

Том 23, №1, С. 1 – 108

2020

Официальный журнал
Российского Научного Общества Иммунологов

**РОССИЙСКИЙ
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ**



**RUSSIAN JOURNAL
OF IMMUNOLOGY**

Official Journal of
Russian Society of Immunology

Volume 23
Number 1

2020



РОССИЙСКИЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Расширенный поиск

ГЛАВНАЯ

О ЖУРНАЛЕ

ТЕКУЩИЙ ВЫПУСК

АРХИВЫ

ОБЪЯВЛЕНИЯ



Журнал является официальным изданием Российского научного общества иммунологов.

ISSN 1028-7221

Основан в 1996 г.

Периодичность: 4 раза в год

Главный редактор: академик РАН В.А. Черешнев

Включен в перечень изданий, рекомендованных ВАК для публикации научных результатов, диссертации на соискание ученой степени кандидата и

[Читать далее](#)

ТЕКУЩИЙ ВЫПУСК

Том 22, № 1 (2019)

Скачать выпуск PDF

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ОБ ОСОБЕННОСТЯХ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ ГОЛОГО ЗЕМЛЕКОПА

Е. А. Горшкова, Е. О. Губернаторова, А. Д. Медведовская, М. Ю. Высоких, С. Хольце, Т. Б. Хильдебрандт, М. С. Друцкая, С. А. Недоспасов

PDF (RUS)

5-12 4

Аннотация

ТСR-МУТАЦИИ В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И ИММУННЫЙ СТАТУС У ЛИЦ, ПОДВЕРГШИХСЯ ХРОНИЧЕСКОМУ РАДИАЦИОННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ, В ОТДАЛЁННЫЕ СРОКИ

А. А. Аклеев, Е. А. Блинова, И. И. Долгушин

PDF (RUS)

13-23 1

Аннотация

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СУБПОПУЛЯЦИЙ ОПУХОЛЬ-ИНФИЛЬТРИРУЮЩИХ Т-ЛИМФОЦИТОВ УОРТИНО-ПОДОБНОГО ВАРИАНТА ПАПИЛЛЯРНОГО РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А. В. Боголюбова, А. Ю. Абросимов, Л. С. Селиванова, Н. Ю. Двинских, Д. В. Купраш, П. В. Белоусов

PDF (RUS)

24-30

Аннотация

IN SILICO АНАЛИЗ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ Т-КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ, СПЕЦИФИЧНЫХ К МИНОРНОМУ АНТИГЕНУ ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ НА-2



Отправить статью

Правила для авторов

Редакционная коллегия

Редакционный совет

Рецензирование

Этика публикаций



ПОПУЛЯРНЫЕ СТАТЬИ

ОБ ОСОБЕННОСТЯХ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ ГОЛОГО ЗЕМЛЕКОПА

Том 22, № 1 (2019)

ТСR-МУТАЦИИ В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И ИММУННЫЙ СТАТУС У ЛИЦ, ПОДВЕРГШИХСЯ ХРОНИЧЕСКОМУ РАДИАЦИОННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ, В ОТДАЛЁННЫЕ СРОКИ

Том 22, № 1 (2019)

ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ФЕНОТИП И РИСК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЖЕНЩИН В ПОСТМЕНОПАУЗЕ

Том 22, № 1 (2019)

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯТЫ КАНДИДАТНОЙ ДНК-ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИЧ-1 СУБТИПАА

Том 22, № 2-1 (2019)

ПРЕПАРАТЫ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ В ОНКОЛОГИИ

Том 22, № 2-1 (2019)

ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МОНОЦИТОВ КРОВИ В УСЛОВИЯХ ОЗОНОТЕРАПИИ ПРИ ИЗОЛИРОВАННЫХ ПЕРЕЛОМАХ БЕДРЕННОЙ КОСТИ

Том 22, № 2-1 (2019)

- Электронная редакция
- Подача статей online
- Проверка рукописей на АНТИПЛАГИАТ

- Online-версия журнала
- DOI для каждой публикации
- Весь архив в PDF-формате
- Поиск статей по ключевым словам, авторам, заглавиям

«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 Russian Science Citation Index (RSCI), полностью интегрированный с платформой Web of Science

РОССИЙСКОЕ НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО ИММУНОЛОГОВ
(РНОИ)

РОССИЙСКИЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

январь-март

2020, том 23

№. 1

Основан в 1996 году

Главный редактор

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

Заместитель главного редактора

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

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

Редакционная коллегия

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Петров Рэм Викторович – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом иммунологии Института биорганотической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

Полторак Александр – профессор, Школа биомедицинских наук имени Саклера, Университет Тафта, Бостон, США

Продеус Андрей Петрович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой педиатрии РНИМУ имени Н.И. Пирогова, руководитель отделения иммунологии и ревматологии детей и подросткового ФНКЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии, Москва, Россия

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

Села 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, инфекционной и иммунологии, Вена, Австрия

Фрейдлин Ирина Соломоновна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник Института экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

Хайтов Муса Рахимович – член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия

Хайтов Рахим Мусаевич – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, научный руководитель ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России (Москва), главный специалист аллерголог-иммунолог Минздрава России, президент Российской Ассоциации Аллергологов и Клинических Иммунологов, Москва, Россия

Ответственные секретари:

Ризопулу А.П., д.б.н. (Москва)

Ракитянская Н.В. (Санкт-Петербург)

E-mail: rusimmun@gmail.com

Редактор перевода:

Исаков Д.В., к.м.н. (Санкт-Петербург)

Редактор электронной версии:

Ерофеева В.С. (Санкт-Петербург)

Редакция: тел./факс (812) 233-08-58

Адрес для корреспонденции:

Редакция журнала «Российский иммунологический журнал»

197101, Санкт-Петербург, а/я 130

Электронная версия: www.rusimmun.ru

© Российский иммунологический журнал

Журнал зарегистрирован Министерстве РФ по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций (свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ №77-11255 от 04.01.2002 г.)

Хайдуков Сергей Валерьевич – доктор биологических наук, ФГБУН Институт биорганотической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, старший научный сотрудник; ФГБУ Российская Детская Клиническая Больница, Центральная клиническая лаборатория, Москва, Россия

Шварц Герберт – Школа медицины Йонг Лу Лин Национального университета Сингапура

Редакционный совет

Арион Виталий Яковлевич – доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии и биохимии Федерального научно-клинического Центра физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

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 углехимии СО РАН, Кемерово, Россия

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

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

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

Карамов Эдуард Владимирович – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией иммунохимии ФИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия

Колесникова Наталья Владиславовна – доктор биологических наук, профессор, Кубанский государственный медицинский университет, кафедра клинической иммунологии и аллергологии, Краснодар, Россия

Нестерова Ирина Вадимовна – доктор медицинских наук, профессор, Российский университет дружбы народов, кафедра аллергологии и иммунологии ФПК; Институт иммунофизиологии, Москва, Россия

Раев Михаил Борисович – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов УРО РАН, Пермь, Россия

Румянцев Александр Григорьевич – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, президент Национального медицинского исследовательского центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, Москва, Россия

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

Спишаишвили 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 Н.Н. Габричевского Роспотребнадзора, заведующая лабораторией цитокинов, ведущий научный сотрудник, Москва, Россия

Тузанкина Ирина Александровна – доктор медицинских наук, профессор, Институт иммунологии и физиологии УРО РАН, главный научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления, главный детский иммунолог-аллерголог Минздрава Свердловской области, руководитель регионального Центра клинической иммунологии, Екатеринбург, Россия

Тутельян Алексей Викторович – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией госпитальных инфекций и эпидемиологического анализа, Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Федосова Татьяна Германовна – доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия

Чекнёв Сергей Борисович – доктор медицинских наук, заместитель директора по научной работе ФИЦ 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 14.04.2020 г. Формат 60 x 90 1/8. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 13,5. Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.)

Заказ № 182

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

2020, volume 23

No. 1

Published since 1996

Editor-in-chief

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

Deputy Editor-in-Chief

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

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

Editorial board

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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)

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

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

Editorial Council

Vitaliy Ya. Arion – MD, PhD, Professor, Head Researcher, Laboratory of Molecular Immunology and Biochemistry, Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russian Federation

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

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

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

Tatiana G. Fedoskova – PhD, MD (Medicine), Professor, State Research Center Institute of Immunology FMBA, Moscow, Russian Federation

Firuz Yu. Garib – MD, PhD, Professor, Department of Immunology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Andrey N. Glushkov – MD, PhD, Professor, Director of Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of SB RAS, Kemerovo, Russian Federation

Igor S. Gushchin – MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Natural Sciences, Head of the Department of Clinical Immunology and Allergology №60, 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 Immunochimistry, N. F. Gamaleya Institute of Epidemiology and Microbiology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russian Federation

Natalya V. Kolesnikova – PhD, Professor, Department of Clinical Immunology and Allergology, Kuban State Medical Academy, Krasnodar, Russian Federation

Irina V. Nesterova – MD, PhD, Professor, Department of Allergology and Immunology, RUDN University, Moscow, Russian Federation

Mikhail B. Rayev – PhD, Professor, Leading Researcher, Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm, Russian Federation

Alexander G. Rumyantsev – PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, President of National Scientific-Practical Center of Pediatric Hematology, Moscow, Russian Federation

Revaz I. Sepiashvili – MD, PhD, Prof., Academician of the Georgian National Academy of Sciences, Head of the Department of Allergology and Immunology, Peoples' Friendship University of Russia, Head of the Institute of Immunophysiology (Moscow, Russia) Russian Federation

Ludmila P. Sizyagina – MD, PhD, Professor, Head of the Institute of Clinical Immunology, Rostov State Medical University, Head of the Department of Clinical Immunology and Allergology, Faculty of Postgraduate Professional Training of Physicians, Rostov State Medical University (Rostov-on-Don, Russia) Russian Federation

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

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

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

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

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

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

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

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 14.04.2020. Print format 60 x 90 1/8. Offset printing.

Printed sheets 13.5. 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

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|--|-----|
| Юбилей | 7 |
| Обзоры | |
| Асфандиярова Н.С. САХАРНЫЙ ДИАБЕТ 2 ТИПА – АУТОИММУННОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ? | 9 |
| Румянцев А.Г., Демина О.М., Райкина Е.В. ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ АКНЕ | 19 |
| Оригинальные статьи | |
| Астраханцева И.В., Гладкова Л.С., Василенко Е.А., Тарабыкин В.С., Друцкая М.С., Недоспасов С.А. НОВАЯ ЛИНИЯ МУТАНТНЫХ МЫШЕЙ С ИЗБИРАТЕЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ОДНОМУ ИЗ ДВУХ ПРОТОКОЛОВ СЕПТИЧЕСКОГО ШОКА | 27 |
| Королев А.Г., Новоселецкая А.В., Киселева Н.М. ИЗУЧЕНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ α-СУБЪЕДИНИЦ Na/K-АТФазы В СТРУКТУРАХ МОЗГА КРЫС В МОДЕЛИ ПАРКИНСОПОДОБНОГО СИНДРОМА И ПОСЛЕ КОРРЕКЦИИ ГОРМОНОМ ТИМУСА | 35 |
| Щуковская Т.Н., Курылина А.Ф., Шавина Н.Ю., Бугоркова С.А. ВЛИЯНИЕ ПОЛИОКСИДОНИЯ, Poly(I:C), ДАЛАРГИНА НА ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ВАКЦИННОГО ШТАММА YERSINIA PESTIS EV НИИЭГ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧУМЕ | 41 |
| Масляков В.В., Павлова О.Н., Федотова Н.Н., Абакумова Ю.В. ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОГО СТАТУСА ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ С УЧЕТОМ ГЕНДЕРНЫХ РАЗЛИЧИЙ | 51 |
| Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Мун С.А., Гордеева Л.А., Костянюк М.В., Луценко В.А., Колпинский Г.И., Брежнева Е.В., Вафин И.А. ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ФЕНОТИП И ГОРМОНАЛЬНЫЙ БАЛАНС У ЖЕНЩИН В ПОСТМЕНОПАУЗЕ | 61 |
| Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Мун С.А., Гордеева Л.А., Костянюк М.В., Колпинский Г.И., Луценко В.А., Антонов А.В., Титов В.А., Вафин И.А. АНТИТЕЛА К ХИМИЧЕСКИМ КАНЦЕРОГЕНАМ И ПОЛОВЫМ СТЕРОИДАМ И СОДЕРЖАНИЕ ЭСТРАДИОЛА И ПРОГЕСТЕРОНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЖЕНЩИН, БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, И МУЖЧИН, БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО | 69 |
| Балашов Д.Н., Масчан М.А., Щербина А.Ю., Румянцев А.Г. ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПАЦИЕНТАМ С ПЕРВИЧНЫМИ ИММУНОДЕФИЦИТАМИ ОТ АЛЬТЕРНАТИВНОГО ДОНОРА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ИНЖИНИРИНГА ТРАНСПЛАНТАТА | 79 |
| Краткие сообщения | |
| Саркисян Н.Г., Дроздова Л.И., Умарова Д.С., Соловьева Д.А., Хлыстова К.А. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОЛИОКСИДОНИЯ В МЕДИКАМЕНТОЗНОМ ЛЕЧЕНИИ МОДЕЛИ ХРОНИЧЕСКОГО ПАРОДОНТИТА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ) | 91 |
| Терешин О.С., Семенова А.Б., Важенин А.В., Долгушин И.И., Никушкина К.В., Никонова Т.И. ПОВЫШЕНИЕ УРОВНЯ ПЕПТИДИЛ-АРГИНИН ДЕИМИНАЗЫ 4 ТИПА В КРОВИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПОДТИПАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ | 97 |
| Некролог | 103 |
| Правила для авторов | 104 |
| Авторский указатель | 108 |
| Предметный указатель | 108 |

CONTENTS

| | |
|--|-----|
| Anniversary | 7 |
| Reviews | |
| <i>Asfandiyarova N.S.</i> TYPE 2 DIABETES MELLITUS – AN AUTOIMMUNE DISEASE? | 9 |
| <i>Rumyantsev A.G., Demina O.M., Raikina E.V.</i> PATHOGENETIC MECHANISM OF ACNE-COUPLED INFLAMMATION | 19 |
| Original articles | |
| <i>Astrakhantseva I.V., Gladkova L.S., Vasilenko E.A., Tarabykin V.S., Drutskaya M.S., Nedospasov S.A.</i> NEW STRAIN OF MUTANT MICE CHARACTERIZED BY SELECTIVE RESISTANCE TO ONE OF TWO SEPTIC SHOCK PROTOCOLS ... | 27 |
| <i>Korolev A.G., Novoseletskaia A.V., Kiseleva N.M.</i> STUDY OF Na/K-ATPase α -SUBUNIT DISTRIBUTION IN RAT CEREBRAL STRUCTURES IN PARKINSON-LIKE SYNDROME MODEL AND AFTER THYMUS HORMONE CORRECTION | 35 |
| <i>Shchukovskaya T.N., Kurylina A.F., Shavina N.Yu., Bugorkova S.A.</i> INFLUENCE OF POLYOXIDONIUM, Poly(I:C), DALARGIN ON THE PROTECTIVE EFFICACY OF <i>YERSINIA PESTIS</i> VACCINE STRAIN EV LINE NIIEG IN EXPERIMENTAL PLAGUE | 41 |
| <i>Maslyakov V.V., Pavlova O.N., Fedotova N.N., Abakumova Yu.V.</i> GENDER-RELATED IMMUNE STATUS IN ISCHEMIC STROKE | 51 |
| <i>Glushkov A.N., Polenok E.G., Mun S.A., Gordeeva L.A., Kostyanko M.V., Lutsenko V.A., Kolpinskiy G.I., Brezhneva E.V., Vafin I.A.</i> IMMUNOLOGICAL PHENOTYPE AND HORMONAL BALANCE IN POSTMENOPAUSAL WOMEN | 61 |
| <i>Glushkov A.N., Polenok E.G., Mun S.A., Gordeeva L.A., Kostyanko M.V., Kolpinskiy G.I., Lutsenko V.A., Antonov A.V., Titov V.A., Vafin I.A.</i> ANTIBODIES SPECIFIC TO CHEMICAL CARCINOGENS AND SEX STEROIDS AS WELL AS SERUM ESTRADIOL AND PROGESTERONE LEVELS IN FEMALES WITH BREAST CANCER AND LUNG CANCER MALES | 69 |
| <i>Balashov D.N., Maschan M.A., Shcherbina A.Yu., Rumyantsev A.G.</i> HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION IN PATIENTS WITH PRIMARY IMMUNODEFICIENCY DERIVED FROM AN ALTERNATIVE DONOR BY USING NEW TRANSPLANT ENGINEERING TECHNOLOGIES..... | 79 |
| Short communications | |
| <i>Sarkisyan N.G., Drozdova L.I., Umarova D.S., Solovyova D.A., Khlystova K.A.</i> ASSESSED EFFICACY OF POLYOXIDONIUM IN MEDICATED TREATMENT OF MODELLED CHRONIC PERIODONTITIS (EXPERIMENTAL STUDY) | 91 |
| <i>Tereshin O.S., Semenova A.B., Vazhenin A.V., Dolgushin I.I., Nikushkina K.V., Nikonova T.I.</i> INCREASED SERUM LEVEL OF PEPTIDYL ARGININE DEIMINASE TYPE 4 IN VARIOUS MOLECULAR BIOLOGICAL SUBTYPES OF BREAST CANCER | 97 |
| Obituary | 103 |
| Instructions to Authors | 104 |
| Author index | 108 |
| Subject index | 108 |



**РОССИЙСКОЕ НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО
ИММУНОЛОГОВ С ГЛУБОЧАЙШИМ
ПОЧТЕНИЕМ И БЛАГОДАРНОСТЬЮ
ОТ ИМЕНИ ВСЕХ ИММУНОЛОГОВ РОССИИ
И СТРАН БЫВШЕГО СОВЕТСКОГО СОЮЗА
ПОЗДРАВЛЯЕТ ОСНОВОПОЛОЖНИКА
ИММУНОЛОГИИ В НАШИХ СТРАНАХ
РЭМА ВИКТОРОВИЧА ПЕТРОВА,
БЕССМЕННОГО ПОЧЕТНОГО ПРЕЗИДЕНТА
РНОИ, С ЗАМЕЧАТЕЛЬНЫМ 90-ЛЕТНИМ
ЮБИЛЕЕМ!**

Рэм Викторович Петров является одним из ведущих в мире специалистов в области фундаментальной и прикладной иммунологии.

Рэм Викторович — автор многих важных и широко известных научных достижений по проблемам иммуногенетики, клеточных взаимодействий, регуляции иммунного ответа, влияния синтетических полимерных соединений на функции иммунокомпетентных клеток; автор открытия эффектов взаимодействия центральных элементов системы кроветворения — кроветворных стволовых клеток с центральными клетками системы иммунитета — лимфоцитами. Изучение механизмов этого феномена привело к выявлению клеточных форм иммунной системы, регулирующих кроветворение, и к открытию регуляторных пептидов костного мозга — миелопептидов. На основе костномозговых пептидов созданы лекарственные препараты — миелопид, бивален, серамил. Разработка влияния синтетических полимерных соединений на функции иммунокомпетентных клеток привела к созданию первого в мире синтетического полифункционального адьюванта-иммуномодулятора — полиоксидония — и технологии конструирования с его использованием вакцин нового поколения.

Рэмом Викторовичем были разработаны подходы к созданию принципиально нового класса препаратов для специфической иммунотерапии аллергических состояний — аллерготропинов на основе конъюгатов полиоксидония с высокоочищенными аллергенами или аллергоидами, выделенными из пыльцы растений (аллерготропин берпол, тимпол, полпол). Результаты показали, что аллерготропины значительно повышают эффективность иммунотерапии.

По инициативе Рэма Викторовича и под его руководством была проведена работа по оценке иммунного статуса человека, динамическому слежению за его состоянием у больших контингентов взрослого и детского населения различных регионов, изучению влияния на него экологически неблагоприятных факторов. Созданная методология была внедрена в практическое здравоохранение с созданием сети региональных центров и лабораторий клинической иммунологии, накоплен массив данных по программе «Иммунный статус населения», создана иммунологическая карта страны.

Рэм Викторович уделяет большое внимание развитию в стране бионанотехнологий: нанодиагностике и нанодетекции, наноконструированию новых лечебных препаратов.

Имя Р.В. Петрова известно во всем мире. Он является автором 16 монографий, учебника «Иммунология». Более 60 его научных трудов, включая 8 монографий, опубликованы в США, Франции, Японии и других странах. Р.В. Петров — автор многих научно-популярных и научно-художественных книг и статей.

О признании таланта ученого и научных заслуг Рэма Викторовича свидетельствуют избрание его академиком АМН и АН СССР, присвоение ему звания Герой Социалистического Труда (орден Ленина), награждение орденом Октябрьской Революции и орденом за заслуги перед Отечеством III степени, получение Государственных премий Российской Федерации в области науки и технологий и многих других наград.

Рэм Викторович воспитал целую плеяду высококлассных специалистов, ставших известными учеными, среди которых доктора наук, профессора, члены-корреспонденты, академики. Рэм Викторович и его ученики являются руководителями многих проектов в сфере иммунологии.

Все иммунологическое сообщество очень ценит человеческую мудрость Рэма Викторовича, доброжелательность в отношениях с людьми, неиссякаемую энергию и оптимизм.

Желаем Вам, дорогой Рэм Викторович, доброго здоровья, новых научных достижений и много новых талантливых учеников!

САХАРНЫЙ ДИАБЕТ 2 ТИПА – АУТОИММУННОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ?

Асфандиярова Н.С.

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения РФ, г. Рязань, Россия

Резюме. Последние годы обсуждается принадлежность сахарного диабета 2 типа (СД) к аутоиммунным заболеваниям. Участие врожденного иммунитета в развитии воспаления при ожирении и инсулинорезистентности, обуславливающих развитие СД 2 типа, общеизвестно. Эти изменения, наряду с глюко- и липотоксичностью, приводят к гибели β -клеток поджелудочной железы, появлению аутоантигенов и развитию аутоиммунных реакций как гуморального, так и клеточного типа. Эффективность ряда препаратов, используемых в лечении аутоиммунных заболеваний, также приводит некоторых авторов к заключению, что СД 2 типа можно отнести к аутоиммунным заболеваниям. Однако большинство исследователей полагают, что наличие аутоиммунного компонента является побочным эффектом воспаления, и не рассматривают СД 2 типа как аутоиммунное заболевание.

Представлен альтернативный вариант участия аутоиммунных реакций в патогенезе СД 2 типа: вирусная инфекция способствует развитию противовирусного иммунитета, однако при наличии перекрестно-реагирующих антигенов с инсулином наблюдается формирование аутоиммунной реакции. У большинства пациентов при наличии эффективно работающей системы иммунитета клон аутоагрессивных клеток, сенсibilизированных к инсулину, разрушается. У небольшой части больных с дефектом иммунной системы сенсibilизированные к инсулину лимфоциты не погибают, и это приводит к деструкции островковых клеток поджелудочной железы и развитию СД 1 типа. У остальных пациентов система иммунитета также не может удалить клон клеток с признаками аутоагрессии, но она пытается подавить этот эффект путем блокировки инсулиновых рецепторов на иммунокомпетентных клетках. Ей этот маневр удается, супрессия обратима. Однако инсулиновые рецепторы располагаются в большом количестве не только на сенсibilизированных лимфоцитах, но и на клетках печени, мышцах, жировой ткани. Эффект блокировки инсулиновых рецепторов в инсулинчувствительных тканях способствует развитию первичной инсулинорезистентности, которая предшествует и способствует развитию ожирения. В последующем, при избыточном поступлении жиров с пищей, ожирение прогрессирует, происходит вовлечение в патологический процесс всего каскада воспалительных реакций. Это, в свою очередь, способствует формированию вторичной инсулинорезистентности, которая и обуславливает развитие СД 2 типа и сердечно-сосудистых заболеваний и т.д.

СД 2 типа не относится к аутоиммунным заболеваниям, однако супрессированные аутоиммунные реакции по отношению к инсулину играют роль в развитии инсулинорезистентности.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, патогенез, воспаление, инсулинорезистентность, аутоиммунные реакции, вирусы семейства *Paramyxoviridae*

Адрес для переписки:

Асфандиярова Наиля Сайфуллаевна
ФГБОУ ВО «Рязанский государственный
медицинский университет имени академика
И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ
390026, Россия, г. Рязань, ул. Высоковольтная, 9.
Тел.: 8 (4912) 98-40-67.
E-mail: n.asfandiyarova2010@yandex.ru

Address for correspondence:

Asfandiyarova Nailya S.
Ryazan State I. Pavlov Medical University
390026, Russian Federation, Ryazan,
Visokovoltnaya str., 9.
Phone: 7 (4912) 98-40-67.
E-mail: n.asfandiyarova2010@yandex.ru

Образец цитирования:

Н.С. Асфандиярова «Сахарный диабет 2 типа – аутоиммунное заболевание?» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 1. С. 9-18.
doi: 10.46235/1028-7221-001-TDM
© Асфандиярова Н.С., 2020

For citation:

N.S. Asfandiyarova "Type 2 diabetes mellitus – an autoimmune disease?", *Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal*, 2020, Vol. 23, no. 1, pp. 9-18.
doi: 10.46235/1028-7221-001-TDM
DOI: 10.46235/1028-7221-001-TDM

TYPE 2 DIABETES MELLITUS – AN AUTOIMMUNE DISEASE?

Asfandiyarova N.S.

Ryazan State I. Pavlov Medical University, Ryazan, Russian Federation

Abstract. In recent years, the association of type 2 diabetes mellitus (DM) to autoimmune diseases has been discussed. Participation of innate immunity in the development of inflammation in obesity and insulin resistance, which determine the development of type 2 DM is well known. These changes, along with gluco- and lipotoxicity, lead to the destruction of the pancreatic β cells, emergence of autoantigens and development both humoral and cell type autoimmune reactions. The effectiveness of drugs used in the treatment of autoimmune diseases also leads some authors to the conclusion that type 2 diabetes can be referred to autoimmune diseases. However, most researchers believe that the presence of an autoimmune component is a side effect of inflammation and do not consider type 2 diabetes as an autoimmune disease.

Alternatively, autoimmune reactions may take part in the pathogenesis of type 2 diabetes because: a viral infection contributes to the development of antiviral immunity, however, in the presence of insulin-cross-reactive antigens, an autoimmune reaction is observed. Most patients with uncompromised immune system, the clone of auto-aggressive cells sensitized to insulin is destroyed. In a small percentage of patients with impaired immune system, insulin-sensitized lymphocytes do not die that leads to destruction of pancreatic islet cells and development of type 1 diabetes. In other patients, on the one hand, the immune system is also unable to remove the cell clone exerting signs of autoaggression, but it tries to suppress this effect by blocking insulin receptors on immunocompetent cells. This maneuver succeeds, and suppression is reversible. However, insulin receptors are abundant not only on sensitized lymphocytes, but also on liver cells, muscles, and adipose tissue. The effect of blocking insulin receptors in insulin-sensitive tissues contributes to the development of primary insulin resistance, which precedes and contributes to the development of obesity. Subsequently, excessive intake of dietary fats results in obesity progression, so that the entire cascade of inflammatory reactions is involved in the pathological process. This, in turn, contributes to the formation of secondary insulin resistance, which accounts for the development of type 2 diabetes and cardiovascular diseases and so on.

Type 2 diabetes does not belong to autoimmune diseases, but suppressed autoimmune reactions with respect to insulin play a role in the development of insulin resistance.

Keywords: type 2 diabetes mellitus, pathogenesis, inflammation, insulin resistance, autoimmunity, Paramyxoviridae viruses

Введение

Увеличение роста распространенности сахарного диабета (СД) во всем мире, и в Российской Федерации в том числе, сопровождается значительным социальным ущербом [5, 6, 18, 23], что требует проведения фундаментальных исследований для разработки новых концепций патогенеза и, соответственно, лечения.

Система иммунитета — одна из систем, определяющих гомеостаз организма, ранее практически не рассматривалась как возможный участник развития патологического процесса при СД 2 типа. Появление новых технологий позволило определить значимость воспалительных реакций в развитии ожирения и инсулинорезистентности, обуславливающих развитие СД 2 типа [27, 29, 41]. Доказано участие в генезе заболевания как реакций врожденного, так и адаптивного иммунитета [17, 20]. Вместе с тем исследование показателей последнего у больных СД 2 типа вы-

явило наличие изменений, характерных для аутоиммунитета, позволивших предположить участие аутоиммунных реакций в развитии патологического процесса, что привело к некоторому замешательству диабетологов: СД 2 типа — аутоиммунное заболевание?! И если принадлежность СД 1 типа к аутоиммунным заболеваниям является доказанным фактом и никем не оспаривается [4], то предположение о принадлежности СД 2 типа к этой группе заболеваний вызвало многочисленные дискуссии. Сторонники участия аутоиммунитета в развитии заболевания, приводя аргументы, свидетельствующие о выявлении аутоиммунных реакций у пациентов с этой формой диабета, осторожно высказываются об их значимости в генезе заболевания, рассматривая аутоиммунный феномен либо как первопричину СД, либо как следствие β -клеточной деструкции [25, 45]. Противники этой гипотезы, не оспаривая очевидный факт наличия аутоиммунных реакций у пациентов СД 2 типа, рассматривают их лишь

как обычный компонент, сопровождающий гибель β -клеток вследствие воспаления, глюко- и липотоксичности.

Какова же роль системы иммунитета в развитии патологического процесса при СД 2 типа, ассоциированного с ожирением?

Участие системы иммунитета в развитии воспаления и инсулинорезистентности при сахарном диабете 2 типа, ассоциированного с ожирением

Висцеральная жировая ткань уже давно не рассматривается как энергетический склад организма. Установлено, что она является активным эндокринным органом, оказывающим влияние на все ткани и системы организма. Воспаление жировой ткани отражается на работе всех органов, включая и систему иммунитета [8].

Вокруг погибших адипоцитов начинают скапливаться макрофаги, рекрутируемые из кровеносных сосудов. Чем больше жировой ткани, тем большее количество макрофагов инфильтрирует ее. Как известно, макрофаги подразделяются на 2 группы, условно обозначаемые как М1 и М2. Макрофаги с фенотипом М1 оказывают провоспалительное действие, запуская процесс воспаления, вторые оказывают противовоспалительный эффект, завершая воспаление. При ожирении в ткани присутствуют главным образом макрофаги с фенотипом М1. Как сами адипоциты, так и макрофаги начинают синтезировать различные хемокины и цитокины, что приводит к развитию хронического вялотекущего воспаления [38]. Использование различных технологий в эксперименте (нокаут, химеры костного мозга, трансгенные животные) показало роль макрофагов жировой ткани и их цитокинов в развитии не только воспаления, но и инсулинорезистентности (ИР). Доказано, что провоспалительные цитокины, такие как фактор некроза опухоли альфа ($TNF\alpha$), интерлейкины ($IL-1\beta$, $IL-6$), интерферон-гамма ($IFN\gamma$) влияют на сигнальный путь инсулина [31, 34]. Подавление синтеза $IL-6$, одного из провоспалительных цитокинов, приводило к подавлению развития ИР в печени при приеме пищи, содержащей большое количество жира [39]. Влияние на синтез СРБ, $IL-6$ показывает их значимость в развитии воспаления стенок сосудов и их деструкции. Другой провоспалительный цитокин ($TNF\alpha$), помимо эскалации воспаления, действия на эндотелий сосудов, влияет и на рецепторы инсулина посредством активизации серинкиназы, необходимой для фосфорилирования

серина. Он также снижает активность тирозинкиназы, обуславливая снижение активности фосфоинозитол-3-киназы, что в конечном итоге приводит к развитию ИР. Следует учесть и эффект $TNF\alpha$ на высвобождение жирных кислот из печени и подавление образования адипонектина, что усугубляет ИР [15, 21, 22, 24, 42, 46, 48]. Исследование не только экспериментальных животных, но и пациентов также показало, что провоспалительные цитокины являются предикторами развития СД 2 типа.

Цитокины, хемокины, адипокины привлекают большое количество клеток системы иммунитета в жировую ткань, усиливая воспаление. Этому способствует и дисбаланс в системе Т-хелперов (Th , $CD4^+$), принимающих участие в генезе СД 2 типа [37]. В зависимости от синтезируемых цитокинов, Th подразделяются на $Th1$, $Th2$, $Th17$, $Treg$, каждый из которых выполняет важную работу не только в развитии воспаления, но и развитии аутоиммунных реакций: $Th1$ отвечают за хроническое воспаление, защищая от внутриклеточной инфекции; $Th2$, являясь антагонистом $Th1$, принимают участие в развитии аллергии и защите от внеклеточной инфекции; $Th17$ защищают от внеклеточной инфекции, принимают участие в развитии аллергии и аутоиммунных реакций; $Treg$ (регуляторные клетки, $CD4^+CD25^+FoxP3^+$) оказывают супрессорный эффект, снижая риск развития аллергии, аутоиммунных заболеваний, в то же время они снижают интенсивность воспаления и противoinфекционный иммунитет. Дисбаланс в системе Th оказывает мощное влияние как на развитие воспаления, так и развитие аутоиммунных реакций [16, 26, 27, 32, 37, 43, 51, 53]. $CD8^+$ клетки (эффекторные Т-лимфоциты) также принимают участие в развитии воспаления при ожирении; доказано, что они предшествуют появлению макрофагов в жировой ткани, и истощение пула этих клеток в эксперименте снижало воспаление и ИР [33].

Следует подчеркнуть, что появлению макрофагов в жировой ткани предшествует появление в ней нейтрофилов, Т-лимфоцитов и/или В-лимфоцитов [28]. Алгоритм очередности инфильтрации висцеральной жировой ткани характерен для любого воспаления, однако первопричина развития воспаления остается неясной.

В развитии воспаления играют роль и Toll-подобные рецепторы (TLR), они в большом количестве были обнаружены и в жировой ткани. TLR относятся к важным регуляторам иммунного ответа, координируя реакции как врожденного, так и адаптивного иммунитета, иницируя синтез провоспалительных цитокинов, активацию макрофагов, Т- и В-лимфоцитов.

Они являются первыми сигнальными молекулами, распознающими соответствующие лиганды (липополисахариды, бактериальные липопротеины, пептидогликаны, РНК и ДНК вирусов, насыщенные жирные кислоты), могут провоцировать воспаление жировой ткани, а в дальнейшем и развитие ИР. Этот факт не исключает роли инфекции в развитии патологического процесса при СД 2 типа, ассоциированного с ожирением.

Таким образом, основными факторами патогенеза СД 2 типа при ожирении являются воспаление жировой ткани, приводящее к нарушению синтеза адипокинов и усилению синтеза провоспалительных цитокинов, способствующих развитию ИР; метаболические процессы в адипоцитах; активация оксидативного стресса; дисфункция β -клеток [9].

Общепринятая точка зрения на патогенез СД 2 типа заключается в следующем: генетическая предрасположенность и факторы внешней среды (избыточное поступление пищи, содержащей жир; малоподвижный образ жизни и пр.) способствуют развитию висцерального ожирения, воспаления и ИР, что и обуславливает развитие СД 2 типа, сердечно-сосудистые заболевания.

Нарушение сигнального пути инсулина под влиянием воспаления и дисфункция β -клеток являются основными причинами развития СД 2 типа. Ожирение без воспаления не приводит к ИР и, соответственно, нарушению углеводного обмена. Все происходит на фоне генетической предрасположенности. Однако этот замкнутый круг не позволяет понять первопричину событий.

Участие аутоиммунных реакций в развитии сахарного диабета 2 типа, ассоциированного с ожирением

Последние годы появляются исследования, свидетельствующие об участии в генезе СД 2 типа не только врожденного, но и адаптивного иммунитета. Главным отличием этих реакций иммунной системы является наличие при последнем варианте определенного антигена, сенсибилизация к которому определяет развитие изменений в организме, и если этот антиген принадлежит самому организму, то это свидетельствует о формировании аутоиммунной реакции.

