0,04$), что позволяет судить о толерантности хондроцитов к влиянию цитокинов. При этом концентрация HSP70 снижалась по мере прогрессирования заболевания, тогда как уровень HSP27 значимо не изменялся. Таким образом, определение уровня системных межклеточных медиаторов позволяет использование этих показателей в качестве потенциальных биохимических маркеров для прогнозирования тяжести заболевания и оценки их фундаментальной роли в патогенезе ОА коленного сустава.

Ключевые слова: остеоартрит, иммунитет, медиаторы воспаления, цитокины, хемокины, белки теплового шока

Адрес для переписки:

Плехова Наталья Геннадьевна
ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
690002, Россия, г. Владивосток, пр. Острякова, 2.
Тел.: 8 (914) 672-69-53.
E-mail: pl_nat@hotmail.com

Address for correspondence:

Natalia G. Plekhova
Pacific State Medical University
2 Ostryakov Ave
Vladivostok
690002 Russian Federation
Phone: +7 (914) 672-69-53.
E-mail: pl_nat@hotmail.com

Образец цитирования:

Н.Г. Плехова, М.А. Кабалык, Е.В. Просекова,
В.Б. Шуматов «Провоспалительные цитокины,
хемокин CXCL17 и белки теплового шока при
остеоартрите коленного сустава» // Российский
иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 1. С. 129-134.
doi: 10.46235/1028-7221-16975-PCC

© Плехова Н.Г. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

N.G. Plekhova, M.A. Kabalyk, E.V. Prosekova,
V.B. Shumatov "Proinflammatory cytokines, chemokine
CXCL17 and heat shock proteins in osteoarthritis of
the knee joint", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 1, pp. 129-134.
doi: 10.46235/1028-7221-16975-PCC

© Plekhova N.G. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16975-PCC

PROINFLAMMATORY CYTOKINES, CHEMOKINE CXCL17 AND HEAT SHOCK PROTEINS IN OSTEOARTHRITIS OF THE KNEE JOINT

Plekhova N.G., Kabalyk M.A., Prosekova E.V., Shumatov V.B.

Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. Osteoarthritis (OA), a common multifactorial disease of musculoskeletal system, is one of the leading causes of disability in the population. One of the most important pathogenetic factors of OA is a shift of cytokine profile towards pro-inflammatory state. Their increased levels lead to dysfunction of cartilage tissue cells with its damage. Purpose of the present study was to evaluate diagnostic significance of the most important cytokine and chemokine levels involved in pathogenesis of OA.

The study involved 50 patients undergoing inpatient treatment at the "Hospital for War Veterans" (Vladivostok) with an established OA of the knee joints. The following mediators involved in the development of inflammation have been determined: interleukins IL-1 β , IL-6, chemokine CXCL17, tumor necrosis factor TNF α and heat shock proteins HSP27, HSP70 in blood serum of patients being analyzed by ELISA test systems. It has been shown that the levels of interleukins IL-1 β and IL-6, TNF α and CXCL17 in patients with OA exceeded those for healthy individuals. The levels of cytokines IL-1 β , IL-6, chemokine CXCL17 and TNF α in blood serum of OA patients were 7.4 (6.4-8.9), 33.7 (26.5-68.4); 33.8 (29.8-61.0) and 6.5 (4.94-8.59) pg/mL, respectively, thus significantly exceeding the values for healthy persons (1.3 (1.2-1.4), 5.8 (4.2-6.3), 24.9 (19, 1-29.9) and 2.7 (2.1-3.1) pg/mL, $p < 0.05$). In OA patients, the concentration of TNF α had a direct relationship with the chemokine CXCL17 ($r = 0.83$, $p < 0.05$). The concentrations of heat shock proteins HSP27, HSP70 and their ratio were significantly lower in patients with OA compared to the control group (respectively: $z = -3.06$, $p = 0.002$; $z = -4.41$, $p = 0.00001$; $z = -2.05$, $p = 0.04$), thus allowing us to suggest the tolerance of chondrocytes to the influence of cytokines. At the same time, the concentration of HSP70 decreased as the disease progressed, while the level of HSP27 did not change significantly. Thus, determining the level of systemic intercellular mediators enables usage of these indexes as potential biochemical markers for predicting severity of the disease and assessing their fundamental role in pathogenesis of knee OA.

Keywords: osteoarthritis, immunity, inflammatory mediators, cytokines, chemokines, heat shock proteins

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации согласно государственному заданию № 056-00055-24-00 «Структурные и клеточно-молекулярные механизмы возрастного ремоделирования соединительной ткани при заболеваниях опорно-двигательного аппарата».

Введение

Распространенное заболевание опорно-двигательного аппарата остеоартрит (ОА) относится к ведущей причине инвалидности населения. Это многофакторное заболевание со сложным патогенезом поражает преимущественно коленный сустав (около 16%), чаще женщин, и его распространенность связана с высокими показателями ожирения и средней продолжительности жизни [6]. Одним из наиболее важных факторов патогенеза ОА является нарушение баланса цитокинов в сторону провоспалительных, повышение уровня которых приводит к дисфункции клеток хрящевой ткани с ее повреждением, а также других внутрисуставных структур за счет активации катаболических ферментов (матриксные металлопротеиназы и дезинтегрин-подобная металлопротеиназа с тромбоспондиновым мотивом,

ММП и ADAMTS) [8]. Показано, что наиболее важными медиаторами воспаления в патогенезе ОА являются интерлейкины IL-1 β и IL-6, фактор некроза опухоли (TNF α) и хемокины. Последние индуцируют появление в синовиальной жидкости сустава иммунных клеток с преобладанием тканевых макрофагов синовиальной оболочки и субхондральной кости и Т-лимфоцитов, что в дальнейшем способствует секреции воспалительных факторов и прогрессированию заболевания [10]. Так, хемокин CXCL17 индуцирует активность макрофагов и ферментов ММП при ингибирующем воздействии на синтез коллагена, что позволяет предположить его участие в иммунных механизмах остеоартрита и сосудистого ремоделирования [10].

Активация клеток при воздействии IL-1 β опосредуется через специфический рецептор первого типа (IL-1RI), экспрессия которого повышается на хондроцитах и синовиальных фибробластах при ОА [1, 12]. TNF α связывается с двумя специфическими рецепторами на клеточной мембране TNFR1 (или p55) и TNFR2 (или p75) на этих клетках, и их экспрессия также повышается при ОА [2]. Указывается, что доминантным рецептором на клетках суставной ткани, ответственным за опосредованное действие цитокинов, является

TNFR1, но и рецептор TNFR2 также принимает участие в сигнальной трансдукции, что связано с различными внутриклеточными каскадами белков [8]. Природная толерантность хондроцитов к действию провоспалительных цитокинов опосредуется системой шаперонов (белки теплового шока, HSP). Так, низкомолекулярный шаперон с молекулярной массой 27 кДа (HSP27) действует как антиоксидант и играет роль в ингибировании апоптоза, тогда как высокомолекулярный HSP70 активируется под влиянием цитокинов и, напротив, запускает апоптоз клеток [7]. Несмотря на приведенные литературные данные, вопрос об участии межмолекулярных посредников в развертывании иммунного ответа при ОА остается открытым. **Цель нашего исследования** состояла в изучении диагностической значимости показателей содержания наиболее важных цитокинов и хемокинов, участвующих в патогенезе ОА.

Материалы и методы

Исследовали 50 пациентов, находящихся на стационарном лечении в КГБУЗ «Госпиталь для ветеранов войн» (г. Владивосток). Диагноз «ОА коленных суставов» устанавливали на основании классификационных критериев ACR (American College of Rheumatology) в соответствии с «Клиническими рекомендациями по диагностике и лечению остеоартрита» ассоциации ревматологов России Российского научного медицинского общества терапевтов. Группу сравнения составили лица без ОА, сопоставимые по полу и возрасту основной группы. Критерии включения в исследование: диагноз «ОА», соответствующий критериям ACR, мужчины и женщины в возрасте от 45 до 80 лет. Критерии исключения из исследования: отсутствие информированного согласия пациента, травмы суставов и/или длительная иммобилизация в период 24 месяца до включения в исследование, переломы мыщелков бедренных и проксимального отдела большеберцовых костей любой давности, системные заболевания соединительной ткани, сахарный диабет 1-го типа, микрокристаллические артропатии, онкологические заболевания, соматические заболевания в стадии декомпенсации, наличие противопоказаний к диагностическим процедурам, предусмотренным протоколом данного исследования. Все участники, включенные в исследование, проведенное в соответствии с этическими принципами Хельсинкской декларации и одобренным Междисциплинарным комитетом по этике ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава (протокол № 2 от 12.11.2023 г.), подписали форму информированного согласия. Рентгенологическую стадию оценивали согласно классификации Kellgren: у 14 (27,3%) больных была I, у 26 (51,5%) – II и у 10 (21,2%) – III стадия ОА.

Образцы крови (5 мл) собирали в контролируемых условиях (без голодания, с 8 до 9 утра), по-

сле центрифугирования (3000 × g об/мин, 10 мин) аликвоты сывороток удаляли и хранили при -20°C до начала анализа. Образцы сыворотки идентифицировались случайными числами, а демографические и клинические данные сопоставлялись с одним и тем же идентификационным номером. Перед анализом образцы сыворотки оттаивали при комнатной температуре и медленно перемешивали. Концентрацию IL-1 β , IL-6, CXCL17 и TNF α в сыворотке измеряли с помощью сэндвич-ферментного иммуноферментного анализа (высокочувствительные наборы ELISA для определения IL-1 β , IL-6, TNF, Chemokine (C-X-C Motif) Ligand 17 человека Cloud-Clone Corp., США) и белки теплового шока HSP27 и HSP70 (ELISA, SunLong Biotech Co., LTD, КНР). Анализы проводились согласно инструкциям производителя. В соответствии с этим стандартная кривая для каждого биомаркера была построена на основе средней абсорбции конкретных стандартных разведений, выполненных в двух экземплярах, и их соответствующих концентраций. Поглощение при длине волны 450 нм определяли с помощью микропланшетного ридера (анализатор iMark, Bio-Rad, США). Концентрации белков считывали по стандартным кривым, средние коэффициенты вариации внутри и между анализами составляли < 10% для всех биомаркеров.

Анализ данных проводили с использованием Statistica версии 14.0. (TIBCO Software Inc., США). Категориальные данные сравнивались с критерием χ -квадрат Пирсона. Нормальность количественных данных проверялась с помощью теста Колмогорова–Смирнова, который показал, что распределение не было нормальным. Количественные данные представлены в виде медианы и диапазона. U-критерий Манна–Уитни и тесты ANOVA Краскела–Уоллиса использовались для проверки различий между количественными переменными. После ANOVA мы использовали апостериорный тест Шеффе. значения p ниже 0,05 считались статистически значимыми.

Результаты и обсуждение

Всего было обследовано 50 пациентов в возрасте от 52 до 78 лет (в среднем 63 года), большинство составляли женщины (74%), и в целом все участники имели слегка избыточный вес (ИМТ 27,0 кг/м²), боль в коленях преобладала у 45% испытуемых. Показатели содержания цитокинов IL-1 β , IL-6, хемокина CXCL17 и TNF α в сыворотке крови больных ОА составили 7,4 (6,4–8,9), 33,7 (26,5–68,4), 33,8 (29,8–61,0) и 6,5 (4,94–8,59) пг/мл соответственно, что достоверно превышало значения для здоровых лиц (1,3 (1,2–1,4), 5,8 (4,2–6,3), 24,9 (19,1–29,9) и 2,7 (2,1–3,1) пг/мл) (рис. 1, p < 0,05). Не было выявлено существенных различий между субъектами с высоким (\geq медианным) и низким (< медиан-

ным) уровнем IL-6 с точки зрения пола, ИМТ, курения, статуса заболевания. Пациенты с высоким уровнем IL-6 (\geq медиана) были старше и имели более высокие уровни TNF α . Согласно рентгенологическому обследованию, пациенты были разделены на три группы в зависимости от стадии заболевания. Как показано на рисунке 1, содержание IL-1 β , TNF α и хемокина CXCL17 у больных ОА на различных стадиях достоверно не отличалось. Тогда как количество IL-6 у пациентов при I и II стадиях превышало показатели при III и составило 36,3 (35,4-40,4), 33,6 (31,9-35,4) и 30,1 (26,6-31,2) соответственно ($p < 0,05$). У больных ОА концентрация TNF α имела прямую связь с показателем хемокина CXCL17 ($r = 0,83$, $p < 0,05$), что свидетельствует о взаимосвязях молекул, опосредованных этим медиатором и продукцией цитокинов тканевыми макрофагами при воспалении.

Концентрации белков теплового шока HSP27, HSP70 и их соотношение были достоверно ниже у больных ОА по сравнению с контрольной группой (соответственно: $z = -3,06$, $p = 0,002$; $z = -4,41$, $p = 0,00001$; $z = -2,05$, $p = 0,04$), что позволяет судить о толерантности рентгенологических проявлений ОА содержание HSP27 достоверно не изменялось ($p > 0,05$), но отмечалось

показателя соотношения уровней HSP27/HSP70 перемещение в его сторону (табл. 1, $p < 0,05$). Корреляционный анализ показал, что у больных с I стадией концентрация HSP27 и HSP70 была прямо связана с показателями содержания TNF α ($R = 0,45$, $p < 0,05$ и $R = 0,34$, $p < 0,05$ соответственно) и хемокина CXCL17 ($R = 0,34$, $p < 0,05$ и $R = 0,58$, $p < 0,05$). Также в прямой корреляции находились значения концентрации TNF α и CXCL17 ($R = 0,68$, $p < 0,05$). При II стадии ОА уровень HSP70 был достоверно связан с концентрацией TNF α ($R = -0,32$, $p < 0,05$), а содержание последнего коррелировало с CXCL17 ($R = 0,78$, $p < 0,05$). При III стадии достоверная прямая связь обнаруживалась между уровнями белков теплового шока и TNF α и CXCL17 ($R = 0,71$, $p < 0,05$; $R = 0,36$, $p < 0,05$ соответственно), последние также имели прямую связь между собой ($R = 0,49$, $p < 0,05$).

Цитокины и хемокины являются важными факторами, участвующими в регуляции гомеостаза и развития тканей, а также патогенеза различных процессов, таких как воспаление, фиброз и новообразования. Показано, что данные о содержании провоспалительных цитокинов и хемокинов в сыворотке крови могут служить прогностическими индикаторами и факторами

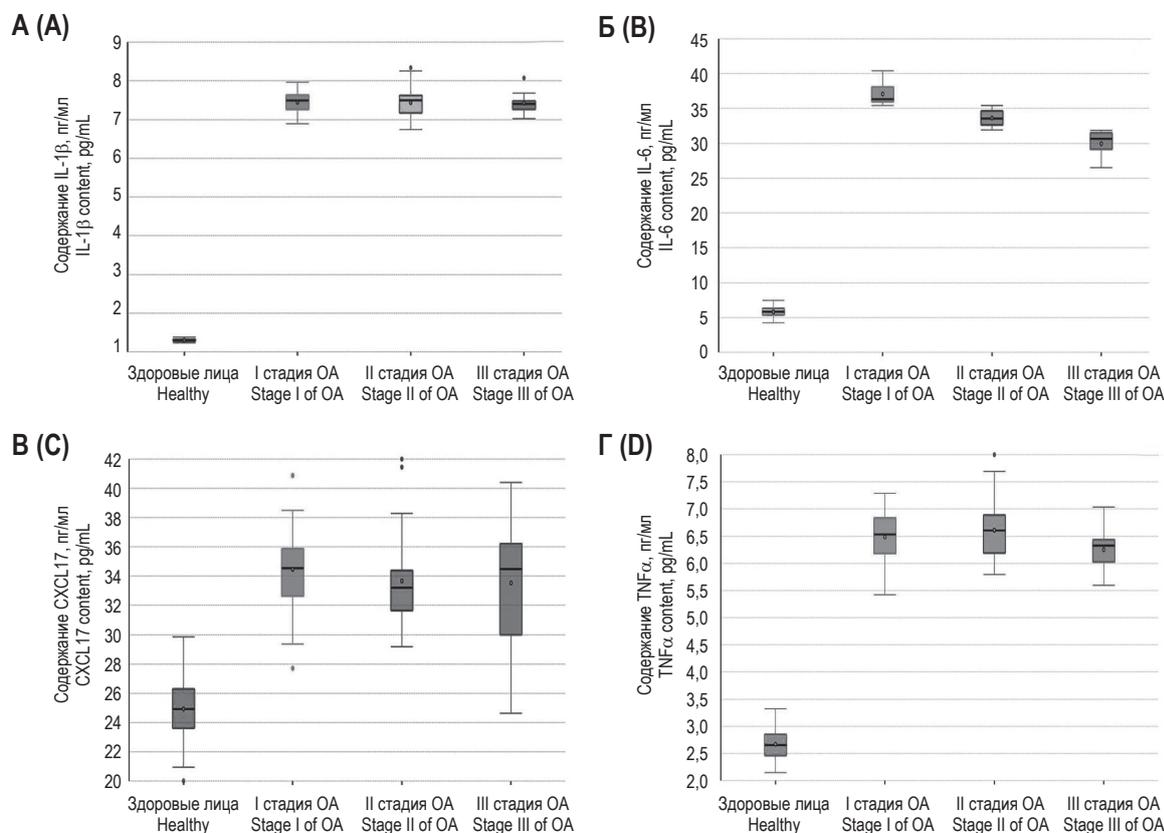


Рисунок 1. Содержание интерлейкинов IL-1 β (А), IL-6 (Б), хемокина CXCL17 (В) и фактора некроза опухоли TNF α (Г) в сыворотке крови

Figure 1. Content of interleukins IL-1 β (A), IL-6 (B), chemokine CXCL17 (C) and tumor necrosis factor TNF α (D) in blood serum

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКОВ ТЕПЛООВОГО ШОКА HSP27 И HSP70 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

TABLE 1. CONTENT OF HEAT SHOCK PROTEINS HSP27 AND HSP70 IN BLOOD SERUM, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Показатель Indicator	Здоровые лица Volunteers (n = 30)	Стадия остеоартрита Stage of osteoarthritis		
		I (n = 12)	II (n = 30)	III (n = 10)
HSP70, пг/мл HSP70, pg/mL	3,9 (3,2-4,8)	3,7 (1,5-4,9)	2,2 (1,2-2,7)* Z = 2,08; p = 0,04	1,8 (0,8-3,8)*
HSP27, пг/мл HSP27, pg/mL	1,6 (0,7-4,1)	0,3 (0,3-0,7)	0,4 (0,3-0,5)	0,3 (0,2-0,4)
HSP70/HSP27	2,7 (1,43-5,40)	5,3 (4,7-14,9)	4,9 (3,3-6,2)	4,3 (1,9-9,2)*

Примечание. * – статистически значимые различия с I стадией по критерию Манна–Уитни, $p < 0,05$.

Note. *, statistically significant differences with stage I according to the Mann–Whitney test, $p < 0.05$.

скрининга в патогенезе заболеваний костной системы [15]. Из провоспалительных цитокинов, участвующих в развитии ОА, IL-1 β и TNF α играют основную роль, так как первый связан с разрушением хряща, а второй с запуском воспалительного каскада [2, 10]. Эти медиаторы продуцируются хондроцитами, мононуклеарными клетками, остеобластами и синовиальными тканями, в дальнейшем, индуцируют выработку ряда воспалительных и катаболических факторов и могут действовать независимо или совместно с другими цитокинами.

В настоящем исследовании, в качестве медиаторов, принимающих участие в развитии воспаления, проанализировано содержание в сыворотке крови больных остеоартритом (ОА) наиболее важных индикаторов, а именно IL-1 β , IL-6, хемокина CXCL17, фактора некроза TNF α и белков теплового шока HSP27, HSP70. Показано, что уровни интерлейкинов IL-1 β и IL-6 и TNF α у больных ОА существенно превышали показатели для здоровых лиц. Эти данные согласуются с исследованием Гоekoop и соавт., где изучалась связь между содержанием цитокинов и наличием ОА [5]. Было установлено, что у лиц пожилого возраста при низкой врожденной продукции IL-1RA и IL-6 отсутствует это заболевание. В отношении IL-6 показано, что его высокий уровень в сыворотке связан с продукцией мононуклеарными клетками периферической крови и определяется при повышенном риске потери хряща в коленном суставе [9]. Причем в процессе развития ОА продукция различных воспалительных цитокинов может варьировать в зависимости от длительности и тяжести заболевания [13, 14]. В свою очередь, медиатор CXCL17 известен как корегулируемый фактором роста эндотелия сосудов хемокин (VCC-1) и хемокиноподобный белок, привлекающий дендритные клетки и моноциты (DMC). Его опосредованное воздействие через рецептор запускает внутриклеточную сигнализацию через различные пути, в том числе циклический аденозинмонофосфат, ERK1/2 и др., инициируя тем самым воспаление [3]. Нами продемонстрировано повышение уровня

CXCL17 у больных ОА и его корреляция с показателями содержания интерлейкинов и TNF α . Выявленные нами тенденции вполне закономерны, если принять во внимание известные данные, что продукция CXCL17 клетками активируется при воздействии IL-1 β и TNF α [4].

Согласно полученным нами данным, по сравнению с показателями здоровых лиц у больных ОА наблюдаются значимо низкие уровни белков теплового шока HSP27 и HSP70. При этом концентрация HSP70 имеет тенденцию к снижению по мере прогрессирования заболевания, тогда как уровень HSP27 значимо не меняется, оставаясь достоверно ниже контроля. Эти данные указывают на отсутствие синергичной активации этих белков в ответ на воспаление, что согласуется с данными других исследователей, которые показали, что уровень циркулирующего и синовиального HSP70 положительно коррелирует с показателями рентгена, на основании которых оценивалась степень тяжести ОА коленного сустава [11, 14]. Роль малых белков теплового шока, к которым относится HSP27, изучена недостаточно, однако известно, что снижение его уровня в суставных тканях при ОА сопровождается снижением их толерантности к провоспалительным цитокинам, главным образом, TNF α и IL-6 [13]. Согласно нашим данным, значительное снижение соотношения HSP70/HSP27 в сторону антиапоптотических значений дает возможность высказать предположение, что при ОА указанные белки демонстрируют двойной эффект: с одной стороны, способность снижать иммунологическую активности за счет уменьшения содержания HSP70, а с другой – уменьшать их проапоптотическое действие.

Заключение

Определение уровня системных межклеточных медиаторов позволяет использовать эти показатели в качестве потенциальных биохимических маркеров для прогнозирования тяжести заболевания и оценки их фундаментальной роли в патогенезе ОА коленного сустава.

Список литературы / References

1. Кабалык М.А. Биомаркеры и участники ремоделирования субхондральной кости при остеоартрозе // Тихоокеанский медицинский журнал, 2017. Т. 1. С. 36-41. [Kabalyyk M.A. Biomarkers of subchondral bone remodeling in osteoarthritis. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2017, Vol. 1, pp. 36-41.
2. Grassel S., Zaucke F., Madry H. Osteoarthritis: novel molecular mechanisms increase our understanding of the disease pathology. *J. Clin. Med.*, 2021, Vol. 10, no. 9, 1938. doi: 10.3390/jcm10091938.
3. Giblin S.P., Ranawana S., Hassibi S., Birchenough H.L., Mincham K.T., Snelgrove R.J., Tsuchiya T., Kanegasaki S., Dyer D., Pease J.E. CXCL17 binds efficaciously to glycosaminoglycans with the potential to modulate chemokine signaling. *Front. Immunol.*, 2023, Vol. 14, 1254697. doi: 10.3389/fimmu.2023.1254697.
4. Gowhari Shabgah A., Jadidi-Niaragh F., Ebrahimpzadeh F., Mohammadi H., Askari E., Pahlavani N., Malekhamadi M., Nik M.E., Navashenaq J.G. A comprehensive review of chemokine CXC17 (VCC1) in cancer, infection, and inflammation. *Cell. Biol. Int.*, 2022, Vol. 46, no 10, pp. 1557-1570.
5. Goekoop R.J., Kloppenburg M., Kroon H.M., Frölich M., Huizinga T.W., Westendorp R.G., Gussekloo J. Low innate production of interleukin-1beta and interleukin-6 is associated with the absence of osteoarthritis in old age. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, Vol. 18, no 7, pp. 942-947.
6. Ishimoto R., Mutsuzaki H., Shimizu Y., Yoshikawa K., Koseki K., Takeuchi R., Matsumoto S., Hada Y. Association between obesity and short-term patient-reported outcomes following total knee arthroplasty: a retrospective cohort study in Japan. *J. Clin. Med.*, 2024, Vol. 13, no. 5, 1291. doi: 10.3390/jcm13051291.
7. Kaufman J., Caric D., Vukojevic K. Expression pattern of Syndecan-1 and HSP-70 in hip tissue of patients with osteoarthritis. *J. Orthop.*, 2019, Vol. 17, pp. 134-138.
8. Kapoor M., Martel-Pelletier J., Lajeunesse D., Pelletier J.P., Fahmi H. Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2011, Vol. 7, no 1, pp. 33-42.
9. Liao Y., Ren Y., Luo X., Mirando A.J., Long J.T., Leinroth A., Ji R.R., Hilton M.J. Interleukin-6 signaling mediates cartilage degradation and pain in posttraumatic osteoarthritis in a sex-specific manner. *Sci. Signal.*, 2022, Vol. 15, no. 744, eabn7082. doi: 10.1126/scisignal.abn7082.
10. Molnar V., Matišić V., Kodvanj I., Bjelica R., Jeleč Ž., Hudetz D., Rod E., Čukelj F., Vrdoljak T., Vidović D., Starešinić M., Sabalić S., Dobričić B., Petrović T., Antičević D., Borić I., Košir R., Zmrzljak U.P., Primorac D. Cytokines and chemokines involved in osteoarthritis pathogenesis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, Vol. 22, no. 17, 9208. doi: 10.3390/ijms22179208.
11. Ngarmukos S., Scaramuzza S., Theerawattanapong N., Tanavalee A., Honsawek S. Circulating and synovial fluid Heat Shock Protein 70 are correlated with severity in knee osteoarthritis. *Cartilage*, 2020, Vol. 11, no. 3, pp. 323-328.
12. Tan S., Fang W., Vangness C.T. Jr., Han B. Influence of cellular microenvironment on human articular chondrocyte cell signaling. *Cartilage*, 2021, Vol. 13, no. 2_suppl, pp. 935S-946S.
13. Teunis T., Beekhuizen M., Van Osch G.V., Schuurman A.H., Creemers L.B., van Minnen L.P. Soluble mediators in posttraumatic wrist and primary knee osteoarthritis. *Arch. Bone Jt Surg.*, 2014, Vol. 2, no. 3, pp. 146-150.
14. Vangness C.T., Burke W.S., Narvy W.S., MacPhee R.D., Fedenko A.N. Human knee synovial fluid cytokines correlated with grade of knee osteoarthritis – A pilot study. *Bull. NYU Hosp. Jt Dis.*, 2011, Vol. 69, pp. 122-127.
15. Zhang J., Li K., Qiu X. Exploring causal correlations between inflammatory cytokines and knee osteoarthritis: a two-sample Mendelian randomization. *Front. Immunol.*, 2024, Vol. 18, no. 15, 1362012. doi: 10.3389/fimmu.2024.1362012.

Авторы:

Плехова Н.Г. — д.б.н., доцент, заведующая Междисциплинарным научно-исследовательским центром ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Кабалык М.А. — к.м.н., доцент, ведущий научный сотрудник Междисциплинарного научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Просекова Е.В. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

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

Authors:

Plekhova N.G., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Head, Interdisciplinary Research Center, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Kabalyyk M.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Leading Research Associate, Interdisciplinary Research Center, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Prosekova E.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, General and Clinical Immunology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

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

Поступила 13.05.2024
Принята к печати 31.07.2024

Received 13.05.2024
Accepted 31.07.2024

УРОВЕНЬ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ЦИТОКИНОВ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПЕЧЕНИ ПРИ РАЗНЫХ СТАДИЯХ ФИБРОЗА

Курбатова О.В.¹, Петричук С.В.¹, Купцова Д.Г.¹, Радыгина Т.В.¹,
Козлова Д.И.^{2,3}, Хижа В.В.², Мовсисян Г.Б.¹, Парахина Д.В.¹,
Комарова А.Д.¹, Семикина Е.Л.^{1,4}, Потапов А.С.^{1,4}, Фисенко А.П.¹

¹ ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

² ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова Российской академии наук», Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБУЗ «Санкт-Петербургская клиническая больница Российской академии наук», Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

Резюме. Заболевания печени являются причиной смертей примерно 2 миллионов человек в год во всем мире, при этом цирроз печени составляет 2,1% от этого количества. Баланс цитокинов и хемокинов определяет исход иммунного ответа. В прогрессировании и контроле различных заболеваний печени посредством регуляции клеточной активности участвуют многие цитокины.

Цель работы — оценить уровень циркулирующих цитокинов и хемокинов в зависимости от стадии фиброза у детей с хроническими заболеваниями печени.

Был обследован 51 ребенок с хроническими заболеваниями печени (32 ребенка с аутоиммунным гепатитом, 12 детей с болезнью Вильсона, 5 детей с болезнью Гоше и 2 ребенка с гликогеновой болезнью). Всем детям была проведена оценка стадии фиброза печени (ФП) по шкале METAVIR (FibroScan F502). Содержание циркулирующих цитокинов, хемокинов, факторов роста и ангиогенеза определяли иммуноферментным анализом MILLIPLEX® Human Cytokine/Chemokine/Growth Factor Panel A Magnetic Bead Panel, на основе технологии Luminex®. Статистические расчеты проводили с использованием программы Statistica 10.0.

Адрес для переписки:

Курбатова Ольга Владимировна
ФГАУ «Национальный медицинский
исследовательский центр здоровья детей»
Министерства здравоохранения РФ
119991, Россия, Москва, Ломоносовский пр., 2, стр. 1.
Тел.: 8 (926) 582-19-85.
E-mail: Putintseva@mail.ru

Address for correspondence:

Olga V. Kurbatova
National Medical Research Center for Children's Health
2 Lomonosov Ave, Bldg 1
Moscow
119991 Russian Federation
Phone: +7 (926) 582-19-85.
E-mail: Putintseva@mail.ru

Образец цитирования:

О.В. Курбатова, С.В. Петричук, Д.Г. Купцова,
Т.В. Радыгина, Д.И. Козлова, В.В. Хижа,
Г.Б. Мовсисян, Д.В. Парахина, А.Д. Комарова,
Е.Л. Семикина, А.С. Потапов, А.П. Фисенко «Уровень
циркулирующих цитокинов у детей с хроническими
заболеваниями печени при разных стадиях фиброза»
// Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28,
№ 1. С. 135-144.
doi: 10.46235/1028-7221-16978-LOC

© Курбатова О.В. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

O.V. Kurbatova, S.V. Petrichuk, D.G. Kuptsova,
T.V. Radygina, D.I. Kozlova, V.V. Khizha, G.B. Movsisyan,
D.V. Parakhina, A.D. Komarova, E.L. Semikina,
A.S. Potapov, A.P. Fisenko "Level of circulating cytokines
in children with chronic liver diseases at different stages
of fibrosis", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 1, pp. 135-144.
doi: 10.46235/1028-7221-16978-LOC

© Kurbatova O.V. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.46235/1028-7221-16978-LOC

Выявлено: EGF, Fractalkine, IFN α , IL-10 и MIG значительно увеличивались от стадии F0 к стадии F4. Значимо снижались от стадии F0 к стадии F4: Eotaxin, IL-5, IL-8, IL-17A. Некоторые цитокины характеризовались нелинейной динамикой: концентрация IL-4 и MDC значительно увеличивались от стадии F0 к стадии F2-3, а затем снижались к стадии F4; уровень IL-18 значимо снижался к стадии F2-3 относительно F0, а затем достоверно увеличивался к стадии F4.

Уровень TNF α был повышен при всех стадиях фиброза печени и достигал максимальных значений к стадии F2-3 ФП.

Наши данные подтверждают значимую роль цитокинов и хемокинов в патогенезе хронических заболеваний печени.

Выявленные изменения циркулирующих цитокинов в сыворотке крови у детей с ХЗП в зависимости от стадии фиброза характеризуются различной направленностью нарушений, что подтверждает гипотезу о вовлеченности как провоспалительных, так и противовоспалительных механизмов в иммунопатологический процесс при формировании фиброза печени.

Необходимы дальнейшие исследования по изучению участия цитокинов и хемокинов в процессах формирования фиброза печени для их использования в качестве таргетной терапии при заболеваниях печени.

Ключевые слова: дети, хронические болезни печени, фиброз печени, цитокины, хемокины, аутоиммунный гепатит, болезнь Вильсона

LEVEL OF CIRCULATING CYTOKINES IN CHILDREN WITH CHRONIC LIVER DISEASES AT DIFFERENT STAGES OF FIBROSIS

Kurbatova O.V.^a, Petrichuk S.V.^a, Kuptsova D.G.^a, Radygina T.V.^a,
Kozlova D.I.^{b,c}, Khizha V.V.^b, Movsisyan G.B.^a, Parakhina D.V.^a,
Komarova A.D.^a, Semikina E.L.^{a,d}, Potapov A.S.^{a,d}, Fisenko A.P.^a

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

^b I. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation

^c St. Petersburg Clinical Hospital, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation

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

Abstract. Liver diseases cause about 2 million deaths per year worldwide, with cirrhosis accounting for 2.1% of this number. The cytokine and chemokine balance determines outcomes of immune response. Many cytokines are involved in progression and control of various liver diseases via regulation of cellular activity.

Our aim was to assess the level of circulating cytokines and chemokines depending on the stage of fibrosis in children with chronic liver diseases.

51 children with chronic liver diseases were examined (32 children with autoimmune hepatitis, 12 children with Wilson's disease, 5 children with Gaucher disease and 2 children with glycogen storage disease). All children were assessed for the stage of liver fibrosis (AF) using METAVIR scale (FibroScan F502). The contents of circulating serum cytokines, chemokines, growth factors and angiogenesis was determined by the MILLIPLEX[®] Human Cytokine/Chemokine/Growth Factor Panel A Magnetic Bead Panel, an immunoassay based on Luminex[®] technology. Statistical evaluation was carried out using the program "Statistica 10.0".

The levels of EGF, Fractalkine, IFN α , IL-10 and MIG increased significantly from F0 stage to F4 stage. A significant decrease from stage F0 to stage F4 was revealed for eotaxin, IL-5, IL-8, IL-17A. Some cytokines were characterized by nonlinear dynamics: the concentrations of IL-4 and MDC increased significantly from the F0 stage to the F2-3 stage, and then decreased to the F4 stage; the level of IL-18 showed a significant

decrease by stage F2-3 relative to F0, then being significantly increased by stage F4. The level of TNF α was increased at all stages of liver fibrosis and reached its maximum values at stage F2-3 of AF.

Our data confirm the significant role of cytokines and chemokines in the pathogenesis of chronic liver diseases. The identified changes in circulating cytokines in the blood serum in children with CKD, depending on the stage of fibrosis, are characterized by differently directed disturbances thus presuming involvement of both pro- and anti-inflammatory mechanisms in the immunopathological process in the course of liver fibrosis formation. Further research is required in order to study the participation of cytokines and chemokines in formation of liver fibrosis for development of targeted therapy for liver diseases.