Принадлежность того или иного заболевания к аутоиммунным заболеваниям обычно определяется критериями Witebsky, которые были разработаны в середине прошлого века. Критерии включают потерю толерантности к собственным антигенам, что приводит к появлению аутоантител и/или сенсибилизации

лимфоцитов, возможность перенести заболевание с помощью аутоантител или иммунных клеток, эффективность иммунодепрессивной терапии [50]. Veloso и соавт. [47] к вышеуказанным критериям добавляют еще и наличие ассоциации заболевания с генами, регулирующими иммунный ответ, такими как антигены гистосовместимости (HLA).

Круг классических аутоиммунных заболеваний ограничен и включает около 30 заболеваний, среди которых находятся и СД 1 типа. И несмотря на то что причина развития аутоиммунных заболеваний остается неясной, патогенез обычно не вызывает сомнений: деструкция соответствующих клеток под воздействием аутоантител и/или лимфоцитов. Для СД 1 типа участие аутоиммунных реакций характеризуется появлением аутоантител к глутаматдекарбоксилазе (GAD, анти-GAD), островковым клеткам (ICA – Islet Cell Antibodies), к инсулину (IAA – Insulin Autoantibodies), антител к тирозинфосфатазе (IA-2), наличием сенсибилизированных лимфоцитов к собственным антигенам поджелудочной железы, круглоклеточной инфильтрацией островков Лангерганса. При развитии аутоиммунных реакций имеет значение и дисбаланс в системе иммунорегуляторных клеток с преобладанием дефицита супрессорной активности и пр. Вместе с тем и до настоящего времени не установлен антиген, индуцирующий каскад этих реакций. Одним из них может быть глутаматдекарбоксилаза. GAD – это один из ферментов, необходимых для синтеза тормозного медиатора нервной системы гамма-аминомасляной кислоты. Фермент присутствует только в нейронах и β -клетках поджелудочной железы [7]. Полагают, что GAD выступает в роли аутоантигена при развитии СД 1 типа, однако анти-GAD не являются непосредственной причиной СД, а свидетельствуют о текущей деструкции β -клеток. То же самое можно сказать и об антителах к островковым клеткам: они не являются причиной гибели островковых клеток, а лишь являются ее следствием. Антитела к инсулину, возможно, играют определенную роль в патогенезе СД, однако полагают, что именно реакции клеточного иммунитета являются ведущими в развитии патологического процесса при СД 1 типа. Несмотря на доказанный факт принадлежности этой формы диабета к аутоиммунным заболеваниям, до настоящего времени не установлен триггер патологического процесса.

СД 2 типа ранее рассматривался как метаболическое заболевание, однако работы последних лет позволили пересмотреть данное утверждение. Уже доказано участие воспаления в развитии ожирения и ИР, играющих

ведущую роль в развитии СД 2 типа. Появляются и исследования, показывающие значимость аутоиммунных реакций в развитии патологического процесса, что может быть обусловлено взаимосвязью между ними и воспалением. При ожирении, способствующему развитию СД 2 типа, первыми клетками, появляющимися в жировой ткани, являются В- и/или Т-лимфоциты, и если изъять их из организма или заблокировать действие, ИР не развивается. Winer D.A. и соавт. [49] показали значимость В-лимфоцитов в патогенезе развития воспаления висцеральной жировой ткани и ИР у мышей. Удаление В-лимфоцитов не приводило к развитию ИР и нарушению углеводного обмена, несмотря на увеличение веса. Перенос IgG, синтезируемых В-лимфоцитами и обладающих уникальными свойствами, от одной особи другой приводило к развитию ИР. Все это может свидетельствовать о роли аутоиммунных реакций в генезе заболевания.

Первые работы, доказывающие значимость аутоиммунных реакций при СД 2 типа, появились еще в 70-х годах прошлого столетия. Это позволило говорить об их роли в генезе СД 2 типа у части пациентов: была выделена особая группа, характеризующаяся наличием аутоиммунных реакций, поздним началом диабета, быстрым развитием потребности в инсулине, впоследствии этот тип диабета был классифицирован как латентный аутоиммунный диабет взрослых (LADA – Latent Autoimmune Diabetes of Adults). Этот тип диабета отличается от СД 1 типа не только тем, что фенотипически больные больше похожи на пациентов с СД 2 типа, но также и более поздней манифестацией клинических симптомов. Некоторое различие наблюдается и при идентификации аутоантител (их разнообразие более выражено при СД 1 типа), а также в сроках развития потребности в лечении инсулином [35]. Вместе с тем выделение примерно 10-15% больных СД 2 типа с участием аутоиммунных реакций в генезе заболевания никем не оспаривается, хотя и остается неясным триггер патологического процесса, как и при СД 1 типа.

Большой интерес вызывает возможность участия аутоиммунных реакций в генезе остальных пациентов с СД 2 типа, не относящихся к LADA. В частности, аутоантитела определяются не только при СД 1 типа и LADA, но и при классическом варианте СД 2 типа [36]. Частота выявления аутоантител и их разнообразие при СД 2 типа значительно ниже, чем при СД 1 типа, однако имеются наблюдения, показывающие аутоантитела, характерные именно для СД 2 типа: Buzzetti R. и соавт. [14] выделили подтип антител IA-2 [IA-2(256-760)], несколько отличающийся от

классических тем, что они встречались главным образом при СД 2 типа, ассоциированного с ожирением, и, в отличие от анти-GAD, частота их выявления коррелировала с ИМТ и низкой потребностью в инсулине.

Участие аутоиммунных реакций в генезе СД 2 типа подтверждается и обнаружением сенсibilизированных Т-лимфоцитов к антигенам островковых клеток [12, 13]. Нарушение толерантности к собственным клеткам, возможно, обусловлено снижением количества Treg, обладающих супрессорной активностью и поддерживающих толерантность к собственным антигенам.

Другим подтверждением участия аутоиммунных реакций в генезе СД 2 типа, с точки зрения исследователей, поддерживающих гипотезу их значимости, является гипогликемическая эффективность иммунорегулирующих препаратов, таких как анакинра, абатацепт. Высокие дозы салицилатов также влияют на углеводный обмен [25]. Однако не исключено, что гипогликемический эффект этих препаратов является следствием воздействия на воспаление, а не результатом супрессии лимфоцитов. Вместе с тем описано улучшение инсулиновой чувствительности у пациента с ревматоидным артритом, леченного абатацептом. Оно совершенно не повлияло на воспаление, поэтому авторы заключили, что снижение ИР обусловлено влиянием именно на Т-клетки.

Не исключается и то, что аутоиммунные реакции являются следствием взаимодействия Toll-подобных рецепторов (TLR2, TLR4, TLR9), которых много в жировой ткани, с их лигандами (липополисахариды инфекционных агентов или жирные кислоты). Это приводит к снижению супрессорной функции Treg и/или активации эффекторных Т-лимфоцитов, что способствует потере толерантности к собственным антигенам. Возможна и реакция без участия аутоиммунитета, когда Т-клеткам презентуются экзогенные и/или эндогенные липиды и они реагируют на саму жировую ткань. Закрывая обзор литературы по участию системы иммунитета в генезе СД 2 типа, авторы придерживаются точки зрения большинства исследователей о маловероятном участии аутоиммунитета в генезе СД 2 типа [47].

Если кратко суммировать аргументы в пользу участия аутоиммунных реакций в патогенезе СД 2 типа, то можно отметить, что исследователи очень осторожны в своих высказываниях о принадлежности СД 2 типа к аутоиммунным заболеваниям. В пользу своей точки зрения они приводят данные о дисбалансе в системе иммунорегуляторных клеток с дефицитом клеток с супрессорной активностью, что способствует появлению аутоан-

тител и/или сенсibilизации лимфоцитов к антигенам клеток поджелудочной железы или развитию аутоиммунной реакции на липиды; не исключается роль и TLR в индукции аутоиммунных реакций, предполагается роль микробиоты в развитии заболевания.

Высказывается предположение, что менее агрессивное течение аутоиммунных реакций при СД 2 типа, ассоциированного с ожирением, объясняется появлением Т-лимфоцитов, характерных для старения [40].

Очевидный факт наличия аутоиммунных реакции при СД 2 типа никто не отрицает, различие точек зрения на данное явление заключается в его интерпретации. Одни исследователи полагают, что аутоиммунные реакции являются следствием деструкции β -клеток, другие весьма осторожно высказываются об их значимости в индукции развития СД 2 типа. Вне зависимости от взгляда на проблему аутоиммунитета, открытыми остаются множество вопросов: кто является триггером патологического процесса, являются ли эти феномены следствием или причиной дисфункции β -клеток при СД 2 типа, имеется ли связь появления аутоиммунных феноменов с антигенами гистосовместимости. Не менее важным является вопрос о первопричине развития инсулинорезистентности, именно он составляет основу развития большинства случаев СД 2 типа.

Мы согласны с мнением большинства исследователей, что по строгим канонам, предложенным сначала Witebsky [50], а затем дополненными Veloso и соавт. [47], СД 2 типа нельзя отнести к аутоиммунным заболеваниям, но, с нашей точки зрения, аутоиммунным реакциям принадлежит важная роль в генезе заболевания, при этом мы попытались в нашей гипотезе предположить триггер патологического процесса, объяснить первопричину инсулинорезистентности, обусловленной участием аутоиммунных реакций, и согласовать имеющиеся разногласия по участию аутоиммунных феноменов в развитии заболевания.

В основе СД 2 типа лежит инсулинорезистентность и дисфункция β -клеток. Вопрос о первопричине развития ИР остается открытым. Мы полагаем, что его развитие обусловлено наличием перекрестно-реагирующих антигенов между инфекционными агентами и антигенами, расположенными на поверхности островковых клеток. Инфекционная теория развития ожирения, а в дальнейшем воспаления ИР и СД 2 типа имеет большую доказательную базу [10]. Мы полагаем, что инициатором развития аутоиммунных реакций являются вирусы, возможно, вирусы семейства *Paramyxoviridae* (вирусы кори, паротита, парагриппа) [3], хотя не исключены

и другие варианты (вирусы герпеса, энтеровирусы, аденовирусы, хламидии, хеликобактер пилори и пр.) [19, 38]. Не исключается возможность оказания непосредственного цитопатического действия микроорганизмов на β -клетки, однако такой вариант больше характерен для развития СД 1 типа. У генетически предрасположенных лиц, при сходстве антигенов вирусов и антигенов β -клеток (с нашей точки зрения, это инсулин) [11], развивается аутоиммунная реакция. Подтверждением тому, что именно инсулин может быть тем антигеном, который запускает развитие аутоиммунитета, являются работы ряда исследователей [30, 44]. При этом развивается либо СД 1 типа, и, учитывая, что это инфекция, характерная для детского возраста (корь, паротит), процесс начинается рано, и при гибели s-части островковых клеток происходит манифестация заболевания у большей части больных до 30 лет. Либо развивается аутоиммунный диабет взрослых, у которых манифестация заболевания начинается значительно позже. И именно в последней группе, которая первоначально часто ошибочно трактуется как СД 2 типа, отмечается непосредственное участие аутоиммунных реакций в деструкции β -клеток. Причина столь поздней манифестации заболевания остается неясной, возможно, играют роль генетически обусловленные особенности развития аутоиммунитета. У большинства пациентов, перенесших инфекции детского возраста при нормально работающей иммунной системе, развивается противoinфекционный иммунитет. Однако у пациентов с генетической предрасположенностью к дефекту иммунной системы, которая не в состоянии радикально элиминировать клоны клеток, дающих аутоиммунную реакцию, она пытается подавить реакцию на инсулин путем блокады инсулиновых рецепторов на иммунокомпетентных клетках. И это системе иммунитета удастся: аутоиммунная реакция лимфоцитов на инсулин блокирована, и инкреторная функция поджелудочной железы не страдает. Но инсулиновые рецепторы находятся и в инсулинчувствительных тканях, это приводит к тому, что они автоматически также блокируются, и это способствует развитию первичной инсулинорезистентности (следует подчеркнуть, что блокада является обратимой). Полагаем, что именно первичная ИР предшествует и способствует развитию ожирения. В последующем, при избыточном поступлении жиров с пищей, ожирение прогрессирует, происходит последующее вовлечение в патологический процесс всего каскада воспалительных реакций. Это, в свою очередь, способствует

формированию вторичной инсулинорезистентности, которая и обуславливает развитие СД 2 типа и сердечно-сосудистых заболеваний. Деструкция β-клеток обусловлена воспалением, глюко- и липотоксичностью, но не участием аутоиммунных реакций, она носит не столь массовый характер, как при СД 1 типа, однако рано или поздно это приводит к развитию дисфункции островковых клеток и появлению потребности в инсулине. Демаскировка аутоантигенов способствует появлению аутоантител и сенсибилизации лимфоцитов, что поддерживает вялотекущий воспалительный процесс. Адекватное лечение, способствующее снижению уровня глюкозы и липидов, благоприятно отражается на функции β-клеток, снижает их деструкцию и, соответственно, выход аутоантигенов в общий кровоток, что уменьшает стимуляцию иммунной системы. Использование препаратов, влияющих на супрессорные клетки, приводит к снятию блокады инсулиновых рецепторов, что оказывает положительный эффект на уровень глюкозы крови и снижает частоту развития макроангиопатий [2].

С нашей точки зрения, аутоиммунные реакции, безусловно, принимают участие в развитии патологического процесса при СД 2 типа, однако вариант их участия является не прямым, а опосредованным, когда супрессия аутоиммунной реакции способствует развитию ИР и формированию ряда заболеваний, в том числе и СД 2 типа. В связи с этим его никак нельзя отнести к аутоиммунным заболеваниям, учитывая альтернативный вариант участия аутоиммунитета. Патогенез СД 2 типа мы представляем следующим образом (рис. 1):

СД 2 типа представляет собой гетерогенную группу с различным генезом, в связи с этим участие системы иммунитета весьма различается, и именно это определяет варианты СД 2 типа с различием в клинических проявлениях [1]. У части пациентов (примерно у 10%) отмечается реальное участие аутоиммунных реакций как клеточного, так и гуморального типа в деструкции островковых клеток и развитии потребности в инсулинотерапии в течение 5 лет. Эти больные относятся к группе пациентов с так называемым латентным аутоиммунным диабетом взрослых. У большей части пациентов аутоиммунные реакции присутствуют, однако они супрессированы, вследствие чего деструкция β-клеток если и наблюдается, то обусловлена воспалением, глюко- и липотоксичностью, поэтому и не носит столь массовый характер, как при СД 1 типа. Однако супрессированная аутоиммунная реакция не проходит бесследно для организма, она способствует развитию ИР, являющейся первопричиной развития

СД 2 типа. Супрессорные клетки, подавляя (либо сами, либо продуцируя супрессивные факторы, возможно, это IgG [49]) лимфоциты, сенсибилизированные к инсулину, способствуют блокаде инсулиновых рецепторов, находящихся в печени, жировой ткани, скелетной мускулатуре, что и приводит к развитию ИР. У лиц с отсутствием любой реакции на инсулин (прямой, косвенной) развивается панкреатогенный СД, который может быть обусловлен различными причинами (алкоголь, кисты, опухоль поджелудочной железы, панкреатит и пр.).

В большинстве гипотез, объясняющих патогенез СД 2 типа, описывают события следующим образом: ожирение приводит к стрессу адипоцитов, которые начинают синтезировать провоспалительные цитокины, которые активируют Т-, В-клетки и макрофаги с последующим развитием воспаления, ИР и аутоиммунных реакций, сопровожда-

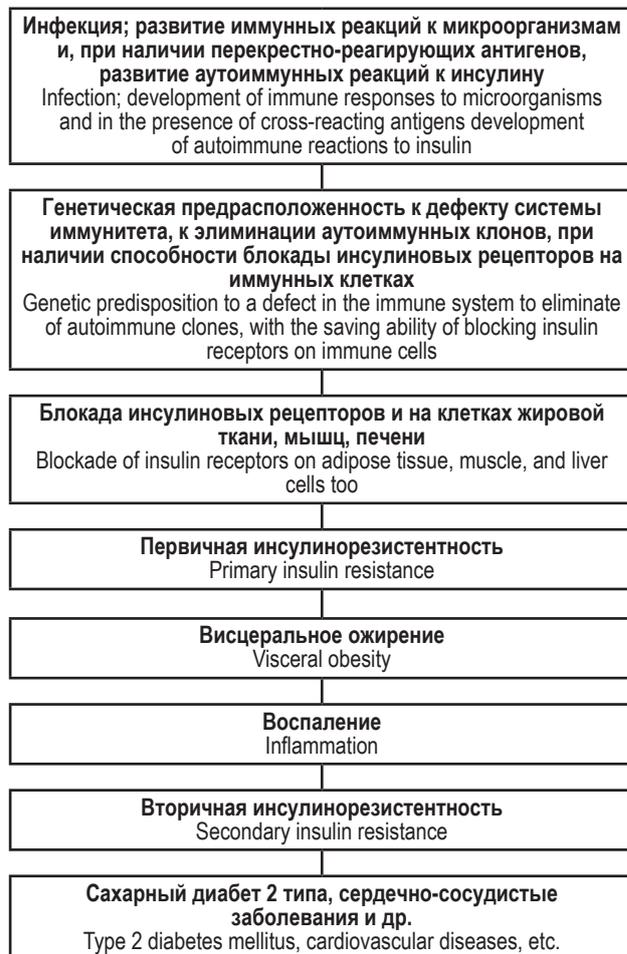


Рисунок 1. Схема развития сахарного диабета 2 типа и других заболеваний, ассоциированных с ожирением, где триггером является инфекция

Figure 1. Scheme development of type 2 diabetes and other diseases associated with obesity, wherein the trigger is an infection

ющих (но не инициирующих!) процесс. Однако факт появления Т- и В-клеток раньше макрофагов в жировой ткани остается неясным, и только наша гипотеза может объяснить, почему это происходит.

Отвечая на неясные вопросы о патогенезе СД 2 типа, можно предположить, что основным антигеном, сенсибилизация к которому обуславливает развитие заболевания, является инсулин, однако супрессия аутоиммунитета не приводит к гибели β -клеток, а способствует развитию инсулинорезистентности. Триггером патологического процесса является инфекция, антигены микроорганизмов дают перекрестную реакцию с инсулином, и, возможно, именно этим объясняются безуспешные попытки найти антигены гистосовместимости, характерные для СД 2 типа, несмотря на явную генетическую предрасположенность заболевания. Необходимо определять антигены HLA дифференцированно, в зависимости от характера реакции на инсулин и антигены микроорганизмов.

Заключение

Стереотипный взгляд на СД 2 типа как глубоко метаболическое заболевание уже меняется, так как доказана роль воспаления в его развитии, выявлены аутоиммунные компоненты, сопровождающие деструкцию β -клеток. Нами предложен альтернативный вариант участия аутоиммунных реакций в развитии заболевания, когда их супрессия приводит к развитию инсулинорезистентности. Все это требует переосмысления и, возможно, разработки новых гипотез развития патологического процесса, что, безусловно, будет способствовать предложению новых методов лечения и, соответственно, профилактики. А о том, что назрела настоятельная необходимость пересмотра патогенеза, лечения и профилактики, свидетельствует катастрофическое нарастание числа больных СД 2 типа, сердечно-сосудистыми заболеваниями, увеличение инвалидности и смертности от них.

Список литературы / References

1. Асфандиярова Н.С. Гетерогенность сахарного диабета 2 типа: клиническая характеристика 4 подтипов // Терапевтический архив, 2011. Т. 83, № 10. С. 27-31. [Asfandiyarova N.S. Heterogeneity of type 2 diabetes mellitus: clinical characteristics of 4 subtypes. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive*, 2011, Vol. 83, no. 10, pp. 27-31. (In Russ.)]
2. Асфандиярова Н.С., Низов А.А., Журавлева Н.С., Колдынская Э.И., Гиривенко А.И. Нестероидные противовоспалительные средства в лечении остеоартроза у больных сахарным диабетом 2 типа // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук, 2013. № 12. С. 330-335. [Asfandiyarova N.S., Nizov A.A., Zhuravleva N.S., Koldynskaya E.I., Girivenko A.I. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in treatment of osteoarthritis in patients with type 2 diabetes mellitus. *Aktualnye problemy gumanitarnykh i estestvennykh nauk = Actual Problems of the Humanities and Natural Sciences*, 2013, no. 12, pp. 330-335. (In Russ.)]
3. Асфандиярова Н.С., Шатров В.В., Гарипов Г.К. Сенсибилизация лимфоцитов к антигенам вирусов семейства *Paramyxoviridae* при сахарном диабете // Проблемы эндокринологии, 2006. Т. 52, № 6. С. 18-21. [Asfandiyarova N.S., Shatrov V.V., Garipov G.K. Lymphocytic sensitization to antigens of viruses of the family *Paramyxoviridae* in diabetes mellitus. *Problemy endokrinologii = Problems of Endocrinology*, 2006, Vol. 52, no. 6, pp. 18-21. (In Russ.)]
4. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Фадеев В.В. Эндокринология: учебник. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 442 с. [Dedov I.I., Melnichenko G.A., Fadeev V.V. *Endocrinology*. Moscow: GEOTAR-Media, 2014. 442 p.]
5. Драенкова Ф.Р., Пустынкина Л.С., Лесовой А.Е. Динамика и тенденции первичной инвалидности взрослого населения Рязанской области // Наука молодых, 2013. № 4. С. 117-121. [Draenkova F.R., Pustynkina L.S., Lesovoy A.E. Dynamics and trends in primary disability. *Nauka molodykh = Science of the Young*, 2013, no. 4, pp. 117-121. (In Russ.)]
6. Дубинина И.И., Урясьев О.М., Карапыш Т.В. Оценка качества жизни и корреляции углеводного обмена, гормонального спектра у больных сахарным диабетом 2 типа с первичным гипотиреозом, осложненным дистальной нейропатией // Российский медико-биологический вестник им. И.П. Павлова, 2011. № 4, С. 99-102. [Dubinina I.I., Urasyev O.M., Karapysh T.V. Assessment of quality of life and correlation of carbohydrate metabolism, hormonal spectrum in patients with type 2 diabetes mellitus with primary hypothyroidism complicated by distal neuropathy. *Rossiyskiy mediko-biologicheskii vestnik im. I.P. Pavlova = I. Pavlov Russian Medical Biological Herald*, 2011, no. 4, pp. 99-102. (In Russ.)]
7. Самойлова Ю.Г., Новоселова М.В., Жукова Н.Г., Тонких О.С. Анализ роли нейроспецифических белков в диагностике когнитивной дисфункции у пациентов с сахарным диабетом 1 типа // Сахарный диабет, 2014. № 2. С. 83-90. [Samoylova Yu.G., Novoselova M.V., Zhukova N.G., Tonkikh O.S. The study of the brain in a patient with 1 type diabetes mellitus using techniques of magnetic resonance imaging. *Sakharnyy diabet = Diabetes Mellitus*, 2014, no. 2, pp. 83-90. (In Russ.)]
8. Шварц В.Я. Воспаление жировой ткани (часть 1). Морфологические и функциональные проявления // Проблемы эндокринологии, 2009. Т. 5, № 4. С. 44-49. [Swartz V.Ya. Adipose tissue inflammation. Part 1.

Morphological and functional manifestations. *Problemy endokrinologii = Problems of Endocrinology*, 2009, Vol. 55, no. 4, pp. 44-49. (In Russ.)]

9. Шварц В.Я. Воспаление жировой ткани (часть 2). Патогенетическая роль при сахарном диабете 2 типа // Проблемы эндокринологии, 2009. Т. 55, № 5. С. 43-48. [Schwartz V.Ya. Inflammation of adipose tissue. Part 2. Pathogenetic role in type 2 diabetes mellitus. *Problemy endokrinologii = Problems of Endocrinology*, 2009, Vol. 55, no. 5, pp. 43-48. (In Russ.)]

10. Шварц В.Я. Воспаление жировой ткани (часть 4). Ожирение – новое инфекционное заболевание? (обзор литературы) // Проблемы эндокринологии, 2011. Т. 57, № 5. С. 63-71. [Schwartz V.Ya. Inflammation of adipose tissue. Part 4. Obesity – new infectious disease? *Problemy endokrinologii = Problems of Endocrinology*, 2011, Vol. 57, no. 5, pp. 63-71. (In Russ.)]

11. Asfandiyarova N.S. Cell-mediated immunity to insulin: A new criterion for differentiation of type 2 diabetes mellitus? *Med. Hypoth.*, 2012, Vol. 78, pp. 402-406.

12. Brooks-Worrell B., Narla R., Palmer J.P. Islet autoimmunity in phenotypic type 2 diabetes patients. *Diabetes Obes. Metab.*, 2013, Vol. 15, no. 3, pp. 37-40.

13. Brooks-Worrell B.M., Reichow J.L., Goel A., Ismail H., Palmer J.P. Identification of autoantibody-negative autoimmune type 2 diabetic patients. *Diabetes Care.*, 2011, Vol. 34, no. 1, pp. 168-173.

14. Buzzetti R., Spoletini M., Zampetti S., Campagna G., Marandola L., Panimolle F., Dotta F., Tiberti C., NIRAD Study Group (NIRAD 8). Tyrosine phosphatase-related islet antigen 2 (256-760) autoantibodies, the only marker of islet autoimmunity that increases by increasing the degree of BMI in obese subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2015, Vol. 38, no. 3, pp. 513-520.

15. Cai D., Yuan M., Frantz D.F., Melendez P.A., Hansen L., Lee J., Shoelson S.E. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB. *Nat. Med.*, 2005, Vol. 11, pp. 183-190.

16. Chang X., Xiaoquan R., Jixin Z. Role of T lymphocytes in type 2 diabetes and diabetes-associated inflammation (Review article). *J. Diab. Res.*, 2017, Vol. 2017, 6494795. doi: 10.1155/2017/6494795.

17. Cho K.W., Morris D.L., DelProposto J.L., Geletka L., Zamarron B., Martinez-Santibanez G., Meyer K.A., Singer K., O'Rourke R.W., Lumeng C.N. An MHC II-dependent activation loop between adipose tissue macrophages and CD4⁺ T cells controls obesity-induced inflammation. *Cell Rep.*, 2014, Vol. 9, no. 2, pp. 605-617.

18. Dedov I., Shestakova M., Benedetti M.M., Simon D., Pakhomov I., Galstyan G. Prevalence of type 2 diabetes mellitus (T2DM) in the adult Russian population (NATION study). *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 2016, Vol. 115, pp. 90-95.

19. Ehses J.A., Perren A., Eppler E., Ribaux P., Pospisilik J.A., Maor-Cahn R., Gueripel X., Ellingsgaard H., Schneider M.K., Biollaz G., Fontana A., Reinecke M., Homo-Delarche F., Donath M.Y. Increased number of islet-associated macrophages in type 2 diabetes. *Diabetes*, 2007, Vol. 56, no. 9, pp. 2356-2370.

20. Guzmán-Flores J.M., López-Briones S. Células de la inmunidad innata y adaptativa en la diabetes mellitus tipo 2 y obesidad. [Cells of the innate and adaptive immunity in type 2 diabetes mellitus and obesity (Review)]. *Gac. Med. Mex.*, 2012, Vol. 148, no. 4, pp. 381-389.

21. Hotamisligil G.S., Arner P., Caro J.F., Atkinson R.L., Spiegelman B.M. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, 1995, Vol. 95, pp. 2409-2415.

22. Hotamisligil G.S., Shargill N.S., Spiegelman B.M. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*, 1993, Vol. 259, pp. 87-91.

23. International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas*. Brussels: IDF, 2017, 8th ed.

24. Itani S.I., Ruderman N.B., Schmieder F., Boden G. Lipid-induced insulin resistance in human muscle is associated with changes in diacylglycerol, protein kinase C, and IkkappaB-alpha. *Diabetes*, 2002, Vol. 51, pp. 2005-2011.

25. Itariu B.K., Stulnig T.M. Autoimmune aspects of type 2 Diabetes Mellitus – a mini-review. *Gerontology*, 2014, Vol. 60, pp. 189-196.

26. Jagannathan-Bogdan M., McDonnell M.E., Shin H., Rehman Q., Hasturk H., Apovian C.M., Nikolajczyk B.S. Elevated proinflammatory cytokine production by a skewed T cell compartment requires monocytes and promotes inflammation in type 2 diabetes. *J. Immunol.*, 2011, Vol. 186, no. 2, pp. 1162-1172.

27. Kahn S.E., Hull R.L., Utzschneider K.M. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes (Review). *Nature*, 2006, Vol. 444, no. 7121, pp. 840-846.

28. Kintscher U., Hartge M., Hess K., Foryst-Ludwig A., Clemenz M., Wabitsch M., Fischer-Posovszky P., Barth T.F., Dragun D., Skurk T., Hauner H., Blüher M., Unger T., Wolf A.M., Knippschild U., Hombach V., Marx N. T-lymphocyte infiltration in visceral adipose tissue a primary event in adipose tissue inflammation and the development of obesity-mediated insulin resistance. *Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol.*, 2008, Vol. 28, pp. 1304-1310.

29. Kohlgruber A., Lynch L. Adipose tissue inflammation in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Curr. Diab. Rep.*, 2015, Vol. 15, no. 11, 92. doi: 10.1007/s11892-015-0670-x.

30. MacCuish A.C., Jordan J., Campbell C.J., Duncan L.J.P., Irvine W.J. Cell-mediated immunity in diabetes mellitus; lymphocyte transformation by insulin and insulin fragments in insulin-treated and newly-diagnosed diabetes. *Diabetes*, 1975, Vol. 24, no. 1, pp. 36-43.

31. Mathis D. Immunological goings-on in visceral adipose tissue. *Cell Metabolism*, 2013, Vol. 17, no. 6, pp. 851-859.

32. Morris D.L., Cho K.W., Delproposto J.L., Oatmen K.E., Geletka L.M., Martinez-Santibanez G., Singer K., Lumeng C.N. Adipose tissue macrophages function as antigen-presenting cells and regulate adipose tissue CD4⁺ T cells in mice. *Diabetes*, 2013, Vol. 62, no. 8, pp. 2762-2772.

33. Nishimura S., Manabe I., Nagasaki M. CD8⁺ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat. Med.*, 2009, Vol. 15, pp. 914-920.

34. Ouchi N., Parker J.L., Lugus J.J., Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat. Rev. Immunol.*, 2011, Vol. 11, no. 2, pp. 85-97.
35. Piatkiewicz P., Hajduk J.L., Chow K.L., Kowrach M., Kuszyk J.C. Autoimmunity markers in patients with type 2 diabetes. *J. Clin. Diabetes Pract.*, 2016, Vol. 1, 107. doi:10.4172/jcdp.1000107.
36. Pietropaolo M., Barinas-Mitchell E., Pietropaolo S.L., Kuller L.H., Trucco M. Evidence of islet cell autoimmunity in elderly patients with type 2 diabetes. *Diabetes*, 2000, Vol. 49, no. 1, pp. 32-38.
37. Raphael I., Nalawade S., Eagar T.N., Forsthuber T.G. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases. Review Article. *Cytokine*, 2015, Vol. 74, no. 1, pp. 5-17.
38. Richardson S.J., Willcox A., Bone A.J., Foulis A.K., Morgan N.G. Islet-associated macrophages in type 2 diabetes. *Diabetologia*, 2009, Vol. 52, no. 8, pp. 1686-1688.
39. Sabio G., Das M., Mora A., Zhang Z., Jun J.Y., Ko H.J., Barrett T., Kim J.K., Davis R.J. A stress signaling pathway in adipose tissue regulates hepatic insulin resistance. *Science*, 2008, Vol. 322, pp. 1539-1543.
40. Shirakawa K., Yan X., Shinmura K., Endo J., Kataoka M., Katsumata Y., Yamamoto T., Anzai A., Isobe S., Yoshida N., Itoh H., Manabe I., Sekai M., Hamazaki Y., Fukuda K., Minato N., Sano M. Obesity accelerates T cell senescence in murine visceral adipose tissue. *J. Clin. Invest.*, 2016, Vol. 126, no. 12, pp. 4626-4639.
41. Shu C.J., Benoist C., Mathis D. The immune system's involvement in obesity-driven type 2 diabetes. *Semin. Immunol.*, 2012, Vol. 24, no. 6, pp. 436-442.
42. Solinas G., Vilcu C., Neels J.G., Bandyopadhyay G.K., Luo J.L., Naugler W., Grivennikov S., Wynshaw-Boris A., Scadeng M., Olefsky J.M., Karin M. JNK1 in hematopoietically derived cells contributes to diet-induced inflammation and insulin resistance without affecting obesity. *Cell Metab.*, 2007, Vol. 6, pp. 386-397.
43. Strissel K.J., DeFuria J., Shaul M.E., Bennett G., Greenberg A.S., Obin M.S. T-cell recruitment and Th1 polarization in adipose tissue during diet-induced obesity in C57BL/6 mice. *Obesity (Silver Spring)*, 2010, Vol. 18, no. 10, pp. 1918-1925.
44. Tittanen M. Immune response to insulin and changes in the gut immune system in children with or at risk for type 1 diabetes [dissertation]. Helsinki: University of Helsinki, 2006.
45. Tsai S., Clemente-Casares X., Revelo X.S., Winer Sh., Winer D.A. Are obesity-related insulin resistance and type 2 diabetes autoimmune diseases? *Diabetes*, 2015, Vol. 64, no. 6, pp. 1886-1897.
46. Tuncman G., Hirosumi J., Solinas G., Chang L., Karin M., Hotamisligil G.S. Functional *in vivo* interactions between JNK1 and JNK2 isoforms in obesity and insulin resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006, Vol. 103, pp. 10741-10746.
47. Velloso L.A., Eizirik D.L., Cnop M. Type 2 diabetes mellitus – an autoimmune disease? *Nat. Rev. Endocrinol.* 2013, Vol. 9, pp. 750-755.
48. Visser M., Bouter L.M., McQuillan G.M., Wener M.H., Harris T.B. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA*, 1999, Vol. 282, pp. 2131-2135.
49. Winer D.A., Winer S., Shen L., Wadia P.P., Yantha J., Paltser G., Tsui H., Wu P., Davidson M.G., Alonso M.N., Leong H.X., Glassford A., Caimol M., Kenkel J.A., Tedder T.F., McLaughlin T., Miklos D.B., Dosch H.M., Engleman E.G. B cells promote insulin resistance through modulation of T cells and production of pathogenic IgG antibodies. *Nat. Med.*, 2011, Vol. 17, no. 5, pp. 610-617.
50. Witebsky E., Rose N.R., Terplan K., Paine J.R., Egan R.W. Chronic thyroiditis and autoimmunization. *JAMA*, 1957, Vol. 164, pp. 1439-1447.
51. Yang H., Youm Y.H., Vandanmagsar B., Ravussin A., Gimble J.M., Greenway F., Stephens J.M., Mynatt R.L., Dixit V.D. Obesity increases the production of proinflammatory mediators from adipose tissue T cells and compromises TCR repertoire diversity: implications for systemic inflammation and insulin resistance. *J. Immunol.*, 2010, Vol. 185, no. 3, pp. 1836-1845.
52. Zhang C., Xiao C., Wang P., Xu W., Zhang A., Li Q., Xu X. The alteration of Th1/Th2/Th17/Treg paradigm in patients with type 2 diabetes mellitus: relationship with diabetic nephropathy. *Hum. Immunol.*, 2014, Vol. 75, no. 4, pp. 289-296.
53. Zúñiga L.A., Shen W.J., Joyce-Shaikh B., Pyatnova E.A., Richards A.G., Thom C., Andrade S.M., Cua D.J., Kraemer F.B., Butcher E.C. IL-17 regulates adipogenesis, glucose homeostasis, and obesity. *J. Immunol.*, 2010, Vol. 185, no. 11, pp. 6947-6959.