Keywords: children, chronic liver diseases, liver fibrosis, cytokines, chemokines, autoimmune hepatitis, Wilson's disease

Введение

Наиболее распространенными заболеваниями печени являются алкогольная болезнь печени, неалкогольная жировая болезнь, вирусный гепатит и гепатоцеллюлярная карцинома. Все эти заболевания сопровождаются процессами фиброза печени, который может трансформироваться в цирроз [9].

Цирроз печени у детей может развиваться вследствие разнообразных хронических заболеваний печени (ХЗП), включая метаболические расстройства и генетические заболевания. У детей грудного возраста цирроз печени чаще всего обусловлен атрезией желчевыводящих путей и генетико-метаболическими заболеваниями. У детей более старшего возраста процессы фиброза и цирроз печени возникают в результате аутоиммунного гепатита, болезни Вильсона, первичного склерозирующего холангита или других генетических заболеваний [6]. Заболевания печени являются причиной смертей примерно 2 миллионов человек в год во всем мире, при этом цирроз печени составляет 2,1% от этого количества [9]. Орфанные или редкие заболевания, приводящие к фиброзу или циррозу печени, несмотря на редкость каждой нозологической формы, суммарно составляют около 5% населения планеты [7].

Считается, что звездчатые клетки печени и портальные фибробласты играют важную роль в развитии фиброза печени [12]. В микроокружении печени пролиферация, пластичность, миграция и функция Т-регуляторных клеток (Treg) взаимосвязаны с остальными иммунными клетками и секретируемыми ими цитокинами и хемокинами [8]. Баланс цитокинов и хемокинов определяет исход иммунного ответа. В нормальных условиях Treg защищают печень от воспалительных и аутоиммунных реакций, тогда как нарушение взаимодействия между Treg и другими иммунными клетками может привести к прогрессиро-

ванию хронических заболеваний печени и развитию злокачественных опухолей печени [8].

Процесс фиброзирование печени сопровождается изменениями в профиле циркулирующих цитокинов, по концентрации которых можно проводить дифференциальную диагностику между стадиями фиброза [1, 2].

Наиболее широко используемые диагностические тесты оценки функции печени: аланинаминотрансфераза, аспаратаминотрансфераза, сывороточные белки, сывороточный альбумин и сывороточные глобулины. Основным недостатком этих диагностических тестов является отсутствие специфичности к определенной ткани или типу клеток, поскольку эти ферменты и белки являются общими для одной или нескольких тканей. Показано, что у детей с болезнью Вильсона концентрации маркеров фиброзирование печени умеренно коррелируют со стадией фиброза печени [4].

В прогрессировании и контроле различных заболеваний печени посредством регуляции клеточной активности участвуют такие цитокины, как IL-1, IL-6, IL-10, IL-17, IL-22, IL-35 и IL-37 [9]. У взрослых пациентов с хроническим гепатитом С показано повышенное по сравнению с контрольной группой содержание в плазме крови IL-1ra, IL-6, IL-7, IFN γ , IL-12 (p70), IL-4, IL-9, IL-8, IP-10, эотаксина, MCP-1, MIP-1 β , TNF α , G-CSF и GM-CSF. В зависимости от степени фиброза были выявлены различия в продукции IL-1ra, IL-6, IL-7, IFN γ , IL-12 (p70), IL-4, IL-9, IL-8, IP-10, эотаксина, MCP-1, MIP-1 β , TNF α , G-CSF и GM-CSF [5].

В экспериментальных моделях на мышах показан антифиброзный эффект IL-10, который основан на усилении иммунной функции НК-клеток, включая активацию, цитотоксичность, созревание и миграцию. IL-10 регулирует НК-

клетки, ограничивая прогрессирование фиброза печени [11].

Фактор некроза опухоли-альфа (TNF α) может играть существенную роль в патогенезе неалкогольного стеатогепатита и фиброза. Более того, TNF α может усиливать резистентность печени к инсулину, тем самым связывая воспалительные и метаболические сигналы и способствуя развитию сопутствующих заболеваний. TNF α связан с тяжестью неалкогольной жировой болезни печени. Интересно, что биологические препараты против TNF α показали благоприятные метаболические и печеночные эффекты, что может открыть возможное терапевтическое окно для лечения неалкогольной жировой болезни печени [15].

T-хелперы 17-го типа (Th17), продуцирующие интерлейкины семейства 17 (IL-17), играют значимую роль в защите от бактериальных и грибковых патогенов. Th17 дифференцируются от наивных T-клеток в ответ на трансформирующий фактор роста β 1 (TGF- β 1) и IL-6, цитокины, которые также способствуют развитию фиброза печени. IL-17A передает сигналы через рецептор IL-17RA, экспрессия которого повышается у пациентов с инфекциями, вызванными вирусом гепатита В / вирусом гепатита С (HBV/HCV), неалкогольным и алкогольным стеатогепатитом, гепатоцеллюлярной карциномой и в экспериментальных моделях хронического токсического поражения печени. Показана важная роль передачи сигналов IL-17 в патогенезе метаболического повреждения печени в обеспечении перекрестных связей между метаболически поврежденными печеночными макрофагами, гепатоцитами и фиброгенными миофибробластами [13]. Показано, что содержание Th17-лимфоцитов значимо растет с увеличением стадии фиброза печени при гликогеновой болезни, болезни Вильсона [3].

Показана роль хемокинов T-хелперов 1-го типа при первичном билиарном циррозе печени и выявлено, что уровни циркулирующих MIG (хемокин, усиливающий миграцию моноцитов) и клеток CXCR3⁺ связаны с прогрессированием заболевания [14]. Помимо этого доказана способность хемокина EGF (эпидермальный фактор роста) усиливать фиброз печени посредством ингибирования взаимодействия интегрин-TGF β -рецептора [10, 12]. Кроме того, показана положительная корреляция концентрации хемокина эотаксина (Eotaxin) с фиброзом печени у взрослых пациентов с хроническим гепатитом С [5].

Цель работы – оценить уровень циркулирующих цитокинов и хемокинов в зависимости от

стадии фиброза у детей с хроническими заболеваниями печени.

Материалы и методы

Был обследован 51 ребенок с хроническими заболеваниями печени, находившийся на лечении в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, включая 32 ребенка с аутоиммунным гепатитом, 12 детей с болезнью Вильсона, 5 детей с болезнью Гоше и 2 ребенка с гликогеновой болезнью. Всем детям была проведена оценка стадии фиброза печени (ФП) методом транзитной эластографии печени на аппарате FibroScan F502 (Echosens, Франция). Для диагностики степени ФП использовали шкалу METAVIR [3].

В зависимости от стадии фиброза дети были разделены на 4 группы: группа 1 – отсутствие фиброза печени (F0, n = 18); группа 2 – минимальные фибротические изменения печени (F1, n = 9); группа 3 – выраженный фиброз печени (F2-3, n = 11) и группа 4 – цирроз печени (F4, n = 13).

Содержание циркулирующих цитокинов, хемокинов, факторов роста и ангиогенеза определяли иммуноферментным анализом MILLIPLEX® Human Cytokine/Chemokine/Growth Factor Panel A Magnetic Bead Panel, на основе технологии Luminex®.

Цитокиновая панель включала: sCD40L, EGF, Eotaxin, FGF-2, FLT-3L, Fractalkine, G-CSF, GM-CSF, GRO, IFN α , IFN γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12 (p40), IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17A, IL-17E/IL-25, IL-17F, IL-18, IL-22, IL-27, IP-10, MCP-1, MCP-3, M-CSF, MDC, MIG, MIP-1 α , MIP-1 β , PDGF-AA, PDGF-AB/BB, RANTES, TGF α , TNF α , TNF β , VEGF-A.

Статистические расчеты проводили с использованием программы Statistica 10.0 (США). Описательная статистика представлена в виде Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}). Достоверность результатов оценивали с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни, значимыми считали отличия при p < 0,05.

Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследования были выявлены наиболее информативные цитокины и хемокины, уровень которых зависел от стадии фиброза печени у детей с ХЗП (табл. 1).

ТАБЛИЦА 1. КОНЦЕНТРАЦИЯ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ЦИТОКИНОВ И ХЕМОКИНОВ (пг/мл) У ДЕТЕЙ С ХЗП ПРИ РАЗНЫХ СТАДИЯХ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ

TABLE 1. CONCENTRATION OF CIRCULATING CYTOKINES AND CHEMOKINES (pg/mL) IN CHILDREN WITH CHRONIC LIVER DISEASES AT DIFFERENT STAGES OF LIVER FIBROSIS

Показатель Index	Группа Group	Группа 1 Group 1 (n = 18)	Группа 2 Group 2 (n = 9)	Группа 3 Group 3 (n = 11)	Группа 4 Group 4 (n = 13)	p
EGF		178 (82,7-394,0)	257,99 (145,9-624,6)	275,69 (151,2-438,3)	452,83 (322,6-620,9)	p ₁₋₄ = 0,011
Eotaxin		305,49 (239,0-348,5)	289,92 (180,9-300,2)	307,6 (122,9-326,5)	201,72 (139,9-237,8)	p ₁₋₄ = 0,002
Fractalkine		197,89 (159,7-284,4)	278,19 (33,5-296,2)	283,34 (161,0-345,2)	271,55 (264,3-349,5)	p ₁₋₄ = 0,030
IFN α		29,82 (26,4-38,5)	28,27 (17,6-31,2)	33,96 (25,9-43,0)	39,66 (30,5-44,7)	p ₁₋₄ = 0,037 p ₂₋₃ = 0,045 p ₂₋₄ = 0,011
IL-4		28,75 (21,6-37,4)	23,36 (19,7-32,3)	45,5 (30,2-52,2)	30,59 (20,2-47,5)	p ₁₋₃ = 0,030 p ₂₋₃ = 0,007
IL-5		12,21 (7,2-15,1)	12,71 (6,7-15,5)	10,44 (3,58-13,00)	6,74 (5,6-9,6)	p ₁₋₄ = 0,048
IL-8		34,06 (24,1-43,1)	36,89 (18,8-45,5)	30,24 (20,0-38,1)	26,23 (22-32)	p ₁₋₄ = 0,044
IL-10		45,15 (35,3-97,7)	56,5 (37,5-88,1)	73,06 (56,5-86,3)	91,04 (68,5-95,6)	p ₁₋₃ = 0,048 p ₁₋₄ = 0,015
IL-17A		77,5 (54,8-96,9)	55,47 (30,7-75,7)	43,25 (20,6-75,6)	47,2 (35,6-57,8)	p ₁₋₃ = 0,014 p ₁₋₄ = 0,001
IL-18		220,81 (177,3-242,3)	217,9 (172,6-251,0)	143,73 (122,0-187,2)	212,7 (187,2-245,3)	p ₁₋₃ = 0,005 p ₃₋₄ = 0,012
MDC		768,58 (601-961)	733,34 (564,2-765,9)	961,16 (783,0-1081,7)	923,86 (733-1002)	p ₁₋₃ = 0,044 p ₂₋₃ = 0,038
MIG		197,41 (106,7-240,5)	207,5 (73,8-293,9)	247,4 (195,8-293,4)	249,3 (215,0-290,8)	p ₁₋₄ = 0,015
TNF α		73,25 (63,9-100,9)	62,61 (52,8-114,9)	92,45 (52,0-117,3)	85,8 (60,5-96,3)	—

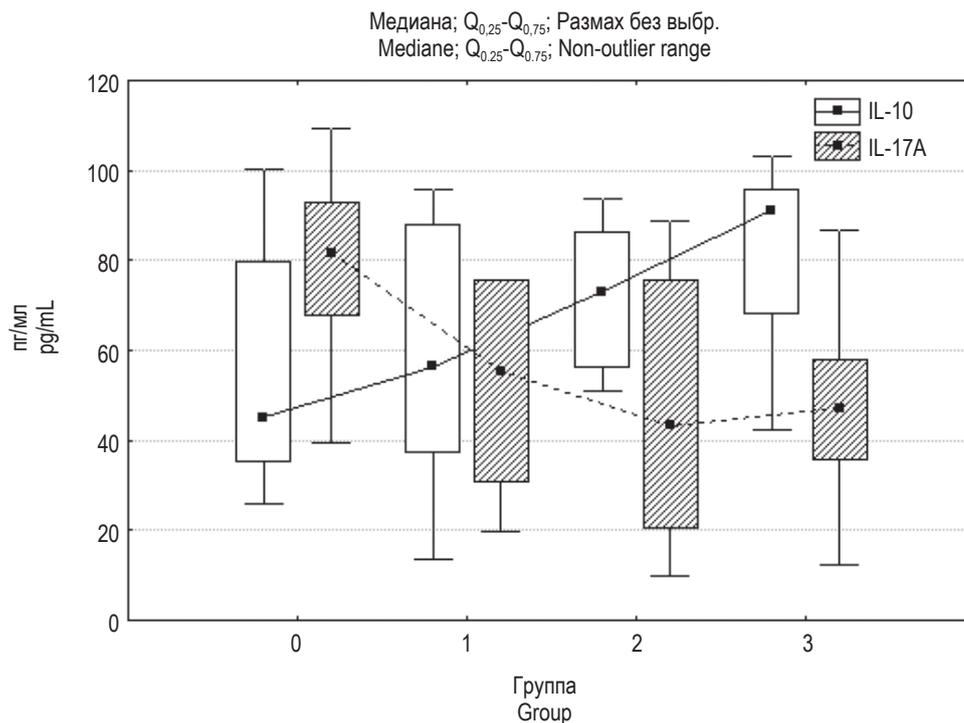


Рисунок 1. Концентрация IL-10 и IL-17A у детей с ХЗП при разных стадиях фиброза печени

Figure 1. Concentrations of IL-10 and IL-17A in children with chronic liver diseases at different stages of liver fibrosis

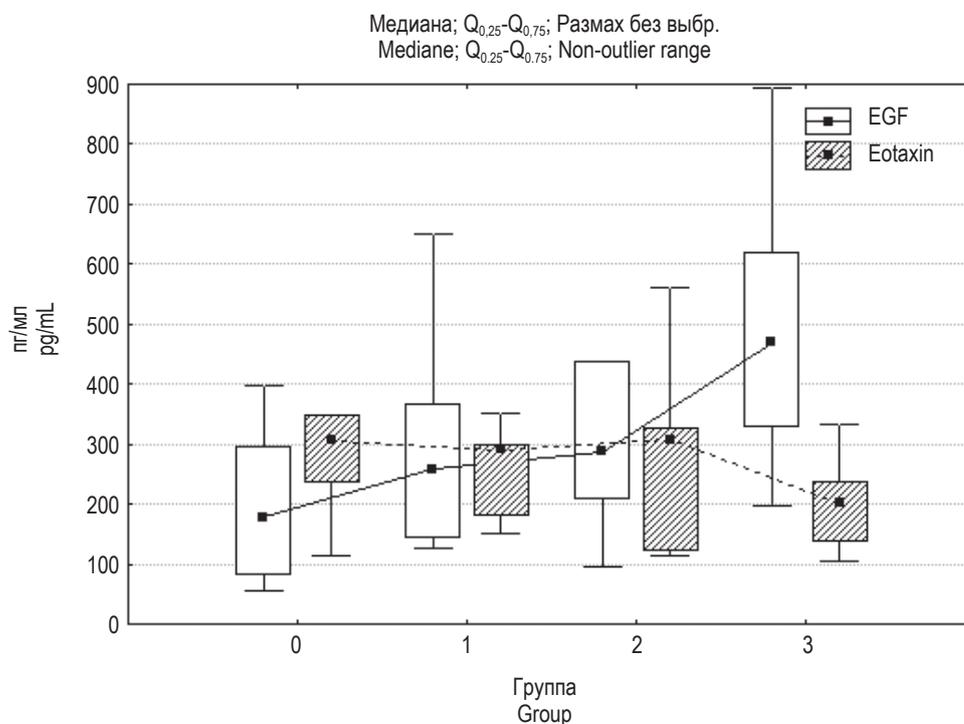


Рисунок 2. Концентрация EGF и Eotaxin у детей с ХЗП при разных стадиях фиброза печени

Figure 2. Concentrations of EGF and Eotaxin in children with chronic liver diseases at different stages of liver fibrosis

Некоторые цитокины и хемокины линейно зависели от стадии фиброза печени, например, EGF, Fractalkine, IFN α , IL-10 и MIG значимо увеличивались от стадии F0 к стадии F4 (табл. 1). Другие цитокины, такие как Eotaxin, IL-5, IL-8, IL-17A, напротив – значимо снижались от стадии F0 к стадии F4 (табл. 1). Интересно отметить, что часть цитокинов характеризовалась нелинейной динамикой: например, IL-4 и MDC значимо увеличивались от стадии F0 к стадии F2-3, а затем их концентрация снижалась к стадии F4, а концентрация IL-18 значимо снижалась к стадии F2-3 относительно F0, а затем достоверно увеличивалась к стадии F4 (табл. 1).

Уровень TNF α был повышен при всех стадиях фиброза печени и достигал максимальных значений в третьей группе пациентов (стадии F2-3) и составлял 92,45 [52; 117,3] пг/мл. По данным литературы, у здоровых людей концентрация TNF α не превышает 20 пг/мл [5].

Получено, что при увеличении стадии фиброза с F0 до F4 уровень IL-10 значимо повышался, а уровень IL-17A – снижался (рис. 1). При этом на стадии F0 уровень IL-17A был значимо выше IL-10 ($p = 0,01$), а на стадии F4 – был значимо ниже ($p = 0,027$).

Выявлено также, что у детей с ХЗП концентрация EGF при увеличении стадии фиброза с F0

до F4 значимо возрастала ($p = 0,002$), а уровень Eotaxin значимо снижался ($p = 0,011$), при этом их концентрации были сопоставимы на ранних стадиях фиброза печени, а к стадии F4 концентрация EGF была значимо выше концентрации Eotaxin ($p = 0,006$) (табл. 1, рис. 2).

Заключение

Таким образом, наши данные подтверждают значимую роль цитокинов и хемокинов в патогенезе хронических заболеваний печени.

Выявленные изменения циркулирующих цитокинов в сыворотке крови у детей с ХЗП в зависимости от стадии фиброза характеризуются различной направленностью нарушений, что подтверждает гипотезу о вовлеченности как провоспалительных, так и противовоспалительных механизмов в иммунопатологический процесс при формировании фиброза печени.

Необходимы дальнейшие исследования по изучению участия цитокинов и хемокинов в процессах формирования фиброза печени для их использования в качестве таргетной терапии при заболеваниях печени.

Список литературы / References

1. Курбатова О.В., Жужула А.А., Лапин С.В., Сновская М.А., Козлова Д.И., Петричук С.В., Купцова Д.Г., Кузнецова Д.А., Мовсисян Г.Б., Комарова А.Д., Радыгина Т.В., Гуслев А.Б., Холопова И.В., Семикина Е.Л., Макарова С.Г., Потапов А.С., Фисенко А.П. Антинуклеарные антитела у детей с болезнью Вильсона // Аллергология и иммунология в педиатрии, 2024. № 1. С. 48-52. [Kurbatova O.V., Zhuzhula A.A., Lapin S.V., Snovskaya M.A., Kozlova D.I., Petrichuk S.V., Kuptsova D.G., Kuznetsova D.A., Movsisyan G.B., Komarova A.D., Radygina T.V., Guslev A.B., Kholopova I.V., Semikina E.L., Makarova S.G., Potapov A.S., Fisenko A.P. Antinuclear antibodies in children with Wilson's disease. *Allergologiya i immunologiya v pediatrii = Allergology and Immunology in Paediatrics*, 2024, no. 1, pp. 48-52. (In Russ.)]
2. Курбатова О.В., Закиров Р.Ш., Сурков А.Н., Никитин А.В., Самохина И.В., Фрейдлин Е.В., Потапов А.С., Петричук С.В. Уровень сывороточных цитокинов при различных стадиях фиброза печени у детей с печеночными формами гликогеновой болезни // Клиническая лабораторная диагностика, 2016. Т. 61, № 9. С. 537. [Kurbatova O.V., Zakirov R.Sh., Surkov A.N., Nikitin A.V., Samokhina I.V., Freydlin Ye.V., Potapov A.S., Petrichuk S.V. Uroven' syvorotochnykh tsitokinov pri razlichnykh stadiyakh fibroza pecheni u detey s pechenochnymi formami glikogenovoy bolezni. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2016, Vol. 61, no. 9, p. 537.]

3. Курбатова О.В., Петричук С.В., Мовсисян Г.Б., Купцова Д.Г., Радыгина Т.В., Анушенко А.О., Семикина Е.Л., Потапов А.С. Роль малых популяций лимфоцитов при формировании фиброза печени у детей с гликогеновой болезнью // Российский иммунологический журнал, 2023. Т. 26, № 3. С. 337-344. [Kurbatova O.V., Petrichuk S.V., Movsisyan G.B., Kuptsova D.G., Radygina T.V., Anushenko A.O., Semikina E.L., Potapov A.S. Role of minor lymphocyte populations in development of liver fibrosis in children with glycogen storage disease. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2023, Vol. 26, no. 3, pp. 337-344. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-10013-ROM.
4. Курбатова О.В., Мовсисян Г.Б., Петричук С.В., Парахина Д.В., Демьянов Д.С., Купцова Д.Г., Радыгина Т.В., Семикина Е.Л., Потапов А.С., Фрейдлин Е.В. Информативность лабораторных маркеров в оценке стадии фиброза печени у детей с аутоиммунным гепатитом первого типа // Аллергология и иммунология в педиатрии, 2023. № 1. С. 53-55. [Kurbatova O.V., Movsisyan G.B., Petrichuk S.V., Parakhina D.V., Demyanov D.S., Kuptsova D.G., Radygina T.V., Semikina E.L., Potapov A.S., Freidlin E.V. Informative value of laboratory markers in assessing the stage of liver fibrosis in children with type 1 autoimmune hepatitis. *Allergologiya i immunologiya v pediatrii = Allergology and Immunology in Paediatrics*, 2023, no. 1, pp. 53-55. (In Russ.)]
5. Сысоев К.А., Чухловин А.Б., Шахманов Д.М., Жданов К.В., Тотолян Арег А. Профиль цитокинов и хемокинов в плазме крови пациентов с хроническим гепатитом С // Инфекция и иммунитет, 2013. № 1. С. 49-58. [Sysoev K.A., Chukhlovin A.V., Shakhmanov D.M., Zhdanov K.V., Totolian A.A. Cytokines and chemokines in the blood plasma of patients with chronic hepatitis C. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2013, Vol. 3, no. 1, pp. 49-58. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2013-1-49-58.
6. Харитонов Л.А., Григорьев К.И. Цирроз печени у детей // Российский вестник перинатологии и педиатрии, 2022. Т. 67, № 5. С. 78-88. [Kharitonova L.A., Grigoriev K.I. Liver cirrhosis in children. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*, 2022, Vol. 67, no. 5, pp. 78-88. (In Russ.)]
7. Шашель В.А., Фирсова В.Н., Трубилина М.М., Подпорина Л.А., Фирсов Н.А. Орфанные заболевания и связанные с ними проблемы // Медицинский вестник Юга России, 2021. Т. 12, № 2. С. 28-35. [Shashel V.A., Firsova V.N., Trubilina M.M., Podporina L.A., Firsov N.A. Orphan diseases and associated problems. *Meditinskii vestnik Yuga Rossii = Medical Bulletin of the South of Russia*, 2021, Vol. 12, no. 2, pp. 28-35. (In Russ.)]
8. Ajith A., Merimi M., Arki M.K., Hossein-Khannazer N., Najar M., Vosough M., Sokal E.M., Najimi M. Immune regulation and therapeutic application of T regulatory cells in liver diseases. *Front. Immunol.*, 2024, Vol. 15, 1371089. doi: 10.3389/fimmu.2024.1371089.
9. Ali A.L., Nailwal N.P., Doshi G.M. Emerging role of interleukins for the assessment and treatment of liver diseases. *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets*, 2022, Vol. 22, no. 4, pp. 371-382.
10. An G.H., Lee J., Jin X., Chung J., Kim J.C., Park J.H., Kim M., Han C., Kim J.H., Woo D.H. Truncated milk fat globule-EGF-like factor 8 ameliorates liver fibrosis via inhibition of integrin-TGFβ receptor interaction. *Biomedicines*, 2021, Vol. 9, no. 11, 1529. doi: 10.3390/biomedicines9111529.
11. Chen Y., Huang Y., Huang R., Chen Z., Wang X., Chen F., Huang Y. Interleukin-10 gene intervention ameliorates liver fibrosis by enhancing the immune function of natural killer cells in liver tissue. *Int. Immunopharmacol.*, 2024, Vol. 127, 111341. doi: 10.1016/j.intimp.2023.111341.
12. Kisseleva T., Brenner D.A. Anti-fibrogenic strategies and the regression of fibrosis. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, 2011, Vol. 25, no. 2, pp. 305-317.
13. Li N., Yamamoto G., Fuji H., Kisseleva T. Interleukin-17 in Liver Disease Pathogenesis. *Semin. Liver Dis.*, 2021, Vol. 41, no. 4, pp. 507-515.

14. Mazzi V. Mig chemokine in primary biliary cirrhosis. *Clin. Ter.*, 2019, Vol. 170, no. 3, pp. e211-e215.
15. Vachliotis I.D., Polyzos S.A. The role of tumor necrosis factor-alpha in the pathogenesis and treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Curr. Obes. Rep.*, 2023, Vol. 12, no. 3, pp. 191-206.

Авторы:

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

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

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

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

Козлова Д.И. — к.б.н., ведущий научный сотрудник ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова Российской академии наук»; старший научный сотрудник ФГБУЗ «Санкт-Петербургская клиническая больница Российской академии наук», Санкт-Петербург, Россия

Хижя В.В. — младший научный сотрудник группы научно-практических исследований аутоиммунных и аутовоспалительных заболеваний человека ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова Российской академии наук», Санкт-Петербург, Россия

Мовсисян Г.Б. — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории редких наследственных болезней, врач-гастроэнтеролог гастроэнтерологического отделения с гепатологической группой ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Парахина Д.В. — врач-педиатр гастроэнтерологического отделения ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Комарова А.Д. — врач-педиатр гастроэнтерологического отделения ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Kurbatova O.V., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Head, Laboratory of Experimental Immunology and Virology, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

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

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

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

Kozlova D.I., PhD (Biology), Leading Research Associate, I. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences; Senior Research Associate, St. Petersburg Clinical Hospital, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation

Khizha V.V., Junior Research Associate, Group of Scientific and Practical Research of Autoimmune and Autoinflammatory Human Diseases, I. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation

Movsisyan G.B., PhD (Medicine), Senior Research Associate of Laboratory of Rare Hereditary Diseases, Gastroenterologist of the Gastroenterology Department with the Hepatological Group, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

Parakhina D.V., Pediatrician, Gastroenterology Department with the Hepatology Group, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

Komarova A.D., Pediatrician, Gastroenterology Department with the Hepatological Group, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

Семикина Е.Л. — д.м.н., руководитель лабораторного отдела ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ; профессор кафедры педиатрии и детской ревматологии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

Потапов А.С. — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории научных основ детской гастроэнтерологии и гепатологии, заведующий гастроэнтерологическим отделением ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ; профессор кафедры педиатрии и детской ревматологии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

Фисенко А.П. — д.м.н., профессор, директор ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Semikina E.L., PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory Department, National Medical Research Center for Children's Health; Professor, Department of Pediatrics and Pediatric Rheumatology, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Potapov A.S., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Research Associate of Laboratory of Scientific Foundations of Pediatric Gastroenterology and Hepatology, Head of Gastroenterology Department with Hepatology Group, National Medical Research Center for Children's Health; Professor, Department of Pediatrics and Pediatric Rheumatology, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Fisenko A.P., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

Поступила 14.05.2024
Принята к печати 31.07.2024

Received 14.05.2024
Accepted 31.07.2024

ИНФОРМАТИВНОСТЬ ТЕСТА АКТИВАЦИИ БАЗОФИЛОВ В ДИАГНОСТИКЕ ПАТОЛОГИИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА У ДЕТЕЙ

Бурцев Д.В., Данилова Д.И., Павлова Д.С.

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

Резюме. Пищевая аллергия – один из самых распространенных вариантов аллергических заболеваний у детей. На современном уровне развития теоретической аллергологии в клинической практике необходимо применение наиболее чувствительных, специфичных и стандартизированных методов выявления аллергенов. С этой целью чаще всего используют выявление специфических иммуноглобулинов класса E (sIgE) в сыворотке крови, однако пристального внимания заслуживает тест активации базофилов (ТАБ) ввиду его функциональной методологии за счет максимальной приближенности к патогенетическим механизмам иммунных реакций. С целью сравнения результатов выявления сенсibilизации к пищевым аллергенам в ТАБ и методе детекции специфических IgE-антител проведено обследование 76 пациентов в возрасте 1-16 лет, проходящих амбулаторное лечение у врача-педиатра либо аллерголога-иммунолога по поводу патологии ЖКТ. При анализе полученных данных выделили две подгруппы с отягощенным аллергоанамнезом (36 человек) и без четких анамнестических данных о наличии пищевой аллергии (40 человек). Оценку активации базофилов к аллергенам белков коровьего молока, яйца, пшеницы и соевых бобов осуществляли методом проточной цитометрии с использованием тест-системы набора Allergenicity kit (Beckman Coulter, США), специфических IgE – с использованием набора АллергоИФА-специфические IgE (ООО «Алкор Био», Россия). Результаты показали, что наиболее частым причинно-значимым аллергеном пищевой аллергии в общей группе наблюдения стали белки коровьего молока, при этом количество положительных результатов ТАБ превышало число случаев детекции аллергии методом определения специфических IgE. В подгруппе пациентов с предполагаемой аллергией к БКМ специфические IgE (f2) определялись у 7 человек, sIgE (f77) – у 3 пациентов, a sIgE (f78) – у 5 детей. При использовании ТАБ положительный результат был получен в 26, 21, 13 случаях соответственно. В подгруппе детей с патологией ЖКТ без четких анамнестических данных о пищевой сенсibilизации специфические IgE (f2) положительны у 1 пациента, sIgE (f77) – у 1 человека, sIgE (f78) – у 4 детей. В ТАБ положительный результат был получен в 25, 24, 11 случаях соответственно. Результаты демонстрируют преимущество ТАБ в сравнении с детекцией sIgE. Включение ТАБ в план обследований

Адрес для переписки:

*Данилова Дарья Игоревна
ФГБОУ ВО «Ростовский государственный
медицинский университет»
344022, Россия, г. Ростов-на-Дону,
пер. Нахичеванский, 29.
Тел.: 8 (863) 240-35-34, 8 (988) 547-28-63.
E-mail: krolevets.darya@gmail.com*

Address for correspondence:

*Daria I. Danilova
Rostov State Medical University
29 Nakhichevansky Lane
Rostov-on-Don
344022 Russian Federation
Phone: +7 (863) 240-35-34, +7 (988) 547-28-63.
E-mail: krolevets.darya@gmail.com*

Образец цитирования:

*Д.В. Бурцев, Д.И. Данилова, Д.С. Павлова
«Информативность теста активации базофилов
в диагностике патологии желудочно-кишечного
тракта у детей» // Российский иммунологический
журнал, 2025. Т. 28, № 1. С. 145-150.
doi: 10.46235/1028-7221-16982-IVO*

*© Бурцев Д.В. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0*

For citation:

*D.V. Burtsev, D.I. Danilova, D.S. Pavlova “Informative
value of basophil activation test in the diagnosis of pediatric
gastrointestinal disorders”, Russian Journal of Immunology/
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 1,
pp. 145-150.
doi: 10.46235/1028-7221-16982-IVO*

*© Burtsev D.V. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.46235/1028-7221-16982-IVO*

дования детей с неполной эффективностью стандартного лечения заболеваний ЖКТ повысит выявляемость аллергопатологии.

Ключевые слова: пищевая аллергия, тест активации базофилов, ТАБ, специфические IgE

INFORMATIVE VALUE OF BASOPHIL ACTIVATION TEST IN THE DIAGNOSIS OF PEDIATRIC GASTROINTESTINAL DISORDERS

Burtsev D.V., Danilova D.I., Pavlova D.S.

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

Abstract. Food allergies are one of the most common variants of allergic diseases in children. Nowadays it is necessary to apply the most sensitive, specific and standardized methods for the detection of allergens in theoretical allergology and clinical practice. For this purpose, the detection of specific immunoglobulins of class E (sIgE) in blood serum is most often used, however the basophil activation test (BAT) deserves close attention due to its functional methodology based on its maximum proximity to the pathogenetic mechanisms of immune reactions. In order to compare the results of detecting sensitization to food allergens in BAT and the method of detecting specific IgE 76 patients aged 1-16 years receiving outpatient treatment with a pediatrician or an allergist-immunologist for gastrointestinal pathology were examined. During the analysis two subgroups were identified: patients with a burdened allergic anamnesis (36 people) and patients without clear anamnestic data on the presence of food allergies (40 people). The activation of basophils to allergens to cow's milk, egg, wheat and soybeans proteins was evaluated by flow cytometry using the Allergenkit test system ('BeckmanCoulter'), specific IgE was evaluated by using the AllergoIFE-specific IgE kit ('Alkor Bio'). The results showed that the most common significant allergen of food allergy in the general group was cow's milk proteins, at the same time the number of positive BAT results exceeded the number of cases of allergy detection by the method of determining specific IgE. Specific IgE (f2) was detected in 7 people, sIgE (f77) was detected in 3 patients, and sIgE (f78) – in 5 children in the subgroup of patients with suspected allergy to cow's milk proteins. Using BAT obtained a positive result in 26, 21 and 13 cases, respectively. In a subgroup of children with gastrointestinal pathology without clear anamnestic data on food sensitization specific IgE(f2) was positive in 1 patient, sIgE (f77) – in 1 person, sIgE (f78) was detected in 4 children. BAT-positive result was obtained in 25, 24, 11 cases, respectively. The results demonstrate the advantage of BAT in comparison with sIgE detection. The inclusion of BAT in the examination plan for children with incomplete effectiveness of standard treatment of gastrointestinal diseases will increase the detection of allergopathologies.

Keywords: food allergy, basophil activation test, BAT, specific IgE

Введение

Пищевая аллергия (ПА) – один из самых распространенных вариантов аллергических заболеваний у детей [4]. Гиперчувствительность у детей первого года жизни ассоциирована в первую очередь с белками коровьего молока (БКМ), яиц и соевых бобов. Пищевые аллергены способствуют развитию аллергического воспаления ЖКТ с разнообразной клинической манифестацией, чаще других способны выступать в роли триггера развития тяжелых жизнеугрожающих состояний [6, 8]. Эффективность терапии пищевой аллергии и

профилактики осложнений определяется не просто констатацией причинно-значимого аллергена, но и его молекулярной характеристикой [1]. Исходя из этого, на современном уровне развития теоретической аллергологии в реальной клинической практике необходимо применение наиболее чувствительных, специфичных и стандартизированных методов диагностики. В настоящее время с этой целью чаще всего используют выявление специфических иммуноглобулинов класса E (sIgE) в сыворотке крови [7, 9]. Ввиду того, что в генезе ПА задействован не только IgE-опосредованный тип аллергических реакций,

но и другие, включая гиперчувствительность замедленного типа, выявление лишь sIgE не может охватить весь спектр вариантов пищевой сенсibilизации. В этой связи понятен интерес к тесту активации базофилов (ТАБ) ввиду его максимальной приближенности к патогенетическим механизмам иммунных реакций, приводящих к дегрануляции эффекторных клеток аллергического воспаления [2].