Автор:

Асфандиярова Н.С. – д.м.н., старший научный сотрудник, доцент ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, г. Рязань, Россия

Author:

Asfandiyarova N.S., PhD, MD (Medicine), Senior Research Associate, Associate Professor, Ryazan State I. Pavlov Medical University, Ryazan, Russian Federation

Поступила 28.11.2018

Отправлена на доработку 05.09.2019

Принята к печати 11.11.2019

Received 28.11.2018

Revision received 05.09.2019

Accepted 11.11.2019

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ АКНЕ

Румянцев А.Г., Демина О.М., Райкина Е.В.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. Акне (угревая болезнь, УБ) — широко распространенный дерматоз, чаще встречающийся у подростков и молодых взрослых: от 60 до 85% случаев. Традиционно считалось, что *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) колонизирует протоки сально-волосяных фолликулов (СВФ), активирует врожденный иммунный ответ и вызывает переход невоспалительных элементов — комедонов — в воспалительные — папулы, пустулы и узлы. Кроме того, существовали данные о том, что воспалительная реакция развивается на поздних стадиях УБ и при ее тяжелом течении. На сегодняшний день приводятся доказательства того, что воспаление при УБ развивается на всех стадиях дерматоза, возможно субклинически, даже до образования комедонов. Общеизвестно, что акне является болезнью СВФ, который имеет значительное морфологическое, микробиологическое и метаболическое разнообразие в зависимости от локализации. Так, СВФ активно реагирует на изменения гормонального и иммунологического потенциала, а также факторов внешней среды.

Проведенные сравнительные исследования эффективности медикаментозного лечения препаратами с противовоспалительным действием свидетельствуют о ранней воспалительной реакции при акне.

Имеются данные, подтверждающие, что *P. acnes* активирует воспалительную реакцию при акне, которая дополнительно поддерживает пролиферацию *P. acnes*. Установлено, что *P. acnes* инициирует врожденный иммунитет через TLR2 и на ранних, и на поздних стадиях течения дерматоза. Индукция TLR ведет к экспрессии генов иммунного ответа, в том числе кодирующих цитокины и хемокины, обеспечивающих хемотаксис клеток иммунной системы.

В настоящее время на основании клинических, иммунологических, гистологических и иммуногистохимических данных накоплены сведения, подтверждающие значение воспаления как патофизиологического базиса развития акне.

При этом патофизиологические механизмы инициации воспалительной реакции при акне являются сложными, до конца не изученными, что диктует необходимость дальнейших исследований.

Ключевые слова: воспаление, акне, интерлейкины, врожденный иммунитет

Адрес для переписки:

Демина Ольга Михайловна
ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр детской гематологии,
онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева»
Министерства здравоохранения РФ, научно-
организационный отдел, Москва, Россия
Тел.: 8 (910) 490-91-59
E-mail: demina.om@mail.ru

Address for correspondence:

Demina Olga M.
D. Rogachev National Medical Research Center of
Pediatric Hematology, Oncology and Immunology,
Scientific and Organizational Department, Moscow,
Russian Federation
Phone: 7 (910) 490-91-59
E-mail: demina.om@mail.ru

Образец цитирования:

А.Г. Румянцев, О.М. Демина, Е.В. Райкина
«Патогенетический механизм воспаления при
акне» // Российский иммунологический журнал,
2020. Т. 23, № 1. С. 19-26.
doi: 10.46235/1028-7221-002-PMO

For citation:

A.G. Rumyantsev, O.M. Demina, E.V. Raikina
“Pathogenetic mechanism of acne-coupled inflammation”,
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 1,
pp. 19-26.
doi: 10.46235/1028-7221-002-PMO

PATHOGENETIC MECHANISM OF ACNE-COUPLED INFLAMMATION

Rumyantsev A.G., Demina O.M., Raikina E.V.

D. Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

Abstract. Acne (Ac) represents a widespread dermatosis most commonly found in adolescents and adults covering 6–85% total cases. It has been traditionally believed that *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) colonizes ducts of the sebaceous hair follicles (SHFs), activates innate immune response and triggers transition of non-inflammatory erosions (comedones) into inflammatory lesions such as papules, pustules and nodules. Moreover, it was also shown that inflammatory reaction develops at late Ac stage and its severe course. Today, it has been evidenced that Ac-coupled inflammation develops at all stages of dermatosis, perhaps in a subclinical manner, even prior to emergence of comedones.

It is commonly accepted that acne targets SHFs displaying location-related marked morphological, microbiological and metabolic diversity. For instance, SHFs is profoundly affected by altered hormone and immunological properties as well as environmental cues.

Comparative studies examining efficacy and medicated therapy with anti-inflammatory potential evidence about early inflammatory reaction related to acne.

The data obtained confirm that *P. acnes* elicits inflammatory reaction in acne that additionally maintains *P. acnes* proliferation. It was found that *P. acnes* initiates TLR2-mediated innate immune reaction both at early and late stages of developing dermatosis. Such reaction results in upregulated immune genes including those encoding cytokines and chemokines recruiting immune cells.

Today, owing to clinical, immunological, histology and immunohistochemistry data there has been accumulated evidence confirming significance of ongoing inflammation as a pathophysiological basis for emerging acne.

Upon that, pathophysiological mechanisms triggering inflammatory reaction in acne are complex and poorly investigated, thereby underlying a need to conduct further studies.

Keywords: inflammation, acne, interleukins, innate immunity

Акне (угревая болезнь, УБ) – широко распространенный дерматоз, чаще встречающийся у подростков и молодых взрослых – от 60 до 85% случаев. Традиционно считалось, что *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) колонизирует протоки сально-волосяных фолликулов (СВФ), активирует врожденный иммунный ответ и вызывает переход невоспалительных элементов – комедонов – в воспалительные папулы, пустулы и узлы. Кроме того, существовали данные о том, что воспалительная реакция развивается на поздних стадиях УБ и при ее тяжелом течении. На сегодняшний день приводятся доказательства того, что воспаление при УБ развивается на всех стадиях дерматоза, возможно, субклинически, даже до образования комедонов [13].

Общеизвестно, что акне является болезнью СВФ, который имеет значительное морфологическое, микробиологическое и метаболическое разнообразие в зависимости от локализации. Так, СВФ активно реагирует на

изменения гормонального и иммунологического потенциала, а также факторов внешней среды.

В настоящее время на основании клинических, иммунологических, гистологических и иммуногистохимических данных накоплены сведения, подтверждающие значение воспаления как патофизиологического базиса развития акне.

Значение развития ранних воспалительных реакций в патогенезе акне:

1. Повышенная экспрессия и биоактивность провоспалительных медиаторов:

1.1. Избыток медиаторов воспаления в непораженной коже и при ранних стадиях акне: Е-селектин, молекулы адгезии сосудов-1, интерлейкин 1 (IL-1), интегрин.

1.2. Биоактивность интерлейкина 1 α (IL-1 α) в открытых комедонах.

1.3. Повышенная иммунореактивность деффензина-2.

1.4. Повышение CD3⁺ и CD4⁺T-лимфоцитов и макрофагов в непораженной коже.

2. Пептидазы:

2.1. Экспрессия провоспалительных пептидаз себоцитами и кератиноцитами.

2.2. Ингибирование активности пептидаз с формированием противовоспалительного статуса.

3. Нейропептидазы: повышенная экспрессия в непораженной коже кортико-рилизинг-гормона, субстанции P, рецептора меланокортина-1.

4. Toll-подобные рецепторы:

4.1. *P. acnes* активируют воспалительный цитокиновый ответ, присутствуя в СВФ, могут иметь значение в формировании комедонов.

4.2. Активация эндогенных лиганд.

5. Изменения в биосинтезе липидов:

5.1. Ассоциация синтеза липидов себоцитами и воспаления.

5.2. Пероксидированные липиды активируют воспалительный ответ.

6. Терапевтические аспекты:

6.1. Ретиноиды эффективны при невоспалительных высыпаниях: снижают экспрессию Toll-подобных рецепторов-2 и IL-10.

Концепция о том, что воспаление играет роль только на поздних стадиях акне неоднократно обсуждалась, и доказательством раннего воспалительного ответа являются данные гистологического исследования кожи с ранними высыпаниями (от 6 до 72 часов) акне. Было показано, что лимфоцитарная инфильтрация выявлялась через 6 и 24 часа. При этом соотношение Т-хелпер:Т-цитотоксический лимфоцит составило 2,8:1. Полиморфноядерные лейкоциты выявлялись через 24 и 72 часа. На основании этих данных авторы предположили, что ранний лимфоцитарный инфильтрат является ответной клеточной иммунной реакцией на антигены внутри просвета выводного протока СВФ [3, 4, 5, 38, 65, 67].

Также было установлено, что воспаление развивается на этапе микрокомедонов до начала гиперпролиферации СВФ. При этом перифоликулярно и в папиллярной дерме выявлялся лимфоцитарный инфильтрат из CD3⁺ и CD4⁺T-лимфоцитов и макрофагов, что аналогично выявляемому при папулах [19, 27].

Проведенные сравнительные исследования эффективности медикаментозного лечения препаратами с противовоспалительным действием свидетельствуют о ранней воспалительной реакции при акне. Из этих препара-

тов применение дапсона, ингибирующего IL-8 *in vitro*, приводило к регрессу и комедонов, и воспалительных элементов [23, 49, 51].

Другая группа препаратов – топические ретиноиды – оказывают противовоспалительное действие, механизм которого связан с уменьшением экспрессии Toll-подобных рецепторов-2 (TLR2) и IL-10 как в проекции клинических симптомов акне, так и вне высыпаний [14, 50, 51].

Имеются убедительные данные о раннем вовлечении СВФ в воспалительный процесс при акне. Секрета кожного сала индуцируется различными рецепторами, которые экспрессируются сальной железой. На сегодня это рецепторы гистамина, андрогенов (дегидротестостерон), нейромодуляторов (активируется субстанцией P) и рецептор кортико-торпин-рилизинг-гормона (активируется при стрессе) [25, 39, 62].

Помимо этих хорошо описанных рецепторов, недавние молекулярные исследования идентифицировали 3 новых рецептора, которые экспрессируются сальной железой и контролируют секрецию себума. Каждый из этих рецепторов активируется пищевыми субстанциями. Пероксисом-пролиферирующий активатор-рецептор (peroxisome proliferator-activated receptors, PPAR α , β и γ) стимулируется свободными жирными кислотами и холестерином, рецептор инсулиноподобного фактора роста (insulin-like growth factor, IGF-1) – сахаром, а рецептор лептина – жиром [56, 61].

Лептин – это гормон, который секретируется адипоцитами и регулирует массу тела, а также обеспечивает взаимосвязь метаболизма липидов и воспаления в различных типах клеток. В себоците лептин обеспечивает формирование капелек липидов и индуцирует синтез провоспалительных ферментов и цитокинов (IL-6 и IL-8). Полученные данные позволяют сделать предположение о новой роли лептина в активации воспаления и изменения липидного профиля в себоцитах [55].

Имеются сведения о том, что в сальной железе секретируются IL-1 α и IL-1 β , которые иницируются активностью транскрипционных IL-1 α mRNA и IL-1 β mRNA. Также показано, что *in vitro* имеется постоянная секреция IL-1 α нормальными кератиноцитами человека, что подтверждает конституциональную экспрессию этого цитокина в низкой концентрации. Тогда как при акне у 78% пациентов в невоспалительных открытых комедонах был идентифицирован IL-1 α , а у 58% он превышал порог для акти-

вазии видимой провоспалительной реакции в 100 мкг/мл [11, 19, 48, 63].

Показано, что в культуре клеток *in vitro* IL-1 α приводил к ремоделированию СВФ и образованию комедонов, а добавление TNF α и EGF вызывало дезорганизацию кератиноцитов в верхней части выводного протока СВФ и деструкции железы аналогично выявленному при тяжелом течении акне. Полученные результаты показали существенное повышение экспрессии mRNA TNF α , IL-8, IL-10 в зонах высыпаний УБ [21].

При этом в зонах непораженной кожи у больных акне отмечено достоверное увеличение TLR4, IL-2, IL-10, TIMP-2 и уменьшение MMP-9 [41].

Роль различных микроорганизмов, прежде всего *P. acnes*, в настоящее время обсуждается. Результаты гистоморфологического исследования показали наличие *P. acnes* при воспалительных акне у 68% с длительностью высыпаний 1 день и у 79% – 3 дня [10, 30].

В сбалансированной микробиоме кожи *Staphylococcus epidermidis* ограничивает чрезмерную колонизацию и воспалительный ответ кожи *P. acnes*, идентифицированных через высвобождение янтарной кислоты (продукта ферментации жирных кислот), а также подавляет индуцированную *P. acnes* секрецию кератиноцитами IL-6 и TNF α [60].

Наоборот, *P. acnes* ограничивает пролиферацию *S. aureus* и *S. pyogenes* путем поддержания кислого рН СВФ за счет гидролиза триглицеридов кожного сала и секреции припионовой кислоты [15, 45].

Следовательно, любое нарушение баланса микробиома может привести к нарушению кожного барьера, развитию дисбиоза кожи и активации врожденного иммунитета, приводя к воспалению [43].

При акне дисбиоз развивается параллельно с качественными и количественными изменениями кожного сала, при этом изменяется спектр всех 6 филлотипов *P. acnes*, которые различаются у пациентов с акне и без [31, 33].

Имеются данные, подтверждающие, что *P. acnes* активирует воспалительную реакцию при акне, которая дополнительно поддерживает пролиферацию *P. acnes* [7, 47].

Установлено, что *P. acnes* инициирует врожденный иммунитет через TLR2 и на ранних, и на поздних стадиях течения дерматоза. Индукция TLR ведет к экспрессии генов иммунного ответа, в том числе кодирующих цитокины и хемокины, обеспечивающих хемотаксис клеток иммунной системы [11, 17, 18, 22, 29].

Показано, что экспрессия TLR2 увеличивается прямо пропорционально тяжести заболевания и цитокины продуцируются как результат взаимодействия *P. acnes* и TLR2, дефензинов и MMP через активацию PAR-2R [12, 20].

В случае формирования тяжелых форм акне развивается избыточная активация TLR2, секреция IL-8 и MMP-9, которые диффундируют через СВФ в дерму и эпидермис, являясь в 5 раз более активными провоспалительными факторами, чем *S. aureus* или *Streptococcus* [8, 20, 34, 36, 58, 64].

Внутрикожные механизмы как врожденного, так и адаптивного иммунитета поддерживают иммунный гомеостаз организма [1, 26, 37].

Именно кератиноциты играют важную роль в иммунном ответе в коже за счет экспрессии ряда рецепторов распознавания (pattern recognition receptors, PRRs), включая Toll-подобные рецепторы (TLRs) и протеаз-активированные рецепторы (protease-activated receptors, PARs). Под влиянием микробиома происходит активация PARs и быстрое увеличение секреции антимикробных пептидов (antimicrobial peptides, AMPs, таких как дермцидин), цитокинов (IFN γ , IL-8, IL-12, TNF, IL-1), матриксных металлопротеиназ (MMP) и хемокинов, что приводит к прямым антимикробным эффектам и дополнительному привлечению клеток иммунной системы [42].

Показано, что *P. acnes*, стимулируя TLR2 моноциты, вызывают синтез IL-8 и IL-12 и антимикробных пептидов (β -дефензина-2) [5, 34, 46].

Семейство β -дефензинов (дефензин-1, 2 и 3) синтезируется в коже в ответ на бактериальную инфекцию и имеет широкий спектр функций, таких как модификация клеточной миграции и созревание, индукция цитокинов и хемоаттракция иммунокомпетентных клеток [2, 28, 59].

Показано увеличение в 33 раза экспрессии гена β -дефензинов-2 при клинически диагностированных воспалительных акне в сравнении с его значением в непораженной коже и у лиц без акне [16, 57].

В процессе воспаления, инициированно-го *P. acnes*, была выявлена секреция IL-1 β моноцитами и себоцитами через активацию ключевого гена инфламмасом *NLRP3*. Этот механизм регулируется протеазами и активными формами кислорода (reactive oxygen species, ROS). Кроме того, *P. acnes* способствует смешанному Th17/Th1-ответу, индуцируя сопутствующую секрецию IL-17A и

IFN γ CD4⁺T-клетками. Следовательно, наличие IL-17A позитивных Т-клеток и активация Th-связанных цитокинов в высыпаниях акне указывают на то, что Th17-путь может играть ключевую роль при акне [24].

Приводятся сведения, что микробиом колонизирует СВФ, начиная с воспалительных элементов, а комедоны являются стерильными, что свидетельствует о развитии воспаления независимо от *P. acnes* [44].

Позднее было обнаружено, что *P. acnes* очень чувствительны к различным концентрациям оксида азота в наночастицах (nitric oxide in nanoparticles, NO_{np}). NO_{np} достоверно подавляет секрецию IL-1 β , TNF α , IL-8, IL-6 моноцитами и IL-8 и IL-6 кератиноцитами и мононуклеарами периферической крови. Эти данные позволяют предположить, что NO_{np} может эффективно предотвращать индуцированное *P. acnes* воспаление путем ингибирования микробной стимуляции врожденного иммунного ответа [40].

Имеются сведения о возможной протективной роли дефензинов от инвазии микроорганизмами по данным экспрессии mRNA β -дефензинов в сальных железах здоровой кожи. Выявлено более значимое увеличение β -дефензина-1 в комедонах в сравнении с пустулами. При этом, учитывая, что провоспалительные цитокины регулируют секрецию β -дефензинов, избыточная экспрессия β -дефензина-1 может быть вторичной в ответ на развитие перифолликулярной инфильтративной реакции [32, 35, 66].

Пептидазы, такие как дипептидилпептидаза IV (dipeptidyl peptidase IV, DP-IV) и аминопептидаза (amino-peptidase N, APN), синтезируются в организме человека и регулируют ряд биологических процессов, включая рост, дифференцировку, межклеточные взаимодействия и трансформацию клеток, в частности Т-лимфоцитов [6, 53].

Оба этих фермента экспрессируются на нормальных кератиноцитах человека и активируются при гиперпролиферативных дерматозах. Показано, что эти пептидазы также экспрессируются на себоцитах человека и на начальных стадиях УБ их фармакологическое ингибирование приводит к супрессии дифференцировки и секреции цитокинов в себоцитах и кератиноцитах. Кроме того, происходит подавление продукции IL-3 Т-лимфоцитами, которые активируются *P. acnes*, и увеличение экспрессии иммуносупрессивного фактора – TNF α . Эти данные свидетельствуют о том, что DP-IV и APN участвуют в функционировании сальных желез и играют роль провоспалительных факторов в патогенезе ранних стадий УБ [6, 52, 54].

Некоторые свободные жирные кислоты кожного сала, такие как линолевая и сапиеновая кислоты, обладают антибактериальной активностью за счет стимуляции AMP, продуцирующихся в ответ на колонизацию грамположительными бактериями, включая *P. acnes* [35].

Ряд исследований показал, что AMP являются основными факторами, влияющими на врожденный иммунитет кожи. Из-за их прямого антимикробного действия обеспечивается защита от *P. acnes* [9].

Таким образом, имеющиеся данные подтверждают, что акне является первичным воспалительным дерматозом с развитием воспаления на ранних стадиях, что подтверждено избыточным синтезом провоспалительных цитокинов, пептидаз и нейропептидаз, активацией TLR и PPAR.

При этом патофизиологические механизмы инициации воспалительной реакции при акне являются сложными, до конца не изученными, что диктует необходимость дальнейших исследований.

Список литературы / References

1. Afshar M., Gallo R.L. Innate immune defense system of the skin. *Vet. Dermatol.*, 2013, Vol. 24, pp. 32-38.
2. Agier J., Brzezińska-Błaszczak E. Cathelicidins and defensins regulate mast cell antimicrobial activity. *Postepy Hig. Med. Dosw. (Online)*, 2016, Vol. 16, no. 70 (0), pp. 618-636.
3. Alan M., O'Neill, Richard L.G. Host-microbiome interactions and recent progress into understanding the biology of acne vulgaris. *Microbiome*, 2018, Vol. 6, no. 1, 177. doi: 10.1186/s40168-018-0558-5.
4. Antiga E., Verdelli A., Bonciani D., Bonciolini V., Caproni M., Fabbri P. Acne: a new model of immune-mediated chronic inflammatory skin disease. *G. Ital. Dermatol. Venereol.*, 2015, Vol. 150, no. 2, pp. 247-254.
5. Beylot C., Auffret N., Poli F., Claudel J.P., Leccia M.T., Del Giudice P., Dreno B. Propionibacterium acnes: an update on its role in the pathogenesis of acne. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2014, Vol. 28, no. 3, pp. 271-278.
6. Biton A., Ansoorge S., Bank U., Täger M., Reinhold D., Brocke S. Divergent actions by inhibitors of DP IV and APN family enzymes on CD4⁺ T cell motility and functions. *Immunobiology*, 2011, Vol. 216, no. 12, pp. 1295-1301.

7. Bojar R.A., Holland K.T. Acne and *Propionibacterium acnes*. *Clin. Dermatol.*, 2004, Vol. 22, no. 5, pp. 375-379.
8. Bruggemann H., Henne A., Hoster F. The complete genome sequence of *Propionibacterium acnes*, a commensal of human skin. *Science*, 2004, Vol. 305, pp. 671-673.
9. Choi D.K., Li Z.J., Chang I.K. Regional difference of inflammatory acne lesions according to beta-defensin-2 expression. *J. Invest. Dermatol.*, 2014, Vol. 134, pp. 2044-2046.
10. Dessinioti C., Katsambas A. *Propionibacterium acnes* and antimicrobial resistance in acne. *Clin. Dermatol.*, 2017, Vol. 35, no. 2, pp. 163-167.
11. Dréno B. What is new in the pathophysiology of acne, an overview. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2017, Vol. 31, no. 5, pp. 8-12.
12. Dreno B., Gollnick H.P., Kang S. Understanding innate immunity and inflammation in acne: implications for management. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2015, Vol. 29, no. 4, pp. 3-11.
13. Gollnick H., Abanmi A.A., Al-Enezi M., Al Hammadi A., Galadari I., Kibbi A.G., Zimmo S. Managing acne in the Middle East: consensus recommendations. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2017, Vol. 31, no. 7, pp. 4-35.
14. Gonzalez P., Vila R., Cirigliano M. The tolerability profile of clindamycin 1%/benzoyl peroxide 5% gel vs. adapalene 0.1%/benzoyl peroxide 2.5% gel for facial acne: results of a randomized, single-blind, split-face study. *J. Cosmet. Dermatol.*, 2012, Vol. 11, no. 4, pp. 251-260.
15. Grice E.A., Segre J.A. The skin microbiome. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2011, Vol. 9, pp. 244-253.
16. Harvey A., Huynh T.T. Inflammation and acne: putting the pieces together. *J. Drugs Dermatol.*, 2014, Vol. 13, no. 4, pp. 459-463.
17. Huang Y.C., Yang C.H., Li T.T., Zouboulis C.C., Hsu H.C. Cell-free extracts of *Propionibacterium acnes* stimulate cytokine production through activation of p38 MAPK and Toll-like receptor in SZ95 sebocytes. *Life Sci.*, 2015, Vol. 15, no. 139, pp. 123-131.
18. Jasson F., Nagy I., Knol A.C., Zuliani T., Khammari A., Dréno B. Different strains of *Propionibacterium acnes* modulate differently the cutaneous innate immunity. *Exp. Dermatol.*, 2013, Vol. 22, no. 9, pp. 587-592.
19. Jeremy A.H., Holland D.B., Roberts S.G., Thomson K.F., Cunliffe W.J. Inflammatory events are involved in acne lesion initiation. *J. Invest. Dermatol.*, 2003, Vol. 121, pp. 20-27.
20. Jeremy A.H., Holland D.B., Roberts S.G., Thomson K.F., Cunliffe W.J., Jugeau S., Tenaud I., Knol A.C. Induction of toll-like receptors by *Propionibacterium acnes*. *Br. J. Dermatol.*, 2005, Vol. 153, pp. 1105-1113.
21. Kang S., Cho S., Chung J.H. Inflammation and extracellular matrix degradation mediated by activated transcription factors nuclear factor-kappaB and activator protein-1 in inflammatory acne lesions *in vivo*. *Am. J. Pathol.*, 2005, Vol. 166, pp. 1691-1699.
22. Kim J., Ochoa M.T., Krutzik S.R., Takeuchi O., Uematsu S., Legaspi A.J., Brightbill H.D., Holland D., Cunliffe W.J., Akira S., Sieling P.A., Godowski P.J., Modlin R.L. Activation of toll-like receptor 2 in acne triggers inflammatory cytokine responses. *J. Immunol.*, 2002, Vol. 1, no. 169 (3), pp. 1535-1541.
23. Kircik L.H. Harnessing the anti-inflammatory effects of topical dapsone for management of acne. *J. Drugs Dermatol.*, 2010, Vol. 9, no. 6, pp. 667-671.
24. Kistowska M., Meier B., Proust T. *Propionibacterium acnes* promotes Th17 and Th17/Th1 responses in acne patients. *J. Invest. Dermatol.*, 2015, Vol. 135, pp. 110-118.
25. Krause K., Schnitger A., Fimmel S., Glass E., Zouboulis C.C. Corticotropin-releasing hormone skin signaling is receptor-mediated and is predominant in the sebaceous glands. *Horm. Metab. Res.*, 2007, Vol. 39, pp. 166-170.
26. Kupper T.S. Personal reflections on 25 years of immunodermatology. *Br. J. Dermatol.*, 2014, Vol. 171, no. 4, pp. 684-686.
27. Layton A.M., Morris C., Cunliffe W.J., Ingham E. Immunohistochemical investigation of evolving inflammation in lesions of acne vulgaris. *Exp. Dermatol.*, 1998, Vol. 7, no. 4, pp. 191-197.
28. Lee S.E., Kim J.M., Jeong S.K., Jeon J.E., Yoon H.J., Jeong M.K., Lee S.H. Protease-activated receptor-2 mediates the expression of inflammatory cytokines, antimicrobial peptides, and matrix metalloproteinases in keratinocytes in response to *Propionibacterium acnes*. *Arch. Dermatol. Res.*, 2010, Vol. 302, no. 10, pp. 745-756.
29. Lee S.E., Kim J.M., Jeong S.K., Choi E.H., Zouboulis C.C., Lee S.H. Expression of protease-activated receptor-2 in SZ95 sebocytes and its role in sebaceous lipogenesis, inflammation, and innate immunity. *J. Invest. Dermatol.*, 2015, Vol. 135, no. 9, pp. 2219-2227.
30. Leeming J.P., Holland K.T., Cunliffe W.J. The microbial colonization of inflamed acne vulgaris lesions. *Br. J. Dermatol.*, 1988, Vol. 118, no. 2, pp. 203-208.
31. McDowell A., Nagy I., Magyari M., Barnard E., Patrick S. The opportunistic pathogen *Propionibacterium acnes*: insights into typing, human disease, clonal diversification and CAMP factor evolution. *PLoS ONE*, 2013, Vol. 8, no. 9, e70897. doi: 10.1371/journal.pone.0070897.
32. Melnik B.C. Is sebocyte-derived leptin the missing link between hyperseborrhea, ductal hypoxia, inflammation and comedogenesis in acne vulgaris? *Exp. Dermatol.*, 2016, Vol. 25, no. 3, pp. 181-182.
33. Melnik B.C. Linking diet to acne metabolomics, inflammation, and comedogenesis: an update. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.*, 2015, Vol. 8, pp. 371-388.
34. Nagy I., Pivarcsi A., Koreck A., Szell M., Urban E., Kemeny L. Distinct strains of *Propionibacterium acnes* induce selective human beta-defensin-2 and interleukin-8 expression in human keratinocytes through toll-like receptors. *J. Invest. Dermatol.*, 2005, Vol. 12, pp. 931-938.

35. Nakatsuji T., Kao M.C., Zhang L., Zouboulis C.C., Gallo R.L., Huang C.M. Sebum free fatty acids enhance the innate immune defense of human sebocytes by upregulating beta-defensin-2 expression. *J. Invest. Dermatol.*, 2010, Vol. 130, no. 4, pp. 985-994.
36. Nakatsuji T., Liu Y.T., Huang C.P., Zoubouis C.C., Gallo R.L., Huang C.M. Antibodies elicited by inactivated propionibacterium acnes-based vaccines exert protective immunity and attenuate the IL-8 production in human sebocytes: relevance to therapy for acne vulgaris. *J. Invest. Dermatol.*, 2008, Vol. 128, pp. 2451-2457.
37. Nestle F.O., di Meglio P., Qin J.Z., Nickoloff B.J. Skin immune sentinels in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.*, 2009, Vol. 9, pp. 679-691.
38. Norris J.F., Cunliffe W.J. A histological and immunocytochemical study of early acne lesions. *Br. J. Dermatol.*, 1988, Vol. 118, no. 5, pp. 651-659.
39. Pelle E., McCarthy J., Seltmann H. Identification of histamine receptors and reduction of squalene levels by an antihistamine in sebocytes. *J. Invest. Dermatol.*, 2008, Vol. 128, pp. 1280-1285.
40. Qin M., Landriscina A., Rosen J.M. Nitric oxide-releasing nanoparticles prevent *Propionibacterium acnes*-induced inflammation by both clearing the organism and inhibiting microbial stimulation of the innate immune response. *J. Invest. Dermatol.*, 2015, Vol. 135, pp. 2723-2731.
41. Saint-Jean M., Khammari A., Jasson F., Nguyen J.M., Dréno B. Different cutaneous innate immunity profiles in acne patients with and without atrophic scars. *Eur. J. Dermatol.*, 2016, Vol. 26, no. 1, pp. 68-74.
42. Sanford J.A., Gallo R.L. Functions of the skin microbiota in health and disease. *Semin. Immunol.*, 2013, Vol. 25, pp. 370-377.
43. Seite S., Bieber T. Barrier function and microbiotic dysbiosis in atopic dermatitis. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.*, 2015, Vol. 8, pp. 479-483.
44. Shaheen B., Gonzalez M. Acne sans *P. acnes*. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2013, Vol. 27, no. 1, pp. 1-10.
45. Shu M., Wang Y., Yu J. Fermentation of *Propionibacterium acnes*, a commensal bacterium in the human skin microbiome, as skin probiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *PLoS ONE*, 2013, Vol. 8, no. 2, e55380. doi: 10.1371/journal.pone.0055380.
46. Simonart T. Immunotherapy for acne vulgaris: current status and future directions. *Am. J. Clin. Dermatol.*, 2013, Vol. 14, no. 6, pp. 429-435.
47. Song M., Seo S.H., Ko H.C., Oh C.K., Kwon K.S., Chang C.L., Kim M.B. Antibiotic susceptibility of *Propionibacterium acnes* isolated from acne vulgaris in Korea. *J. Dermatol.*, 2011, Vol. 38, no. 7, pp. 667-673.
48. Stein Gold L.F. What's new in acne and inflammation? *J. Drugs Dermatol.*, 2013, Vol. 1, no. 12 (6), pp. 67-69.
49. Tan J. Dapsone 5% gel: a new option in topical therapy for acne. *Skin Therapy Lett.*, 2012, Vol. 17, no. 8, pp. 1-3.
50. Tanghetti E., Abramovits W., Solomon B., Loven K., Shalita A. Tazarotene versus tazarotene plus clindamycin/benzoyl peroxide in the treatment of acne vulgaris: a multicenter, double-blind, randomized parallel-group trial. *J. Drugs Dermatol.*, 2006, Vol. 5, no. 3, pp. 256-261.
51. Tanghetti E., Dhawan S., Green L., Ling M., Downie J., Germain M.A., Kasteler J.S., Kircik L., Oefelein M.G., Draeos Z. Clinical evidence for the role of a topical anti-inflammatory agent in comedonal acne: findings from a randomized study of dapsone gel 5% in combination with tazarotene cream 0.1% in patients with acne vulgaris. *J. Drugs Dermatol.*, 2011, Vol. 10, no. 7, pp. 783-792.
52. Thielitz A., Ansorge S., Bank U., Tager M., Wrenger S., Gollnick H., Reinhold D. The ectopeptidases dipeptidyl peptidase IV (DP IV) and aminopeptidase N (APN) and their related enzymes as possible targets in the treatment of skin diseases. *Front. Biosci.*, 2008, Vol. 13, pp. 2364-2375.
53. Thielitz A., Reinhold D., Vetter R., Lendeckel U., Kähne T., Bank U., Helmuth M., Neubert K., Faust J., Hartig R., Wrenger S., Zouboulis C.C., Ansorge S., Gollnick H. Possible role of DP IV inhibitors in acne therapy. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2006, Vol. 575, pp. 163-167.
54. Tochio T., Tanaka H., Nakata S., Ikeno H. Accumulation of lipid peroxide in the content of comedones may be involved in the progression of comedogenesis and inflammatory changes in comedones. *J. Cosmet. Dermatol.*, 2009, Vol. 8, pp. 152-158.
55. Torocsik D., Kovacs D., Camera E. Leptin promotes a proinflammatory lipid profile and induces inflammatory pathways in human SZ95 sebocytes. *Br. J. Dermatol.*, 2014, Vol. 171, pp. 1326-1335.
56. Trivedi N.R., Cong Z., Nelson A.M. Peroxisome proliferator-activated receptors increase human sebum production. *J. Invest. Dermatol.*, 2006, Vol. 126, pp. 2002-2009.
57. Trivedi N.R., Gilliland K.L., Zhao W. Gene array expression profiling in acne lesions reveals marked upregulation of genes involved in inflammation and matrix remodeling. *J. Invest. Dermatol.*, 2006, Vol. 126, pp. 1071-1079.
58. Trompezinski S., Weber S., Cadars B. Assessment of a new biological complex efficacy on dysseborrhea, inflammation, and *Propionibacterium acnes* proliferation. *Clin. Cosmet. Investi. Dermatol.*, 2016, Vol. 9, pp. 233-239.
59. Wiesner J., Vilcinskas A. Antimicrobial peptides: the ancient arm of the human immune system. *Virulence*, 2010, Vol. 1, pp. 440-464.
60. Xia X., Li Z., Liu K., Wu Y., Jiang D., Lai Y. Staphylococcal LTA-induced miR-143 inhibits *Propionibacterium acnes*-mediated inflammatory response in skin. *J. Invest. Dermatol.*, 2016, Vol. 136, pp. 621-630.
61. Zhang L., Li W.H., Anthonavage M., Eisinger M. Melanocortin-5 receptor: a marker of human sebocyte differentiation. *Peptides*, 2006, Vol. 27, pp. 413-420.

62. Zouboulis C.C. Sebaceous gland receptors. *Dermatoendocrinology*, 2009, Vol. 1, pp. 77-80.
63. Zouboulis C.C. The sebaceous gland. *Hautarzt*, 2010, Vol. 61, no. 6, pp. 467-468.
64. Zouboulis C.C., Jourdan E., Picardo M. Acne is an inflammatory disease and alterations of sebum composition initiate acne lesions. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2014, Vol. 28, pp. 527-532.
65. Zouboulis C.C., Bornstein S.R. Skin and hormones: news from dermato-endocrinology. *Dtsch. Med. Wochenschr.*, 2013, Vol. 138, no. 31-32, pp. 1561-1563.
66. Zouboulis C.C., Schagen S., Alestas T. The sebocyte culture: a model to study the pathophysiology of the sebaceous gland in seborrhea and acne. *Arch. Dermatol. Res.*, 2008, Vol. 300, no. 8, pp. 397-413.
67. Zouboulis C.C. Pathophysiology of acne. What is confirmed? *Hautarzt*, 2013, Vol. 64, no. 4, pp. 235-240.