Цель — сравнить результаты выявления сенсibilизации к пищевым аллергенам в функциональном тесте активации базофилов и методе детекции специфических IgE-антител.

Материалы и методы

Исследовали 76 образцов крови, полученных от пациентов в возрасте от 1 до 16 лет, проходящих амбулаторное лечение у врача-педиатра либо аллерголога-иммунолога по поводу патологии ЖКТ, манифестированной выраженными симптомами диспепсии: тошнотой, рвотой, спазмами и болями в животе, диареей, запорами. В связи с тем, что до обращения у ряда пациентов предполагалась аллергия на белки коровьего молока, подтвержденная положительным эффектом на фоне элиминационной диеты, было принято решение о разделении исследуемых на две подгруппы: с отягощенным аллергоанамнезом (36 человек) и без четких анамнестических данных о наличии ПА (40 человек). Оценку активации базофилов к аллергенам белков коровьего молока (f2, f77, f78) яиц (f1), пшеницы (f4) и соевых бобов (f14) осуществляли методом проточной цитометрии с использованием тест-системы набора Allergenicity kit (Beckman Coulter, США). Определение IgE соответствующей специфичности проводили с использованием набора АллергоИФА-специфические IgE (ООО «Алкор Био», Россия) с порогом чувствительности тест-системы 0,15 МЕ/мл, согласно инструкции производителя.

Результаты и обсуждение

В общей группе наблюдения (76 человек) чувствительность базофилов к коровьему молоку (f2) определена у 51 человека, тогда как положительный результат sIgE (f2) был только у 8 обследованных. В функциональном тесте с аллергеном β -лактоглобулина (f77) положительный результат зафиксирован у 45 человек, а sIgE (f77) удалось выявить только у четверых пациентов. В ТАБ к казеину (f78) положительный результат был у 24 детей, тогда как sIgE (f78) выявлен лишь

в 9 случаях. Помимо белков коровьего молока определяли сенсibilизацию к пшенице (f4): в функциональном тесте положительный результат получили у 41 ребенка, а специфический IgE был выявлен только в одном случае. При диагностике чувствительности к яйцу (f1) положительный ответ в ТАБ был получен у 39 детей, тогда как sIgE (f1) — у двух пациентов. Наименьшая доля выявленной сенсibilизации определяется в отношении аллергенов соевых бобов (f14): 18 пациентов в функциональном тесте, при этом у 17 из них — в числе полисенсibilизации. Лишь у 1-го пациента выявлена изолированная чувствительность к соевым бобам, в то же время специфические IgE у него не были детектированы. Представленные результаты свидетельствуют, что наиболее частым причинно-значимым аллергеном ПА в нашей группе наблюдения стали БКМ, что согласуется с литературными данными и объясняется патогенетическими особенностями. Коровье молоко чаще всего является первым продуктом, обладающим аллергенным потенциалом, попадающим в организм ребенка, и в связи с незрелостью кишечного барьера, а также некомпетентностью локального иммунного ответа выступает в роли предиктора формирования сенсibilизации к БКМ [3, 5]. Представленные данные отчетливо свидетельствуют о преимуществах использования ТАБ в диагностике пищевой гиперчувствительности при патологии ЖКТ у детей, в том числе на БКМ. Для еще более убедительного подтверждения вышеизложенного положения нами проведен анализ результатов отдельно в каждой из двух подгрупп наблюдения. В подгруппе пациентов с предполагаемой аллергией к БКМ специфические IgE (f2) определялись у семи человек, sIgE (f77) — у троих пациентов, а sIgE (f78) — у пятерых детей. Тем временем при использовании ТАБ положительный результат был получен в 26, 21, 13 случаях соответственно (табл. 1). Из представленных данных следует, что специфические IgE только в 15% случаев могли послужить основанием для подтверждения диагноза пищевой аллергии к БКМ, тогда как при использовании ТАБ подобное заключение можно сделать более чем у 80% пациентов. Кроме того, у 1 одного человека определен ложноположительный результат ИФА на sIgE к коровьему молоку (f2), у троих детей — к казеину (f78) (табл. 1), что служит подтверждением более высокой специфичности ТАБ в сравнении с вариантом детекции sIgE.

Вторую подгруппу составляли 40 детей со следующими основными диагнозами: пищевая непереносимость, функциональные нарушения

ТАБЛИЦА 1. РЕЗУЛЬТАТЫ ВЫЯВЛЕНИЯ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ К АЛЛЕРГЕНАМ БЕЛКА КОРОВЬЕГО МОЛОКА У ДЕТЕЙ С ПАТОЛОГИЕЙ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

TABLE 1. RESULTS OF IDENTIFYING SENSITIZATION TO COW'S MILK PROTEIN ALLERGENS IN CHILDREN WITH GASTROINTESTINAL PATHOLOGY

Исследуемые параметры: вариант сочетания Parameters under study: combination option	Предварительный диагноз Preliminary diagnosis	
	Пищевая аллергия Food allergy (n = 36) количество человек (%) number of persons (%)	Патология ЖКТ Gastrointestinal pathology (n = 40) количество человек (%) number of persons (%)
Результаты выявления сенсibilизации к коровьему молоку f2 Results of detection of sensitization to cow's milk f2		
ТАБ (+), sIgE (-) BAT (+), sIgE (-)	20 (56%)	24 (60%)
ТАБ (+), sIgE (+) BAT (+), sIgE (+)	6 (17%)	1 (3%)
ТАБ (-), sIgE (+) BAT (-), sIgE (+)	1 (3%)	0
Результаты выявления сенсibilизации к b-лактоглобулину f77 Results of detection of sensitization to b-lactoglobulin f77		
ТАБ (+), sIgE (-) BAT (+), sIgE (-)	18 (50%)	23 (58%)
ТАБ (+), sIgE (+) BAT (+), sIgE (+)	3 (8%)	1 (3%)
ТАБ (-), sIgE (f77) (+) BAT (-), sIgE (f77) (+)	0	0
Результаты выявления сенсibilизации к казеину f78 Results of identifying sensitization to casein f78		
(ТАБ) (+), sIgE (-) BAT (+), sIgE (-)	11 (31%)	10 (25%)
ТАБ (+), sIgE (+) BAT (+), sIgE (+)	2 (6%)	1 (3%)
ТАБ (-), sIgE (+) BAT (-), sIgE (+)	3 (8%)	3 (8%)

ЖКТ, глютенная энтеропатия, дискинезия толстого кишечника, хронический гастрит при наличии аналогичных первой группе жалоб на тошноту, рвоту, спазмы и боли в животе, диарею либо запоры. В этой подгруппе при определении специфических IgE (f2) положительный результат был получен у одного пациента, у одного человека выявлен sIgE (f77), sIgE (f78) определялись чаще: у четверых пациентов. Тем временем в тесте активации базофилов положительный результат был получен в отношении молока (f2) – в 25, b-лактоглобулина (f77) – в 24, для казеина (f78) –

в 11 случаях (табл. 1). Таким образом, в группе с преимущественно гастроэнтерологической симптоматикой в условиях отсутствия явных анамнестических данных в отношении ПА при определении специфических антител класса E процент положительных результатов составил 15%, тогда как при использовании теста активации базофилов этот показатель в 5 раз выше. Интересным представляется факт ложноположительного выявления sIgE в таком же проценте случаев, как и у больных с исходным клиническим диагнозом «пищевая аллергия».

Заключение

Результаты исследования отчетливо подтверждают преимущество ТАБ в сравнении с детекцией sIgE как в отношении чувствительности, так и с точки зрения специфичности лабораторной аллергодиагностики. Включение в план об-

следования детей с неполной эффективностью стандартного лечения различных вариантов патологии ЖКТ без четких анамнестических данных о пищевой аллергии повысит выявляемость аллергопатологии и, соответственно, эффективность терапии и качество жизни детей.

Список литературы / References

1. Беляева И.А., Турти Т.В., Намазова-Баранова Л.С., Бомбардилова Е.П., Вишнева Е.А., Кайтукова Е.В., Эфендиева К.Е., Шукенбаева Р.А., Садчиков П.Е. Особенности молекулярного профиля сенсibilизации младенцев из группы риска развития аллергических заболеваний // Вопросы современной педиатрии, 2022. Т. 21, № 6. С. 493-500. [Belyayeva I.A., Turti T.V., Namazova-Baranova L.S., Bombardirova E.P., Vishneva E.A., Kaytukova E.V., Efendieva K.E., Shukenbaeva R.A., Sadchikov P.E. Features of molecular sensitisation profile in infants with risk of allergic diseases. *Voprosy sovremennoy pediatrii = Current Pediatrics*, 2022, Vol. 21, no. 6, pp. 493-500. (In Russ.)]
2. Бычкова Н.В. Активация базофилов: теоретические аспекты и применение в диагностике аллергических заболеваний // Медицинская иммунология, 2021. Т. 23, № 3. С. 469-482. [Bychkova N.V. Basophil activation: theoretical aspects and use in the diagnosis of allergic diseases. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2021, Vol. 23, no. 3, pp. 469-482. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-BAT-2174.
3. Махмутов Р.Ф., Налетов А.В., Шапченко Т.И. Современный взгляд на этиологию, патогенез и клинические проявления пищевой аллергии у детей (обзор литературы) // Медико-социальные проблемы семьи, 2022. Т. 27, № 1. С. 142-150. [Makhmutov R.F., Nalyotov A.V., Shapchenko T.I. Modern view of the etiology, pathogenesis and clinical manifestations of food allergy in children (literature review). *Mediko-sotsialnye problemy semyi = Medical and Social Problems of Family*, 2022, Vol. 27, no. 1, pp. 142-150. (In Russ.)]
4. Мельникова К.С., Кувшинова Е.Д., Ревякина В.А. Аллергические заболевания в раннем возрасте // Педиатрия. Consilium Medicum, 2021. № 2. С. 141-145. [Melnikova K.S., Kuwshinova E.D., Reviakina V.A. Allergic diseases at an early age. *Pediatriya. Consilium Medicum = Pediatrics. Consilium Medicum*, 2021, no. 2, pp. 141-145. (In Russ.)]
5. Намазова-Баранова Л.С., Вишнёва Е.А., Чемакина Д.С., Новик Г.А., Ткаченко М.А., Селимзянова Л.Р. Современные методы диетотерапии аллергии к белкам коровьего молока у детей раннего возраста // Педиатрическая фармакология, 2021. Т. 18, № 3. С. 233-238. [Namazova-Baranova L.S., Vishneva E.A., Chemakina D.S., Novik G.A., Tkachenko M.A., Selimzyanova L.R. Current Methods of Dietotherapy of Cow's Milk Protein Allergy in Infants. *Pediatricheskaya farmakologiya = Pediatric Pharmacology*, 2021, Vol. 18, no. 3, pp. 233-238. (In Russ.)]
6. Пампура А.Н., Жукалина Е.Ф., Моренко М.А., Усенова О.П. Современные подходы к диагностике и ведению детей раннего возраста с аллергией на белки коровьего молока // Российский вестник перинатологии и педиатрии, 2023. Т. 68, № 2. С. 39-46. [Pampura A.N., Zhukalina E.F., Morenko M.A., Usenova O.P. Modern approaches to the diagnosis and management of children with allergy to cow's milk proteins. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*, 2023, Vol. 68, no. 2, pp. 39-46. (In Russ.)]
7. Печкуров Д.В., Тяжева А.А., Коновалова А.М., Порецкова Г.Ю. Современные возможности диагностики гастроинтестинальной пищевой аллергии // Практическая медицина, 2020. Т. 18, № 4. С. 57-62. [Pechkurov D.V., Tyazheva A.A., Konovalova A.M., Poretzkova G.Yu. Modern opportunities for diagnosing gastrointestinal food allergy. *Prakticheskaya meditsina = Practical Medicine*, 2020, Vol. 18, no. 4, pp. 57-62. (In Russ.)]
8. Ревякина В.А. Проблема пищевой аллергии на современном этапе // Вопросы питания, 2020. Т. 89, № 4. С. 186-192. [Revyakina V.A. The problem of food allergies at the present stage. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition*, 2020, Vol. 89 no. 4, pp. 186-192. (In Russ.)]

9. Хоха Р.Н. Диагностика аллергии: реалии и перспективы. Часть 1 // Журнал Гродненского государственного медицинского университета, 2020. Т.18, № 3. С. 329-334. [Khokha R.N. Diagnostics of allergies: realities and prospects. Part 1. Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of the Grodno State Medical University, 2020, Vol. 18, no. 3, pp. 329-334. (In Russ.)]

Авторы:

Бурцев Д.В. — д.м.н., заведующий кафедрой персонализированной и трансляционной медицины ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет», г. Ростов-на-Дону, Россия

Данилова Д.И. — к.м.н., ассистент кафедры персонализированной и трансляционной медицины ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет», г. Ростов-на-Дону, Россия

Павлова Д.С. — ассистент кафедры персонализированной и трансляционной медицины ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет», г. Ростов-на-Дону, Россия

Authors:

Burtsev D.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Personalized and Translational Medicine, 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

Pavlova D.S., Assistant Professor, Department of Personalized and Translational Medicine, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Поступила 14.05.2024
Принята к печати 31.07.2024

Received 14.05.2024
Accepted 31.07.2024

ОЦЕНКА УРОВНЯ СЕКРЕТОРНОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА А ПРИ РЕСПИРАТОРНОЙ АЛЛЕРГИИ

Коркмазов А.М.¹, Попадюк В.И.², Гизингер О.А.², Корнова Н.В.¹

¹ ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

² Медицинский институт ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва, Россия

Резюме. Изучение уровня биологически активных медиаторов воспаления имеет важное значение в диагностике аллергического ринита.

Цель исследования – изучение уровней секреторного иммуноглобулина А (sIgA) в назальном секрете при аллергических заболеваниях верхних дыхательных путей у пациентов, проживающих в различных городах РФ.

Было обследовано 86 пациентов (соотношение мужчин и женщин в основной и контрольной группах составляло 1:1) в возрасте от 28 до 40 лет с персистирующей формой аллергического ринита, проживающих в различных городах РФ (г. Челябинск, Москва). В группу 1 вошли 36 пациентов с впервые выявленным аллергическим ринитом (1а – проживающие в Челябинске (18 человек), 1б – проживающие в городе Москва (18 человек)), не принимавшие никаких лекарственных препаратов, в группу 2 вошли 30 пациентов, длительно получавших интраназальные стероидные препараты (4,9±0,9 месяцев) (2а – проживающие в Челябинске (15 человек), 2б – проживающие в городе Москва (15 человек)) и 20 здоровых добровольцев в возрасте от 28 до 40 лет из группы 3 (контрольной). У пациентов анализировали симптомы, назальный секрет забирали с использованием эндоскопа, образцы анализировали методом иммуноферментного анализа (ИФА). Показано, что уровни секреторного иммуноглобулина А (sIgA) в назальном секрете достоверно ($p < 0,05$) односторонне снижаются у взрослых пациентов с аллергическим ринитом, проживающих в различных городах РФ

Ключевые слова: секреторный иммуноглобулин А, назальный секрет, аллергический ринит, иммунокоррекция

Адрес для переписки:

Коркмазов Арсен Мусосович
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
454092, Россия, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.
Тел.: 8 (932) 010-00-06.
E-mail: Korkmazov74@gmail.com

Address for correspondence:

Arsen M. Korkmazov
South Ural State Medical University
64 Vorovsky St
Chelyabinsk
454092 Russian Federation
Phone: +7 (932) 010-00-06.
E-mail: Korkmazov74@gmail.com

Образец цитирования:

А.М. Коркмазов, В.И. Попадюк, О.А. Гизингер,
Н.В. Корнова «Оценка уровня секреторного
иммуноглобулина А при респираторной аллергии»
// Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28,
№ 1. С. 151-156.
doi: 10.46235/1028-7221-16968-EOS

© Коркмазов А.М. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.M. Korkmazov, V.I. Popadyuk, O.A. Giesinger,
N.V. Kornova "Evaluation of secretory immunoglobulin A
levels in respiratory allergy", Russian Journal of Immunology/
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 1,
pp. 151-156.
doi: 10.46235/1028-7221-16968-EOS

© Korkmazov A.M. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16968-EOS

EVALUATION OF SECRETORY IMMUNOGLOBULIN A LEVELS IN RESPIRATORY ALLERGY

Korkmazov A.M.^a, Popadyuk V.I.^b, Giesinger O.A.^b, Kornova N.V.^a

^a South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

^b Medical Institute, P. Lumumba Peoples' Friendship University, Moscow Russian Federation

Abstract. The study of biologically active inflammatory mediators is important in the diagnosis of allergic rhinitis. The aim of the present study was to evaluate the levels of secretory immunoglobulin A (sIgA) in nasal secretions in the upper respiratory tract allergies in patients living in various cities of the Russian Federation. Patients and methods. We examined 86 patients aged 28 to 40 years (men-to-women ratio was 1:1 in patients and control group) with a persistent form of allergic rhinitis living in various cities of Russian Federation (Chelyabinsk, Moscow). Group 1 included 36 patients with newly diagnosed allergic rhinitis who did not take any medications (subgroup 1a included 18 persons living in Chelyabinsk; 1b consisted of 18 patients living in Moscow). Group 2 included 30 patients who received long-term intranasal steroid medications (4.9 ± 0.9 months): 2a, patients who lived in Chelyabinsk ($n = 15$), and 2b lived in Moscow ($n = 15$). Control group 3 included twenty healthy volunteers aged 28 to 40 years. The disease symptoms were documented in the patients, nasal secretions were collected by endoscopy, and the samples were analyzed by enzyme immunoassay (ELISA). It has been shown that the levels of secretory immunoglobulin A (sIgA) in nasal secretions showed a significant ($p < 0.05$) unidirectional decrease in adult patients with allergic rhinitis living in various cities of the Russian Federation.