Авторы:

Румянцев А.Г. — д.м.н., профессор, академик РАН, президент ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Демина О.М. — к.м.н., доцент, заведующая научно-организационным отделом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Райкина Е.В. — к.м.н., заведующая лабораторией молекулярной биологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Rumyantsev A.G., PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, President, D. Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

Demina O.M., PhD (Medicine), Associate Professor, Head, Scientific and Organizational Department, D. Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

Raikina E.V., PhD (Medicine), Head, Laboratory of Molecular Biology, D. Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

Поступила 17.03.2020
Отправлена на доработку 20.03.2020
Принята к печати 01.04.2020

Received 17.03.2020
Revision received 20.03.2020
Accepted 01.04.2020

НОВАЯ ЛИНИЯ МУТАНТНЫХ МЫШЕЙ С ИЗБИРАТЕЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ОДНОМУ ИЗ ДВУХ ПРОТОКОЛОВ СЕПТИЧЕСКОГО ШОКА

Астраханцева И.В.^{1, 2}, Гладкова Л.С.², Василенко Е.А.²,
Тарабыкин В.С.^{2, 3}, Друцкая М.С.⁴, Недоспасов С.А.^{1, 4, 5}

¹ Научно-технологический университет «Сириус», г. Сочи, Россия

² ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского», г. Нижний Новгород, Россия

³ Институт клеточной биологии и нейробиологии, Медицинский факультет Шарите, Берлин, Германия

⁴ ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, Москва, Россия

⁵ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Резюме. Более 40 лет назад было описано, что воздействие этилнитрозомочевины оказывает мощный мутагенный эффект на половые клетки млекопитающих. Этот химический мутаген приводит к появлению случайных точечных мутаций в ДНК гамет, что позволило использовать его для исследований генетики механизмов различных патологических и физиологических состояний на модельных организмах. В нашей работе после полногеномного мутагенеза этилнитрозомочевинной мышей линии СЗН в поколении F3 отбирали особей, показавших устойчивость к острой летальной гепатотоксичности, вызванной комбинацией липополисахарида (ЛПС) *E. coli* и Д-галактозамина (Д-гал). Известно, что облигатным медиатором этой патологии является фактор некроза опухоли (TNF). Воздействие Д-галактозамина повышает чувствительность гепатоцитов к действию TNF, что приводит к их некрозу и/или апоптозу. После двойного ЛПС/Д-гал-скрининга поколения F3 было выявлено несколько особей, устойчивых к воздействию ЛПС и Д-гал-гепатотоксичности, которые стали основателями «мутантных» семейств. С помощью аутбридинга на линию мышей C57BL/6 с последующим возвратным скрещиванием последовательно были получены поколения F5 и F7. В поколении F5 было выявлено одно семейство мутантных животных, у которого устойчивость к комбинации ЛПС и Д-гал сочеталась с чувствительностью к комбинации TNF и Д-галактозамина, причем этот фенотип проявлял приблизительно менделевское расщепление, соответствующее гипотезе о рецессивной мутации. Этот факт подтверждался чувствительностью гетерозиготных поколений (F4 и F6) к летальной гепатотоксичности. Первичные макрофаги костного мозга, полученные из половины мутантных мышей с таким фенотипом, характеризовались значительно сниженными уровнями индуцированного TNF в ответ на стимуляцию ЛПС *in vitro*. С другой стороны, уровень TNF в сыворотке крови через 1 час после введения мышам нелетальной дозы ЛПС не отличался у мышей мутантного семейства и мышей дикого типа. Эти результаты могут быть объяснены рецессивной мутацией в одном из генов, кодирующих компоненты сигнальной цепочки врожден-

Адрес для переписки:

Недоспасов Сергей Артурович
ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»
119991, Россия, Москва, ул. Вавилова, 32.
Тел.: 8 (499) 135-23-11.
E-mail: sergei.nedospasov@gmail.com

Address for correspondence:

Nedospasov Sergey A.
M. Lomonosov Moscow State University
119991, Russian Federation, Moscow, Vavilov str., 32.
Phone: 7 (499) 135-23-11.
E-mail: sergei.nedospasov@gmail.com

Образец цитирования:

И.В. Астраханцева, Л.С. Гладкова, Е.А. Василенко, В.С. Тарабыкин, М.С. Друцкая, С.А. Недоспасов «Новая линия мутантных мышей с избирательной устойчивостью к одному из двух протоколов септического шока» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 1. С. 27-34. doi: 10.46235/1028-7221-003-NSO
© Астраханцева И.В. и соавт., 2020

For citation:

I.V. Astrakhantseva, L.S. Gladkova, E.A. Vasilenko, V.S. Tarabykin, M.S. Drutsкая, S.A. Nedospasov "New strain of mutant mice characterized by selective resistance to one of two septic shock protocols", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 1, pp. 27-34. doi: 10.46235/1028-7221-003-NSO
DOI: 10.46235/1028-7221-003-NSO

ного иммунитета, затрагивающей TLR4 каскад, включая в себя белки, связанные с переносом ЛПС, адаптерные молекулы, компоненты киназных сигнальных каскадов и транскрипционные факторы, в ферментах, участвующих в регуляции TLR4 каскада, таких как компоненты убиквитинового цикла, либо в регуляторной последовательности генома, контролирующей экспрессию одного из этих генов, включая ген *tnf*.

Ключевые слова: полногеномный мутагенез в мышцах, цитокины, фактор некроза опухоли, воспаление, септический шок

NEW STRAIN OF MUTANT MICE CHARACTERIZED BY SELECTIVE RESISTANCE TO ONE OF TWO SEPTIC SHOCK PROTOCOLS

Astrakhantseva I.V.^{a, b}, Gladkova L.S.^b, Vasilenko E.A.^b,
Tarabykin V.S.^{b, c}, Drutskaya M.S.^d, Nedospasov S.A.^{a, d, e}

^a Scientific and Technological University "Sirius", Sochi, Russian Federation

^b N. Lobachevsky State University, Nizhniy Novgorod, Russian Federation

^c Institute of Cell and Neurobiology, Charité – Universitätsmedizin, Berlin, Germany

^d V. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

^e M. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Abstract. More than 40 years ago ethyl nitrosourea was identified as a powerful mutagen for mammalian germ cells resulting in random point mutations in gamete DNA. This feature allowed the use of this mutagen for genetic studies on the mechanisms of various pathological and physiological processes in model organisms. In our study genome-wide mutagenesis in C3H mice by ethyl nitrosourea followed in generation F3 by selection of animals resistant to acute lethal hepatotoxicity caused by a combination of *E. coli* lipopolysaccharide (LPS) and D-galactosamine (D-gal). Tumor necrosis factor (TNF) is known to be a critical mediator of this pathology. Exposure to D-galactosamine increases sensitivity of hepatocytes to TNF leading to their necrosis and/or apoptosis. After double LPS/D-gal screening in F3 several mice resistant to LPS/D-gal-induced hepatotoxicity were identified, and became the founders of the corresponding "mutant" families. Using outcrossing to C57BL/6 background followed by intercrossing, generations F5 and F7 were obtained. Among families of mutant animals only one family showed the resistance to the combination of LPS and D-gal, but sensitivity to TNF-D-galactosamine. This phenotype showed approximately Mendelian inheritance consistent with the recessive mutation hypothesis. This latter fact was confirmed by the sensitivity of mice from "heterozygous generations" (F4 and F6) to lethal LPS/Dgal hepatotoxicity. Primary bone marrow macrophages obtained from half of the mutant mice showed significantly reduced levels of TNF after LPS stimulation *in vitro*. At the same time, the serum TNF levels 1 hour after the administration of a non-lethal LPS dose did not differ in the mutant family mice and wild-type mice. These results implicate a recessive mutation either in innate TLR4-mediated signaling pathway, including proteins associated with LPS transfer, adapter molecules, components of kinase signaling cascades, transcription factors, or in enzymes involved in regulation of TLR4 cascades, such as components of the ubiquitin cycle, or in genomic regulatory sequences that control the expression of one of these genes, including the *tnf* gene.

Keywords: full genomic mutagenesis in mice, cytokines, tumor necrosis factor, inflammation, septic shock

Работа авторов поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований № 17-00-00327.

Введение

Полногеномный мутагенез в модельных животных остается ценным методическим

подходом к выявлению функций генов [6, 7, 8]. Вкратце: самцов поколения F0, подверженных трехкратному введению мутагена этилнитрозомочевина (ENU) [8], скрещивали с самками линейных мышей, после чего полученных в потомстве самцов (F1) также скрещивали с самками линейных мышей,

что позволяет закрепить предполагаемые мутации. Затем самцов и самок поколения F2, предположительно несущих мутации в гетерозиготном состоянии, скрещивали между собой, что позволяет в поколении F3 вести скрининг на заранее выбранный фенотип, такой как устойчивость к индуцированному модельному заболеванию [2, 10, 19].

В модели острой летальной гепатотоксичности, вызванной инъекцией бактериального липополисахарида (ЛПС) и Д-галактозамина (Д-гал), токсичность индуцируется активной экспрессией провоспалительных цитокинов, при этом необходима активация сигнального пути TLR4 [4, 16]. Более того, показано, что при этом уровень продукции провоспалительных цитокинов коррелирует с тяжестью протекания гепатотоксичности [3].

В предыдущей работе нами были отобраны несколько мутантных линий (семей), которые обладали устойчивостью к острой летальной гепатотоксичности, вызванной инъекцией бактериального ЛПС/Д-гал [1]. Известно, что молекулярным медиатором в этой экспериментальной мышинной модели острой гепатотоксичности является провоспалительный цитокин – фактор некроза опухоли (TNF) [3, 5, 9]. Хотя экспрессия TNF на уровне мРНК и белка у большинства этих мутантов не была нарушена, нами выявлена одна мутантная семья, особи которой чувствительны к другому протоколу острой гепатотоксичности – TNF-Д-гал, предположительно указывая на недостаточный уровень TNF *in vivo*. Кроме того, продукция TNF была изучена в первичных культурах макрофагов костного мозга, полученных от мутантных мышей, в ответ на стимуляцию ЛПС *in vitro*, причем примерно в половине случаев уровень TNF был значительно снижен.

Материалы и методы

Мыши и мутагенез

Разведение и содержание мышей осуществляли в апатогенных (specific pathogen free) условиях на базе вивария ННГУ им. Н.И. Лобачевского (г. Нижний Новгород). Мутагенез животных N-этил-N-нитризомочевинной проводили на самцах линии СЗН (F0), которых затем скрещивали с самками линии СЗН, затем получившихся самцов (F1) скрещивали с самками С57BL/6. Фенотипический скрининг проводили на животных поколения F3 возраста 6-7 недель [1].

В дальнейшем в конвенциональном виварии проводили скрещивание мышей на генотип С57BL/6 и в нечетных поколениях F5, F7

и F9 проверяли потомство на устойчивость к септическому шоку.

Модели острой гепатотоксичности

Протокол ЛПС-Д-гал-токсичности применяли при первичном скрининге [1]. Для оценки устойчивости к TNF-Д-гал-индуцированной острой гепатотоксичности мышам внутрибрюшинно вводили рекомбинантный TNF человека (любезно предоставленный профессором Д. Маннел, Университет Регенсбурга, Германия) и Д-галактозамин (Sigma, кат. № G0500, США), из расчета 100 нг и 800 мкг на грамм веса животного соответственно.

Получение первичных культур макрофагов костного мозга и их активация *in vitro*

Первичные культуры макрофагов костного мозга (bone marrow derived macrophages, BMDM) получали по стандартному протоколу путем дифференцировки клеток *in vitro* из костного мозга мутантных мышей и контрольных мышей дикого типа, полученных на смешанной генетической основе СЗН × С57BL/6 [14, 18]. Для измерения продукции TNF макрофаги рассаживали в 96-луночные планшеты из расчета 5×10^4 клеток на лунку, добавляли среду DMEM без сыворотки, не содержащую или содержащую ЛПС в концентрации 100 нг/мл, либо Poly I:C в концентрации 1 мкг/мл, либо имихимод в концентрации 1 мкг/мл, инкубировали в течение 4 часов, затем переносили супернатант в 96-луночный планшет и хранили его при -80°C .

Стимулирование системной продукции TNF *in vivo*

Для определения базового уровня TNF у мышей за сутки до эксперимента была отобрана кровь из щечной венозной пазухи. Через сутки мышам внутрибрюшинно вводили ЛПС (Sigma, кат. № L2630, США) в нелетальной дозе: 3 мкг/г веса животного. Для анализа уровня TNF в сыворотке периферической крови проводили забор крови из щечной венозной пазухи через 1 час после инъекции ЛПС. В дальнейшем мышей подвергали острой ЛПС/Д-гал-индуцированной гепатотоксичности для определения чувствительности или устойчивости к этой экспериментальной модели.

Иммуноферментный анализ TNF

Концентрацию продуцируемого TNF в первичной культуре макрофагов костного мозга или в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием набора "Mouse TNF α ELISA MAXTM Standart Set"

(Biolegend, США) по протоколу изготовителя. Статистический анализ полученных результатов проводили в программе Graphpad Prism с помощью U-критерия Манна–Уитни. Статистически значимыми считали различия между группами при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Все особи одного из мутантных семейств, отобранных по устойчивости к ЛПС-Д-гал, чувствительны к TNF-Д-гал

Ранее нами было описано семейство мутантных мышей, часть особей которого в поколениях F3, F5 и F7 были устойчивы к острой летальной гепатотоксичности, вызываемой комбинацией ЛПС и Д-гал [1]. В этих мышах TNF производился на нормальном уровне *in vivo* и *in vitro*, и, кроме того, устойчивые мыши были также устойчивы к другому протоколу острой гепатотоксичности, индуцированной комбинацией TNF и Д-гал.

Однако в одной мутантной семье («мутант 2»), которой и посвящена настоящая работа, устойчивость была избирательной: мыши были устойчивы к ЛПС-Д-гал, но чувствительны к TNF-Д-гал (рис. 1А, Б).

Мыши прошли несколько раундов дополнительного скрещивания на генотип C57Bl6, причем указанный фенотип показал почти менделевское наследование даже в F9.

На основе мышей этого семейства с устойчивым фенотипом в поколениях F7 и F9 была сделана попытка получить потомство с 100% устойчивостью к ЛПС/Д-гал-токсичности. Однако в этих поколениях также наблюдалось расщепление по фенотипу, то есть лишь часть потомства характеризовалась устойчивостью к ЛПС/Д-гал (41,7 и 27,7% для поколения F7а и F9а соответственно). Более того, доля выживших в этих поколениях статистически не отличалась от доли выживших в гетерозиготных «родительских» поколениях ($p > 0,05$) (рис. 1Б, В). Это наблюдение может свидетельствовать о неполной пенетрантности изучаемого фенотипа.

Костномозговые макрофаги мышей семейства мутанта 2 в половине случаев характеризуются сниженной продукцией TNF в ответ на стимуляцию ЛПС *in vitro*

TNF является основным медиатором ЛПС/Д-гал-гепатотоксичности, а макрофаги – его главным источником в ответ на ЛПС [17, 19]. Нами были получены первичные культуры

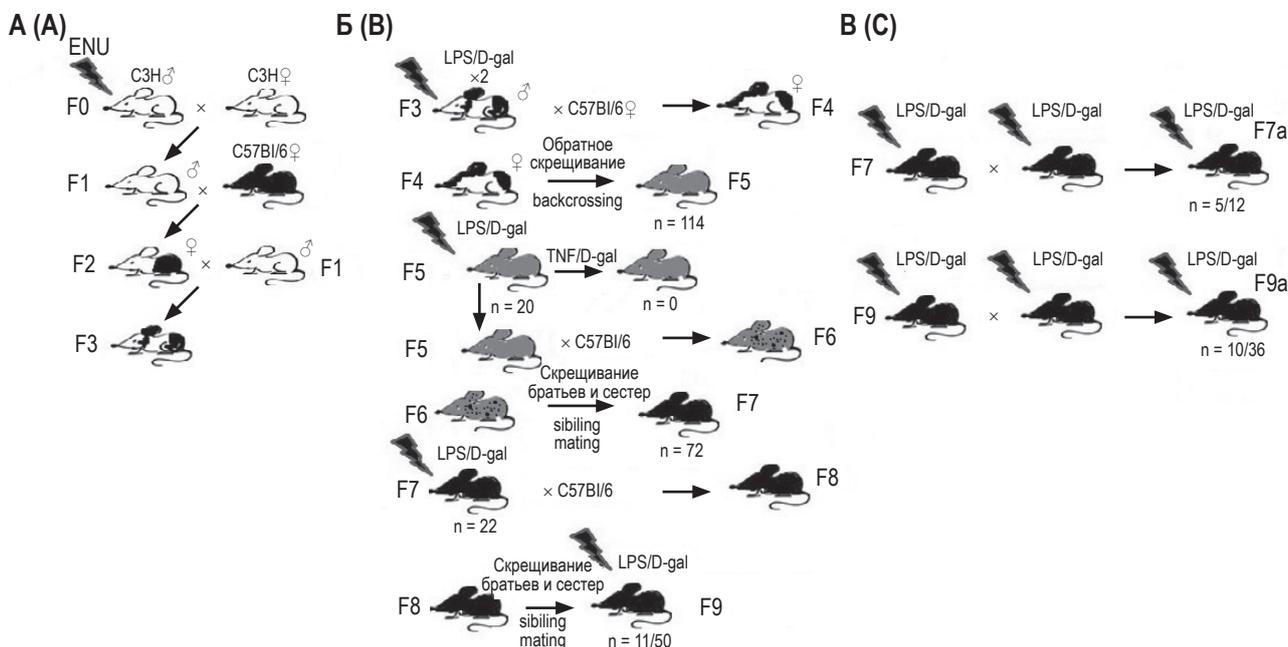


Рисунок 1. Схема скрещивания

Примечание. А – получение третьего поколения мышей после ENU-мутации для выявления рецессивных мутаций. Б – отбор мышей устойчивых к острой гепатотоксичности (LPS/D-гал). В – выведение «чистой» линии мышей, устойчивых к септическому шоку. Обратное скрещивание – скрещивание гибрида с одним из родителей.

Figure 1. Breeding scheme

Note. A, breeding of the third generation of mice after ENU mutagenesis allowing to identify recessive mutations. B, selection of mice resistant to acute hepatotoxicity (LPS/D-gal). C, generation of a "homozygous" strain of mice resistant to septic shock. Backcrossing – breeding a heterozygous offspring with one of the parents.

макрофагов костного мозга из 8 мышей мутантной линии 2, которые были отобраны по устойчивости к ЛПС-Д-гал, а затем жили в нормальных условиях в течение двух недель. В качестве контрольной группы использовали 7 мышей дикого типа, полученных на смешанной генетической основе С3Н и С57В16, которые не подвергались ENU-мутагенезу. В этих культурах была проведена сравнительная оценка продукции TNF в ответ на 3 разных индуктора врожденного иммунитета: ЛПС, Poly I:C и имихимод. В отсутствие лигандов рецепторов врожденного иммунитета в культурах неактивированных макрофагов как из контрольных, так и из мутантных мышей продукция TNF в культуральной среде не детектировалась, а через 4 часа после добавления ЛПС из расчета 100 нг/мл наблюдали значительное увеличение в продукции TNF как в контрольных, так и в мутантных культурах (рис. 2А). При этом в половине (n = 4/8)

макрофагальных культур наблюдался достоверно сниженный уровень продукции TNF (рис. 2А). Интересно, что продукция TNF в ответ на Poly I:C и имихимода не отличалась в этих же контрольных и мутантных культурах (рис. 2Б, В).

В сыворотке крови мышей из семейства мутанта 2 детектируется высокий уровень TNF через 1 час после введения ЛПС *in vivo*

Базовый уровень TNF как у мышей «дикого типа», так и у мышей семейства мутанта 2 был ниже пределов чувствительности эксперимента. При введении ЛПС мышам семейства мутанта 2 отмечалось резкое повышение концентрации TNF в сыворотке крови через 1 час (рис. 3), при этом уровень TNF достоверно не отличался от контроля ни у особей из «мутантной семьи» (показавших в последующих опытах чувствительность к ЛПС/Д-гал), ни у особей с устойчивым фенотипом.

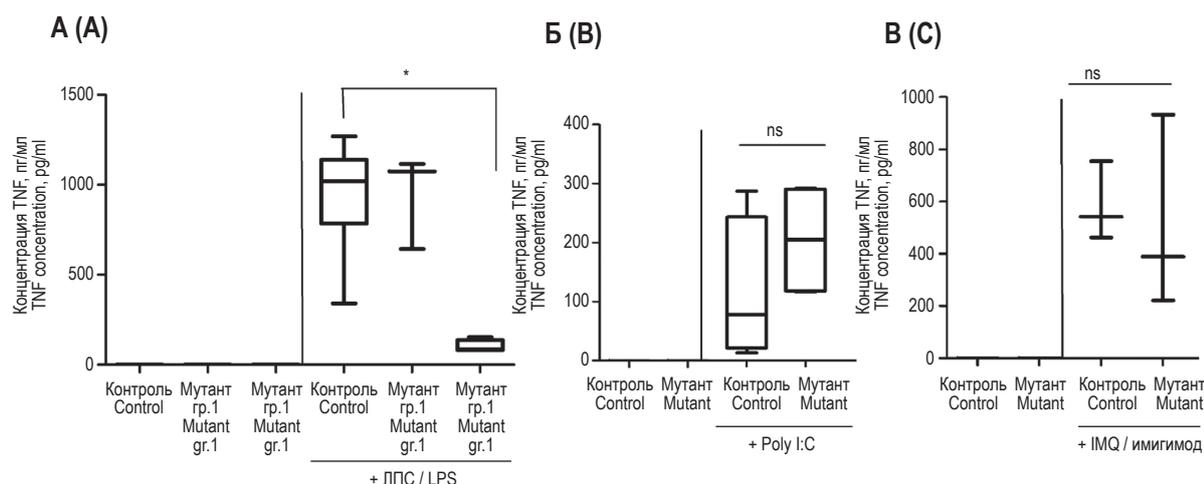


Рисунок 2. Продукция TNF макрофагами костного мозга мышей из семейства мутанта 2 по сравнению с макрофагальными культурами мышей дикого типа *in vitro*

Примечание. А – концентрация TNF в пг/мл в первичных культурах макрофагов костного мозга дикого типа (контроль, n = 7) и мышей мутантной линии (мутант группа 1, n = 4, мутант группа 2, n = 4) до стимуляции ЛПС и через 4 часа после добавления 100 нг/мл ЛПС (+ LPS). Б – концентрация TNF в первичных культурах макрофагов костного мозга дикого типа (контроль, n = 4) и мышей мутантной линии (мутант группа, n = 4) до стимуляции Poly I:C и через 4 часа после добавления 1 мкг/мл Poly I:C (+ Poly I:C). В – концентрация TNF в первичных культурах макрофагов костного мозга дикого типа (контроль, n = 4) и мышей мутантной линии (мутант группа, n = 4) до стимуляции имихимодом и через 4 часа после добавления 1 мкг/мл имихимода (+ имихимод).

* – $p < 0,05$; ns – нет статистически достоверных различий.

Figure 2. TNF production by murine bone marrow macrophages from mutant family 2 compared to TNF production by wild-type macrophage cultures *in vitro*

Note. A, TNF concentration in pg/ml in primary cultures of wild-type bone marrow macrophages (control, n = 7) and mutant bone marrow macrophages (mutant group 1, n = 4, mutant group 2, n = 4) before LPS stimulation and 4 hours after adding 100 ng/ml LPS (+ LPS). B, TNF concentration in primary cultures of wild-type bone marrow macrophages (control, n = 4) and the mutant bone marrow macrophages (mutant group, n = 4) before stimulation with Poly I:C and 4 hours after addition of 1 μ g/ml Poly I:C (+ Poly I:C). C, TNF concentration in primary cultures of wild-type bone marrow macrophages (control, n = 4) and the mutant bone marrow macrophages (mutant group, n = 4) before stimulation by imiquimod and 4 hours after the addition of 1 μ g/ml imiquimod (+ IMQ).

* , $p < 0,05$; ns, no statistically significant differences.

Обсуждение

Настоящая работа продолжает цикл исследований по поиску «иммунологического фенотипа» при полногеномном мутагенезе на мышах, впервые предпринятом в Российской Федерации. В предыдущем исследовании [1] нами было описано 5 семейств мутантов, которые отличались устойчивостью к летальной дозе ЛПС в комбинации с Д-гал, причем одно из этих семейств («мутант 3») было изучено более подробно *in vitro* и *in vivo*. Поскольку эти мыши продуцировали нормальный уровень системного TNF в ответ на ЛПС и были устойчивы к другому типу септического шока, вызываемого комбинацией TNF-Д-гал, стало ясно, что дефект находится «ниже» TNF и предположительно связан с физиологическими особенностями гепатоцитов. Действительно, TNF является облигатным медиатором ЛПС-Д-гал токсичности [3, 5], а мишенью системного TNF являются как раз клетки печени [11, 12]. Однако мыши описываемого в настоящей

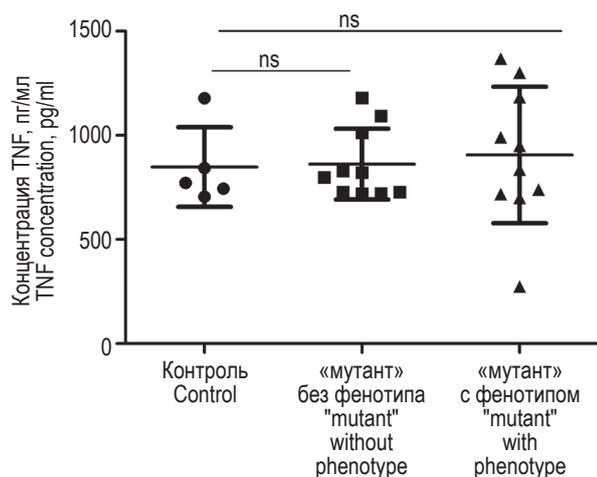


Рисунок 3. Уровень продукции TNF через 1 час после введения ЛПС в сыворотке мышей из семейства мутанта 2 не отличается от мышей дикого типа

Примечание. Концентрация TNF в пг/мл в сыворотке мышей дикого типа (контроль, n = 5), мышей мутантной линии, чувствительных к ЛПС/Д-гал («мутант» без фенотипа, n = 10), и мышей мутантной линии, устойчивых к ЛПС/Д-гал («мутант» с фенотипом, n = 10), через 1 час после введения ЛПС в дозе 3 мкг/г веса животного.

Figure 3. Serum TNF levels in mice from the mutant family 2 one hour after the LPS administration does not differ from that of wild-type mice

Note. The concentration of TNF in pg/ml in the serum of wild-type mice (control, n = 5), and mice of the mutant strain sensitive to LPS/D-gal ("mutant" without phenotype, n = 10) and mice of the mutant strain resistant to LPS/D-gal ("mutant" with the phenotype, n = 10) 1 hour after the administration of LPS at a dose of 3 µg/g of animal weight.

работе семейства мутанта 2 имели дефект «выше» TNF, так как, во-первых, они были чувствительны к TNF-Д-гал токсичности, и во-вторых, некоторые из этих мышей продуцировали пониженный уровень TNF на культурах макрофагов *in vitro*. Лимфоидные органы этих мышей, в частности Пейеровы бляшки, имели нормальные размеры и архитектуру (данные не показаны), что коррелировало с тем, что мутация приводила к количественным вариациям в уровне продукции TNF, но не к его полной элиминации. Причины неполной пенетрантности фенотипа в настоящий момент однозначно не установлены. Не исключено, что у части мышей, переживших ЛПС-Д-гал тест, развивается толерантность к эффектам ЛПС на уровне культуры макрофагов *in vitro* [18]. Тем не менее чувствительность к TNF-Д-гал явно и воспроизводимо отличала семейство мутанта 2 от других мутантных семейств, которые были устойчивы к обоим видам экспериментального септического шока. Следует подчеркнуть, что мыши с указанным фенотипом присутствовали даже в поколении F9. Поскольку обработка мутагеном предположительно вносила множественные повреждения в геном мышей линии С3Н, такой результат с большой вероятностью указывает на то, что речь идет об очень небольшом числе мутаций, скорее всего, об одной, вызывающей исследуемый фенотип.

На основании полученных данных мы можем предположить, что эта мутация произошла в одном из компонентов TLR4 каскада, который включает в себя белки, связанные с переносом ЛПС на сигнальный рецептор TLR4 (LBP, CD14, MD-2), адаптерные молекулы (MyD88, TRIF, TIRAP), компоненты киназных сигнальных каскадов (TAK/TAB, IKK) и транскрипционные факторы (например, NF-κB). Кроме того, возможны мутации в генах ферментов, обслуживающих эти каскады (например, компоненты убиквитинового цикла), или регуляторные мутации в регуляторных участках генома, влияющие на уровень экспрессии одного из указанных генов [19]. В настоящее время мы проводим полноэкзомное секвенирование ДНК индивидуальных мышей семейства мутанта 2 (с фенотипом и без него) для того, чтобы установить природу мутации и подойти к молекулярным механизмам устойчивости к ЛПС-Д-гал.

Благодарности

Мы благодарим Е.О. Губернаторову за анализ лимфоидных органов мутантных мышей.

Список литературы / References

1. Астраханцева И.В., Василенко Е.А., Бабаев А.А., Губернаторова Е.О., Горшкова Е.А., Друзкая М.С., Круть В.Г., Тарабыкин В.С., Недоспасов С.А. Поиск генов, связанных с развитием септического шока, методами прямой генетики // Российский иммунологический журнал, 2018. Т. 12, № 4. С. 55-61. [Astrakhtantseva I.V., Vasilenko E.A., Babaev A.A., Gubernatorova E.O., Gorshkova E.A., Drutskaya M.S., Krut V.G., Tarabykin V.S., Nedospasov S.A. Search for genes associated with the development of septic shock, methods of direct genetics. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2018, Vol. 12, no. 4, pp. 55-61. (In Russ.)]
2. Борисова Е.В., Епифанова Е.А., Тутукова С.А., Белоусова И.И., Жидкова Н.М., Русанова А.М., Салина В.А., Туровский Е.А., Туровская М.В., Tarabykin V.S., Бабаев А.А. Идентификация новых генетических мутаций, контролирующих пороки развития коры головного мозга, вызванных посредством ENU-индуцированного мутагенеза у мышей // Современные технологии в медицине, 2018. Т. 10, № 3. С. 70-77. [Borisova E.V., Epifanova E.A., Tutukova S.A., Belousova I.I., Zhidkova N.M., Rusanova A.M., Salina V.A., Turovsky E.A., Turovskaya M.V., Tarabykin V.S., Babaev A.A. Identification of novel mutations controlling cerebral cortex malformations caused by ENU-induced mutagenesis in the mouse. *Sovremennyye tekhnologii v meditsine = Modern Technologies in Medicine*, 2018, Vol. 10, no. 3, pp. 70-77. (In Russ.)]
3. Корнеев К.В. Мышиные модели сепсиса и септического шока // Молекулярная биология, 2019. Т. 53, № 5. С. 1-16. [Korneev K.V. Mouse models of sepsis and septic shock. *Molekulyarnaya biologiya = Molecular Biology*, 2019, Vol. 53, no. 5, pp. 1-16. (In Russ.)]
4. Beutler B., Kruys V. Lipopolysaccharide signal transduction, regulation of tumor necrosis factor biosynthesis, and signaling by tumor necrosis factor itself. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 1995, Vol. 25, Suppl. 2, pp. 1-8.
5. Beutler B., Milsark I.W., Cerami A.C. Passive immunization against cachectin/tumor necrosis factor protects mice from lethal effect of endotoxin. *Science*, 1985, Vol. 229, no. 4716, pp. 869-871.
6. Bull K.R., Rimmer A.J., Siggs O.M., Miosge L.A., Roots C.M., Enders A. Unlocking the bottleneck in forward genetics using whole-genome sequencing and identity by descent to isolate causative mutations. *PLoS Genet.*, 2013, Vol. 9, no. 1, e1003219. doi: 10.1371/journal.pgen.1003219.
7. Caignard G., Eva M.M., van Bruggen R., Eveleigh R., Bourque G., Malo D., Gros P., Vidal S.M. Mouse ENU mutagenesis to understand immunity to infection: methods, selected examples, and perspectives. *Genes (Basel)*, 2014, Vol. 5, no. 4, pp. 887-925.
8. Cashman S., Lampe K., Sheridan R., Hoebe K. An ENU mutagenesis approach to dissect "self"-induced immune responses: Unraveling the genetic footprint of immunosurveillance. *Oncimmunology*, 2012, Vol. 1, no. 6, pp. 856-862.
9. Cavaillon J.-M. Exotoxins and endotoxins: Inducers of inflammatory cytokines. *Toxicon.*, 2018, Vol. 149, pp. 45-53.
10. Erickson R.P., Mitchison N.A. The low frequency of recessive disease: insights from ENU mutagenesis, severity of disease phenotype, GWAS associations, and demography: an analytical review. *J. Appl. Genet.*, 2014, Vol. 55, no. 3, pp. 319-327.
11. Freudenberg M.A., Keppler D., Galanos C. Requirement for lipopolysaccharide-responsive macrophages in galactosamine-induced sensitization to endotoxin. *Infect. Immun.*, 1986, Vol. 51, no. 3, pp. 891-895.
12. Galanos C., Freudenberg M.A. Mechanisms of endotoxin shock and endotoxin hypersensitivity. *Immunobiology.*, 1993, Vol. 187, no. 3-5, pp. 346-356.
13. Kinoshita M., Miyazaki H., Nakashima H., Nakashima M., Nishikawa M., Ishikiriya T. *In vivo* lipopolysaccharide tolerance recruits CD11b⁺ macrophages to the liver with enhanced bactericidal activity and low tumor necrosis factor-releasing capability, resulting in drastic resistance to lethal septicemia. *J. Innate. Immun.*, 2017, Vol. 9, no. 5, pp. 493-510.
14. Kuhla A., Eipel C., Siebert N., Abshagen K., Menger M.D., Vollmar B. Hepatocellular apoptosis is mediated by TNF α -dependent Fas/FasLigand cytotoxicity in a murine model of acute liver failure. *Apoptosis.*, 2008, Vol. 13, no. 12, pp. 1427-1438.
15. Luan H.H., Wang A., Hilliard B.K., Carvalho F., Rosen C.E., Ahasic A.M., Herzog E.L., Kang I., Pisani M.A., Yu S., Zhang C., Ring A.M., Young L.H., Medzhitov R. GDF15 is an inflammation-induced central mediator of tissue tolerance. *Cell*, 2019, Vol. 178, no. 5, pp. 1231-1244.e11.
16. Poltorak A., He X., Smirnova I., Liu M.-Y., van Huffel C., Du X., Birdwell D., Alejos E., Silva M., Galanos C., Freudenberg M., Ricciardi-Castagnoli P., Layton B., Beutler B. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science*, 1998, Vol. 282, no. 5396, pp. 2085-2088.
17. Rietschel E.T., Kirikae T., Schade F.U., Mamat U., Schmidt G., Loppnow H., et al. Bacterial endotoxin: molecular relationships of structure to activity and function. *FASEB J.*, 1994, Vol. 8, no. 2, pp. 217-225.
18. Shakhov A.N., Collart M.A., Vassalli P., Nedospasov S.A., Jongeneel C.V. Kappa B-type enhancers are involved in lipopolysaccharide-mediated transcriptional activation of the tumor necrosis factor alpha gene in primary macrophages. *J. Exp. Med.*, 1990, Vol. 171, no. 1, pp. 35-47.
19. Stottmann R., Beier D. ENU mutagenesis in the mouse. *Curr. Protoc. Hum. Genet.*, 2014, Vol. 82, 15.4.1-10. doi: 10.1002/0471142905.hg1504s82.

Авторы:

Астраханцева И.В. — к.б.н., старший научный сотрудник Научно-технологического университета «Сириус», г. Сочи; Институт биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского», г. Нижний Новгород, Россия

Гладкова Л.С. — лаборант Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского», г. Нижний Новгород, Россия

Василенко Е.А. — преподаватель Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского», г. Нижний Новгород, Россия

Тарабыкин В.С. — д.б.н., профессор, заведующий лабораторией генетики развития мозга, Научно-исследовательский институт нейронаук ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского», г. Нижний Новгород, Россия; директор Института клеточной биологии и нейробиологии, Медицинский факультет Шарите, Берлин, Германия

Друцкая М.С. — к.б.н., ведущий научный сотрудник ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, Москва, Россия

Недоспасов С.А. — д.б.н., академик РАН, профессор, заведующий лабораторией молекулярных механизмов иммунитета ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук; заведующий кафедрой иммунологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва; руководитель направления в Научно-технологическом университете «Сириус», г. Сочи, Россия

Authors:

Astrakhantseva I.V., PhD (Biology), Senior Research Associate, Scientific and Technological University “Sirius”, Sochi; Institute of Biology and Biomedicine, N. Lobachevsky State University, Nizhniy Novgorod, Russian Federation

Gladkova L.S., Laboratory Assistant, Institute of Biology and Biomedicine, N. Lobachevsky State University, Nizhniy Novgorod, Russian Federation

Vasilenko E.A., Lecturer Assistant, Institute of Biology and Biomedicine, N. Lobachevsky State University, Nizhniy Novgorod, Russian Federation

Tarabykin V.S., PhD, MD (Biology), Professor, Head, Laboratory of Brain Genetics and Development, Institute of Biology and Biomedicine, N. Lobachevsky State University, Nizhniy Novgorod, Russian Federation; Director, Institute of Cell and Neurobiology, Charité – Universitätsmedizin, Berlin, Germany

Drutskaya M.S., PhD (Biology), Leading Research Associate, V. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Nedospasov S.A., PhD, MD (Biology), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Molecular Mechanisms of Immunity, V. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences; Head, Department of Immunology, Faculty of Biology, M. Lomonosov Moscow State University, Moscow; Head, Department at Scientific and Technological University “Sirius”, Sochi, Russian Federation

Поступила 18.11.2019
Отправлена на доработку 20.12.2019
Принята к печати 08.02.2020

Received 18.11.2019
Revision received 20.12.2019
Accepted 08.02.2020

ИЗУЧЕНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ α -СУБЪЕДИНИЦ Na/K-АТФазы В СТРУКТУРАХ МОЗГА КРЫС В МОДЕЛИ ПАРКИНСОПОДОБНОГО СИНДРОМА И ПОСЛЕ КОРРЕКЦИИ ГОРМОНОМ ТИМУСА

Королев А.Г.¹, Новоселецкая А.В.¹, Киселева Н.М.²

¹ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»,
Москва, Россия

² ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет
имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. В работе исследуется изучение распределения α -субъединиц Na/K-АТФазы в структурах мозга крыс, активность которых меняется при паркинсоноподобном синдроме. Целью работы явился анализ изменения количества различных изоформ α -субъединиц Na/K-АТФазы в модели паркинсоноподобного синдрома и его коррекции гормоном тимуса тимулином. Работа выполнена на 42 шестинедельных самцах крыс Wistar. Животные были разделены на 3 группы: 2 опытные и 1 контрольная группа. Для моделирования паркинсоноподобного синдрома интраназально вводили раствор 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП). Через 10 дней после введения МФТП животным одной опытной группы в течение 5 дней внутрибрюшинно вводили гормон тимуса тимулин. Показано, что наибольший уровень тканеспецифичных изоформ α -субъединицы Na/K-АТФазы наблюдался в гипоталамусе, миндалинах и стриатуме, а наименьший — в префронтальной и фронтальной коре головного мозга. Установлено, что в условиях МФТП-индуцированной модели болезни Паркинсона наблюдается статистически достоверное повышение количества $\alpha 1$ -субъединиц Na/K-АТФазы в стриатуме, понижение количества $\alpha 2$ -субъединиц гиппокампе и повышение количества $\alpha 3$ -субъединиц в мозжечке по отношению к контролю. Введение гормона тимуса тимулина корректирует отклонения уровня $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ - и $\alpha 3$ -субъединиц, которые наблюдаются на фоне действия нейротоксина.

Ключевые слова: тимус, тимулин, α -субъединица, Na/K-АТФаза, паркинсонизм

Адрес для переписки:

Новоселецкая Анна Владимировна
ФГБОУ ВО «Московский государственный
университет имени М.В. Ломоносова»
119234, Россия, Москва,
Ленинские горы, 1, стр. 12.
Тел.: 8 (495) 939-50-01.
E-mail: anna.novoseletskaia@gmail.com

Address for correspondence:

Novoseletskaia Anna V.
M. Lomonosov Moscow State University
119234, Russian Federation, Moscow, Lenin Hills, 1,
bldg 12.
Phone: 7 (495) 939-50-01.
E-mail: anna.novoseletskaia@gmail.com

Образец цитирования:

А.Г. Королев, А.В. Новоселецкая, Н.М. Киселева
«Изучение распределения α -субъединиц Na/K-
АТФазы в структурах мозга крыс в модели
паркинсоноподобного синдрома и после коррекции
гормоном тимуса» // Российский иммунологический
журнал, 2020. Т. 23, № 1. С. 35-40.
doi: 10.46235/1028-7221-004-SON

© Королев А.Г. и соавт., 2020

For citation:

A.G. Korolev, A.V. Novoseletskaia, N.M. Kiseleva
“Study of Na/K-ATPase α -subunit distribution in rat
cerebral structures within Parkinson-like syndrome model
and after thymus hormone correction”, Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal,
2020, Vol. 23, no. 1, pp. 35-40.
doi: 10.46235/1028-7221-004-SON

DOI: 10.46235/1028-7221-004-SON

STUDY OF Na/K-ATPase α -SUBUNIT DISTRIBUTION IN RAT CEREBRAL STRUCTURES IN PARKINSON-LIKE SYNDROME MODEL AND AFTER THYMUS HORMONE CORRECTION

Korolev A.G.^a, Novoseletskaya A.V.^a, Kiseleva N.M.^b

^a M. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

^b Russian National N. Pirogov Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Abstract. Here we examined distribution of Na/K-ATPase α -subunit in rat cerebral structures, which activity changes in Parkinson-like syndrome. The study was aimed at analyzing quantitative change in diverse different isoforms of Na/K-ATPase α -subunit in model of Parkinson-like syndrome as well as after refining it by using thymus hormone thymulin. The study was performed on 42 six-week-old Wistar rats males by dividing animals into 3 groups: 2 experimental and 1 control group. To simulate Parkinson-like syndrome, a solution of 1-methyl 4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) was administered intranasally. 10 days after MPTP inoculation, thymus hormone thymulin was abdominally administered to animals in one experimental group for 5 days. It was demonstrated that level of tissue-specific isoforms of Na/K-ATPase α -subunit was peaked in hypothalamus, amygdaloid body and striatum, the minimal level was observed in medial prefrontal and prefrontal cortex. It was estimated that in MPTP-stimulated model of Parkinson's disease, the level of Na/K-ATPase α 1-subunit was significantly higher in striatum, amount of α 2-subunits was decreased in the hippocampus, whereas the level of α 3-subunit was elevated in the cerebellum compared to control group. Administration of thymus hormone thymulin corrected changes in level of α 1, α 2 and α 3-subunits observed after exposure to neurotoxin.

Keywords: thymus, thymulin, α -subunit, Na/K-ATPase, parkinsonism

Введение

Болезнь Паркинсона — это нейродегенеративное заболевание, которым страдает около 1% населения в возрасте после 55 лет. Было показано, что α 3-субъединица способна взаимодействовать с альфа-синуклеином, однако механизм данного взаимодействия не был установлен. Было показано, что в ходе развития болезни Паркинсона чувствительность к кардиотоксическим стероидам повышается [6]. Ранее одно из соединений класса кардиотонических стероидов — дигоксин, в результате действия которого ингибируется активность Na/K-АТФазы, — использовался в качестве лекарственного средства при лечении болезни Паркинсона [8]. В литературе встречаются противоречивые сведения о действии кардиотонических стероидов: было показано, что в низких концентрациях они вызывали адаптивный ответ и улучшали выживаемость допаминергических нейронов [7], однако Кигур Р.К., Кигур Р.А. создали гипоталамическую, опосредованную дигоксином модель болезни Паркинсона [5].

Таким образом, все вышесказанное позволяет предположить, что при развитии болез-

ни Паркинсона изменяется функционирование Na/K-АТФазы.

Ранее нами было показано, что на фоне введения препарата пептидов тимуса тактика вина происходит повышение уровня дофамина в стриатуме крыс [1]. Поскольку стриатум связан с экстрапирамидной системой, то такое повышение дофамина, вероятно, имеет отношение к реализации движений животного, что в наших экспериментах отразилось в увеличении исследовательской активности.

Целью настоящей работы явился анализ изменения количества различных изоформ α -субъединицы Na/K-АТФазы в модели паркинсоноподобного синдрома и его коррекции гормоном тимуса.

Материалы и методы

Работа выполнена на 42 шестинедельных самцах крыс Wistar. Животных содержали в стандартных условиях вивария при 12-часовом цикле свет-темнота и свободном доступе к пище и воде. Животные были разделены на 3 группы (по 14 крыс в каждой): опытным группам (1 и 2) вводили по 50 мкл раствора 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП) в каждую ноздрю в концентрации 20 мг/мл для моделирования паркинсонопод-

добного синдрома. Контрольной группе вводили 50 мкл физиологического раствора в каждую ноздрю.

Через 10 дней после введения МФТП животным из опытной группы 2 в течение 5 дней внутрибрюшинно вводили гормон тимуса тимулин в дозе 0,15 мг/кг.

Через 16 дней крыс декапитировали и извлекали некоторые структуры головного мозга: обонятельные луковицы, мозжечок, зрительную кору, вместе префронтальную и фронтальную кору, моторную, премоторную, височную кору, гиппокамп, гипоталамус, стриатум и миндалина. Выделенные структуры взвешивали, замораживали в жидком азоте и впоследствии хранили при -70°C .

Все действия с тканями проводили на холоде. Образцы тканей обрабатывали холодным RIPA-буфером (50 мМ Трис; 150 мМ NaCl; 0,1% SDS; 0,5% дезоксихолат натрия; 1% Тритон X-100; ингибиторы протеаз) из расчета 1 мл буфера на 100 мг ткани. Затем ткань гомогенизировали и инкубировали полученные гомогенаты на холоде в течение 20 минут. После этого образцы центрифугировали 10 минут при 14000 g. Супернатант отбирали и хранили при -70°C .

α -субъединицы в различных отделах мозга крыс детектировали методом Western blot. Для этого проводили электрофорез полученных лизатов в полиакриламидном геле в присутствии SDS по методу Лэммли. К клеточным лизатам добавляли 4-кратный буфер для образцов (0,25 М трис-HCl, 40% сахароза, 8% SDS, 0,004% бромфеноловый синий, 4% β -меркаптоэтанол, pH 6,8) и инкубировали 15 минут при 37°C .

Электрофорез проводили в течение 1 часа при комнатной температуре в камере для вертикального электрофореза BioRad при постоянной силе тока (40 мА на один гель).

Перенос на нитроцеллюлозную мембрану проводили в камере BioRad в течение 1,5 часов при постоянном напряжении 100 В. Мембраны отмывали 3 раза в TBST, инкубировали со вторичными антителами, конъюгированными с пероксидазой хрена, в течение 1 часа, промывали 3 раза в TBST и визуализировали методом усиленной хемилюминесценции. Хемилюминесценцию регистрировали в приборе ChemiDoc XRS+ фирмы BioRad, фиксировали накопление сигнала каждые 2 секунды в течение 2 минут.

Для построения графиков использовали значения уровня люминисценции (в условных единицах) полос α -субъединиц, нормированные на значения уровня люминисценции

полос GAPDH, использовавшейся в качестве контроля нанесения.

Все эксперименты проводили согласно «Принципам надлежащей лабораторной практики» (Good Laboratory Practice, GLP), ГОСТ 33647-2015) и положениям международной конвенции о «Правилах работы с экспериментальными животными» (European Communities Council Directives, November 24, 1986, 86/609/EEC).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием непараметрического критерия Вилкоксона в компьютерной программе Statistica 8.0.

Результаты

При анализе распределения изоформ α -субъединицы Na/K-АТФазы в разных отделах мозга крысы в норме (контрольная группа) уровень люминисценции, соответствующий премоторной коре, был принят за единицу (так как премоторная кора не подвержена дегенеративным процессам, возникающим при развитии болезни Паркинсона), все остальные величины рассчитывались относительно нее. Дополнительно нормировали на величину сигнала, полученную при измерении $\alpha 1$ -субъединицы, так как эта субъединица присутствует как в нейронах, так и в глиальных клетках. Результаты анализа распределения изоформ α -субъединицы Na/K-АТФазы в разных отделах мозга представлены на рисунке 1.

Согласно полученным результатам, в гипоталамусе, миндалине и гиппокампе наблюдается повышенное содержание убаин-чувствительной $\alpha 2$ -субъединицы по сравнению с убаин-резистентной $\alpha 1$ -субъединицей (рис. 1А). Это может свидетельствовать о том, что ткани данных отделов обладают повышенной чувствительностью к эндогенному убаину. Префронтальная, фронтальная и височная кора содержит больше $\alpha 1$ и более низкое значение $\alpha 2$, поэтому менее чувствительна к эндогенному убаину. Так как $\alpha 2$ -субъединица обладает большим сродством к K^+ по сравнению с другими субъединицами, можно предположить, что в префронтальной, фронтальной и височной коре внутриклеточное содержание K^+ ниже, чем в гипоталамусе, стриатуме и миндалине.

Также в гипоталамусе, стриатуме и миндалине наблюдается повышенное содержание $\alpha 3$ -субъединицы по сравнению с $\alpha 1$ -субъединицей (рис. 1Б), что может свидетельствовать о том, что клетки данных отделов по сравнению с остальными обладают

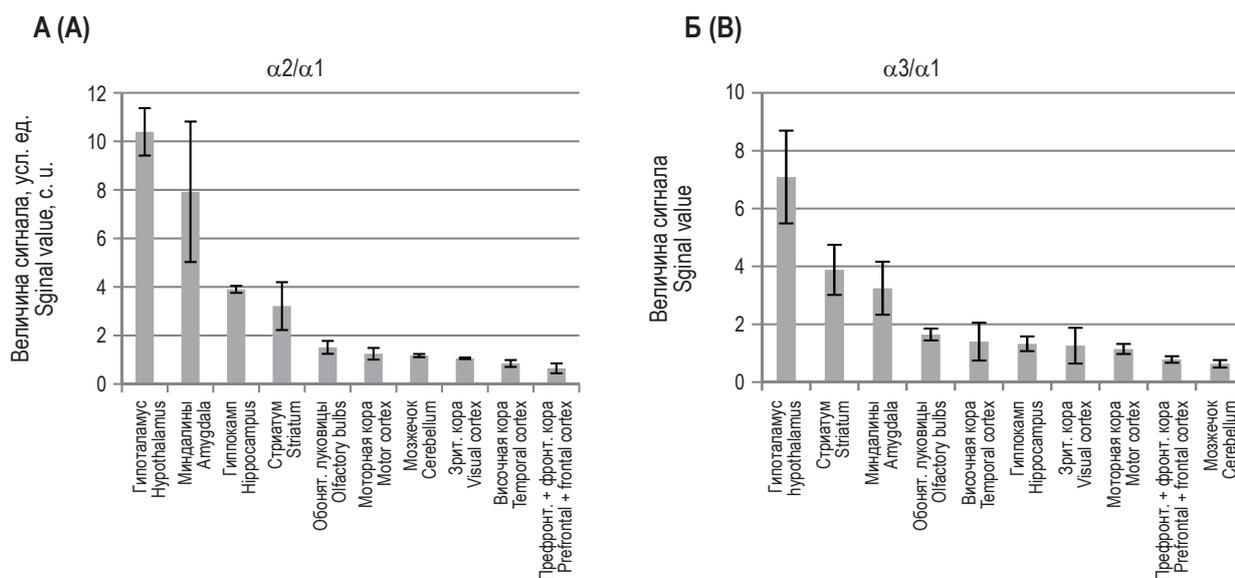


Рисунок 1. Распределение соотношения α -субъединиц в норме в разных отделах мозга крыс

Примечание. А – распределение соотношения $\alpha 2/\alpha 1$ в норме в разных отделах мозга крыс. Б – распределение соотношения $\alpha 3/\alpha 1$ в норме в разных отделах мозга крыс.

По оси Y – величина сигнала относительно таковой в премоторной коре, принятой за единицу.

Figure 1. Distribution of α -subunits ratio under normal conditions in different rat brain regions

Note. A, distribution $\alpha 2/\alpha 1$ ratio under normal conditions in different rat brain regions. B, distribution of $\alpha 3/\alpha 1$ ratio under normal conditions in different rat brain regions.

On the Y-axis signal value relative to that in the premotor cortex, taken as a unit.

другими кинетическими характеристиками и сродством к Na^+ , так как сродство $\alpha 3$ -субъединицы к Na^+ выше, чем у других изоформ. В префронтальной, фронтальной коре и мозжечке содержание $\alpha 1$ больше по сравнению с содержанием $\alpha 3$, что может свидетельствовать о повышенной резистентности данных отделов к эндогенному убаину.

Таким образом, в гипоталамусе, миндалинах и стриатуме содержится наибольшее количество чувствительных к регуляции эндогенным убаином тканеспецифичных α -субъединиц Na/K -АТФазы, а в префронтальной и фронтальной коре – наименьшее.

По результатам анализа распределения изоформ α -субъединицы Na/K -АТФазы в разных отделах мозга при патологии были получены диаграммы, представленные на рисунке 2. Исходя из полученных результатов, можно заключить, что у крыс опытной группы 1 (МФТП) по сравнению с крысами контрольной группы достоверно происходит снижение содержания $\alpha 1$ -субъединицы в префронтальной и фронтальной коре и повышение в стриатуме (рис. 2А). Также у 1-й опытной группы крыс наблюдается снижение содержания $\alpha 2$ -субъединицы в обо-

нятельных луковицах, моторной коре и гиппокампе (рис. 2Б). Уровень $\alpha 3$ -субъединиц увеличивается у крыс опытной группы 1 по сравнению с крысами контрольной группы в обонятельных луковицах, мозжечке, зрительной, префронтальной, фронтальной коре (рис. 2В). Введение тимулина животным после воздействия нейротоксина МФТП привело к коррекции отклонений уровня $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ - и $\alpha 3$ -субъединиц, которые были получены на фоне действия нейротоксина (рис. 2).

По итогам наших исследований можно сделать выводы, что в ходе развития болезни Паркинсона в рамках выбранной модели префронтальная и фронтальная кора, а также мозжечок предположительно становятся более чувствительными к эндогенному убаину, а стриатум – менее чувствительным. Введение тимулина на фоне действия нейротоксина приводит к достоверному увеличению уровня $\alpha 1$ -субъединицы в мозжечке и префронтальной и фронтальной коре, а также снижению в стриатуме, что предположительно оказывает влияние на чувствительность к убаину на фоне гормона тимуса. Исходя из того, что $\alpha 2$ -субъединица более чувствительна к ионам калия [4], можно сделать вывод, что в обонятельных луковицах, мотор-

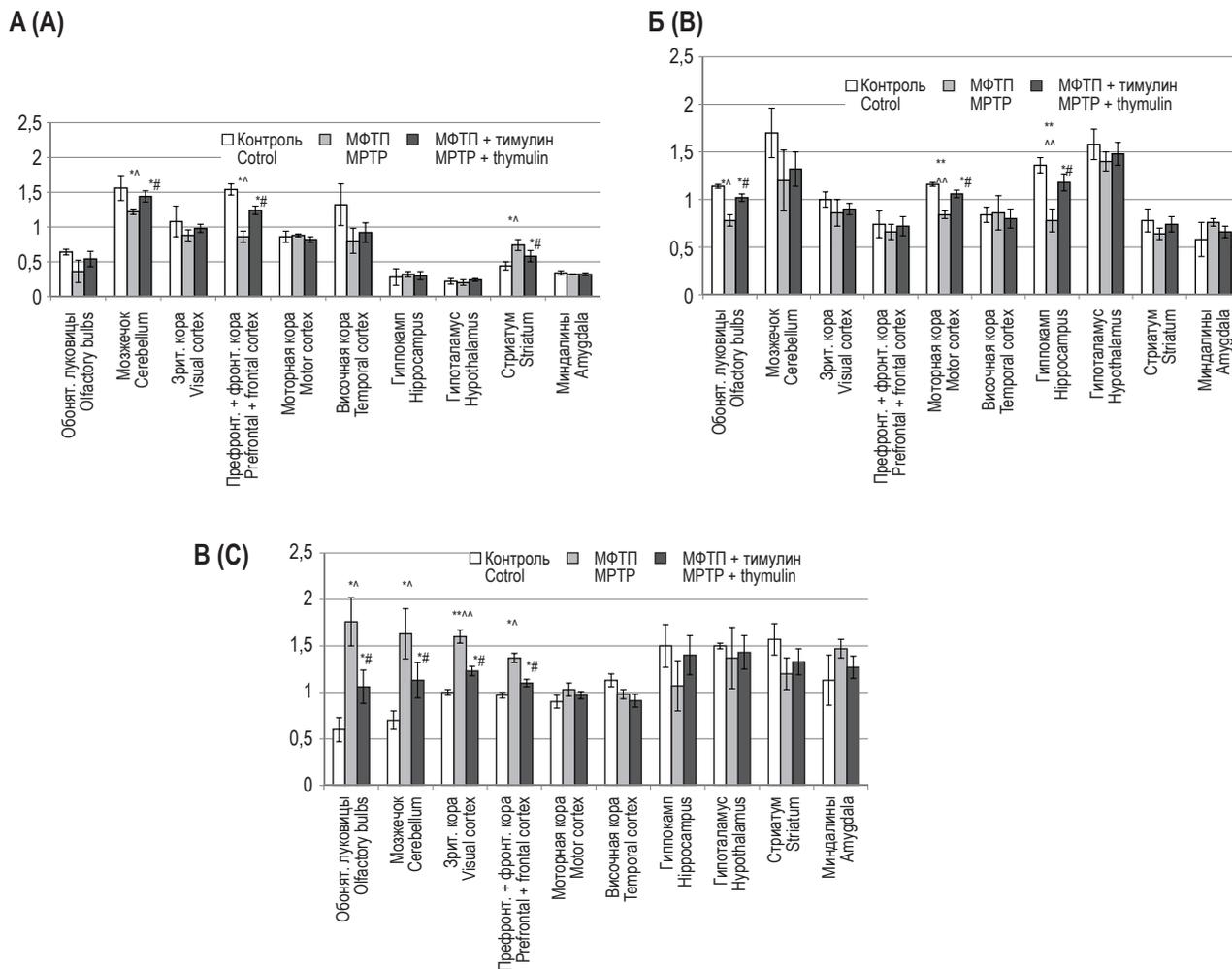


Рисунок 2. Распределение α -субъединиц Na/K-АТФазы в разных отделах мозга крыс в норме, при патологии и после коррекции

Примечание. А – распределение $\alpha 1$ -субъединиц Na/K-АТФазы в разных отделах мозга крыс. Б – распределение $\alpha 2$ -субъединиц Na/K-АТФазы в разных отделах мозга крыс. В – распределение $\alpha 3$ -субъединиц Na/K-АТФазы в разных отделах мозга крыс. * – относительно контроля, соответствует достоверному различию с $p < 0,05$; ** – относительно контроля, соответствует достоверному различию с $p < 0,01$; ^ – относительно МФТП + тимулин, соответствует достоверному различию с $p < 0,05$; ^^ – относительно МФТП + тимулин, соответствует достоверному различию с $p < 0,01$; # – относительно группы МФТП, соответствует достоверному различию

Figure 2. Distribution of Na/K-ATPase α -subunits in different rat brain regions under normal conditions, in pathology and after correction

Note. A, distribution of Na/K-ATPase $\alpha 1$ -subunits in different rat brain regions. B, Distribution of Na/K-ATPase $\alpha 2$ -subunits in different rat brain regions. C, distribution of Na/K-ATPase $\alpha 3$ -subunits in different rat brain regions.

*, in relation to control, corresponds to a significant difference with $p < 0.05$; **, in relation to control, corresponds to a significant difference with $p < 0.01$; ^, in relation to MPTP + thymulin, corresponds to a significant difference with $p < 0.05$,

^^, in relation to MPTP + thymulin, corresponds to a significant difference with $p < 0.01$; #, in relation to MPTP group, corresponds to a significant difference with $p < 0.05$.

ной коре и гиппокампе, где ее концентрация уменьшается, уровень внутриклеточного калия предположительно увеличивается. $\alpha 3$ -субъединица значительно более чувствительна к ионам натрия [3] и ответственна за восстановление потенциала после возбуждения [2], поэтому ее увеличение в обонятельных лукови-

цах, мозжечке, зрительной, префронтальной и фронтальной коре приведет к более быстрому восстановлению концентрации ионов натрия в нейронах данных тканей после возбуждения. Так как получен достоверный корректирующий эффект на уровень $\alpha 2$ - и $\alpha 3$ -субъединиц на фоне гормона тимуса, можно предположить,

что тималин оказывает влияние на ионы натрия и калия в структурах мозга в модели паркинсоноподобного синдрома.

Выводы

1. Показано, что уровень тканеспецифичных изоформ α -субъединицы Na/K-АТФазы наибольший в гипоталамусе, миндалинах и стриатуме, а в префронтальной и фронтальной коре — наименьший.

2. Установлено, что в условиях МФТП-индуцированной модели болезни Паркинсона наблюдается статистически достоверное повышение количества $\alpha 1$ -субъединиц Na/K-АТФазы в стриатуме, понижение количества $\alpha 2$ -субъединиц в гиппокампе и повышение количества $\alpha 3$ -субъединиц в мозжечке по отношению к контролю. Введение гормона тимуса тималина корректирует отклонения уровня $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ - и $\alpha 3$ -субъединиц, которые наблюдаются на фоне действия нейротоксина.

Список литературы / References

1. Киселева Н.М., Новоселецкая А.В., Иноземцев А.Н., Кудрин В.С., Клодт П.М., Наркевич В.Б., Зимина И.В., Арион В.Я. Нейрохимическое изучение механизма действия полипептидного препарата тимуса (тактивина) при эмоциональном стрессе // Вестник РУДН. Серия Медицина, 2011. №. 4. С. 143-148. [Kiseleva N.M., Novoseletskaya A.V., Inozemtsev A.N., Kudrin V.S., Klodt P.M., Narkevich V.B., Zimina I.V., Arion V.Ya. Neurochemical study of the mechanism of action of the thymus polypeptide drug (taktivin) in emotional stress. *Vestnik RUDN. Seriya meditsina = Bulletin of the Peoples' Friendship University of Russia. Medicine Series*, 2011, no. 4, pp. 143-148. (In Russ.)]
2. Azarias G., Kruusmägi M., Connor S., Akkuratov E.E., Lyons D., Brismar H., Broberger C., Aperia A.A. specific and essential role for Na,K-ATPase $\alpha 3$ in neurons co-expressing $\alpha 1$ and $\alpha 3$. *J. Biol. Chem.*, 2013, Vol. 288, no. 4, pp. 2734-2743.
3. Blanco G., Mercer R.W. Isozymes of the Na-K-ATPase: heterogeneity in structure, diversity in function. *Am. J. Physiol.*, 1998, Vol. 275, pp. 633-650.
4. Lingrel J.B., Williams M.T., Vorhees C.V., Moseley A.E. Na,K-ATPase and the role of α isoforms in behavior. *J. Bioenerg. Biomembr.*, 2007, Vol. 39, pp. 385-389.
5. Kurup R.K., Kurup P.A. Hypothalamic digoxin-mediated model for Parkinson's disease. *Int. J. Neurosci.*, 2003, Vol. 113, no. 4, pp. 515-536.
6. Pisani A., Martella G., Tschertner A., Costa C., Mercuri N.B., Bernardi G., Shen J., Calabresi P. Enhanced sensitivity of DJ-1-deficient dopaminergic neurons to energy metabolism impairment: role of Na⁺/K⁺ATPase. *J. Neurobiol. Dis.*, 2006, Vol. 23, no. 1, pp. 54-60.
7. Sun Y., Dong Z., Khodabakhsh H., Chatterjee S., Guo S. Zebrafish chemical screening reveals the impairment of dopaminergic neuronal survival by cardiac glycosides. *PLoS ONE*, 2012, Vol. 7, no. 4, e35645. doi: 10.1371/journal.pone.0035645.
8. Taylor A., Beerahee A., Citerone D., Davy M., Fitzpatrick K., Lopez-Gil A., Stocchi F. The effect of steady-state ropinirole on plasma concentrations of digoxin in patients with Parkinson's disease. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 1999, Vol. 47, no. 2, pp. 219-222.

Авторы:

Королев А.Г. — аспирант кафедры высшей нервной деятельности, биологический факультет ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Новоселецкая А.В. — к.б.н., старший научный сотрудник кафедры высшей нервной деятельности, биологический факультет ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Киселева Н.М. — к.б.н., профессор кафедры фармакологии ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Korolev A.G., Graduate Student, Department of Higher Nervous Activity, Faculty of Biology, M. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Novoseletskaya A.V., PhD (Biology), Senior Research Associate, Department of Higher Nervous Activity, Faculty of Biology, M. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Kiseleva N.M., PhD (Biology), Professor, Department of Pharmacology, Russian National N. Pirogov Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Поступила 02.07.2019

Отправлена на доработку 20.09.2019

Принята к печати 10.01.2020

Received 02.07.2019

Revision received 20.09.2019

Accepted 10.01.2020

ВЛИЯНИЕ ПОЛИОКСИДОНИЯ, Poly(I:C), ДАЛАРГИНА НА ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ВАКЦИННОГО ШТАММА *YERSINIA PESTIS* EV НИИЭГ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧУМЕ

Щуковская Т.Н., Курылина А.Ф., Шавина Н.Ю., Бугоркова С.А.

ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт „Микроб“», г. Саратов, Россия

Резюме. В условиях моделирования бубонной и легочной форм чумы штаммами *Yersinia pestis* основного и неосновного подвидов из различных природных очагов проведена оценка защитного действия сочетанного применения иммуноадьювантов полиоксидония (ПО), Poly(I:C) – синтетического аналога двуспиральной РНК (лиганда TLR3), синтетического аналога лей-энкефалина даларгина (ДА) и вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV НИИЭГ по интегральному показателю ImD50 на мышах инбредной линии BALB/c. Введение в схему вакцинации против чумы иммуноадьювантов ПО, Poly(I:C), ДА, отличающихся по механизму действия, однонаправленно усиливает протективные свойства вакцинного штамма чумного микроба *Y. pestis* EV НИИЭГ на фоне формирования разной степени интенсивности гуморального иммунного ответа и свидетельствует о превалирующем значении клеточного типа иммунного ответа в обеспечении напряженного иммунитета к чуме. Введение ПО в схему иммунизации приводит к четырехкратному росту количества выживших животных при легочной форме чумы. Обоснована целесообразность использования иммуноадьювантов в схеме специфической и экстренной профилактики чумы.

Ключевые слова: чума, иммуноадьюванты, вакцинный штамм *Y. pestis* EV НИИЭГ, протективная активность

INFLUENCE OF POLYOXIDONIUM, Poly(I:C), DALARGIN ON THE PROTECTIVE EFFICACY OF *YERSINIA PESTIS* VACCINE STRAIN EV LINE NIEG IN EXPERIMENTAL PLAGUE

Shchukovskaya T.N., Kurylina A.F., Shavina N.Yu., Bugorkova S.A.

Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation

Abstract. In this study, the use of immunoadjuvants polyoxidonium (azoximer bromide), Poly (I:C) as a synthetic analog of double-stranded RNA (TLR3 ligand), and synthetic analog of leu-enkephalin dalargin (DA) was experimentally investigated for their potential to minimize ImD50 *Yersinia pestis* vaccine strain EV line NIEG co-administrated via invasive (subcutaneous) and noninvasive (intranasal) routes in lethal bubonic and pneumonic models of plague followed by challenge with virulent *Y. pestis*

Адрес для переписки:

Щуковская Татьяна Николаевна
ФКУЗ «Российский научно-исследовательский
противочумный институт “Микроб”»
410005, Россия, г. Саратов,
ул. Университетская, 46.
Тел.: 8 (452) 26-21-31.
Факс: 8 (452) 51-52-12.
E-mail: rusrapi@microbe.ru, tatyanaschuk@mail.ru

Address for correspondence:

Shchukovskaya Tatiana N.
Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”
410005, Russian Federation, Saratov,
Universitetskaya str., 46.
Phone: 7 (452) 26-21-31.
Fax: 7 (452) 51-52-12.
E-mail: rusrapi@microbe.ru, tatyanaschuk@mail.ru

Образец цитирования:

Т.Н. Щуковская, А.Ф. Курылина, Н.Ю. Шавина, С.А. Бугоркова «Влияние полиоксидония, Poly(I:C), даларгина на защитное действие вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV НИИЭГ при экспериментальной чуме» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 1. С. 41-50.

doi: 10.46235/1028-7221-005-IOP

© Щуковская Т.Н. и соавт., 2020

For citation:

T.N. Shchukovskaya, A.F. Kurylina, N.Yu. Shavina, S.A. Bugorkova “Influence of polyoxidonium, Poly(I:C), dalargin on the protective efficacy of *Yersinia pestis* vaccine strain EV line NIEG in experimental plague”, *Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal*, 2020, Vol. 23, no. 1, pp. 41-50.

doi: 10.46235/1028-7221-005-IOP

DOI: 10.46235/1028-7221-005-IOP

strains of the main and non-main subspecies from various natural plague foci. The data showed that in all cases immunoadjuvants significantly increased protective efficacy of *Y. pestis* vaccine strain EV line NIEG co-administrated to BALB/c inbred mice in case of lethal challenge with virulent *Y. pestis* strains in spite of varying magnitude of humoral immune response. *Y. pestis* vaccine strain EV line NIEG formulated with polyoxidonium provided more effective protection against lethal challenge with wild-type high virulent strain *Y. pestis* in pneumonic model of plague. Polyoxidonium introduced into vaccine formula resulted in four-fold rise in total survival in animals with pneumonic plaque. Feasibility of using immunoadjuvants for regimen of specific and urgent plague prevention is justified.

Keywords: plague, immunoadjuvants, vaccine strain *Y. pestis* EV NIEG, protective efficacy

Введение

Профилактика чумы — особо опасной инфекционной болезни с природной очаговостью, возбудитель которой *Yersinia pestis* относится к микроорганизмам I группы патогенности, — предусматривает проведение комплекса многоплановых профилактических мероприятий, включая вакцинацию, которая внесена в календарь профилактических прививок по эпидемическим показаниям [15]. За рубежом отсутствуют лицензированные вакцины для специфической профилактики чумы [36]. В России для этого используют препарат «вакцина чумная живая» (ВЧЖ) (лиофилизированная живая культура вакцинного штамма чумного микроба *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ), вызывающий развитие иммунитета длительностью до 1 года, что обуславливает необходимость проведения ежегодной ревакцинации прививаемого контингента [15]. В этой связи поиск адъювантов, охарактеризованных по структуре и способных повысить эффективность формирования адаптивного иммунитета против чумы при снижении дозы вводимого антигена, является актуальной задачей. Перспективным представляется использование в качестве адъювантов иммуноактиваторов полиоксидония (азоксимера бромида) (ПО), синтетического аналога лей-энкефалина даларгина и синтетического аналога двуспиральной РНК (лиганда TLR3) — Poly(I:C). Полиоксидоний обладает выраженным иммуномодулирующим, детоксицирующим, антиоксидантным, мембраностабилизирующим и антиген-силивающим эффектом, широко применяется в комплексном лечении инфекционно-воспалительных процессов любой локализации и этиологии, входит в состав вакцины против гриппа [10, 29]. В эксперименте совместное введение ПО с антигенами чумного микроба (Pla, LcrV, YopM) усиливает выработку специфических антител [12]. Даларгин — гексапептид Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Arg, отличающейся от лей-энкефалина наличием D-Ala² и присоединенного в С-положении отрица-

тельно заряженного остатка Arg, преимущественно связывается с δ -опиоидными рецепторами и в меньшей степени с μ -рецепторами, не проникает через гематоэнцефалический барьер. Даларгин способен стимулировать регенерацию кожи, подкожной клетчатки, нервной и костной ткани, печени, широко используется при лечении язвенной болезни желудка, обладает высокой иммуотропной активностью, способностью стимулировать синтез ДНК, оптимизировать состояние свободнорадикального окисления, активировать механизмы нитрирования и нитрозилирования внутриклеточных мишеней (система NOS-NO) [2, 9]. Poly(I:C) является синтетическим аналогом двуспиральной РНК (лиганда Toll-подобного рецептора 3 — TLR3). TLR3 (CD283) локализованы и экспрессируются в основном в эндосомальных компартментах миелоидных дендритных клеток, моноцитов, макрофагов [23]. TLR3 агонист Poly(I:C) индуцирует продукцию провоспалительных цитокинов и IFN β , активацию цитотоксических CD8⁺T-клеток [33]. Показана эффективность включения Poly(I:C) в состав разрабатываемых вакцин против гепатита В, герпеса [17, 38]. Конъюгат Poly(I:C) и арабиногалактана с антигенами *Micobacterium tuberculosis* (Ag85B и HspX) предложен в качестве перспективной вакцины для специфической профилактики туберкулеза [20].