Keywords: secretory immunoglobulin A, nasal secretion, allergic rhinitis, immunocorrection

Введение

Заболевания, связанные с аллергическими реакциями на воздействие экзо и эндогенных факторов, к которым высокочувствителен человеческий организм, известны с глубокой древности. Описание клинических проявлений аллергии встречаются в трудах Гиппократ, книге «Канон медицины» Абу Али ибн Сина. Но первое официальное сообщение, исходя из собственных наблюдений реакции отдельных людей на сухое сено, сделал английский врач Джон Босток в 1819 году. Поскольку при контакте с сеном у некоторых людей появлялось слезотечение, чихание и зуд в глазах он назвал заболевание «сенной лихорадкой». По истечении полвека Дэвид Блэкли (1873) доказал, что причиной предъявляемых жалоб пациентов является пыльца растений, а не сухое сено.

По определению представленному в клинических рекомендациях аллергический ринит (АР), является IgE-опосредованным воспалительным заболеванием, со специфической триадой симптомов: ринореей, назальной обструкцией, зудом в полости носа и чиханием. В представленных литературных источниках эпидемиологические показатели АР за последнее десятилетие, в различных странах планеты достигают до 4-32%. В Российской Федерации заболеваемость АР

среди детского населения, в зависимости от мест проживания внутри страны, составляет от 2% до 25%, а взрослого населения от 1% до 40%. При этом отмечается тенденцию ежегодному увеличению заболеваемости [1, 10, 11, 14].

В патогенезе АР, длительная персистенция аллергенов в организме человека приводит различным патологическим реакциям иммунной системы, а варибельность проявляемой толерантности способствует развитию полисенсibilизации, повышает риски бактериальной контаминации [2, 5, 9]. В результате этого респираторный аллергоз примерно в 24-28% является первопричиной развития таких патологических состояний, как острые и хронические отиты, ларингиты, риносинуситы [3, 6, 7, 8]. У пациентов с аллергическим ринитом в 80% случаях, при обследовании выявляют бронхиальную астму [4, 12, 15].

Аллергены подразделяются по природе происхождения — это эпидермис, слюна и шерсть животных, насекомые и их яды, пыльца растений, споры грибов. Также различают бытовые (домашние пыль, клещи т. д.) и профессиональные аллергены. Воздействие низких температур воздуха, никотина и табачного дыма, острой пищи, стрессовые ситуации и вирусные инфекции являются факторами риска для развития респираторного аллергоза человека. Кроме того, немалую

роль в развитии аллергического ринита играет генетическая предрасположенность пациента.

Различают раннюю и позднюю фазы развития аллергической реакции. В раннюю фазу происходит выраженная экссудация плазмы с иммуноглобулинами, гистаминами и кининами. Воздействие повышенного количества на мерцательный эпителий верхних дыхательных путей приводит к гиперраздражению нервных окончаний в межэпителиальных соединениях. Из оториноларингологических проявлений доминируют жалобы как заложенность носа, назальная обструкция, ринорея, чихание и зуд в полости носа. Отсроченная фаза, как правило, развивается через несколько часов после воздействия аллергена и сопровождается повышением количества эозинофилов, базофилов и лимфоцитов. Кроме этого, повышаются концентрации гистамина и других медиаторов воспаления в собственном слое мерцательного эпителия слизистой оболочки полости носа. В этой фазе пациенты отмечают стойкую заложенность носа с нарушением дыхания. Значительно снижается качество жизни, падает результативность в учебе, спорте, трудовой деятельности [13, 14].

По существующим классификациям, с учетом длительности симптоматики при продолжительности аллергических реакций менее 4 дней в неделю или менее 4 недель в году, отмечают интермиттирующую форму, а при продолжительности более длительное время – персистирующую форму АР. Кроме того, исходя из характера и особенностей клинической картины различают 3 степени тяжести течения аллергического ринита. Легкая степень характеризуется умеренной заложенностью носа, слизистыми выделениями в умеренном количестве и зудом в полости носа, периодическим чиханием. Данные симптомы не влияют на сон и повседневную активность человека. При среднетяжелой форме течения заболевания клинические симптомы имеют более выраженный характер и приводят к нарушению сна, общего самочувствия, работоспособности, препятствуют занятию спортом, ухудшаются качественные показатели учебы и т. д. При тяжелой форме течения АР характерно наличие выраженной ринореи с постназальными затеками секрета (postnasal drip syndrom), выраженное затруднение или отсутствие носового дыхания, храп и обструктивное апноэ во сне, зуд в полости носа. Указанные симптомы нередко приводят отказу пациентов заниматься спортом, делают невозможным заниматься учебой, профессиональной деятельностью [10, 13].

Изучение уровней биологически активных медиаторов аллергического воспаления имеет важное значение в диагностике аллергическо-

го ринита (АР). Важнейшим из таких метаболитов является sIgA, локальная секреция которого представляет один из механизмов поддержания колонизационной резистентности слизистых оболочек [15]. Секреторный иммуноглобулин sIgA препятствует адгезии бактериальных агентов и адсорбции вирусных антигенов, участвует в инактивации экзотоксинов и предотвращает инвазию патогенов, эндотоксинов и вирусов [7, 11]. В то же время имеются сведения, свидетельствующие о том, что тяжесть аллергических расстройств может быть связана с дефицитом IgA [11].

Эффективность определения IgA методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием назальных образцов продемонстрировала высокий уровень специфичности (99%) и повышенный уровень чувствительности (76,5%) [15]. Данный метод исследования можно использовать для оценки результатов эффективности терапии аллергического ринита с применением интраназальных кортикостероидных препаратов.

Цель исследования – изучение уровней секреторного иммуноглобулина А (sIgA) в назальном секрете при аллергических заболеваниях верхних дыхательных путей у лиц, проживающих в различных городах России.

Материалы и методы

Проведен обзор литературных источников по изучению эпидемиологии, клинического течения в зависимости от показателей уровня sIgA у лиц с респираторной аллергией в базах данных PubMed и Google Scholar, Scopus, PubMed и включали поиск научных исследований по поисковым запросам ключевых слов (в том числе MeSH) и логических операторов.

Исследование было разработано в формате «случай – контроль». Было обследовано 86 пациентов (мужчины и женщины 50:50%) в возрасте от 28 до 40 лет с персистирующей формой аллергического ринита, проживающих в различных городах РФ (г. Челябинск, Москва). Диагноз «АР» устанавливался на основании изучения аллергологического анамнеза, характера клинических симптомов и результатов специфического аллергологического обследования пациентов [14]. В первую группу вошли пациенты (n = 36) с впервые выявленным аллергическим ринитом (1а – проживающие в Челябинске (n = 18), 1б – проживающие в городе Москва (n = 18)), не принимавшие никаких лекарственных препаратов, во вторую группу вошли пациенты (n = 30), длительно получавшие интраназальные кортикостероидные препараты (4,9±0,9 месяцев) (2а – проживающие в Челябинске

(n = 15), 26 – проживающие в городе Москва (n = 15)) и 20 здоровых добровольцев, отобранных на основании добровольного информированного согласия, в возрасте от 28 до 40 лет из третьей контрольной группы. Соотношение мужчин и женщин в основной и контрольной группах составляло 1:1, 1:1 и 1:1 соответственно. Достоверных различий между группами по возрасту и полу не наблюдалось ($p > 0,05$). Средняя продолжительность лечения интраназальными кортикостероидными препаратами составила 5,9 месяца. Забор назального секрета проводили с использованием эндоскопической техники, образцы анализировали методом иммуноферментного анализа (ИФА), тест-системами ELISA Kit for Secretory Immunoglobulin A Cloud-Clone Corp через месяц после начала исследования.

Результаты и обсуждение

Среднее значение уровня sIgA в назальном секрете до начала проведения исследования в группах сравнения составило: 127,2 мкг/мл (межквартильный диапазон 69,8-150,6) в группе 1а, 129,4 мкг/мл (межквартильный диапазон 68,7-149,4) в группе 1б, 131,6 мкг/мл (104,3-174,5) в группе 2а, 134,3 мкг/мл (102,6-172,7) в группе 2б и 300,8 мкг/мл (149,6-419,0) в контрольной группе ($p < 0,05$).

В группах 1 и 2 наблюдалось статистически значимое снижение уровня sIgA в носовой жидкости по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Однако статистически значимой разницы между группами 1а и 1б и 2а и 2б не было ($p = 0,42$). Показано, что уровни секреторного иммуноглобулина А (sIgA) в назальном секрете достоверно ($p < 0,05$) снижаются у всех взрослых пациентов с аллергическим ринитом проживающих в различных городах РФ, независимо от того принимали или нет обследуемые интраназальные стероидные препараты.

Необходимо особо отметить и обсудить показатели пациентов группы 2. Известно, что интраназальные кортикостероиды являются одними из основных препаратов в лечении аллергического ринита, причем их влияние на клиническую эффективность лечения и описано как в научных исследованиях, так и в нормативно-правовой документации [4, 5]. Имеются работы, доказывающие достоверное снижение уровня сывороточного иммуноглобулина при использовании в лечении АР топических кортикостероидсодержащих препаратов [10, 11]. Другим важным детерминантом характеризующим прогноз АР является место проживания обследуемых. При этом статистически достоверных данных о влиянии места проживания на уровень назального sIgA

людей в возрасте от 28 до 40 лет с персистирующей формой аллергического ринита в литературе недостаточно.

Проведенный обзор литературных источников подтвердил наличие ограниченного количества научных работ, изучающих количественное и качественное состояние слизистой оболочки полости носа в зависимости от уровней sIgA в назальном секрете у пациентов с АР, показал, и что имеющиеся сведения порой недостаточны и противоречивы [5, 12, 15]. Исходя из этого в настоящем исследовании была реализована задача по исследованию уровня sIgA в назальном секрете у пациентов, как впервые диагностированным АР, так и у тех, кто регулярно использует в лечении интраназальные кортикостероидные препараты. Изучено и расширено понимание важной роли sIgA в патогенезе АР, и влияния лечения топическими стероидами на уровни sIgA в назальном секрете. По полученным результатам исследования уже через один месяц после начала исследования среднее значение уровня sIgA в назальном секрете, относительно до начала проведения исследования в группах составило: 124,9 мкг/мл (межквартильный диапазон 68,4-143,5) в группе 1а, 126,1 мкг/мл (межквартильный диапазон 67,2-142,3) в группе 1б, 129,1 мкг/мл (102,4-154,7) в группе 2а, 133,4 мкг/мл (103,1-169,4) в группе 2б и 301,4 мкг/мл (151,6-411,2) в контрольной группе ($p < 0,05$).

Полученные результаты исследования показали, что у пациентов с аллергическим ринитом уровень sIgA в назальном секрете достоверно снижаются относительно показателей контрольной группы, независимо от наличия или отсутствия терапии гормоносодержащими топическими препаратами и от города проживания обследуемых.

Выводы

1. У пациентов с аллергическим ринитом отмечается снижение уровня секреторного иммуноглобулина А в назальном секрете.
2. Прием топических стероидных препаратов приводит к снижению уровня секреторного иммуноглобулина А в назальном секрете.
3. Снижение уровня секреторного иммуноглобулина А в назальном секрете у пациентов города Челябинска и города Москва с аллергическим ринитом происходит однонаправленно, регистрируется снижение уровня секреторного иммуноглобулина А в назальном секрете.

Список литературы / References

1. Булгакова В.А. Лечение острой респираторной инфекции у детей: выбор препарата этиопатогенетического действия как подход к предупреждению полипрагмазии // Лечащий врач, 2017. № 9. С. 39-43. [Bulgakova V.A. Treatment of acute respiratory infection in children: choice of drug with etiopathogenic effect as an approach to prevent polypharmacy. *Lechashchii vrach = Attending Physician*, 2017, no. 9, pp. 39-43. (In Russ.)]
2. Гизингер О.А., Коркмазов А.М., Коркмазов М.Ю. Состояние факторов антимикробной защиты назального секрета у пациентов, оперированных по поводу искривления носовой перегородки в ранний послеоперационный период // Российский иммунологический журнал, 2017. Т. 11, № 2. С. 117-119. [Giesinger O.A., Korkmazov A.M., Korkmazov M.Yu. The state of antimicrobial protection factors of nasal secretion in patients operated on the curvature of the nasal septum in the early postoperative period. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2017, Vol. 11, no. 2, pp. 117-119. (In Russ.)]
3. Дубинец И.Д., Коркмазов М.Ю., Синицкий А.И., Даньшова Е.И., Скирпичников И.Н., Мокина М.В., Мирзагалиев Д.М. Окислительный стресс на локальном и системном уровне при хронических гнойных средних отитах // Медицинский совет, 2021. № 18. С. 148-156. [Dubinets I.D., Korkmazov M.Yu., Sinitckii A.I., Danshova E.I., Skirpichnikov I.N., Mokina M.V., Mirzagaliev D.M. Local and systemic oxidative stress in chronic suppurative otitis media. *Meditinskiy sovet = Medical Council*, 2021, no. 18, pp. 148-156. (In Russ.)]
4. Козлов В.С., Савлевич Е.Л., Горбунов С.А., Фельшин Д.И. Эффективность локальной терапии при острых воспалительных заболеваниях верхних дыхательных путей // Вестник оториноларингологии, 2020. Т. 85, № 1. С. 68-73. [Kozlov V.S., Savlevich E.L., Gorbunov S.A., Felshin D.I. The effectiveness of local therapy of acute inflammatory diseases of the upper respiratory tract. *Vestnik otorinolaringologii = Bulletin of Otorhinolaryngology*, 2020, Vol. 85, no. 1, pp. 68-73. (In Russ.)]
5. Коркмазов М.Ю., Ленгина М.А., Коркмазов А.М. Биохимические показатели характера оксидативного стресса в зависимости от проводимой послеоперационной терапии у пациентов, перенесших внутриносовые хирургические вмешательства // Вестник оториноларингологии, 2016. Т. 81, № 5. С. 33-35. [Korkmazov M.Yu., Lengina M.A., Korkmazov A.M. Biochemical parameters of the nature of oxidative stress depending on the postoperative therapy in patients who underwent intra-nasal surgical interventions. *Vestnik otorinolaringologii = Bulletin of Otorhinolaryngology*, 2016, Vol. 81, no. 5, pp. 33-35. (In Russ.)]
6. Коркмазов М.Ю., Солодовник А.В., Коркмазов А.М., Ленгина М.А. Перспективы использования растительного препарата в сочетании с физическими методами при комплексной терапии хронического аденоидита // Медицинский совет, 2021. № 18. С. 19-27. [Korkmazov M.Yu., Solodovnik A.V., Korkmazov A.M., Lengina M.A. Prospects for using herbal preparation in combination with physical methods in complex therapy of chronic adenoiditis. *Meditinskiy sovet = Medical Council*, 2021, no. 18, pp. 19-27. (In Russ.)]
7. Коркмазов М.Ю., Зырянова К.С., Белошангин А.С. Оценка клинической эффективности фитотерапевтического лекарственного препарата в лечении и профилактике рецидивов острых риносинуситов у детей г. Челябинска // Медицинский совет, 2016. № 7. С. 90-93. [Korkmazov M.Yu., Zyryanova K.S., Beloshangin A.S. Evaluation of the clinical efficacy of a phytotherapeutic drug in the treatment and prevention of recurring acute rhinosinusitis in children of Chelyabinsk. *Meditinskiy sovet = Medical Council*, 2016, no. 7, pp. 90-93. (In Russ.)]
8. Коркмазов М.Ю., Ленгина М.А., Коркмазов А.М., Корнова Н.В., Белошангин А.С. Лечение и профилактика различных форм ларингита на фоне острых респираторных инфекций // Медицинский совет, 2022. № 8. С. 79-87. [Korkmazov M.Yu., Lengina M.A., Korkmazov A.M., Kornova N.V., Beloshangin A.S. Treatment and prevention of various forms of laryngitis on the background of acute respiratory infections. *Meditinskiy sovet = Medical Council*, 2022, no. 8, pp. 79-87. (In Russ.)]
9. Коркмазов М.Ю., Корнова Н.В., Ленгина М.А., Смирнов А.А., Коркмазов А.М., Дубинец И.Д. Эффективная антибактериальная терапия внебольничной оториноларингологической респираторной инфекции (клиническое описание) // Медицинский совет, 2022. № 20. С. 73-81. [Korkmazov M.Yu., Kornova N.V., Lengina M.A., Smirnov A.A., Korkmazov A.M., Dubinets I.D. Effective antibiotic therapy for community-acquired otorhinolaryngological respiratory infection (clinical description). *Meditinskiy sovet = Medical Council*, 2022, no. 20, pp. 73-81. (In Russ.)]
10. Коркмазов М.Ю., Ленгина М.А., Коркмазов А.М., Кравченко А.Ю. Влияние постковидного синдрома на качество жизни пациентов с аллергическим ринитом и эозинофильным фенотипом хронического полипозного риносинусита // Российский медицинский журнал, 2023. Т. 29, № 4. С. 277-290. [Korkmazov M.Yu., Lengina M.A., Korkmazov A.M., Kravchenko A.Y. Effect of post-COVID syndrome on the quality of life of patients with allergic rhinitis and eosinophilic phenotype of chronic polyposis rhinosinusitis. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal = Russian Medicine*, 2023, Vol. 29, no. 4, pp. 277-290. (In Russ.)]
11. Руселевич М.В., Маликова Л.М., Комаров С.Г., Харина Д.В. Медико-социальные факторы формирования респираторных аллергозов пыльцевой этиологии у детей // Социальные аспекты здоровья населения, 2018. Т. 59, № 1. С. 9. [Ruselevich M.V., Malikova L.M., Komarov S.G., Kharina D.V. Medical and social factors in development of respiratory allergies of pollen etiology in children. *Sotsialnye aspekty zdorovya naseleniya = Social Aspects of Population Health*, 2018, Vol. 59, no. 1, p. 9. (In Russ.)]
12. Савлевич Е.Л., Курбачева О.М., Зурочка А.В., Митрофанова Е.С., Смолкин Ю.С., Любимова Е.В. Роль блокаторов лейкотриеновых рецепторов в терапии аллергического ринита в сочетании с полипозным

риносинуситом // Медицинский совет, 2022. № 8. С. 111-116. [Savlevich E.L., Kurbacheva O.M., Zurochka A.V., Mitrofanova E.S., Smolkin Yu.S., Lyubimova E.V. The role of leukotriene receptor blockers in the treatment of allergic rhinitis in combination with chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Meditinskiy sovet = Medical Council*, 2022, no. 8, pp. 111-116. (In Russ.)]