Цель исследования — сравнительная оценка действия полиоксидония, Poly(I:C), даларгина на иммуногенные и протективные свойства вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ при экспериментальной чуме.

Материалы и методы

Работа проводилась в соответствии с СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)» [3]. Вакцинный штамм *Yersinia pestis* EV НИИЭГ (Pgm⁻, pFra⁺, pCad⁺, pPst⁺); вирулентные штаммы основного подвида *Y. pestis* 231(708) (Pgm⁺, pFra⁺, pCad⁺, pPst⁺), *Y. pestis* P-13268 (Pgm⁺, pFra⁺, pCad⁺, pPst⁺) Вьетнам, штамм не основного подвида *Y. pestis* P-2998

(Pgm⁺, pFra⁺, pCad⁺, pPst⁺) получены из Государственной коллекции патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб». В экспериментах использовали мышей линии BALB/c массой 18±2 г, полученных из отдела экспериментальных животных с виварием РосНИПЧИ «Микроб» (г. Саратов). Манипуляции с животными, а также выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей [37]. Протокол исследований одобрен Комиссией по биоэтике при ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб». Для культивирования *Y. pestis* использовали LB agar (Sigma-Aldrich, США); агар Хоттингера pH (7,2±0,1). Оценку иммунологической эффективности сочетанного применения ПО (ООО «НПО Петровакс Фарм», Россия), даларгина (ФГУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс», Россия), Poly(I:C) (InvivoGen, США) и вакцинного штамма чумного микроба *Y. pestis* EV НИИЭГ в условиях моделирования чумной инфекции проводили по интегральному показателю ImD₅₀ на мышцах инбредной линии BALB/c при подкожном (п/к) заражении *Y. pestis* 231(708), *Y. pestis* P-13268, *Y. pestis* P-2998 дозой 400 LD₅₀ на 21-е сутки после вакцинации [13]. ПО, даларгин, Poly(I:C) вводили биомоделям п/к (инвазивный способ) за 1 час до иммунизации или заражения в дозах 4, 2, 50 мкг соответственно. ПО в дозе 4 мкг вводился также мышам BALB/c интраназально (и/н, неинвазивный способ). Действие адъювантов на течение экспериментальной чумной инфекции у интактных животных тестировали по значению LD₅₀ заражающего штамма *Y. pestis*. Для моделирования легочной формы чумы у мышей BALB/c при и/н заражении и определения DCL тест-штамма *Y. pestis* 231(708) использовали пятикратно возрастающие концентрации от 50 до 6250 КОЕ. Обезболивание проводили препаратом «Ксила» (Xila, Нидерланды) в дозе 0,08 мг ксилазина гидрохлорида на мышь с последующей ингаляционной анестезией газовой смесью (Аерран, Бакстер АГ, Австрия) в комбинации с кислородом) с применением ветеринарного наркозного аппарата Comrakt. Наблюдение за животными осуществляли в течение 20 суток. Гибель от чумы подтверждалась наличием характерных для чумной инфекции патологоанатомических изменений, результатами высевов из органов и крови на пластинки агара Хоттингера pH (7,2±0,1), содержащий стимулятор роста сульфит натрия 0,024±0,001% и генцианвиолет

0,0045±0,0005%, наличием чумного микроба в мазках — отпечатках из органов павших животных, окрашенных по Граму. Антитела к капсульному антигену F1 чумного микроба в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ТИФА). Сенсibilизацию планшетов для ТИФА (Corning Inc., США) проводили очищенным препаратом F1 с молекулярной массой 15 кДа. Антитела, связавшиеся с F1, выявляли с помощью антител диагностических против IgG (H+L) мыши, меченных пероксидазой (филиал «Медгамал» ФГБУ «НИИЭМ им Н.Ф. Гамалеи»). В качестве хромогенного субстрата использовали ABTS (Sigma-Aldrich, США). Учет оптической плотности осуществляли на микропланшетном фотометре Stat Fax-3200 (США) при длине волны 405 нм. Активность антител в сыворотке определяли в трех повторах и выражали в виде обратного среднегеометрического титра и его средней квадратической ошибки. Достоверность уровня различия сравниваемых величин оценивали по непараметрическому критерию Манна–Уитни. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$. Определение ImD₅₀ и LD₅₀ проводили по методу Кербера в модификации И.П. Ашмарина и А.А. Воробьева [1].

Результаты

Сравнительная оценка действия полиоксидония, Poly(I:C), даларгина на протективные свойства вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ в условиях моделирования бубонной формы чумы

На первом этапе проводились расчет LD₅₀ заражающего вирулентного штамма основного подвида *Y. pestis* 231(708) и оценка влияния различных способов введения ПО на LD₅₀ *Y. pestis* 231 у невакцинированных животных. Для интактных животных LD₅₀ штамма *Y. pestis* 231(708) составил 8 (7÷9) КОЕ, а в группах с п/к и и/н способами введения ПО — 9 (8÷10) и 9 (6÷12) КОЕ соответственно. Даларгин и Poly(I:C) также существенно не влияли на развитие чумной инфекции у биомодельных животных и значение LD₅₀ заражающего штамма. Результаты сравнительной оценки влияния ПО, Poly(I:C), даларгина на протективные свойства вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ на основании интегрального показателя ImD₅₀ при п/к заражении тест-штаммом *Y. pestis* 231(708) летальной дозой 400 LD₅₀ (3500 КОЕ) на 21 сутки после вакцинации представлены в таблице 1. Нами установлено, что иммунизация экспериментальных животных вакцинным штаммом чумного микроба *Y. pestis* EV НИИЭГ на фоне

введения адъювантов с иммунопотенцирующим действием приводит к повышению напряженности адаптивного противочумного иммунитета, о чем свидетельствует достоверное ($p < 0,05$) снижение показателей ImD_{50} в 3,2 раза в группах с полиоксидонием, Poly(I:C) и в 2,6 раза в группе с даларгином по сравнению с вакцинированными только вакцинным штаммом *Y. pestis* EV НИИЭГ.

Нами изучена возможность использования ПО, Poly(I:C), даларгина в схеме экстренной профилактики чумы. Как было отмечено выше, ПО, даларгин, Poly(I:C) у невакцинированных животных не влияют как на развитие самой чумной инфекции, так и на значение LD_{50} . Напротив, введение данных препаратов вакцинированным мышам BALB/c перед заражением летальной дозой 400 LD_{50} *Y. pestis* 231(708) приводит к достоверному ($p < 0,05$) снижению показателей ImD_{50} *Y. pestis* EV НИИЭГ в группе с ПО в 2,6 раза, с Poly(I:C) в 1,9 раза, с даларгином в 1,5 раза по сравнению с вакцинированными животными без введения иммуноактиваторов (рис. 1).

Для верификации установленного нами повышения иммуноадъювантами защитного действия вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ было оценено влияние ПО на его протективные свойства в условиях моделирования бубонной формы чумы штаммами *Y. pestis* основного и неосновного подвидов из различных природных очагов (*Y. pestis* P-13268, Вьетнам, LD_{50} для белых мышей 5 м.к.; *Y. pestis* И-2998, Горно-Алтайский высокогорный очаг, LD_{50} для белых мышей 15 м.к.). Зарегистрировано выраженное усиление протективного действия *Y. pestis* EV НИИЭГ при введении ПО (рис. 2). Отмечалось достоверное ($p < 0,05$) уменьшение ImD_{50} *Y. pestis* EV НИИЭГ (в 19 раз) при инфицировании штаммом основного подвида *Y. pestis* P-13268 (Вьетнам) и штаммом неосновного подвида *Y. pestis* И-2998 (в 1,5 раза). В группе сравнения в условиях заражения штаммом *Y. pestis*

ТАБЛИЦА 1. ВЛИЯНИЕ ПОЛИОКСИДОНИЯ НА ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ВАКЦИННОГО ШТАММА ЧУМНОГО МИКРОБА *Y. pestis* EV НИИЭГ

TABLE 1. INFLUENCE OF POLYOXIDONIUM (PO) ON THE PROTECTIVE EFFICACY OF VACCINE STRAIN *Y. pestis* EV LINE НИИЭГ

| Иммунизирующий препарат <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ, доза (КОЕ) Immunized strain <i>Y. pestis</i> EV line НИИЭГ dose (CFU) | Заражающий штамм, <i>Y. pestis</i> 231, доза Challenge strain <i>Y. pestis</i> 231, dose | Число животных (выжившие/общее кол-во) Number of animals (survived/inoculated) | Средняя продолжительность жизни в сутках Mean time-to-death (days) M±m | ImD_{50} КОЕ CFU M (min÷max) |
|---|---|---|--|---|
| 2×10^2 | 400 LD_{50} (3500 КОЕ 3500 CFU) | 0/10 | 5,1±0,4 | $25 (21\div 237) \times 10^3$ |
| 1×10^3 | “- | 0/10 | 4,4±0,4 | |
| 5×10^3 | “- | 1/10 | 8,4±1,8 | |
| $2,5 \times 10^4$ | “- | 3/10 | 10,9±2,2 | |
| 2×10^2 + п/к ПО | “- | 0/10 | 5,2±0,3 | $8 (3\div 23) \times 10^3$ |
| 1×10^3 + п/к ПО | “- | 0/10 | 5,4±0,7 | |
| 5×10^3 + п/к ПО | “- | 4/10 | 11,2±2,6 | |
| $2,5 \times 10^4$ + п/к ПО | “- | 8/10 | 17,6±2,2 | |
| 2×10^2 + и/н ПО | “- | 0/10 | 6,2±0,3 | $11 (5\div 21) \times 10^3$ |
| 1×10^3 + и/н ПО | “- | 0/10 | 6,4±0,3 | |
| 5×10^3 + и/н ПО | “- | 4/10 | 11,8±2,5 | |
| $2,5 \times 10^4$ + и/н ПО | “- | 6/10 | 15,6±2,3 | |
| Плацебо Placebo | “- | 0/10 | 5,4±0,5 | - |
| Плацебо Placebo | 10 LD_{50} | 0/10 | 5,6±0,7 | - |

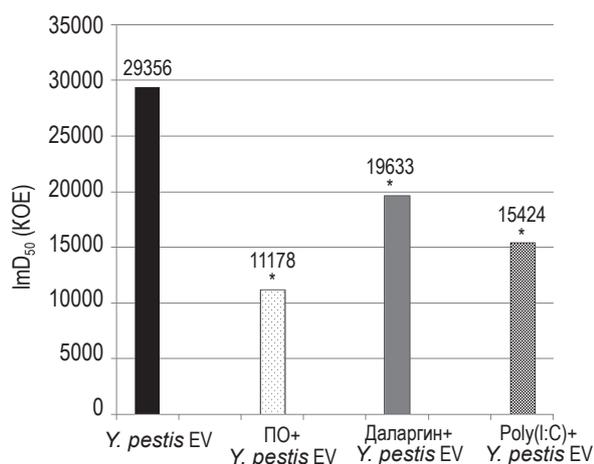


Рисунок 1. Значение ImD₅₀ для штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ на фоне подкожного введения даларгина, Poly(I:C), полиоксидония (ПО) перед заражением 400 LD₅₀ *Y. pestis* 231 мышей BALB/c

Примечание. По оси ординат – количество КОЕ *Y. pestis* EV НИИЭГ; * $p < 0,05$ при сравнении с вакцинированными только *Y. pestis* EV НИИЭГ.

Figure 1. The mean of ImD₅₀ of *Y. pestis* strain EV NIIEG in treatment groups with dalargin, Poly (I:C), polyoxidonium (PO) before lethal challenge mice BALB/c with 400 LD₅₀ *Y. pestis* strain 23

Note. On the axis of the ordinate – the number of CFU (colony forming units) *Y. pestis* strain EV NIIEG; * $p < 0.05$ in comparison with vaccinated mice only *Y. pestis* EV NIIEG.

231(708), применяющимся в качестве заражающего тест-штамма при контроле вакцины чумной живой и использованным нами в предыдущих экспериментах, также регистрировалось достоверное ($p < 0,05$) снижение показателей ImD₅₀ в 3,6 раза. Следует отметить, что цифровые показатели данной группы соответствуют таковым, полученным в других независимых экспериментах и приведенным ранее в таблице 1, и свидетельствуют о высокой информативности и воспроизводимости результатов исследования.

Влияние полиоксидония на протективные свойства *Y. pestis* EV НИИЭГ в условиях моделирования легочной формы чумы

Нами для моделирования легочной формы чумы у инбредных мышей BALB/c при и/н заражении и определения абсолютной смертельной дозы DCL (dosis certae letalis) тест-штамма *Y. pestis* 231(708) были использованы пятикратно возрастающие дозы клеток чумного микроба от 50 до 6250 КОЕ. Гибель зараженных мышей BALB/c с клиническими признаками легочной формы чумы отмечалась в 100% случаев во всех группах животных и наступала на 9-11-й день после зараже-

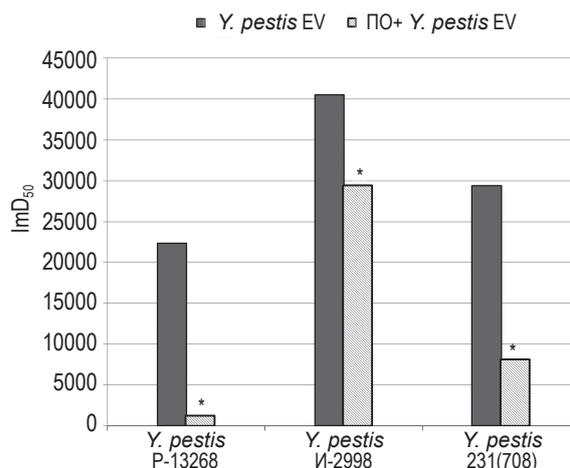


Рисунок 2. Значение ImD₅₀ для штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ при совместном введении с полиоксидонием (ПО) в условиях заражения 400 LD₅₀ *Y. pestis* P-3268, *Y. pestis* I-2998, *Y. pestis* 231(708) мышей линии BALB/c

Примечание. По оси ординат – количество КОЕ *Y. pestis* EV НИИЭГ; * $p < 0,05$ при сравнении с вакцинированными только *Y. pestis* EV НИИЭГ.

Figure 2. The mean of ImD₅₀ of *Y. pestis* strain EV NIIEG coadministrated with polyoxydonium (PO) after lethal challenge with 400 LD₅₀ *Y. pestis* R-3268, *Y. pestis* I-2998, *Y. pestis* 231 (708) on 21 day post immunization mice line BALB/c

Note. On the axis of the ordinate – the number of CFU *Y. pestis* strain EV NIIEG; * $p < 0.05$ in comparison with vaccinated mice only *Y. pestis* EV NIIEG.

ния с характерными патоморфологическими изменениями, описанными нами ранее [7]. Через 24-48 часов инкубации посевов при температуре $28 \pm 0,5$ °C на площади отпечатков образцов легких наблюдался сплошной рост типичной по морфологическим признакам культуры чумного микроба. В области отпечатков печени и селезенки, напротив, регистрировались либо единичные колонии чумного микроба, либо отсутствие роста, что полностью согласуется с данными P. Fellows и соавт. [18] о меньшей степени обсемененности чумным микробом печени и селезенки при экспериментальной легочной форме чумы. На основании полученных результатов доза 50 КОЕ вирулентного тест-штамма *Y. pestis* 231(708) была определена 1 DCL.

Далее было охарактеризовано влияние ПО, который вводили п/к непосредственно перед иммунизацией, на защитное действие вакцинного штамма чумного микроба *Y. pestis* EV НИИЭГ в условиях моделирования легочной формы чумы. Заражение 5DCL *Y. pestis* 231(708) осуществляли и/н на 21 день после иммунизации. Установлено, что доза $2,5 \times 10^4$ КОЕ, определенная ранее как ImD₅₀ для *Y. pestis* EV

ТАБЛИЦА 2. ВЛИЯНИЕ ПОЛИОКСИДОНИЯ, Poly(I:C), ДАЛАРГИНА НА ИММУНОГЕННЫЕ СВОЙСТВА ВАКЦИННОГО ШТАММА ЧУМНОГО МИКРОБА *Y. pestis* EV НИИЭГ В УСЛОВИЯХ ПОДКОЖНОЙ ВАКЦИНАЦИИ МЫШЕЙ ЛИНИИ BALB/c ДОЗАМИ 5×10^3 И $2,5 \times 10^4$ (КОЕ)

TABLE 2. INFLUENCE OF POLYOXIDONIUM, Poly(I:C), DALARGIN ON IMMUNOGENIC PROPERTIES OF THE VACCINE STRAIN OF THE PLAGUE MICROBE *Y. pestis* EV НИИЭГ IN CONDITIONS OF SUBCUTANEOUS VACCINATION OF BALB/c MICE WITH DOSES OF 5×10^3 И $2,5 \times 10^4$ (CFU)

| Иммунизирующий препарат <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ, доза (КОЕ) Immunized strain <i>Y. pestis</i> EV line НИИЭГ dose (CFU) | Количество животных в группе Number of animals in group | Обратные значения среднегеометрического титра Geometric mean reciprocal titers to F1 <i>Y. pestis</i> protein M±m |
|---|--|--|
| 5×10^3 КОЕ | 10 | 213,3±60,3 |
| $2,5 \times 10^4$ КОЕ | 10 | 512±0,1* |
| 5×10^3 КОЕ + ПО | 10 | 512±0,1** |
| $2,5 \times 10^4$ КОЕ + ПО | 10 | 1536±370** |
| 5×10^3 КОЕ + Даларгин 5×10^3 CFU + Dalargin | 10 | 96±15,9 |
| $2,5 \times 10^4$ КОЕ + Даларгин $2,5 \times 10^4$ CFU + Dalargin | 10 | 66±44,9** |
| 5×10^3 КОЕ + Poly(I:C) | 10 | 384±92,6 |
| $2,5 \times 10^4$ КОЕ + Poly(I:C) | 10 | 512±0,1 |
| Физиологический раствор PBS | 10 | < 40 |

Примечание. * – достоверность различий по отношению к дозе 5×10^3 КОЕ *Y. pestis* EV НИИЭГ ($p < 0,05$); ** – достоверность различий по отношению к группе сравнения, иммунизированных только *Y. pestis* EV НИИЭГ ($p < 0,05$).

Note. *, $p < 0.05$ in comparison with vaccinated mice 5×10^3 CFU *Y. pestis* EV НИИЭГ; **, $p < 0.05$ in comparison with vaccinated mice only *Y. pestis* EV НИИЭГ.

НИИЭГ при п/к заражении 400 LD₅₀ *Y. pestis* 231(708), защищала от гибели при легочной форме чумы лишь 10% мышей BALB/c (рис. 3). Введение ПО в схему иммунизации приводит к четырехкратному росту количества выживших животных при легочной форме чумы ($p < 0,05$).

Влияние полиоксидония, Poly(I:C), даларгина на иммуногенные свойства *Y. pestis* EV НИИЭГ

У всех иммунизированных животных, как видно из таблицы 2, детектируются антитела к F1 чумного микроба, уровень которых зависит от иммунизирующей дозы вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ. Нами установлено, что при сочетанной вакцинации *Y. pestis* EV НИИЭГ с ПО регистрируется значимое ($p < 0,05$) дозозависимое повышение титров антител к капсульному антигену чумного микроба по сравнению с группами экспериментальных животных, иммунизированных только вакцинным штаммом *Y. pestis* EV НИИЭГ. Титры антител к F1 чумного микроба в сыворотке крови животных, иммунизированных $2,5 \times 10^4$ КОЕ *Y. pestis* EV НИИЭГ в сочетании с ПО, в 3 раза ($p < 0,05$) превышали титры соответствующих антител у биомоделей, вакцинированных 5×10^3 КОЕ

Y. pestis EV НИИЭГ в сочетании с данным адьювантом. Напротив, даларгин при совместном введении с вакцинным штаммом *Y. pestis* EV НИИЭГ индуцировал резкое снижение титров детектируемых антител, что свидетельствует о перестройке на клеточный тип иммунного ответа. Включение Poly(I:C) в схему иммунизации мышей BALB/c вакцинным штаммом *Y. pestis* EV НИИЭГ существенно не влияло на выработку антител к F1 чумного микроба.

Обсуждение

Проблема создания высокоэффективных вакцин против чумы связана в первую очередь с высокой вирулентностью возбудителя чумы, обусловленной синергическим взаимопотенцирующим действием целого комплекса разнонаправленных факторов, которые блокируют ключевые барьерные механизмы системы врожденного иммунитета и препятствуют формированию полноценного адаптивного иммунитета [25, 35]. Высокоиммуногенная линия НИИЭГ была выделена из аттенуированного штамма *Y. pestis* EV и до настоящего времени используется в технологии производства ВЧЖ [5]. По данным полногеномно-

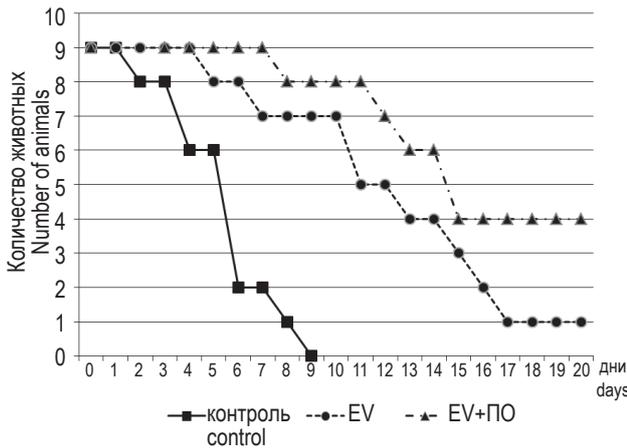


Рисунок 3. Влияние сочетанного введения *Y. pestis* EV НИИЭГ с полиоксидонием (ПО) на продолжительность жизни мышей линии BALB/c в условиях интраназального заражения 5 DCL *Y. pestis* 231

Примечание. По оси ординат – количество животных. По оси абсцисс – срок наблюдения в днях.

Figure 3. The influence of *Y. pestis* EV NIEG coadministration with polyoxidonium (PO) on the survival of BALB/c mice after intranasal challenge with 5 DCL (dosis certae letalis) *Y. pestis* strain 231

Note. On the axis of the ordinate – the number of surviving animals. On the axis of abscissus – days after intranasal challenge.

го SNP-анализа в геноме штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ отсутствует вся хромосомная область пигментации – *pgm* область, включая входящий в нее остров высокой патогенности НР1 с генами сидерофорзависимой системы потребления железа. Наличие в хромосоме такой протяженной делеции размером около 102 т.п.н. исключает возможность реверсии вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ к вирулентности, что также подтверждено многолетним опытом применения ВЧЖ у людей [14]. Большинство факторов вирулентности – система секреции III типа (Т3SS), эффекторные белки внешних мембран (Yop), V-антиген (LcrV), активатор плазминогена (Pla), капсульный антиген «фракция I» (F1, Caf1) – детерминировано генами плазмид *pCad*, *pPst* и *pFra*, которые все три содержатся в геноме вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ. Ряд факторов (F1, V-антиген) являются иммунодоминантными антигенами, участвующими в формировании адаптивного иммунитета и индуцирующими продукцию специфических антител [8]. В то же время в иммунобиологической перестройке организма вакцинированных участвуют и другие антигены (комплекс белка с ЛПС, YopD и т.п.), часть из которых (YopH, YopE, YopJ/YopP, YopM, тетра-ацилированная форма ЛПС и др.) обладает иммуносупрессивными свойствами, блокирующими

прохождение активационных сигналов и формирование пролонгированного противочумного иммунитета [25, 27].

Результаты нашего исследования показали, что введение в схему вакцинации *Y. pestis* EV НИИЭГ иммуноадьювантов полиоксидония, даларгина, синтетического аналога двуспиральной РНК (лиганда TLR3) – Poly(I:C), отличающихся по механизму действия, однонаправленно усиливает протективные свойства вакцинного штамма чумного микроба на фоне формирования разной степени интенсивности гуморального иммунного ответа и свидетельствует о превалирующем значении клеточных факторов иммунитета при чуме. Рядом исследователей доказано участие CD4⁺ и CD8⁺T-клеток и продуцируемых ими IFN γ , TNF α в механизме защиты от легочной формы чумы [28, 32]. Ранее нами было выявлено стимулирующее влияние ПО при сочетанном применении с *Y. pestis* EV НИИЭГ на процессы пролиферации клеток в Т-зонах лимфоидных органов и активацию субпопуляций Т- и В-лимфоцитов у мышей линии BALB/c [6], а также продукцию *in vitro* биомаркерных цитокинов Th1 (IFN γ , TNF α , IL-17) и Th2 (IL-4) клетками крови вакцинированных и ежегодно ревакцинированных ВЧЖ лиц [11]. Зарегистрировано повышение протективной активности ВЧЖ у морских свинок при внутривенной иммунизации с ПО [16], что согласуется с полученными нами данными об усилении защитного действия вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ в условиях моделирования как бубонной, так и легочной формы чумы при сочетанном применении с ПО, введенного в организм биомоделей рекомендованными для клинической практики п/к или и/н способами. В то же время ПО не оказывает заметного влияния на протективные свойства вакцины бруцеллезной живой [4]. Как известно TLR распознают консервативные, характерные только для микроорганизмов структуры – патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMP), а также эндогенные молекулы, выделяемые при некрозе и/или апоптозе клеток (белки теплового шока, фибриноген и др.). TLR3 способен также распознавать mRNA погибших клеток [22]. Сигналы, передаваемые через TLRs, обуславливают созревание макрофагов и дендритных клеток, экспрессию ко-стимулирующих молекул CD40, CD80, CD86, развитие иммунного ответа по Th1-типу [24]. Наличие TLR3, помимо интрацеллюлярной локализации, выявлено на поверхности дендритных клеток, макрофагов, эндотелиальных клеток. Лиганд TLR3-Poly(I:C) стимулирует

ет созревание дендритных клеток, экспрессию костимулирующих молекул CD80, CD86 и маркеров HLA-DR, CD83, активирует индукцию дендритными клетками пролиферации аллогенных Т-клеток, а также продукцию IFN β [26]. В наших исследованиях включение Poly(I:C) в схему иммунизации значимо усиливало защитное действие вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ и не влияло на выработку антител к F1 чумного микроба, что свидетельствует о стимуляции клеточного типа иммунного ответа и согласуется с данными о повышении Poly(I:C) продукции *in vitro* цитокинов IL-17, TNF α , IFN γ лейкоцитами вакцинированных и ревакцинированных ВЧЖ людей [11].

Синтетический аналог лей-энкефалина – даларгин – взаимодействует преимущественно с δ -опиоидными рецепторами, экспрессия которых выявлена на моноклеарных клетках различных лимфоидных органов, Т-клетках периферической крови человека [30, 31]. Агонисты δ -опиоидных рецепторов модулируют пролиферацию Т-клеток, продукцию IL-2, хемотаксис, активность циклазных систем, проницаемость мембран для ионов калия и кальция [19, 21]. Даларгин стимулирует *in vitro* продукцию IL-17, IFN γ , IL-4 клетками крови

вакцинированных ВЧЖ лиц, у ревакцинированных – только IL-17 и IFN γ [11]. В настоящем исследовании даларгин при совместном введении с вакцинным штаммом *Y. pestis* EV НИИЭГ индуцировал достоверное повышение напряженности противочумного иммунитета на фоне значительного снижения титров антител к капсульному антигену F1 чумного микроба, что может быть связано с участием δ -опиоидных рецепторов в механизме ингибирования высвобождения В-клетками синтезируемых иммуноглобулинов [34].

Таким образом, нами в условиях моделирования бубонной и легочной форм чумы продемонстрировано доминирующее значение клеточного типа иммунного ответа в обеспечении напряженного иммунитета к чуме, экспериментально обоснована целесообразность использования иммуноадьювантов в схеме специфической и экстренной профилактики чумы. Лекарственная форма азоксимера бромида «Полиооксидоний» по своей эффективности и доступности является наиболее оптимальной для повышения иммунных и протективных свойств вакцины чумной живой на основе вакцинного штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ.

Список литературы / References

1. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л.: Медгиз, 1962. 180 с. [Ashmarin I.P., Vorobyov A.A. Statistical methods in microbiological research]. Leningrad: Medgiz, 1962. 180 p.
2. Балачевский Б.В., Курзанов А.Н., Славинский А.А. Даларгин-индуцируемая модуляция функционально-метаболической активности нейтрофильных лейкоцитов // Успехи современного естествознания, 2008. № 5. С. 75-77. [Balachevsky B.V., Kurzanov A.N., Slavinsky A.A. Dalargin-induced modulation by functional-metabolic activity of neutrophil leukocytes. *Uspekhi sovremennogo yestestvoznaniya = Successes of Modern Natural Science*, 2008, no. 5, pp. 75-77. (In Russ.)]
3. Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности): санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.3118-13. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2014. 195 с. [Safety of work with microorganisms in pathogenic groups I-II (hazard): sanitary-epidemiological rules SP 1.3.3118-13]. Moscow: Federal Center of Hygiene and Epidemiology, 2014. 195 p.
4. Богачева Н.В., Охупкина В.Ю., Пяткова Н.В., Федотов А.К., Кучеренко А.С. Экспериментальное изучение влияния иммуномодуляторов на эффективность применения вакцины бруцеллезной живой сухой // Эпидемиология и вакцинопрофилактика, 2016. Т. 15, № 2. С. 84-92. [Bogacheva N.V., Okhapkina V. Yu., Pyatkova N.V., Fedotov A.K., Kucherenko A.S. Experimental research of the influence of immunomodulators on efficiency using of brucellosis living dry vaccine. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccinoprophylaxis*, 2016, Vol. 15, no. 2, pp. 84-92. (In Russ.)]
5. Бугоркова С.А., Девдариани З.Л., Щуковская Т.Н., Кутырев В.В. Исторические и современные представления о проблеме специфической профилактики чумы // Проблемы особо опасных инфекций, 2013. № 3. С. 63-69. [Bugorkova S.A., Devdariani Z.L., Shchukovskaya T.N., Kutyrev V.V. Historical and modern views on the problem of specific plague prophylaxis. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2013, no. 3, pp. 63-69. (In Russ.)]
6. Бугоркова С.А., Курылина А.Ф., Щуковская Т.Н. Морфофункциональная характеристика иммунокомпетентных органов мышей линии BALB/c при иммунизации вакцинным штаммом *Yersinia pestis* EV НИИЭГ на фоне иммуномодуляции // Проблемы особо опасных инфекций, 2017. № 2. С. 58-62. [Bugorkova S.A., Kurylina A.F., Shchukovskaya T.N. Morphological-functional characteristics of immune competent organs of BALB/c mice in case of vaccination with *Yersinia pestis* NIEG strain against the background of immune modulation. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2017, no. 2, pp. 58-62. (In Russ.)]
7. Бугоркова С.А., Курылина А.Ф., Щуковская Т.Н., Шавина Н.Ю. Морфологическая характеристика экспериментальной легочной чумы // Клиническая и экспериментальная морфология, 2017. № 2 (22). С. 46-51.

[Bugorkova S.A., Kurylina A.F., Shchukovskaya T.N., Shavina N.Yu. Morphologic characteristics of experimental pneumonic plague. *Klinicheskaya i eksperimentalnaya morfologiya = Clinical and Experimental Morphology*, 2017, no. 2 (22), pp. 46-51. (In Russ.)]

8. Дентовская С.В., Копылов П.Х., Иванов С.А., Агеев С.А., Анисимов А.П. Молекулярные основы вакцинопрофилактики чумы // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология, 2013. Т. 28, № 3. С. 3-12. [Dentovskaya S.V., Kopylov P.Kh., Ivanov S.A., Ageev S.A., Anisimov A.P. Molecular bases of vaccine-prevention of plague. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya = Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 2013, Vol. 28, no. 3, pp. 3-12. (In Russ.)]

9. Животова Е.Ю., Лебедько О.А., Тимошин С.С. Влияние структурных аналогов лей-энкефалина на процессы синтеза ДНК и свободно-радикальное окисление в слизистой оболочке желудка белых крыс // Дальневосточный медицинский журнал, 2012. № 1. С. 109-112. [Zhivotova E.Yu., Lebedko O.A., Timoshin S.S. Effect of leu-enkephalin analogues on the process of DNA synthesis and free radical oxidation in gastric mucous lining of albino rats. *Dalnevostochnyy meditsinskiy zhurnal = Far East Medical Journal*, 2012, no. 1, pp. 109-112. (In Russ.)]

10. Караулов А.В., Евстигнеев И.В. Современные подходы к вакцинопрофилактике гриппа // Вакцинация, 2011. Т. 1, № 1. С. 43-52. [Karaulov A.V., Evstigneev I.V. Modern approaches to flu vaccine prophylactic. *Vaktsinatsiya = Vaccination*, 2011, Vol. 1, no. 1, pp. 43-52. (In Russ.)]

11. Ключева С.Н., Шуковская Т.Н. Влияние адъювантов нового поколения *in vitro* на продукцию цитокинов клетками крови вакцинированных против чумы лиц // Российский иммунологический журнал, 2015. Т. 9 (18), № 2. С. 201-208. [Klyueva S.N., Schukovskaya T.N. Adjuvants influence of new generation *in vitro* cytokine production by blood cell vaccinated against plague persons. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2015, Vol. 9 (18), no. 2, pp. 201-208. (In Russ.)]

12. Ляпина А.М., Полянина Т.И., Ульянова О.В., Елисеев Ю.Ю., Теплев М.В., Мотин В.Л., Федорова В.А. Применение полиоксидония для получения специфических антител к бактериальным антигенам // Современные проблемы науки и образования: электронный научный журнал, 2012. № 2. [Lyapina A.M., Polyagina T.I., Ulyanova O.V., Eliseev Yu.Yu., Telepnev M.V., Motin V.L., Fedorova V.A. Application polyoxidonium for obtaining specific antibodies to bacterial antigens. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya: elektronnyy nauchnyy zhurnal = Modern Problems of Science and Education: Electronic Scientific Journal*, 2012, no. 2. (In Russ.)] Access mode: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=5729>.

13. МУ 3.3.1.1113-02. Основные требования к вакцинным штаммам чумного микроба: методические указания. М.: Минздрав России, 2002. 64 с. [MU 3.3.1.1113-02. The basic requirements for vaccine strains of plague Microbe: methodical instructions]. Moscow: Russia Ministry of Health, 2002. 64 p.

14. Одинокоев Г.Н., Ерошенко Г.А., Краснов Я.М., Куклева Л.М., Черкасов А.В., Шавина Н.Ю., Кутырев В.В. Анализ полногеномной последовательности штаммов *Yersinia pestis* на основе ступенчатого 680-SNP алгоритма // Проблемы особо опасных инфекций, 2013. № 3. С. 49-54. [Odinokov G.N., Eroshenko G.A., Krasnov Ya.M., Kukleva L.M., Cherkasov A.V., Shavina N.Yu., Kutyrer V.V. Analysis of the genome wide sequence of *Yersinia pestis* strains based on the consecutive 680-SNP algorithm. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2013, no. 3, pp. 49-54. (In Russ.)]

15. Профилактика чумы. Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.7.3465-17 // Бюллетень нормативных и методических документов Госсанэпиднадзора, 2017. Вып. 4 (70). С. 3-21. [Prevention of plague. Sanitary-epidemiological regulations SP 3.1.7.3465-17. *Byulleten normativnykh i metodicheskikh dokumentov Gossanepidnadzora = Bulletin of Regulatory and Methodical Documents of State Sanitary and Epidemiological Surveillance*, 2017, Iss. 4 (70), pp. 3-21. (In Russ.)]

16. Пономарева Т.С., Дерябин П.Н., Каральник Б.В., Тугамбаев Т.И., Атшабар Б.Б., Денисова Т.Г., Закарян С.Б., Мельникова Н.Н. Влияние полиоксидония на иммуногенную и протективную активность живой чумной вакцины // Иммунология, 2014. Т. 35, № 5. С. 286-290. [Ponomareva T.S., Deryabin P.N., Karalnik B.V., Tugambaev T.I., Atshabar B.B., Denisova T.G., Zakaryan S.B., Melnikova N.N. The impact of polyoxidonium on immunogenic and protective activity alive plague vaccine. *Immunologiya = Immunology*, 2014, Vol. 35, no. 5, pp. 286-290. (In Russ.)]

17. Bardel E., Doucet-Ladeveze R., Mathieu C., Harandi A.M., Dubois B., Kaiserlian D. Intradermal immunisation using the TLR3-ligand Poly (I:C) as adjuvant induces mucosal antibody responses and protects against genital HSV-2 infection. *NPJ Vaccines*, 2016, Vol. 1, 16010. doi: 10.1038/npjvaccines.2016.10.

18. Fellows P., Lin W., Detrisac C., Hu S.C., Rajendran N., Gingras B., Holland L., Price J., Bolanowski M., House R.V. Establishment of a Swiss Webster mouse model of pneumonic plague to meet essential data elements under the animal rule. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2012, Vol. 19, no. 4, pp. 468-476.

19. Gein S.V., Tendryakova S.P. Agonists of μ - and δ -opioid receptors in the regulation of IL-2, IL-4, and IFN- γ production by peripheral blood cells *in vitro*. *Hum. Physiol.*, 2015, Vol. 41, no. 3, pp. 323-327.

20. Huang Q., Yu W., Hu T. Potent antigen-adjuvant delivery system by conjugation of *Mycobacterium tuberculosis* Ag85B-HspX fusion protein with arabinogalactan-Poly(I:C) conjugate. *Bioconjug. Chem.*, 2016, Vol. 27, no. 4, pp. 1165-1174.

21. Karaji A.G., Reiss D., Matifas A., Kieffer B.L., Gavériaux-Ruff C. Influence of endogenous opioid systems on T lymphocytes as assessed by the knockout of mu, delta and kappa opioid receptors. *J. Neuroimmune Pharmacol.*, 2011, Vol. 6, no. 4, pp. 608-616.

22. Kariko K., Ni H., Capodici J., Lamphier M., Weissman D. mRNA is an endogenous ligand for Toll-like receptor 3. *J. Biol. Chem.*, 2004, Vol. 279, no. 13, pp. 12542-12550.
23. Kawai T., Akira S. The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition. *Int. Immunol.*, 2009, Vol. 21, no. 4, pp. 317-337.
24. Li X., Jiang S., Tapping R.I. Toll-like receptor signaling in cell proliferation and survival. *Cytokine*, 2010, Vol. 49, no. 1, pp. 1-9.
25. Li B., Yang R. Interaction between *Yersinia pestis* and host immune system. *Infect. Immun.*, 2008, Vol. 76, no. 5, pp. 1804-1811.
26. Lundberg A.M., Drexler S.K., Monaco C., Williams L.M., Sacre S.M., Feldmann M., Foxwell B.M. Key differences in TLR3/poly I:C signaling and cytokine induction by human primary cells: a phenomenon absent from murine cell systems. *Blood*, 2007, Vol. 110, no. 9, pp. 3245-3252.
27. Martínez-Chavarría L.C. *Yersinia pestis*-host immune cells interactions at early events during bubonic plague infection. *Curr. Trop. Med. Rep.*, 2016, Vol. 3, no. 2, pp. 51-59.
28. Philipovsky A.V., Smiley S.T. Vaccination with live *Yersinia pestis* primes CD4 and CD8 cells that synergistically protect against lethal pulmonary *Y. pestis* infection. *Infect. Immun.*, 2007, Vol. 75, no. 2, pp. 878-885.
29. Shakya A.K., Nandakumar K.S. Applications of polymeric adjuvants in studying autoimmune responses and vaccination against infectious diseases. *J. R. Soc. Interface*, 2013, Vol. 10, no. 79, 20120536. doi: 10.1098/rsif.2012.0536.
30. Sharp B.M., Li M.D., Matta S.G., McAllen K., Shahabi N.A. Expression of delta opioid receptors and transcripts by splenic T-cells. *Ann. N.-Y. Acad. Sci.*, 2000, Vol. 917, no. 3, pp. 764-770.
31. Sharp B.M., McAllen K., Gekker G., Shahabi N.A., Peterson P.K. Immunofluorescence detection of δ opioid receptors (DOR) on human peripheral blood CD4⁺ T cells and DOR-dependent suppression of HIV-1 expression. *J. Immunol.*, 2001, Vol. 167, no. 2, pp. 1097-1102.
32. Szaba F.M., Kummer L.W., Duso D.K., Koroleva E.P., Tumanov A.V., Cooper A.M., Bliska J.B., Smiley S.T., Lin J. TNF α and IFN γ but not perforin are critical for CD8 T cell-mediated protection against pulmonary *Yersinia pestis* infection. *PLOS Pathog.*, 2014, Vol. 10, no. 5, e1004142. doi: 10.1371/journal.ppat.1004142.
33. Toussi D.N., Massari P. Immune adjuvant effect of molecularly-defined Toll-like receptor ligands. *Vaccines (Basel)*, 2014, Vol. 2, no. 2, pp. 323-353.
34. Vassou D., Bakogeorgou E., Kampa M., Dimitriou H., Hatzoglou A., Castanas E. Opioids modulate constitutive B-lymphocyte secretion. *Int. Immunopharmacol.*, 2008, Vol. 8, no. 5, pp. 634-644.
35. Verma S.K., Tuteja U. Plague vaccine development: current research and future trends. *Front. Immunol.*, 2016, Vol. 7, 602. doi: 10.3389/fimmu.2016.00602.
36. WHO Workshop Meeting Report "Efficacy trials of Plague Vaccines: endpoints, trial design, site selection". 2018, INSERM, Paris. 12 p.
37. World Health Organization. Vaccine Supply and Quality Unit. Manual of laboratory methods for testing of vaccines used in the WHO Expanded Programme on Immunization. World Health Organization, 1997. 221 p.
38. Wu J., Huang S., Zhao X., Chen M., Lin Y., Xia Y., Sun C., Yang X., Wang J., Guo Y., Song J., Zhang E., Wang B., Zheng X., Schlaak J.F., Lu M., Yang D. Poly(I:C) treatment leads to interferon-dependent clearance of hepatitis B virus in a hydrodynamic injection mouse model. *J. Virol.*, 2014, Vol. 88, no. 18, pp. 10421-10431.

Авторы:

Шуковская Т.Н. — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела иммунологии ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия

Курьлина А.Ф. — научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия

Шавина Н.Ю. — младший научный сотрудник отдела экспериментальных животных с виварием ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия

Бугоркова С.А. — д.м.н., заведующая отделом иммунологии ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия

Авторы:

Shchukovskaya T.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Main Research Associate, Department of Immunology, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Kurylina A.F., Research Associate, Laboratory of Epizootological Monitoring, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Shavina N.Yu., Junior Research Associate, Department of Experimental Animals with Vivarium, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" Saratov, Russian Federation

Bugorkova S.A., PhD, MD (Medicine), Head, Department of Immunology, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Поступила 17.05.2019

Отправлена на доработку 17.09.2019

Принята к печати 11.12.2019

Received 17.05.2019

Revision received 17.09.2019

Accepted 11.12.2019

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОГО СТАТУСА ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ С УЧЕТОМ ГЕНДЕРНЫХ РАЗЛИЧИЙ

Масляков В.В.¹, Павлова О.Н.², Федотова Н.Н.¹, Абакумова Ю.В.¹

¹ Частное учреждение образовательная организация высшего образования «Медицинский университет „РЕАВИЗ“», г. Саратов, Россия

² Частное учреждение образовательная организация высшего образования «Медицинский университет „РЕАВИЗ“», г. Самара, Россия

Резюме. Цель исследования – выявить особенности изменений иммунного статуса у больных с ишемическим инсультом в остром периоде с учетом гендерных различий.

В исследовании приняли участие 160 обследованных, из них относительно здоровых (не предъявляли жалоб, не состояли на диспансерном учете и не имели установленных диагнозов) – 100 человек (50 мужчин и 50 женщин). У 60 человек (30 мужчин и 30 женщин) в момент поступления был диагностирован ишемический инсульт, и было проведено исследование иммунного статуса. При изучении иммунного статуса у больных определялись следующие показатели: субпопуляции Т- и В-лимфоцитов: количество в периферической крови лимфоцитов, несущих медиаторы CD3⁺ (зрелые Т-лимфоциты); CD4⁺ (Т-хелперы); CD8⁺ (цитотоксические Т-клетки); CD16⁺ (натуральные киллеры); CD20⁺ (В-клетки), а также соотношение CD4⁺/CD8⁺. Общее содержание IgG, IgM, IgA – по методу простой радиальной иммунодиффузии по Mancini и соавт., а также IgE, определяемый методом ИФА. Содержание С3, С4 компонентов комплемента, TNF α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, интерферона- γ (IFN γ), IL-4, IL-10.

В результате проведенных исследований установлено: независимо от пола, в остром периоде ишемического инсульта отмечается статистически достоверное увеличение общего количества лейкоцитов в периферической крови, палочкоядерных нейтрофилов и лимфоцитов по сравнению со здоровыми людьми из группы сравнения. При этом существенных изменений у мужчин и женщин выявлено не было. Увеличение данных показателей может быть связано с воспалительной реакцией организма. Исследование показателей гуморального звена иммунитета, активности показателей системы комплемента, содержания цитокинов у больных с ишемическим инсультом в острый период с учетом гендерных признаков по сравнению с относительно здоровыми показало, что у больных с ишемическим инсультом в острый период заболевания происходит увеличение содержания провоспалительных IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-2, одновременно с этим отмечается уменьшение противовоспалительных IL-10, IL-4 и TNF α , IFN γ . Кроме того, в обеих группах отмечается статистически достоверное увеличение IgG, IgM, IgE, общего количества комплемента, его С3 и С4 фракций, С1-ингибитора, ЦИК, фактора Н, ФИ, ФЧ, НСТ-сп., НСТ-ст. Из этого можно сделать заключение, что у больных с

Адрес для переписки:

Масляков Владимир Владимирович,
Частное учреждение образовательная организация
высшего образования «Медицинский университет
«РЕАВИЗ»
410012, Россия, г. Саратов, ул. Верхний рынок,
корп. 10.
Тел.: 8 (903) 023-71-69.
E-mail: maslyakov@inbox.ru

Address for correspondence:

Maslyakov Vladimir V.
Medical University "REAVIZ"
410012, Russian Federation, Saratov,
Verkhniy rynok str., bldg 10.
Phone: 7 (903) 023-71-69.
E-mail: maslyakov@inbox.ru

Образец цитирования:

В.В. Масляков, О.Н. Павлова, Н.Н. Федотова,
Ю.В. Абакумова «Особенности изменений
показателей иммунного статуса при ишемическом
инсульте в остром периоде с учетом гендерных
различий» // Российский иммунологический
журнал, 2020. Т. 23, № 1. С. 51-60.
doi: 10.46235/1028-7221-006-GIS

© Масляков В.В. и соавт., 2020

For citation:

V.V. Maslyakov, O.N. Pavlova, N.N. Fedotova,
Yu.V. Abakumova "Gender-related immune status in
ischemic stroke", Russian Journal of Immunology/
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23,
no. 1, pp. 51-60.
doi: 10.46235/1028-7221-006-GIS

DOI: 10.46235/1028-7221-006-GIS

ишемическим инсультом имеются признаки выраженного воспаления. Так же как и в клеточном звене, в исследуемых показателях имеются различия по гендерным признакам, в группе мужчин выявлено статистически достоверное увеличение всех исследуемых показателей по сравнению с женщинами.

Ключевые слова: ишемический инсульт, гендерные различия, гуморальное звено системы иммунитета, клеточное звено системы иммунитета, воспаление

GENDER-RELATED IMMUNE STATUS IN ISCHEMIC STROKE

Maslyakov V.V.^a, Pavlova O.N.^b, Fedotova N.N.^a, Abakumova Yu.V.^a

^a Medical University "REAVIZ", Saratov, Russian Federation

^b Medical University "REAVIZ", Samara, Russian Federation

Abstract. Research objective – to reveal gender-related features of changes in immune status during acute ischemic stroke.

There were enrolled 160 subjects including 100 (50 males and 50 females) apparently healthy (no complaints, no check-ups and no diagnoses). On admission, 60 (30 males and 30 females) were diagnosed with ischemic stroke, who were examined for changes in immune status by assessing the following parameters such as T and B cell subsets: peripheral blood CD3⁺ (mature T lymphocytes); CD4⁺ (T helper); CD8⁺ (cytotoxic T cells) T cells; CD16⁺ (natural killers); CD20⁺ (B cells) cells as well as CD4/CD8 ratio. Total amount of IgG, M, A antibodies was measured by simple radial immunodiffusion by Mancini et al., whereas IgE level – by ELISA. Level of serum C3, C4 complement components, TNF α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, INF γ , IL-4, IL-10 was measured by ELISA.

Our study revealed that in peripheral blood count of total leukocytes, band neutrophils and lymphocytes was significantly increased in acute ischemic stroke vs healthy subjects in sex-independent manner. Moreover, no pronounced differences between females vs males were observed. Rise in such parameters may be due to host inflammatory response. While examining humoral immunity, it was shown that activity the complement system and cytokine level in patients with acute ischemic stroke had gender-related increase in pro-inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-2 that paralleled with decreased anti-inflammatory IL-10, IL-4 and INF γ . In addition, subjects in both groups demonstrated significantly increased amount of IgG, IgM, IgE, total complement and its C3 and C4 fractions, C1-inhibitor, CIC, factor H, FI, FH, NBT-sp., NBI-st. hence, based on this it may be concluded that patients with ischemic stroke exert signs of marked inflammation. Similar to cellular immune arm, the above parameters revealed gender-related differences so that all immune parameters were significantly increased in males vs females.

Keywords: ischemic stroke, gender differences, humoral immune system, cellular immune system, inflammation

Введение

Данные эпидемиологических исследований, проведенных за последние годы, показывают, что различные нарушения кровоснабжения мозга остаются ведущей патологией среди различных заболеваний головного мозга, при этом нарушение кровоснабжения

головного мозга отмечается в четыре раза больше, чем разрыв сосудов [7]. Отмечено, что нарушение мозгового кровообращения за год регистрируется примерно у 5,6–6,6 миллионов больных [4]. Данная патология занимает третье место среди причин смерти в наиболее развитых странах, кроме того, эта патология является наиболее частой причи-

ной тяжелой инвалидизации [3]. Необходимо отметить, что наиболее частой патологией, встречающейся среди нарушений мозгового кровообращения, является ишемический инсульт, который встречается у 80% пациентов с данной патологией. Исследование значения иммунологических реакций, развивающихся при данной патологии, носило экспериментальный характер и выполнялось под руководством академика РАМН Ганнушкиной И.В. [2]. В результате выполненного анализа были сделаны выводы, что иммунная система вовлекается в ряд сложных нейроиммуноэндокринных реакций, которые участвуют в нарушении кровоснабжения головного мозга, а реализация этих реакций происходит различными механизмами. Многокомпонентность механизма вовлечения иммунной системы в патогенез ишемии мозга объясняет гетерогенный характер изменений различных показателей клеточного и гуморального иммунитета при ишемическом инсульте [5]. Однако, несмотря на большое количество исследований, в исследовании этого вопроса остается множество нерешенных проблем.

Цель исследования – выявить особенности изменений иммунного статуса у больных с ишемическим инсультом в остром периоде с учетом гендерных различий.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 160 обследованных, из них относительно здоровых (не предъявляли жалоб, не состояли на диспансерном учете и не имели установленных диагнозов) – 100 человек (50 мужчин и 50 женщин). У 60 человек (30 мужчин и 30 женщин) в момент поступления был диагностирован ишемический инсульт.

Критерии включения: возрастные показатели 18-40, отсутствие сопутствующих соматических заболеваний. Для больных с инсультом – наличие ишемического инсульта в вертебро-базиллярном бассейне.

Критерии исключения: возраст старше 55 лет для женщин и 61 года для мужчин, наличие геморрагического инсульта, агональное состояние в момент поступления.

При изучении иммунного статуса у больных определялись следующие показатели: субпопуляции Т- и В-лимфоцитов: количество в периферической крови лимфоцитов, несущих медиаторы CD3⁺ (зрелые Т-лимфоциты); CD4⁺ (Т-хелперы); CD8⁺ (цитотоксические Т-клетки); CD16⁺ (натуральные киллеры); CD20⁺ (В-клетки), а также соотношение CD4⁺/CD8⁺. Изучение названных показателей вы-

полнялось с помощью проточной цитометрии с моноклональными антителами, в исследовании использовались реагенты фирмы Dako (Дания). Определение циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) проводилось турбодиметрическим методом. Для этого исследования применяли 3,5% раствор полиэтиленгликоля с молекулярной массой 6000 Д (США) в фосфатном буфере (рН 8,4). Результаты учитывали на спектрометре СФ-46 при длине волны 450 нм и выражали в условных единицах. Общее содержание IgG, IgM, IgA – по методу простой радиальной иммуннодиффузии по Mancini и соавт., а также IgE, определяемый методом ИФА. Содержание С3, С4 компонентов комплемента, TNF α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, интерферона- γ (IFN γ), IL-4, IL-10 в плазме крови определяли иммуноферментным анализом с помощью набора реагентов ProCon (ООО «Протеиновый контур», Санкт-Петербург). Активность и интенсивность фагоцитоза нейтрофилов периферической крови оценивались по фагоцитарному индексу (ФИ) и фагоцитарному числу (ФЧ) [6]. Активность кислородсодержащих систем нейтрофилов оценивалась по реакции восстановления нитросинего тетразолия, спонтанного (НСТ-сп.) и стимулированного (НСТ-ст.) зимозаном [1].

Полученные данные обрабатывали методом вариационной статистики медико-биологического профиля. Обработка включала расчет медиан и верхних и нижних квартилей, а также определение достоверности различий (р) с использованием критерия Манна–Уитни для независимых групп и критерия Вилкоксона для зависимых. Для этой цели применяли персональный компьютер с пакетом прикладных программ Statistica 6.0 и Excel (Microsoft, 2003).

Результаты

Результаты показателей лейкоцитов и лейкоцитарной формулы у мужчин с ишемическим инсультом в острый период заболевания, по сравнению с относительно здоровыми мужчинами, представлены в таблице 1.

Аналогичные показатели, полученные у женщин с ишемическим инсультом в острый период заболевания, по сравнению с относительно здоровыми женщинами, представлены в таблице 2.

Как видно из данных, представленных в таблицах 1 и 2, в обеих группах, независимо от пола, в остром периоде ишемического инсульта отмечается статистически достоверное увеличение общего количества лейкоцитов в периферической крови, палочкоядерных

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ ФОРМУЛЫ У МУЖЧИН В ОСТРЫЙ ПЕРИОД ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА И ОТНОСИТЕЛЬНО ЗДОРОВЫХ МУЖЧИН (M±m)

TABLE 1. LEUKOCYTE FORMULA RATES IN MEN DURING ACUTE PERIOD OF ISCHEMIC STROKE AND RELATIVELY HEALTHY MEN (M±m)

| Показатели Indicators | Результаты в группах Results in groups | | |
|---|---|--|--------|
| | Здоровые мужчины Healthy men (n = 50) | Мужчины с инсультом Men with a stroke (n = 30) | p |
| Лейкоциты, × 10 ⁹ /л Leukocytes, × 10 ⁹ /l | 7,2±0,2 | 13,4±0,6 | < 0,05 |
| Палочкоядерные нейтрофилы, % Stab neutrophils, % | 3±0,2 | 5±0,8 | < 0,05 |
| Сегментоядерные нейтрофилы, % Segmented neutrophils, % | 70±0,4 | 74±0,8 | > 0,05 |
| Нейтрофилы, % Neutrophils, % | 63±0,4 | 66±0,7 | > 0,05 |
| Лимфоциты, % Lymphocytes, % | 28±0,3 | 36±0,9 | < 0,05 |
| Моноциты, % Monocytes, % | 0,8±0,4 | 0,9±0,2 | > 0,05 |
| Эозинофилы, % Eosinophils, % | 2±0,2 | 2±0,6 | > 0,05 |
| Базофилы, % Basophiles, % | 0,3±0,2 | 0,5±0,3 | > 0,05 |

ТАБЛИЦА 2. ПОКАЗАТЕЛИ ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ ФОРМУЛЫ У ЖЕНЩИН С ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ И ОТНОСИТЕЛЬНО ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН (M±m)

TABLE 2. LEUKOCYTE FORMULA RATES IN WOMEN WITH ACUTE ISCHEMIC STROKE AND RELATIVELY HEALTHY WOMEN (M±m)

| Показатели Indicators | Результаты в группах Results in groups | | |
|---|---|--|--------|
| | Здоровые женщины Healthy women (n = 50) | Женщины с инсультом Women with a stroke (n = 30) | p |
| Лейкоциты, × 10 ⁹ /л Leukocytes, × 10 ⁹ /l | 6±0,2 | 12,1±0,8 | < 0,05 |
| Палочкоядерные нейтрофилы, % Stab neutrophils, % | 2±0,2 | 4±0,8 | < 0,05 |
| Сегментоядерные нейтрофилы, % Segmented neutrophils, % | 71±0,3 | 72±0,1 | > 0,05 |
| Нейтрофилы, % Neutrophils, % | 73±0,2 | 74±0,7 | > 0,05 |
| Лимфоциты, % Lymphocytes, % | 31±0,5 | 39±0,4 | < 0,05 |
| Моноциты, % Monocytes, % | 1±0,2 | 1±0,6 | > 0,05 |
| Эозинофилы, % Eosinophils, % | 2±0,3 | 2±0,8 | > 0,05 |
| Базофилы, % Basophiles, % | 0,3±0,3 | 0,5±0,7 | > 0,05 |

нейтрофилов и лимфоцитов по сравнению со здоровыми людьми из группы сравнения. При этом существенных изменений у мужчин и женщин выявлено не было. Увеличение данных показателей может быть связано с воспалительной реакцией организма.

Показатели клеточного звена иммунного статуса у больных с ишемическим инсультом в острый период, представленные в сравнении с данными относительно здоровых пациентов с учетом гендерных различий, представлены на рисунках 1 (мужчины) и 2 (женщины).

Из данных, представленных на рисунках 1 и 2, видно, что в обеих группах, как мужчин, так и женщин, отмечается статистически достоверное увеличение всех показателей клеточного звена системы иммунитета, таких как цитотоксические Т-лимфоциты, Т-хелперы, Т-супрессоры, В-лимфоциты, по сравнению с данными, полученными в группе относительно здоровых людей из группы сравнения, при этом эти показатели были увеличены как в процентном отношении, так и в абсолютных цифрах. Так, в группе относительно здоровых мужчин количество CD3⁺ в процентном отношении составило 65±0,1,

а в абсолютных цифрах — $1,5 \pm 0,4 \times 10^9/\text{л}$, в группе пациентов с ишемическим инсультом в острой фазе эти показатели составили, соответственно, $89 \pm 0,5\%$ и $4,8 \pm 0,7 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$), CD4⁺ в группе здоровых мужчин составил $41 \pm 0,2\%$ и $1,1 \pm 0,5 \times 10^9/\text{л}$, в группе с ишемическим инсультом — $74 \pm 0,8\%$ и $5,3 \pm 0,2 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$), CD8⁺ в группе здоровых мужчин — $14 \pm 0,45\%$ и $0,3 \pm 0,2 \times 10^9/\text{л}$, в группе мужчин с ишемическим инсультом — $58 \pm 0,3\%$ и $3,7 \pm 0,9 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$), показатель CD16⁺ в группе мужчин женщин — $17 \pm 0,5\%$ и $0,1 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$, в группе больных с ишемическим инсультом — $35 \pm 0,8\%$ и $4,7 \pm 0,8 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$), CD19⁺ в группе здоровых мужчин составил $4,6 \pm 0,4\%$ и $0,2 \pm 0,5 \times 10^9/\text{л}$, в группе пациентов с ишемическим инсультом, соответственно, $23,1 \pm 0,7\%$ и $4,1 \pm 0,5 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$), CD20⁺ в группе относительно здоровых мужчин — $12 \pm 0,3\%$ и $0,21 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$, а в группе пациентов с ишемическим инсультом — $29 \pm 0,7\%$ и $3,13 \pm 0,8 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$), соотношение CD4⁺/CD8⁺ в группе относительно здоровых мужчин — $1,5 \pm 0,4$, в группе пациентов с ишемическим инсультом — $4,6 \pm 0,8$ ($p < 0,05$).

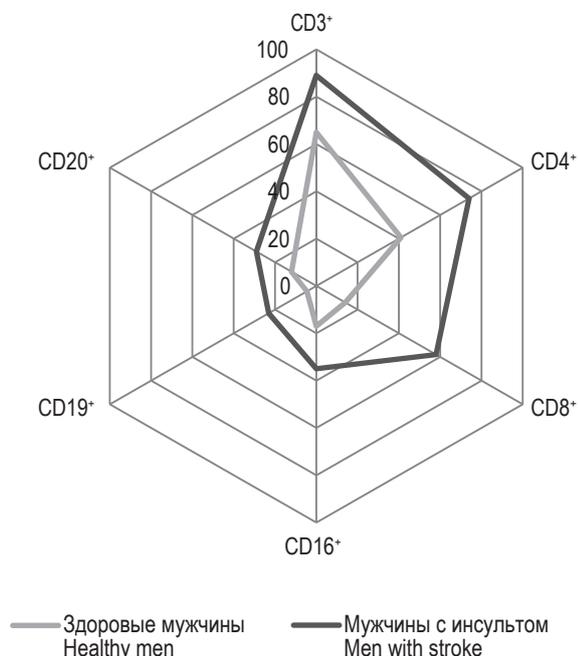


Рисунок 1. Показатели клеточного звена системы иммунитета у мужчин в острый период ишемического инсульта и относительно здоровых мужчин (%)

Figure 1. Cell link indicators of the immunity system in men during acute ischemic stroke and relatively healthy men (%)

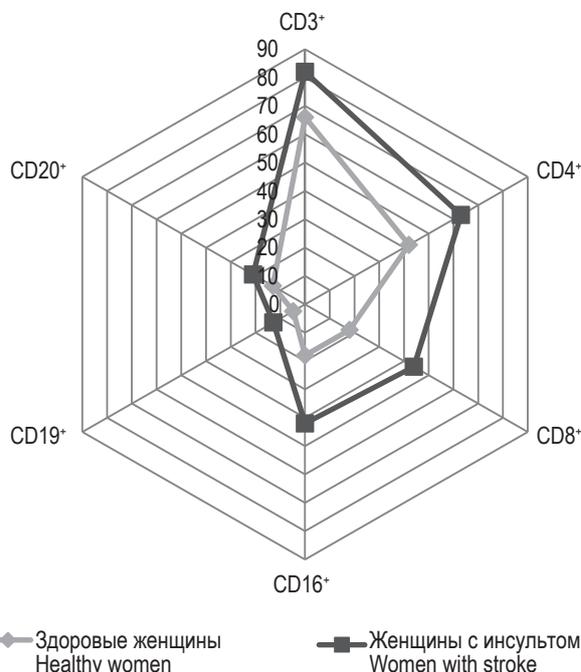


Рисунок 2. Показатели клеточного звена системы иммунитета у женщин с ишемическим инсультом в остром периоде и относительно здоровых женщин (%)

Figure 2. Cell link indicators of the immunity system in women with acute ischemic stroke and relatively healthy women (%)

ТАБЛИЦА 3. ПОКАЗАТЕЛИ ГУМОРАЛЬНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА, АКТИВНОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА, СОДЕРЖАНИЯ ЦИТОКИНОВ У МУЖЧИН В ОСТРЫЙ ПЕРИОД ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА И ОТНОСИТЕЛЬНО ЗДОРОВЫХ МУЖЧИН (M±m)

TABLE 3. INDICATORS OF HUMORAL IMMUNITY, COMPLEMENT SYSTEM ACTIVITY, CYTOKINE CONTENT IN MEN DURING ACUTE PERIOD OF ISCHEMIC STROKE AND RELATIVELY HEALTHY MEN (M±m)

| Показатели, единицы измерения Indicators, units of measure | Результаты в группах Results in groups | | |
|---|---|--|--------|
| | Здоровые мужчины Healthy men (n = 50) | Мужчины с инсультом Men with a stroke (n = 30) | p |
| IgA, г/л g/l | 1,24±0,2 | 1,26±0,2 | > 0,05 |
| IgG, г/л g/l | 6,34±0,4 | 9,12±0,9 | < 0,05 |
| IgM, г/л g/l | 2,45±0,1 | 12,27±0,3 | < 0,05 |
| IgE, г/л g/l | 1,46±0,1 | 6,52±0,9 | < 0,05 |
| Общее количество комплемента, МЕ/мл Total complement, IU/ml | 221±0,2 | 547±0,8 | < 0,05 |
| С3 фракция комплемента, г/л C3 complement fraction, g/l | 12,5±0,2 | 34,4±0,8 | < 0,05 |
| С4 фракция комплемента, г/л C4 complement fraction, g/l | 0,18±0,3 | 2,13±0,9 | < 0,05 |
| С1-ингибитор, нг/мл C1-inhibitor, ng/ml | 218,2±0,2 | 624,8±0,9 | < 0,05 |
| ЦИК, у. е. CIC, c. u. | 30±0,4 | 56,8±0,4 | < 0,05 |
| TNFα, пг/мл pg/ml | 3,79±0,1 | 3,87±0,2 | > 0,05 |
| IL-1β, пг/мл pg/ml | 5,94±0,1 | 17,52±0,8 | < 0,05 |
| IL-6, пг/мл pg/ml | 1,48±0,2 | 23,12±0,7 | < 0,05 |
| IL-8, пг/мл pg/ml | 25,7±0,1 | 56,8±0,8 | < 0,05 |
| IL-4, пг/мл IL-2, pg/ml | 0,87±0,3 | 0,21±0,6 | < 0,05 |
| IL-10, пг/мл pg/ml | 31,4±0,1 | 12,2±0,8 | < 0,05 |
| IL-2, пг/мл pg/ml | 0,06±0,2 | 2,04±0,5 | < 0,05 |
| IFNγ, пг/мл pg/ml | 4,02±0,1 | 7,07±0,9 | < 0,05 |
| Фактор Н, нг/мл Factor H, ng/ml | 31,6±0,1 | 32,5±0,3 | > 0,05 |
| ФИ, % FI, % | 53,2±0,1 | 78,6±0,9 | < 0,05 |
| ФЧ, абс. FH, abs. | 5,81±0,1 | 9,13±0,9 | < 0,05 |
| НСТ-сп., % NBT-sp., % | 25,1±1,2 | 45,6±0,8 | < 0,05 |
| НСТ-ст., % NBT-st., % | 31,4±1,3 | 78,7±0,9 | < 0,05 |

ТАБЛИЦА 4. ПОКАЗАТЕЛИ ГУМОРАЛЬНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА, АКТИВНОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА, СОДЕРЖАНИЯ ЦИТОКИНОВ У ЖЕНЩИН В ОСТРЫЙ ПЕРИОД ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА И ОТНОСИТЕЛЬНО ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН (M±m)

TABLE 4. INDICATORS OF HUMORAL IMMUNITY, COMPLEMENT SYSTEM ACTIVITY, CYTOKINE CONTENT IN WOMEN DURING ACUTE PERIOD OF ISCHEMIC STROKE AND RELATIVELY HEALTHY WOMEN (M±m)

| Показатели, единицы измерения Indicators, units of measure | Результаты в группах Results in groups | | |
|--|---|--|--------|
| | Здоровые женщины Healthy women (n = 50) | Женщины с инсультом Women with a stroke (n = 30) | p |
| IgA, г/л g/l | 1,26±0,2 | 1,28±0,5 | > 0,05 |
| IgG, г/л g/l | 6,37±0,5 | 8,23±1 | < 0,05 |
| IgM, г/л g/l | 2,47±0,3 | 8,23±0,9 | < 0,05 |
| IgE, г/л g/l | 1,48±0,2 | 5,23±0,7 | < 0,05 |
| Общее количество комплемента, МЕ/мл Total complement, IU/ml | 247±0,4 | 453±0,9 | < 0,05 |
| C3 фракция комплемента, г/л C3 complement fraction, g/l | 14,1±0,2 | 23,3±0,9 | < 0,05 |
| C4 фракция комплемента, г/л C4 complement fraction, g/l | 0,23±0,2 | 1,15±0,8 | < 0,05 |
| C1-ингибитор, нг/мл C1-inhibitor, ng/ml | 217,6±0,3 | 456,5±0,9 | > 0,05 |
| ЦИК, у. е. CIC, c. u. | 34,1±0,4 | 45,3±0,9 | < 0,05 |
| IL-1β, пг/мл pg/ml | 4,87±0,2 | 4,89±0,7 | > 0,05 |
| IL-6, пг/мл pg/ml | 6,75±0,3 | 12,12±0,7 | < 0,05 |
| IL-8, пг/мл pg/ml | 1,46±0,1 | 11,15±0,9 | < 0,05 |
| IL-4, пг/мл pg/ml | 26,1±0,3 | 33,7±0,9 | < 0,05 |
| IL-10, пг/мл pg/ml | 0,88±0,3 | 0,45±0,6 | < 0,05 |
| IL-2, пг/мл pg/ml | 32,1±0,4 | 22,1±0,5 | < 0,05 |
| IL-1β, пг/мл pg/ml | 0,07±0,3 | 1,06±0,9 | < 0,05 |
| IFNγ, пг/мл pg/ml | 4,06±0,6 | 5,08±0,9 | < 0,05 |
| Фактор Н, нг/мл Factor H, ng/ml | 32,5±0,3 | 33,5±0,8 | > 0,05 |
| ФИ, % FI, % | 55,3±0,3 | 56,8±0,9 | > 0,05 |
| ФЧ, абс. FH, abs. | 6,45±0,4 | 8,6±1,3 | < 0,05 |
| НСТ-сп., % NBT-sp., % | 26,8±0,3 | 34,4±1,6 | < 0,05 |
| НСТ-ст., % NBT-st., % | 33,5±0,3 | 55,3±0,9 | < 0,05 |

В группе женщин получены следующие результаты: $CD3^+$ – $66 \pm 0,1\%$ и $1,7 \pm 0,4 \times 10^9/\text{л}$, в группе пациенток с ишемическим инсультом в острой фазе эти показатели составили, соответственно, $82 \pm 0,7\%$ и $3,1 \pm 0,8 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$), $CD4^+$ в группе здоровых женщин – $42 \pm 0,4\%$ и $1,4 \pm 0,5 \times 10^9/\text{л}$, в группе с ишемическим инсультом – $63 \pm 0,7$ и $4,3 \pm 0,7 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$), $CD8^+$ в группе здоровых женщин – $18 \pm 0,4\%$ и $0,6 \pm 0,2 \times 10^9/\text{л}$, в группе женщин с ишемическим инсультом – $44 \pm 0,7\%$ и $2,1 \pm 0,8 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$), показатель $CD16^+$ в группе женщин – $18 \pm 0,2\%$ и $0,3 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$, в группе больных с ишемическим инсультом – $42 \pm 0,6\%$ и $3,1 \pm 0,9 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$), $CD19^+$ в группе здоровых женщин составил $4,8 \pm 0,5\%$ и $0,2 \pm 0,7 \times 10^9/\text{л}$, в группе пациенток с ишемическим инсультом, соответственно, $12,8 \pm 0,8\%$ и $2,1 \pm 0,4 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$), $CD20^+$ в группе относительно здоровых женщин – $13 \pm 0,1\%$ и $0,23 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$, а в группе пациенток с ишемическим инсультом – $21 \pm 0,8\%$ и $2,12 \pm 0,9 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$), соотношение $CD4^+/CD8^+$ в группе относительно здоровых женщин – $1,7 \pm 0,3$, в группе пациенток с ишемическим инсультом – $3,8 \pm 0,9$ ($p < 0,05$).