13. Талибов А.Х., Коркмазов М.Ю., Ленгина М.А., Кривопапов А.А., Гришаев Н.В. Персонализированный подход к повышению качества жизни и психофизической готовности спортсменов-гиревиков коррекцией сенсорных и вазомоторных расстройств ЛОР-органов // Человек. Спорт. Медицина, 2021. Т. 21, № 4. С. 29-41. [Talibov A.Kh., Korkmazov M.Yu., Lengina M.A., Krivopalov A.A., Grishaev N.V. Personalized approach to improving the quality of life and psychophysical readiness of weightlifters through the correction of sensory and vasomotor disorders of ENT organs. *Chelovek. Sport. Meditsina = Human. Sport. Medicine*, 2021, Vol. 21, no. 4, pp. 29-41. (In Russ.)]

14. Щетинин С.А., Гизингер О.А., Коркмазов М.Ю. Клинические проявления и дисфункции иммунного статуса у детей с хроническим аденоидитом и методы их коррекции с использованием озонотерапии // Российский иммунологический журнал, 2015. Т. 9 (18), № 3-1. С. 255-257. [Shchetinin S.A., Gisinger O.A., Korkmazov M.Yu. Clinical manifestations and dysfunctions of the immune status in children with chronic adenoiditis and methods of their correction using ozone therapy. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2015, Vol. 9 (18), no. 3-1, pp. 255-257. (In Russ.)]

15. Tohidinik H.R., Mallah N., Takkouche B. History of allergic rhinitis and risk of asthma; a systematic review and meta-analysis. *World Allergy Organ J.*, 2019, Vol. 12, no. 10, 100069. doi: 10.1016/j.waojou.2019.100069.

Авторы:

Коркмазов А.М. — к.м.н., доцент кафедры оториноларингологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Попадюк В.И. — д.м.н., профессор, декан факультета непрерывного медицинского образования, заведующий кафедрой оториноларингологии, Медицинский институт ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва, Россия

Гизингер О.А. — д.б.н., доцент, профессор ВАК, кафедра иммунологии и аллергологии, Медицинский институт ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва, Россия

Корнова Н.В. — к.м.н., доцент кафедры оториноларингологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Authors:

Korkmazov A.M., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Otorhinolaryngology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Popadyuk V.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Dean, Faculty of Continuing Medical Education, Head, Department of Otorhinolaryngology, Medical Institute, P. Lumumba Peoples' Friendship University, Moscow Russian Federation

Gisinger O.A., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Department of Immunology and Allergology, Medical Institute, P. Lumumba Peoples' Friendship University, Moscow, Russian Federation

Kornova N.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Otorhinolaryngology, South Ural State Medical University. Chelyabinsk, Russian Federation

О НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫХ ЯВЛЕНИЯХ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ ПОЛИПОЗНОГО РИНОСИСУСИТА

**Ленгина М.А., Коркмазов М.Ю., Карпов И.А., Учаев Д.А.,
Мочалов Ю.А., Воеводина П.А., Трикула О.В.**

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

Резюме. Наиболее прогрессивным методом патогенетической терапии полипозного риносинусита в настоящее время является использование моноклональных антител. Инновационность таргетной терапии заключается в ингибировании ключевых цитокинов IL-4, IL-13, участвующих в патогенетическом ремоделировании слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух на этапах формирования Т2-воспаления. В то же время, как и к относительно молодому направлению по назначению моноклональных антител в лечении полипозов носа, актуальными остаются отдельные вопросы. Приводится краткий исторический обзор публикаций, посвященных анализу эффективности биологической терапии. В этом контексте исключительную ценность приобретает регистрация нежелательных явлений применения таргетной терапии моноклональными антителами, прогноз отдаленных результатов лечения с оценкой иммунного статуса пациентов.

Ключевые слова: полипозный риносинусит, иммунопатогенез, таргетная терапия, моноклональные антитела

ABOUT ADVERSE EVENTS OF TARGETED THERAPY FOR POLYPOUS RHINOSINUSITIS

**Lengina M.A., Korkmazov M.Yu., Karpov I.A., Uchaev D.A.,
Mochalov Yu.A., Voevodina P.A., Trikola O.V.**

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. At the present time, usage of monoclonal antibodies is the most progressive method of pathogenetic therapy of polypous rhinosinusitis. The innovation of targeted therapy is based on the inhibition of key cytokines IL-4, IL-13 involved in pathogenetic remodeling of the mucous membrane of nasal cavity and paranasal sinuses at the stages of emerging T2 inflammation. At the same time, certain issues remain unresolved, concerning

Адрес для переписки:

*Ленгина Мария Александровна
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
454092, Россия, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.
Тел.: 8 (932) 010-00-06.
E-mail: Danilenko1910@mail.ru*

Address for correspondence:

*Maria A. Lengina
South Ural State Medical University
64 Vorovsky St
Chelyabinsk
454092 Russian Federation
Phone: +7 (932) 010-00-06.
E-mail: Danilenko1910@mail.ru*

Образец цитирования:

*М.А. Ленгина, М.Ю. Коркмазов, И.А. Карпов,
Д.А. Учаев, Ю.А. Мочалов, П.А. Воеводина,
О.В. Трикула «О нежелательных явлениях таргетной
терапии полипозного риносинусита» // Российский
иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 1. С. 157-162.
doi: 10.46235/1028-7221-16970-ОТА*

*© Ленгина М.А. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0*

For citation:

*M.A. Lengina, M.Yu. Korkmazov, I.A. Karpov, D.A. Uchaev,
Yu.A. Mochalov, P.A. Voevodina, O.V. Trikola "About adverse
events of targeted therapy for polypous rhinosinusitis", Russian
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 1, pp. 157-162.
doi: 10.46235/1028-7221-16970-ОТА*

*© Lengina M.A. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License*

DOI: 10.46235/1028-7221-16970-ОТА

administration of monoclonal antibodies for treatment of nasal polyposis. We provide a brief historical review of publications devoted to efficiency analysis of biological therapy. In this context, registration of adverse events upon usage of targeted monoclonal antibody therapy becomes extremely valuable, along with prediction of long-term treatment results and assessment of immune status of the patients.

Keywords: polypous rhinosinusitis, immunopathogenesis, targeted therapy, monoclonal antibodies

Введение

Выступая на совещании в ноябре прошлого года по реализации национального проекта «Здравоохранение», заместителем Председателя Правительства Татьяной Голиковой отмечен существенный прогресс в развитии медицины за последнее десятилетие. Успешно разрабатываются и находят свое применение современные технологии в лечении и профилактике трудно поддающихся коррекции заболеваний, что в свою очередь позволяет за более ранние сроки восстановить временную потерю трудоспособности, повысить качество жизни и улучшить демографические показатели населения.

В этом контексте одним из актуальных вопросов современного здравоохранения остается заболеваемость пациентов оториноларингологического профиля, из которых существенный процент составляет острая и хроническая очаговая инфекция полости носа и околоносовых пазухах (ОНП). Наиболее сложным в плане выбора адекватной консервативной терапии, профилактики и прогноза отдаленных результатов является полипозный риносинусит (ПРС), что прежде всего связано с полиэтиологичностью и не до конца изученностью патогенетических механизмов развития заболевания» [8, 10]. Гипотезы по развитию ПРС, встречающиеся в научной литературе, дискутабельны, единым остается признание многогранности и многофакторности причин заболевания [8]. К настоящему времени расширен ряд триггерных факторов, таких как хроническое течение воспалительного процесса в полости носа и ОНП, отягощенный аллергический фон пациентов, генетические нарушения, изменения в метаболизме арахидоновой кислоты, влияние состава микрофлоры, измененная анатомическая архитектура носа и др., хотя преимущество ни одной из гипотез не доказано [2, 3, 4]. Исходя из этого возникают определенные сложности выбора адекватной патогенетической терапии ПРС. Наиболее прогрессивным за последние несколько лет и активно внедряемым методом лечения ПРС является использование биологически активной терапии моноклональными антителами (МАТ). Препарат «Дупилумаб» (Дупиксент) в РФ был впервые зарегистрирован в апреле 2019 г.

для лечения как взрослых, так и подростков старше 12 лет со среднетяжелой и тяжелой БА [1, 9]. Относительно недавнее появление лекарственного средства на Российском рынке объясняет немногочисленность наблюдательных клинических исследований, посвященных выявлению отдаленных последствий применения таргетной терапии и регистрации нежелательных явлений. Обобщение и анализ современных данных по данной тематике несомненно является актуальным.

Материалы и методы

Проведен обзор научных публикаций, представленных в базах данных Scopus, Web of Science, Medline, РИНЦ, eLIBRARY.RU, за период 2019–2024 г. Выбор материала проводился по ключевым словам: полипозный риносинусит, иммунопатогенез, моноклональные антитела, таргетная терапия. В основу обработки полученных результатов вошли публикации за 2023 год, по многоцентровому обсервационному исследованию, посвященному изучению субъективных ощущений пациентов на таргетной терапии, исследованию по изменению клеточного состава периферической крови, а также метаанализ исследовательских работ по регистрации нежелательных явлений на фоне применения моноклональных антител.

Результаты и обсуждение

Группой ученых из Италии, проводивших лечение ПРС на фоне тяжелых неконтролируемых форм бронхиальной астмы в 2023 году, было проведено многоцентровое обсервационное исследование, посвященное изучению субъективных ощущений пациентов на протяжении 12 месяцев применения «Дупилумаба» [12]. В исследовании приняли участие 648 пациентов, из которых у 56,5% диагностирована бронхиальная астма. В течении предшествующего периода до назначения моноклональной терапии большинство пациентов (85%) принимали более двух курсов системных глюкокортикостероидных препаратов (ГКС). Необходимость назначения которых диктовалась наличием рецидивов после перенесенных одной или более эндоскопических опера-

ции на ОНП (в 91,4% случаев). Были уменьшены показатели индекса NPS (Nasal polyp score), где суммарное значение в 8 баллов принято считать максимальной выраженностью ПРС, при 4 баллах визуализируется обтурированный полипами общий носовой ход и отсутствие проявлений полипоза было приравнено к 0 баллам. Авторами исследования проиллюстрирована динамика снижения исходного уровня выраженности полипозного процесса в соответствии с индексом NPS в средних значениях с исходного уровня 6 баллов из 8 максимально возможных до 1 балла к 12-му месяцу терапии.

Присутствие затруднения носового дыхания, назальных выделений, расстройства сна, выраженности цефалгии и лицевой боли проводили с помощью визуально-аналоговой шкалы ($p < 0,001$).

Статистически значимое снижение назальной обструкции по ВАШ составляло с разбросом от 7 до 10 баллов, в точке исследования 12 месяцев было приравнено к 1 баллу. Ринорея, изначально составляющая 7 баллов, к 12 месяцам также имела значение в 1 балл. Лицевые боли с 5 баллов уменьшились до 0 баллов у большинства пациентов уже к 3-му месяцу терапии и полностью перестали регистрироваться в группе к 9-му месяцу лечения. Нарушение сна уверенно снижалось с 6 баллов до отсутствия симптома в группе к 12-му месяцу. Назальную обструкцию проводили по 4-балльной шкале от 0 до 3 баллов по степеням соответственно слабой, средней и сильной степени симптома. Спустя 1 год консервативного лечения с включением таргетной терапии отмечено 2,5 кратное улучшение ($p < 0,05$) показателей NCS среди пациентов, перенесших одно вмешательство, а также среди пациентов, имеющих рецидив менее 3 лет с момента предыдущей операции.

Восстановление обонятельной функции имело двойную субъективную оценку по результатам ВАШ ($p < 0,001$) и шкале Sniffin> Sticks ($p < 0,001$). Согласно визуально-аналоговой шкале с исходным значением 9 из 10 баллов в точке исследования 12 месяцев отмечена выраженность симптома в 2 балла. Sniffin> Sticks-тест выявлял выраженность симптома путем подсчета баллов, причем повышение значений означало уменьшение выраженности исследуемого критерия. За каждое распознавание аромата присуждался балл. При этом большинство исследуемых имели исходный уровень выраженности снижения обоняния 4 балла, который на фоне 12-месячной терапии повысился до 12 баллов. Статистически значимое улучшение качества жизни было заре-

гистрировано у пациентов на основании измененный показателя SNOT-22, состоящего из блока с 22 вопросами, при максимальной выраженности симптома 5 баллов. Таким образом, чем выше балльная оценка, тем более выраженное влияние оказывает заболевание на жизнь пациента. Исходное значение составляло 58 баллов, являясь подтверждением достаточно выраженного влияния на уровень жизни больного. По истечении 12-месячного периода наблюдения отмечено снижение проявлений симптома до 12 баллов.

Таким образом, проводимое исследование на протяжении 1 года подтвердило эффективность «Дупилумаб» в дозе 300 мг, назначаемого подкожно, у пациентов с тяжелым неконтролируемым ПРС в отношении уменьшения размеров полипов, выраженности симптомов, назальной обструкции/заложенности носа, улучшения обонятельной функции и качества жизни.

Безусловно, специфичность препаратов таргетной терапии, их длительный фармакокинетический и фармакодинамический период полураспада обеспечивает длительный контроль над заболеванием, что является преимуществом МАТ и подтверждает их эффективность. При принятии решения о включении таргетной терапии в консервативное лечение пациента важно учитывать индивидуальные особенности организма. Тем не менее в литературе встречаются данные о возникновении и нежелательных явлениях. Так, во время вливания инфузионной терапии препарат, представляя собой экзогенный белок, приводит к ответной реакции гуморального иммунитета в виде повышения выработки циркулирующих иммунокомплексов. Дальнейшая гиперпродукция нейтрализующих биологический препарат антител влечет за собой либо полную блокировку моноклонального антитела, либо приводит к уменьшению выраженности его эффекта. Другой составляющей является формирование иммуномодуляции в виде истощения определенных клеточных популяций и измененного поведения клеток, что в дальнейшем может лечь в основу возможного развития таких пагубных последствий, как повышения риска инфекций. Исходя из этого, выдвинуты предложения по разработке программ управления рисками для регистрации как краткосрочных, так и долгосрочных рисков развития побочных действий и минимизации уже известных [11].

В систематическом обзоре по изучению эффективности и безопасности «Дупилумаба» у пациентов с бронхиальной астмой средней и тяжелой степени проанализировано тринадцать

исследований в базах PubMed, Embase, Scopus, Web of Science, Cochrane library и clinicaltrials.gov registry, из которых девять были включены в метаанализ [15]. Подтвержденное улучшение функции легких и снижение местных и системных маркеров воспаления у пациентов при включении в комплексное лечение бронхиальной астмы препарата Дупилумаб сопровождалось минимально выраженными побочными эффектами. К нежелательным явлениям были отнесены: значимое уменьшение концентрации FeNO по сравнению с плацебо — зарегистрировано тремя исследованиями, на развитие эозинофилии периферической крови указывают два исследования [14]. Препарат блокирует ключевые реакции, способствуя направлению эозинофилов в органы-мишени, что приводит к повышению концентрации эозинофилов в периферической крови. В случае высокого уровня эозинофилии до лечения моноклональным антителом, назначение препарата может привести к развитию гиперэозинофильных реакций и формируя манифестации клинической симптоматики. Рекомендательный экспертами в международных рекомендациях по биологической терапии ЕААСИ «исходный уровень эозинофилии периферической крови должен составлять ≥ 1500 кл/мкл». При назначении препарата необходимо провести контроль данного лабораторного показателя в динамике [11, 13].

О регистрации нежелательных явлений на фоне применения «Дупилумаба» сообщалось в большинстве включенных исследований в виде значительно более высокой частоты инфекций верхних дыхательных путей, реакции в месте инъекции и эозинофилии, гриппа, бронхита, назофарингита, синусита, головной боли, аллергического ринита, кашля, инфекции мочевыводящих путей, болей в спине и эритемы. Указанные эффекты, видимо, являются не зависящими от дозы ввиду отсутствия существенной разницы между подгруппами, получавшими разные схемы лечения.

По предложенной классификации в EPOS 2020, ПРС относится к первичному диффузному хроническому риносинуситу (ХРС) с превалирующим эндотипом Т2 и включает фенотипы ПРС / эозинофильного ХРС, аллергического грибкового риносинусита, назального полипоза аллергического генеза, локализованного в области решетчатого лабиринта. Лечение таких пациентов предопределяет использование антибактериальной, противовирусной, противогрибковой и другой специфической терапии, что в свою очередь может привести дополнительной сенсibilиза-

ции организма и ухудшить клиническое течение полипоза носа [5, 6].

Одним из патофизиологических вариантов формирования хронического воспалительного процесса верхних и нижних дыхательных путей является Т2-воспаление. Активация специфического клеточного профиля как врожденного, так и приобретенного иммунитета благодаря эозинофилам, врожденным лимфоидным клеткам (ВЛК2), базофилам, Th-2-лимфоцитам, В-лимфоцитам, синтезирующим IgE, дендритным клеткам, тучным клеткам и M2-макрофагам, в дальнейшем приводит к стимуляции секреции медиаторов воспаления IL-5, IL-13, IL-33, IL-4, IL-25, NARC, TSLP, эотаксина и созданию благоприятных условий для нарушения целостности эпителиального барьера, процесса ремоделирования слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух с дальнейшим рецидивирующим течением полипозного процесса [7, 13].

Дупилумаб контактирует с IL-4R -субъединицей, блокируя ее взаимодействие с IL-13 и IL-4 и вызывая торможение сигнальных путей, подавляя активность JAK/STAT и уменьшая каскад воспаления. В результате блока сигнальных путей IL-4/IL-13 моноклональное антитело уменьшает концентрацию инициаторов Т2-воспаления: иммуноглобулина Е, периостина, множественных провоспалительных цитокинов и хемокинов. При хронизации воспалительного процесса синтез цитокинов IL-13 и IL-4 возможен благодаря врожденным лимфоидным клеткам 2-го типа, Т-хелперам 2-го типа, тучным клеткам, эозинофилам и В-клеткам, ключевым Th0-лимфоцитам. Все это в последующем приводит к снижению миграции эозинофилов в ткани, уменьшению активации В-лимфоцитов и синтезу IgE, с гиперсекрецией слизи и ремоделированием тканей. Изучение фенотипа заболевания способствует пониманию особенностей клинической картины, оценка которых является важным критерием эффективности лечения и объяснения побочных эффектов терапии.

Заключение

При включении в лечение ПРС моноклональных антител исключительную важность представляет собой диагностика сопутствующих соматических заболеваний врачами смежных специальностей. Необходима оценка иммунологического статуса пациента для выявления как нежелательных явлений, так и прогнозирования кратковременных и долгосрочных последствий применения таргетной терапии.

Список литературы / References

1. Воротникова Н.А., Черненко Ю.В., Балашова Е.В. Дупиксент как образец персонифицированного подхода к терапии атопической бронхиальной астмы у детей // Кардиоваскулярная терапия и профилактика, 2022. Т. 21, № S2. С. 45. [Vorotnikova N.A., Chernenkov Yu.V., Balashova E.V. Dupixent as an example of a personalized approach to the treatment of atopic bronchial asthma in children. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika = Cardiovascular Therapy and Prevention*, 2022, Vol. 21, no. S2, p. 45. (In Russ.)]
2. Гизингер О.А., Коркмазов А.М., Коркмазов М.Ю. Состояние факторов антимикробной защиты назального секрета у пациентов, оперированных по поводу искривления носовой перегородки в ранний послеоперационный период // Российский иммунологический журнал, 2017. Т. 11, № 2. С. 117-119. [Giesinger O.A., Korkmazov A.M., Korkmazov M.Yu. The state of antimicrobial protection factors of nasal secretion in patients operated on the curvature of the nasal septum in the early postoperative period. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2017, Vol. 11, no. 2, pp. 117-119. (In Russ.)]
3. Коркмазов М.Ю., Зырянова К.С., Белошангин А.С. Оценка клинической эффективности фитотерапевтического лекарственного препарата в лечении и профилактике рецидивов острых риносинуситов у детей г. Челябинска // Медицинский совет, 2016. № 7. С. 90-93. [Korkmazov M.Yu., Zyryanova K.S., Beloshangin A.S. Evaluation of the clinical efficacy of a phytotherapeutic drug in the treatment and prevention of recurring acute rhinosinusitis in children of Chelyabinsk. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*, 2016, no. 7, pp. 90-93. (In Russ.)]
4. Коркмазов М.Ю., Ленгина М.А., Коркмазов А.М. Биохимические показатели характера оксидативного стресса в зависимости от проводимой послеоперационной терапии у пациентов, перенесших внутриносые хирургические вмешательства // Вестник оториноларингологии, 2016. Т. 81, № S5. С. 33-35. [Korkmazov M.Yu., Lengina M.A., Korkmazov A.M. Biochemical parameters of the nature of oxidative stress depending on the postoperative therapy in patients who underwent intra-nasal surgical interventions. *Vestnik otorinolaringologii = Bulletin of Otorhinolaryngology*, 2016, Vol. 81, no. S5, pp. 33-35. (In Russ.)]
5. Коркмазов М.Ю., Корнова Н.В., Ленгина М.А., Смирнов А.А., Коркмазов А.М., Дубинец И.Д. Эффективная антибактериальная терапия внебольничной оториноларингологической респираторной инфекции (клиническое описание) // Медицинский совет, 2022. № 20. С. 73-81. [Korkmazov M.Yu., Kornova N.V., Lengina M.A., Smirnov A.A., Korkmazov A.M., Dubinets I.D. Effective antibiotic therapy for community-acquired otorhinolaryngological respiratory infection (clinical description). *Meditsinskiy sovet = Medical Council*, 2022, no. 20, pp. 73-81. (In Russ.)]
6. Коркмазов М.Ю., Ленгина М.А., Коркмазов А.М., Корнова Н.В., Белошангин А.С. Лечение и профилактика различных форм ларингита на фоне острых респираторных инфекций // Медицинский совет, 2022. № 8. С. 79-87. [Korkmazov M.Yu., Lengina M.A., Korkmazov A.M., Kornova N.V., Beloshangin A.S. Treatment and prevention of various forms of laryngitis on the background of acute respiratory infections. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*, 2022, no. 8, pp. 79-87. (In Russ.)]
7. Коркмазов М.Ю., Казачков Е.Л., Ленгина М.А., Дубинец И.Д., Коркмазов А.М. Причинно-следственные факторы развития полипозного риносинусита // Российская ринология, 2023. Т. 31, № 2. С. 124-130. [Korkmazov M.Yu., Kazachkov E.L., Lengina M.A., Dubinets I.D., Korkmazov A.M. Cause-effect factors of rhinosinusitis poliposa development. *Rossiyskaya rinologiya = Russian Rhinology*, 2023, Vol. 31, no. 2, pp. 124-130. (In Russ.)]
8. Полипозный риносинусит. Клинические рекомендации. 2019. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.vodkb.ru/wp-content/uploads/pages/documents/klin-recomend/Polipoznyj-rinosinusit19.pdf>. [Polypous rhinosinusitis. Clinical recommendations. 2019. [Electronic resource]. Access mode: <https://www.vodkb.ru/wp-content/uploads/pages/documents/klin-recomend/Polipoznyj-rinosinusit19.pdf>. (In Russ.)]
9. Рисс М.Е., Райкова А.П. Перспективы лечения атопического дерматита генно-инженерными препаратами // Forcipe, 2021. Т. 4, № S1. С. 287. [Riss M.E., Raikova A.P. Prospects for the treatment of atopic dermatitis with genetically engineered drugs. *Forcipe = Forcipe*, 2021, Vol. 4, no. S1, p. 287. (In Russ.)]
10. Савлевич Е.Л., Курбачева О.М., Зурочка А.В., Митрофанова Е.С., Смолкин Ю.С., Любимова Е.В. Роль блокаторов лейкотриеновых рецепторов в терапии аллергического ринита в сочетании с полипозным риносинуситом // Медицинский совет, 2022. № 8. С. 111-116. [Savlevich E.L., Kurbacheva O.M., Zurochka A.V., Mitrofanova E.S., Smolkin Yu.S., Lyubimova E.V. The role of leukotriene receptor blockers in the treatment of

allergic rhinitis in combination with chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*, 2022, no. 8, pp. 111-116. (In Russ.)]

11. Хачанова Н.В. Высокоактивный рассеянный склероз – возможности выбора терапии моноклональными антителами // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова, 2019. Т. 119, № 10-2. С. 49-57. [Khachanova N.V. Highly active multiple sclerosis: options for monoclonal antibody therapy. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova = S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*, 2019, Vol. 119, no. 10-2, pp. 49-57. (In Russ.)]

12. de Corso E., Pasquini E., Trimarchi M., La Mantia I., Pagella F., Ottaviano G., Garzaro M., Pipolo C., Torretta S., Seccia V., Cantone E., Ciofalo A., Lucidi D., Fadda G.L., Pafundi P.C., Settini S., Montuori C., Anastasi F., Pagliuca G., Ghidini A., Cavaliere C., Maffei M., Bussu F., Gallo S., Canevari F.R.M., Paludetti G., Galli J. Dupilumab in the treatment of severe uncontrolled chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNP): A multicentric observational Phase IV real-life study (DUPIREAL). *Allergy*, 2023, Vol. 78, no. 10, pp. 2669-2683.

13. Fokkens W.J., Lund V.J., Hopkins C., Hellings P.W., Kern R., Reitsma S., Toppila-Salmi S., Bernal-Sprekelsen M., Mullol J. Executive summary of EPOS 2020 including integrated care pathways. *Rhinology*, 2020, Vol. 58, no. 2, pp. 82-111.

14. Kim J., Naclerio R. Therapeutic potential of dupilumab in the treatment of chronic rhinosinusitis with nasal polyps: evidence to date. *Ther. Clin. Risk Manag.*, 2020, Vol. 16, pp. 31-37.

15. Zaazouee M.S., Alwarraqi A.G., Mohammed Y.A., Badheeb M.A., Farhat A.M., Eleyan M., Morad A., Zeid M.A.-A., Mohamed A.S., AbuEl-Enien H., Abdelalim A., Elsnhory A.B., Hrizat Y.S.M., Althahir N.T., Atef D., Elshanbary A.A., Alsharif K.F., Alzahrani K.J., Algahtani M., Theyab A., Hawsawi Y.M., Aldarmahi A.A., Abdel-Daim M.M. Dupilumab efficacy and safety in patients with moderate to severe asthma: A systematic review and meta-analysis. *Front. Pharmacol.*, 2022, Vol. 13, 992731. doi: 10.3389/fphar.2022.992731.

Авторы:

Ленгина М.А. – к.м.н., доцент кафедры оториноларингологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Коркмазов М.Ю. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой оториноларингологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Карпов И.А. – д.м.н., доцент, профессор кафедры пластической хирургии и косметологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Учаев Д.А. – старший научный сотрудник ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Мочалов Ю.А. – студент ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Воеводина П.А. – студентка ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Трикула О.В. – студентка ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Authors:

Lengina M.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Otorhinolaryngology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Korkmazov M.Yu., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Otorhinolaryngology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Karpov I.A., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Professor, Department of Plastic Surgery and Cosmetology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Uchaev D.A., Senior Research Associate, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Mochalov Yu.A., Student, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Voevodina P.A., Student, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Trikula O.V., Student, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Абубакирова Э.А.	123	Ленгина М.А.	157
Альтман Д.Ш.	109	Ли Ю.А.	83
Антонова Л.В.	43	Маркелова Е.В.	83
Барков С.Ю.	19	Матвеева В.Г.	43
Бердюгина О.В.	49	Мовсисян Г.Б.	135
Береснева Н.С.	117	Мосунов А.А.	57
Бочкарев П.Ю.	117	Мочалов Ю.А.	157
Бочкова М.С.	33	Мухлынина Е.А.	13
Буракова Е.А.	25	Немцева И.Ю.	83
Бурцев Д.В.	145	Павлова Д.С.	145
Быстров А.М.	103	Парахина Д.В.	135
Бычкова С.В.	73	Пашнин С.Л.	109
Верховская М.Д.	91	Петричук С.В.	135
Воеводина П.А.	157	Плехова Н.Г.	129
Гаврилова Е.Д.	25	Попадюк В.И.	151
Гетте И.Ф.	7, 13	Потапов А.С.	135
Гизингер О.А.	151	Просекова Е.В.	129
Гойман Е.В.	25	Радыгина Т.В.	135
Гусев Е.Ю.	65, 117	Ремизова И.И.	73
Давыдова Е.В.	109	Сабадаш Е.В.	65
Данилова Д.И.	145	Семикина Е.Л.	135
Данилова И.Г.	7	Скорняков С.Н.	65
Держалова А.Ш.	25	Созыкин К.О.	13
Дмитраченко М.Н.	83	Соколова К.В.	7
Евдокимов А.В.	123	Соломатина Л.В.	117
Ершова А.В.	65	Сташкевич Д.С.	123
Журавлёва Ю.А.	65	Степанян А.А.	7
Забокрицкий Н.А.	39	Стеценко Д.А.	25
Заморина С.А.	33	Тимганова В.П.	33
Зотова Н.В.	65	Торгунакова Е.А.	43
Зудова А.И.	117	Трикула О.В.	157
Кабалык М.А.	129	Туканов Д.А.	7
Карпов И.А.	157	Усанина Д.И.	33
Ковальчук В.К.	83	Учаев Д.А.	157
Козлова Д.И.	135	Фисенко А.П.	135
Комарова А.Д.	135	Хижа В.В.	135
Коркмазов А.М.	151	Чистякова Г.Н.	73
Коркмазов М.Ю.	157	Шилов С.Ю.	19
Корнова Н.В.	151	Шилов Ю.И.	19
Королев И.Б.	83	Шуматов В.Б.	129
Костинов М.П.	83	Ягубова Г.Х.	73
Кузнецов А.А.	103	Ямилова О.Ю.	83
Купцова Д.Г.	135	Яркиева А.А.	65
Курбатова О.В.	135		

аллергический ринит.....	151	общие иммуноглобулины М.....	92
аллергический синдром.....	92	однонуклеотидная замена.....	123
аллостатический груз.....	110	ожирение.....	14
аналоги ДНК.....	26	оксидативный стресс.....	8
антагонисты TLR9.....	26	оксид графена.....	34
аутоиммунные заболевания.....	26	органы иммунопоэза.....	8
аутоиммунный гепатит.....	136	остеоартрит.....	129
бактерицидная функция.....	58	перинатальные нарушения.....	74
белки теплового шока.....	129	пищевая аллергия.....	146
боевой стресс.....	110	полиморфизм гена TLR3.....	123
болезнь Вильсона.....	136	полипозный риносинусит.....	157
вазоактивные факторы.....	110	последовательная вакцинация.....	84
вакцинация.....	84	постковидный синдром.....	50, 58, 66, 92
вирус SARS-CoV-2.....	92	посттравматическое стрессовое расстройство.....	110
внепанкреатические инсулин-продуцирующие клетки.....	8	пробиотики.....	39
воспаление.....	20	провоспалительные цитокины.....	110
врожденный иммунитет.....	84	прокальцитонин.....	118
геморрагический инсульт.....	118	проточная цитометрия.....	44
генетическая предрасположенность.....	123	реакция «трансплантат против хозяина».....	26
гепатопикты.....	39	регуляторные Т-клетки.....	26
гипегликемия.....	14	риамилловир.....	50
гомеостаз кишечника.....	123	сахарный диабет второго типа.....	8
грипп.....	84	секреторный иммуноглобулин А.....	151
гуморальный иммунитет.....	39, 92	селезенка.....	8
дегидроэпиандростерон.....	20	сенная палочка.....	39
дети.....	136	система комплемента.....	92
дислипидемия.....	14	специфические IgE.....	146
доношенный новорожденный.....	74	ТАБ.....	146
жизнеспособность.....	34	таргетная терапия.....	157
западная диета.....	14	тест активации базофилов.....	146
зимозановый перитонит.....	20	токсический гепатит.....	39
иммунитет.....	129	тропонин I.....	118
иммунокоррекция.....	151	туберкулез.....	66
иммунологическая толерантность.....	26	тяжесть течения COVID-19.....	50
иммунопатогенез.....	157	фагоцитарная функция.....	58
иммуносупрессивная интраокулярная среда.....	104	фактор роста эндотелия.....	104
иммуносупрессорные олигонуклеотиды.....	26	ФГА.....	34
иммунотропная активность.....	39	фиброз печени.....	136
инсулинорезистентность.....	14	хемокины.....	129, 136
интерлейкины.....	118	хронические болезни печени.....	136
кератопластика.....	104	хроническое системное гипервоспаление.....	66
клеточный иммунитет.....	58	цитокиновый профиль.....	84
люминолзависимая хемилуминисценция.....	20	цитокины.....	74, 129, 136
медиаторы воспаления.....	129	экспериментальный диабет.....	8
метаболиты.....	39	эндотелиальная дисфункция.....	66
микрорегмоциркуляция.....	110	эндотелиальные колониеформирующие клетки.....	44
миоглобин.....	118	CD69.....	34, 58, 66, 74, 84, 92
модель метаболического синдрома.....	14	D-димеры.....	118
моноклональные антитела.....	157	IFN α -2b человеческий рекомбинантный.....	50
назальный секрет.....	151	IL-2.....	34
нейтрофилы.....	58	Jurkat.....	34
неспецифический язвенный колит.....	123	SARS-CoV-2.....	50, 58
низкоинтенсивное системное воспаление.....	66	TGF- β	104
общие иммуноглобулины А.....	92	TNF α	118
общие иммуноглобулины G.....	92	Toll-подобные рецепторы.....	123

**ПОДПИСНОЙ ИНДЕКС:
ПРЕССА РОССИИ – 15590**

ISSN 1028-7221



9 771234 567898