При этом необходимо подчеркнуть, что в показателях клеточного звена системы иммунитета по гендерным признакам были некоторые различия. Так, в группе мужчин исследуемые показатели были статистически достоверно повышенными, по сравнению с аналогичными данными, полученными у женщин.

Результаты исследования гуморального звена системы иммунитета у пациентов с ишемическим инсультом в острый период с учетом гендерных различий представлены в таблицах 3 и 4.

Исследование показателей гуморального звена иммунитета, активности показателей системы комплемента, содержания цитокинов у больных с ишемическим инсультом в острый период с учетом гендерных признаков, по сравнению с относительно здоровыми, показало, что у больных с ишемическим инсультом в острый период заболевания происходит увеличение содержания провоспалительных $IL-1\beta$, $IL-6$, $IL-8$, $IL-2$, одновременно с этим отмечается уменьшение противовоспалительных $IL-10$, $IL-4$ и $TNF\alpha$, $IFN\gamma$. Кроме того, в обеих группах отмечается статистически достоверное увеличение IgG , IgM , IgE , общего количества комплемента, его $C3$ и $C4$ фракций, $C1$ -ингибитора, ЦИК, фактора H , FI , FC , HCT -сп., HCT -ст. Из этого можно сделать заключение, что у больных с ишемическим инсультом имеют-

ся признаки выраженного воспаления. Так же как и в клеточном звене, в исследуемых показателях имеются различия по гендерным признакам, в группе мужчин выявлено статистически достоверное увеличение всех исследуемых показателей по сравнению с женщинами.

Обсуждение

Таким образом, проведенные исследования показывают, что у больных с ишемическим инсультом в остром периоде были выявлены следующие изменения: статистически достоверное увеличение общего количества лейкоцитов в периферической крови, палочкоядерных нейтрофилов и лимфоцитов по сравнению со здоровыми людьми из группы сравнения. В клеточном звене системы иммунитета – статистически достоверное увеличение всех показателей клеточного звена системы иммунитета, таких как цитотоксические Т-лимфоциты, Т-хелперы, Т-цитотоксические, В-лимфоциты, по сравнению с данными, полученными в группе относительно здоровых людей из группы сравнения, а в гуморальном звене системы иммунитета – увеличение содержания провоспалительных $IL-1\beta$, $IL-6$, $IL-8$, $IL-2$, одновременно с этим отмечается уменьшение противовоспалительных $IL-10$, $IL-4$ и $TNF\alpha$, $IFN\gamma$. Кроме этого, выявлено статистически достоверное увеличение IgG , IgM , IgE , общего количества комплемента, его $C3$ и $C4$ фракций, $C1$ -ингибитора, ЦИК, фактора H , FI , FC , HCT -сп., HCT -ст. Из этого можно сделать заключение, что у больных с ишемическим инсультом имеются признаки выраженного воспаления, выявленные изменения в показателях иммунограммы могут быть связаны с ответной реакцией на воспалительную реакцию. Необходимо отметить, что наиболее выраженные изменения были отмечены в группе мужчин. При сопоставлении полученных лабораторных данных и клинической картины было установлено, что у мужчин отмечалось наибольшее количество осложнений и летальных исходов по сравнению с группой женщин, это подтверждается данными, представленными в литературе. Так, согласно данным исследования, проведенного Молчановой Е.Е. и соавт. [7], иммунная система вовлекается в патофизиологические механизмы, которые участвуют в развитии ишемии головного мозга. При этом изменения в иммунной системе характеризовались изменениями в показателях клеточного и гуморального иммунитета: увеличе-

нием лейкоцитов в периферической крови, повышением содержания лимфоцитов, относительных и абсолютных показателей содержания CD3⁺, CD4⁺, увеличением количества В-лимфоцитов, уменьшением уровня IgG. При этом лечение, направленное на эти звенья, оказывало положительный эффект, который проявлялся в нормализации этих показателей [8, 9].

Выводы

У больных с ишемическим инсультом имеются признаки выраженного воспаления, выявленные изменения в показателях иммунограммы могут быть связаны с ответной реакцией на воспалительную реакцию. При этом наиболее выраженные изменения были отмечены в группе мужчин.

Список литературы / References

1. Виксман М.Е., Маянский А.Н. Способ оценки функциональной активности нейтрофилов человека по реакции восстановления нитросинего тетразолия. Казань, 1979. 15 с. [Viksmann M.E., Mayansky A.N. Way of assessment of functional activity of neutrophils of the person on reaction of restoration nitroblue tetrazolium.] Kazan, 1979. 15 p.
2. Ганнушкина И.В. Патофизиология нарушений мозгового кровообращения. Очерки ангионеврологии / Под ред. З.А. Суслиной. М.: Атмосфера, 2005. С. 18-40. [Gannushkina I.V. Pathophysiology of cerebral circulation disorders. Angioneurology sketches. Ed. Z.A. Suslina]. Moscow: Atmosphere, 2005, pp. 18-40.
3. Губарев Ю.Д., Шеремет А.О. Роль иммунной системы в патогенезе острых и хронических ишемических повреждений головного мозга // Научные ведомости Белгородского государственного университета, 2009. Т. 59, № 4. С. 47-52. [Gubarev Yu.D., Sheremet A.O. Brain stroke: a look from the therapeutic window. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta = Scientific Bulletin of the Belgorod State University*, 2009, Vol. 59, no. 4, pp. 47-52. (In Russ.)]
4. Драпкина О.М. Мозговой инсульт: взгляд из терапевтического окна // Consilium Medicum, 2011. Т. 13, № 10. С. 119-122. [Drapkina O.M. Brain stroke: a look from the therapeutic window. *Consilium Medicum*, 2011, Vol. 13, no. 10, pp. 119-122. (In Russ.)]
5. Жирнова И.Г., Максимова М.Ю., Комелькова Л.В., Варакин Ю.Я., Болотова Т.А. Иммунологические изменения в остром периоде ишемического инсульта // Анналы клинической и экспериментальной неврологии, 2012. № 3. С. 25-30. [Zhirnova I.G., Maksimova M.Yu., Komelkova L.V., Varakin Yu.Ya., Bolotova T.A. Immunological changes in acute ischemic stroke. *Annaly klinicheskoy i eksperimentalnoy nevrologii = Annals of Clinical and Experimental Neurology*, 2012, no. 3, pp. 25-30. (In Russ.)]
6. Медведев А.Н. Способ исследования поглотительной фазы фагоцитоза // Лабораторное дело, 1991. № 2. С. 19-20. [Medvedev A.N. Way of a research of an absorbing phase of a phagocytosis. *Laboratornoe delo = Laboratory Case*, 1991, no. 2, pp. 19-20. (In Russ.)]
7. Молчанова Е.Е., Решетникова Л.К. Возможности немедикаментозной коррекции иммунологических нарушений в остром периоде ишемического инсульта // Бюллетень физиологии и патологии дыхания, 2017. № 66. С. 65-69. [Molchanova E.E., Reshetnikova L.K. Possibilities of non-drug correction of immunological disorders in acute period of ischemic stroke. *Vyulleten fiziologii i patologii dykhaniya = Bulletin of Respiratory Physiology and Pathology*, 2017, no. 66, pp. 65-69. (In Russ.)]
8. Суслина З.А., Верещагин Н.В., Пирадов М.А. Подтипы ишемических нарушений мозгового кровообращения: диагностика и лечение // Consilium Medicum, 2001. Т. 3, № 5. С. 34-38. [Suslina Z.A., Vereshhagin N.V., Piradov M.A. Subtypes of ischemic cerebral circulation disorders: diagnosis and treatment. *Consilium Medicum*, 2001, Vol. 3, no. 5, pp. 34-38. (In Russ.)]
9. Черных Е.Р., Шевела Е.Я., Морозов С.А., Останин А.А. Иммунопатогенетические аспекты ишемического инсульта // Медицинская иммунология, 2018. Т. 20, №1. С. 19-34. [Chernyh E.R., Shevela E.Ya., Morozov S.A., Ostanin A.A. Immunopathogenetic aspects of ischemic stroke. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2018, Vol. 20, no. 1, pp. 19-34. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2018-1-19-34.

Авторы:

Масляков В.В. — д.м.н., профессор, проректор по научной работе Частного учреждения образовательной организации высшего образования «Медицинский университет „РЕАВИЗ“», г. Саратов, Россия

Павлова О.Н. — д.б.н., доцент кафедры медико-биологических дисциплин Частного учреждения образовательной организации высшего образования «Медицинский университет „РЕАВИЗ“», г. Самара, Россия

Authors:

Maslyakov V.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Vice-Rector for Scientific Work, Medical University "REAVIZ", Saratov, Russian Federation

Pavlova O.N., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Medical and Biological Disciplines Department, Medical University "REAVIZ", Samara, Russian Federation

Федотова Н.Н. — аспирант кафедры медико-биологических дисциплин Частного учреждения образовательной организации высшего образования «Медицинский университет „РЕАВИЗ“», г. Саратов, Россия

Fedotova N.N., Postgraduate Student, Medical and Biological Disciplines Department, Medical University “REAVIZ”, Saratov, Russian Federation

Абакумова Ю.В. — д.м.н., доцент, профессор кафедры внутренних болезней Частного учреждения образовательной организации высшего образования «Медицинский университет „РЕАВИЗ“», г. Саратов, Россия

Abakumova Yu.V., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Professor, Internal Diseases Department, Medical University “REAVIZ”, Saratov, Russian Federation

Поступила 17.01.2019
Отправлена на доработку 17.05.2019
Принята к печати 12.12.2019

Received 17.01.2019
Revision received 17.05.2019
Accepted 12.12.2019

ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ФЕНОТИП И ГОРМОНАЛЬНЫЙ БАЛАНС У ЖЕНЩИН В ПОСТМЕНОПАУЗЕ

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

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

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

³ ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер», г. Кемерово, Россия

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

⁵ ГБУЗ КО «Кемеровский клинический консультативно-диагностический центр», г. Кемерово, Россия

⁶ ГКУЗ КО «Кемеровский областной центр крови», г. Кемерово, Россия

Резюме. В сыворотке крови 227 здоровых женщин и 639 больных раком молочной железы (РМЖ) в постменопаузе исследовали IgA и IgG, специфичные к бензо[а]пирену (Bp), эстрадиолу (Es) и прогестерону (Pg), а также содержание Es и Pg и индивидуальные соотношения Pg/Es. Высокие значения Pg/Es (> 5) обнаруживали чаще у здоровых женщин (54,6%), чем у больных РМЖ (26,4%, $p < 0,0001$, OR = 0,3), и обозначили как «гормональный баланс». Низкие значения Pg/Es ($\leq 5,0$) встречались чаще у больных РМЖ (OR = 3,3) – обозначили как «гормональный дисбаланс». У здоровых женщин при протективном иммунологическом фенотипе (уровни антител к Pg превосходили уровни антител к Bp и Es) состояние гормонального баланса встречалось чаще (78,8% для IgA и 73,3% для IgG), чем при проканцерогенном иммунологическом фенотипе (уровни антител к Pg были меньше, чем к Bp и Es) – в 47,4%, $p = 0,005$ и 48,6%, $p = 0,002$ соответственно. У больных РМЖ указанная разница между IgA-иммунологическими фенотипами была меньше (41,6% против 24,4%, $p = 0,007$), а между IgG-фенотипами отсутствовала. Таким образом, впервые обнаружено влияние иммунологических фенотипов, обусловленных антителами к химическим канцерогенам окружающей среды и эндогенным стероидным гормонам, на гормональный баланс у здоровых женщин и ослабление этого влияния у больных РМЖ.

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

Адрес для переписки:

Институт экологии человека ФГБНУ
«Федеральный исследовательский центр угля
и углехимии СО РАН»
650065, Россия, г. Кемерово,
пр. Ленинградский, 10.
Тел.: 8 (3842) 57-50-79.
E-mail: stellamun@yandex.ru

Address for correspondence:

Institute of Human Ecology Federal Research,
Center of Coal and Coal chemistry SB RAS
650065, Russian Federation, Kemerovo,
Leningradsky ave., 10.
Phone: 7 (3842) 57-50-79.
E-mail: stellamun@yandex.ru

Образец цитирования:

А.Н. Глушков, Е.Г. Поленок, С.А. Мун,
Л.А. Гордеева, М.В. Костянко, В.А. Луценко,
Г.И. Колпинский, Е.В. Брежнева, И.А. Вафин
«Индивидуальный иммунологический фенотип
и гормональный баланс у женщин в постменопаузе»
// Российский иммунологический журнал, 2020.
Т. 23, № 1. С. 61-68.
doi: 10.46235/1028-7221-007-IPA
© Глушков А.Н. и соавт., 2020

For citation:

A.N. Glushkov, E.G. Polenok, S.A. Mun, L.A. Gordeeva,
M.V. Kostyanko, V.A. Lutsenko, G.I. Kolpinskiy,
E.V. Brezhneva, I.A. Vafin "Immunological
phenotype and hormonal balance in postmenopausal
women", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 1,
pp. 61-68.
doi: 10.46235/1028-7221-007-IPA
DOI: 10.46235/1028-7221-007-IPA

IMMUNOLOGICAL PHENOTYPE AND HORMONAL BALANCE IN POSTMENOPAUSAL WOMEN

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

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

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

^c Regional Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

^d Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation

^e Kemerovo Clinical Diagnostic Center, Kemerovo, Russian Federation

^f Regional Center of Blood, Kemerovo, Russian Federation

Abstract. Serum concentrations of estradiol (Es) and progesterone (Pg), Es, Pg and benzo[a]pyrene-specific IgA and IgG antibodies were studied in 227 postmenopausal healthy women (HW) and 639 breast cancer patients (BCP). The high individual Pg/Es ratio (> 5.0) was revealed in HW (54.6%) and BCP (26.4%, $p < 0.0001$, OR = 0.3) marked as “hormonal balance”. The low Pg/Es (≤ 5.0) ratio was detected more frequently in BCP (OR = 3.3) marked as “hormonal imbalance”. The high Pg/Es ratio was more common in HW with protective immunological phenotype (IgA-Bp/IgA-Pg ≤ 1 and IgA-Es/IgA-Pg ≤ 1) than with procarcinogenic immunological phenotype (IgA-Bp/IgA-Pg > 1 and IgA-IgA-Es/IgA-Pg > 1): 78.8 vs 47.4%, $p = 0.005$. The same parameters for IgG-immunological phenotypes in HW were 73.3 and 48.6%, $p = 0.002$. The differences between IgA-immunological phenotypes were lowered (41.6 vs 24.4%, $p < 0.007$), whereas between IgG-phenotypes it was absent in BCP. Thus, for the first time it was revealed the influence of immunological phenotypes based on antibodies specific to the environmental chemical carcinogens and endogenous steroid hormones on the hormonal balance in HW and its reduced effects in BCP.

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

Работа выполнена в рамках проекта VI.59.1.1 Программы фундаментальных научных исследований СО РАН (гос. задание № 0352-2019-0011).

Введение

Среди гормонозависимых заболеваний рак молочной железы (РМЖ) занимает особое место в связи с широким распространением и тяжестью лечения [5]. Исследование механизмов гормональных нарушений у женщин может наметить новые подходы к определению индивидуальных рисков возникновения и профилактики РМЖ. Принимая во внимание известные экспериментальные данные о влиянии иммунизации животных стероидными гормонами на их содержание в сыворотке крови и биологические эффекты [7, 9, 11, 12, 13], были исследованы и выявлены взаимосвязи антител, специфичных к эстрадиолу и прогестерону (Es и Pg), с концентрацией этих гормонов в сыворотке крови здоровых женщин и больных РМЖ [1]. Было

обнаружено участие антител, специфичных к бензо[а]пирену (Bp), в иммунорегуляции содержания Es и Pg соответствующими антителами у больных РМЖ [2].

В то же время комплексное изучение антител к Bp, Es и Pg позволило выделить четыре иммунологических фенотипа, по-разному ассоциированных с РМЖ [3]:

- протективный (с низким риском РМЖ), при котором уровни IgA-Bp и IgA-Es были меньше, чем уровень IgA-Pg;
- проканцерогенный (с высоким риском РМЖ), при котором уровни IgA-Bp и IgA-Es превосходили уровень IgA-Pg;
- компенсаторный (с отсутствием риска РМЖ), при котором уровень IgA-Pg превосходил уровни IgA-Bp или IgA-Es.

Однако особенности гормонального статуса у здоровых женщин и больных РМЖ с разным иммунологическим фенотипом остались неизвестными. Кроме того, не было исследовано содержание Es и Pg при аналогичных

индивидуальных соотношениях IgG, специфичных к Bp, Es и Pg.

Цель настоящей работы – исследовать особенности содержания Es и Pg в сыворотке крови у здоровых женщин и больных РМЖ в постменопаузе при различных иммунологических фенотипах с учетом изотипа специфических антител к Bp, Es и Pg.

Материалы и методы

В обследовании приняли участие 866 женщин в постменопаузе, в том числе 639 с диагнозом «инвазивная карцинома молочной железы», поступившие на лечение в Областной клинический онкологический диспансер г. Кемерово. Диагноз «РМЖ» в каждом случае был подтвержден морфологически. У большинства женщин была выявлена I и II стадии заболевания (37,3 и 44,0%), III и IV стадии составили 18,2 и 0,5% соответственно. Медиана возраста женщин в исследуемой группе – 63 года (интерквартильный размах 57-69).

В группу сравнения были включены 227 условно здоровых женщин, проживающих на территории Кемеровской области, и доноры Кемеровского центра крови без патологии молочной железы. Медиана возраста женщин в группе сравнения – 57 лет (интерквартильный размах 42-80).

Забор периферической крови осуществлялся согласно этическим стандартам в соответствии с Хельсинкской декларацией 1975 года и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 г. Все женщины, участвовавшие в исследовании, дали информированное письменное согласие на участие в нем.

Иммуноанализ IgA- и IgG-антител к Bp, Es и Pg проводили с помощью неконкурентного иммуноферментного анализа, подробная методика описана в работе [3]. В качестве антигенов на полистирольные иммунологические планшеты были иммобилизованы конъюгаты Bp, Es и Pg с бычьим сывороточным альбумином (BSA). Образцы сыворотки крови в разведении 1:20 (для определения IgA-антител) или 1:100 (для определения IgG-антител) вносили по 100 мкл в лунки планшета в дублях, инкубировали 1 ч при 37 °С на шейкере. Связавшиеся антитела выявляли с помощью козых антител против IgA(G) человека, меченных пероксидазой хрена (Novex, США), разведение конъюгата 1:10000. В лунки вносили по 100 мкл меченных антител и инкубировали 1 ч при 37 °С на шейкере. Регистрацию адсорбированных на планшете антител

проводили с помощью субстратного буфера, содержащего тетраметилбензидин (ТМВ, США), на фотометре (Униплан, Россия) при длине волны 450 нм. Уровни антител выражали в относительных единицах и вычисляли по формуле:

$$\text{IgA(G)} - X = (\text{OD}_{X\text{-BSA}} - \text{OD}_{\text{BSA}}) / \text{OD}_{\text{BSA}},$$

где X = Bp, Es, Pg; $\text{OD}_{X\text{-BSA}}$ – связывание антител с конъюгатом гаптен-BSA, OD_{BSA} – фоновое связывание с BSA.

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

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США). Ненормальный характер распределения показателей выявили с помощью критерия Шапиро–Уилка и в дальнейшем для выявления различий между группами использовали непараметрический критерий χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность вариации. За критический уровень значимости принималось значение $p < 0,05$. Для выявления пороговых значений концентраций гормонов и уровней антител (cut-off) был проведен ROC-анализ [8]. Ассоциации исследуемых антител и стероидных гормонов с РМЖ оценивали на основании величины отношения шансов (odds ratio, OR) с доверительным интервалом (CI) при 95% уровне значимости.

Результаты

В предыдущем исследовании антител класса A, специфичных к Bp, Es и Pg, в сыворотке крови 400 здоровых женщин и 1284 больных РМЖ были выделены четыре иммунологических фенотипа, по-разному ассоциированных с риском РМЖ. В настоящей работе случайным образом из этого же пула сыворотки отобраны 227 образцов сыворотки здоровых женщин и 639 образцов больных РМЖ. В этих образцах исследовали содержание Es и Pg, а также антитела класса G, специфичные к указанным гаптенам.

Содержание стероидных гормонов в сыворотке крови здоровых женщин и больных РМЖ в постменопаузе

Сначала с помощью ROC-анализа рассчитали пограничные значения концентраций Es и Pg, а также индивидуальных соотношений Pg/Es, по которым сравниваемые группы имели наибольшие различия. В таблице 1 представлено распределение здоровых женщин и больных РМЖ по частоте обнаружения

низких и высоких значений указанных параметров. У больных РМЖ обнаружили статистически значимое увеличение случаев с высоким содержанием Es (OR = 2,9), низким – Pg (OR = 0,5) и, соответственно, низким значением соотношения Pg/Es (OR = 0,3).

Очевидно, что высокая частота обнаружения индивидуального соотношения Pg/Es > 5,0 у здоровых женщин отражает состояние физиологического гормонального баланса, а высокая частота соотношения Pg/Es ≤ 5,0 у больных РМЖ – состояние проканцерогенного гормонального дисбаланса.

Содержание стероидных гормонов в сыворотке крови здоровых женщин с разными иммунологическими фенотипами

В таблице 2 приведено распределение здоровых женщин с высокими и низкими концентрациями Es и Pg, а также индивидуальными соотношениями Pg/Es в зависимости от высоких и низких значений соотношений уровней исследуемых антител и их комбинаций.

При анализе искомым взаимосвязей гормональных показателей с уровнями специфических антител А установлено следующее. Высокие значения концентраций Pg и соотношений Pg/Es оказались ассоциированными с низким значением соотношения IgA-Vp/IgA-Pg (87,3 и 69,1%) по сравнению с высоким значением (57,6 и 50,0% соответственно). Аналогичные взаимосвязи обнаружены и для IgA-Es/IgA-Pg (88,7 и 75,5% против 57,5 и 48,3% соответственно). И наоборот, высокие значения Es чаще встречались при IgA-Es/IgA-Pg > 1 (45,4%), чем при IgA-Es/IgA-Pg ≤ 1 (28,3%, p = 0,04). Концен-

трация Es в данной выборке не зависела от соотношения IgA-Vp/IgA-Pg.

Распределение здоровых женщин по частоте обнаружения низких и высоких уровней Es в сыворотке крови не зависело от иммунологического фенотипа, обусловленного исследуемыми антителами классов А. В то же время искомые взаимосвязи Pg и Pg/Es иммунологическими фенотипами выявлены с высокой статистической значимостью (p < 0,001 и p = 0,005). Так, при наличии протективного иммунологического фенотипа (позиция 2.1) высокие уровни Pg встречались в 93,9%, а высокие значения соотношения Pg/Es – в 78,8% случаев. При проканцерогенном фенотипе (позиция 2.4) эти показатели составляли, соответственно, 54,6 и 47,4%. При компенсаторных иммунологических фенотипах (позиции 2.2 и 2.3) частота обнаружения высоких уровней Pg и соотношений Pg/Es занимала промежуточные значения.

Аналогичным образом исследовали предполагаемые взаимосвязи гормональных показателей с индивидуальными соотношениями антител класса G, специфичных к Vp, Es и Pg. Высокое содержание в сыворотке крови Es встречалось чаще при высоких значениях соотношения IgG-Vp/IgG-Es (> 1), чем при низких (≤ 1) – 46,0% против 20,0% соответственно. Обратные взаимосвязи обнаружены для уровней Pg (59,9% против 87,5%) и для Pg/Es (48,7% против 82,5%). Искомая ассоциация IgG-Es/IgG-Pg выявлена только с концентрацией Pg (слабодостоверная, p = 0,034).

Все три гормональных показателя оказались взаимосвязанными с иммунологически-

ТАБЛИЦА 1. ЧИСЛО (n) И ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ (%) СЛУЧАЕВ С НИЗКИМ (≤) И ВЫСОКИМ (>) СОДЕРЖАНИЕМ Es и Pg (pmol/l) И ИХ СООТНОШЕНИЯ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (РМЖ) В ПОСТМЕНОПАУЗЕ

TABLE 1. QUANTITY (n) AND PREVALENCE (%) OF LOW (≤) AND HIGH (>) SERUM ES AND PG (pmol/l) LEVEL AS WELL AS Es/Pg RATIO IN POSTMENOPAUSAL HEALTHY WOMEN AND BREAST CANCER PATIENTS (BCP)

| Гормоны, соотношение гормонов Hormones, hormone ratio | РМЖ BCP n = 639 | Здоровые HW n = 227 | χ^2 (p) | OR (95% CI) |
|--|-----------------------|---------------------------|--------------------|---------------|
| | n/% | n/% | | |
| Es ≤ 200 | 209/32,7 | 133/58,6 | 45,9 (< 0,0001) | 0,3 (0,3-0,5) |
| > 200 | 430/67,2 | 94/41,4 | | |
| Pg ≤ 800 | 329/51,5 | 80/35,2 | 17,1 (< 0,0001) | 2,0 (1,4-2,7) |
| > 800 | 310/48,5 | 147/64,8 | | |
| Pg/Es ≤ 5,0 | 470/73,6 | 103/45,4 | 58,2 (< 0,0001) | 3,3 (2,4-4,6) |
| > 5,0 | 169/26,4 | 124/54,6 | | |

ТАБЛИЦА 2. ЧИСЛО (n) И ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ (%) СЛУЧАЕВ С НИЗКИМ (\leq) И ВЫСОКИМ ($>$) СОДЕРЖАНИЕМ Es и Pg (pmol/l) И ИХ СООТНОШЕНИЕМ ПРИ РАЗНЫХ ЗНАЧЕНИЯХ СООТНОШЕНИЙ ИССЛЕДУЕМЫХ АНТИТЕЛ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН

TABLE 2. QUANTITY (n) AND PREVALENCE (%) OF LOW (\leq) AND HIGH ($>$) SERUM Es AND Pg (pmol/l) LEVEL AS WELL AS Es/Pg RATIO IN VARIOUS ANTIBODY RATIOS IN HEALTHY WOMEN

| Соотношения антител и их комбинации Antibody ratio and antibody combinations | Es | | Pg | | Pg/Es | |
|---|-------------------|----------------|----------------------|----------------|---------------------|----------------|
| | ≤ 200 n/% | > 200 n/% | ≤ 800 n/% | > 800 n/% | $\leq 5,0$ n/% | $> 5,0$ n/% |
| 1.1. IgA-Bp/IgA-Pg $\leq 1,0$ | 36/65,5 | 19/34,5 | 7/12,7 | 48/87,3 | 17/30,9 | 38/69,1 |
| $> 1,0$ | 97/56,4 | 75/43,6 | 73/42,4 | 99/57,6 | 86/50,0 | 86/50,0 |
| χ^2 (p) | 1,06 (0,303) | | 14,85 ($< 0,001$) | | 5,38 (0,020) | |
| 1.2. IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1,0$ | 38/71,7 | 15/28,3 | 6/11,3 | 47/88,7 | 13/24,5 | 40/75,5 |
| $> 1,0$ | 95/54,6 | 79/45,4 | 74/42,5 | 100/57,5 | 90/51,7 | 84/48,3 |
| χ^2 (p) | 4,22 (0,040) | | 16,0 ($< 0,001$) | | 11,05 ($< 0,001$) | |
| 2.1. IgA-Bp/IgA-Pg $\leq 1,0$ + IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1,0$ | 25/75,8 | 8/24,2 | 2/6,1 | 31/93,9 | 7/21,2 | 26/78,8 |
| 2.2. IgA-Bp/IgA-Pg $> 1,0$ + IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1,0$ | 13/65,0 | 7/35,0 | 4/20,0 | 16/80,9 | 6/30,0 | 14/70,0 |
| 2.3. IgA-Bp/IgA-Pg $\leq 1,0$ + IgA-Es/IgA-Pg $> 1,0$ | 11/50,0 | 11/50,0 | 5/22,7 | 17/77,3 | 10/45,5 | 12/54,5 |
| 2.4. IgA-Bp/IgA-Pg $> 1,0$ + IgA-Es/IgA-Pg $> 1,0$ | 84/55,3 | 68/44,7 | 69/45,4 | 83/54,6 | 80/52,6 | 72/47,4 |
| χ^2 (p), df = 3 | 5,710 (0,127) | | 22,724 ($< 0,001$) | | 12,91 (0,005) | |
| 3.1. IgG-Bp/IgG-Pg $\leq 1,0$ | 32/80,0 | 8/20,0 | 5/12,5 | 35/87,5 | 7/17,5 | 33/82,5 |
| $> 1,0$ | 101/54,0 | 86/46,0 | 75/40,1 | 112/59,9 | 96/51,3 | 91/48,7 |
| χ^2 (p) | 8,13 (0,004) | | 9,83 (0,002) | | 13,89 ($< 0,001$) | |
| 3.2. IgG-Es/IgG-Pg $\leq 1,0$ | 14/60,9 | 9/39,1 | 3/13,0 | 20/87,0 | 8/34,8 | 15/65,2 |
| $> 1,0$ | 119/58,3 | 85/41,7 | 77/37,3 | 127/62,3 | 95/46,6 | 109/53,4 |
| χ^2 (p) | 0,0 (0,991) | | 4,50 (0,034) | | 0,73 (0,392) | |
| 4.1. IgG-Bp/IgG-Pg $\leq 1,0$ + IgG-Es/IgG-Pg $\leq 1,0$ | 10/66,7 | 5/33,3 | 2/13,3 | 13/86,7 | 4/26,7 | 11/73,3 |
| 4.2. IgG-Bp/IgG-Pg $> 1,0$ + IgG-Es/IgG-Pg $\leq 1,0$ | 4/50,0 | 4/50,0 | 1/12,5 | 7/87,5 | 4/50,0 | 4/50,0 |
| 4.3. IgG-Bp/IgG-Pg $\leq 1,0$ + IgG-Es/IgG-Pg $> 1,0$ | 22/88,0 | 3/12,0 | 3/12,0 | 22/88,0 | 3/12,0 | 22/88,0 |
| 4.4. IgG-Bp/IgG-Pg $> 1,0$ + IgG-Es/IgG-Pg $> 1,0$ | 97/54,2 | 82/45,8 | 74/41,3 | 105/58,7 | 92/51,4 | 87/48,6 |
| χ^2 (p), df = 3 | 10,99 (0,012) | | 13,80 (0,004) | | 16,04 (0,002) | |

ми фенотипами, обусловленными антителами класса G (позиция 4.1-4.4). Физиологический протективный фенотип, при котором уровни IgG-Pg превосходили уровни IgG-Bp и IgG-Es, был ассоциирован с низким содержанием Es (66,7%), с высоким содержанием Pg (86,7%) и с повышенным соотношением Pg/Es (73,3%). При проканцерогенном иммунологическом фенотипе с превышением уровней и IgG-Bp, и IgG-Es над уровнем IgG-Pg указанные значения составили, соответственно, 54,2, 58,7 и 48,6%.

Содержание стероидных гормонов в сыворотке крови больных раком молочной железы с разными иммунологическими фенотипами

Распределение больных РМЖ по гормональным и иммунологическим параметрам,

аналогичное представленному в предыдущем разделе, приведено в таблице 3. Искомые взаимосвязи соотношения IgA-Bp/IgA-Pg выявлены только с индивидуальным соотношением Pg/Es, такие же, как и у здоровых, но слабодостоверные ($p = 0,045$). Соотношение IgA-Es/IgA-Pg > 1 было ассоциировано с низкой частотой обнаружения повышенного содержания Pg (45,6%) и индивидуального соотношения Pg/Es (24,0%) по сравнению с IgA-Es/IgA-Pg ≤ 1 (59,0 и 35,3% соответственно).

Иммунологические фенотипы, обусловленные антителами класса A (позиции 2.1-2.4) не были ассоциированными с низким или высоким содержанием Es в сыворотке крови. В то же время искомые взаимосвязи были об-

ТАБЛИЦА 3. ЧИСЛО (n) И ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ (%) СЛУЧАЕВ С НИЗКИМ (\leq) И ВЫСОКИМ ($>$) СОДЕРЖАНИЕМ Es и Pg (pmol/l) И ИХ СООТНОШЕНИЕМ ПРИ РАЗНЫХ ЗНАЧЕНИЯХ СООТНОШЕНИЙ ИССЛЕДУЕМЫХ АНТИТЕЛ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЖЕНЩИН, БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

TABLE 3. QUANTITY (n) AND PREVALENCE (%) OF LOW (\leq) AND HIGH ($>$) SERUM Es AND Pg (pmol/l) LEVEL AS WELL AS Es/Pg RATIO IN VARIOUS ANTIBODY RATIOS IN BREAST CANCER PATIENTS (BCP)

| Соотношения антител и их комбинации Antibody ratio and antibody combinations | Es | | Pg | | Pg/Es | |
|---|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------|
| | ≤ 200 n/% | > 200 n/% | ≤ 800 n/% | > 800 n/% | $\leq 5,0$ n/% | $> 5,0$ n/% |
| 1.1. IgA-Bp/IgA-Pg $\leq 1,0$ $> 1,0$ | 58/34,7 151/32,0 | 109/65,3 321/68,0 | 78/46,7 251/53,2 | 89/53,3 221/46,8 | 113/67,7 357/75,6 | 54/32,3 115/24,4 |
| χ^2 (p) | 0,31 (0,581) | | 2,07 (0,150) | | 3,63 (0,045) | |
| 1.2. IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1,0$ $> 1,0$ | 51/36,7 158/31,6 | 88/63,6 342/68,4 | 57/41,0 272/54,4 | 82/59,0 228/45,6 | 90/64,7 380/76,0 | 49/35,3 120/24,0 |
| χ^2 (p) | 1,06 (0,303) | | 7,28 (0,007) | | 6,51 (0,011) | |
| 2.1. IgA-Bp/IgA-Pg $\leq 1,0$ + IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1,0$ | 37/41,6 | 52/58,4 | 36/40,4 | 53/59,6 | 52/58,4 | 37/41,6 |
| 2.2. IgA-Bp/IgA-Pg $> 1,0$ + IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1,0$ | 14/28,0 | 36/72,0 | 21/42,0 | 29/58,0 | 38/76,0 | 12/24,0 |
| 2.3. IgA-Bp/IgA-Pg $\leq 1,0$ + IgA-Es/IgA-Pg $> 1,0$ | 21/26,9 | 57/73,1 | 42/53,8 | 36/46,2 | 61/78,2 | 17/21,8 |
| 2.4. IgA-Bp/IgA-Pg $> 1,0$ + IgA-Es/IgA-Pg $> 1,0$ | 137/32,5 | 285/67,5 | 230/54,5 | 192/45,5 | 319/75,6 | 103/24,4 |
| χ^2 (p), df = 3 | 4,88 (0,181) | | 7,85 (0,050) | | 12,39 (0,007) | |
| 3.1. IgG-Bp/IgG-Pg $\leq 1,0$ $> 1,0$ | 27/31,8 182/32,9 | 58/68,2 372/67,1 | 41/48,2 288/52,0 | 44/51,8 266/48,0 | 60/70,6 410/74,0 | 25/29,4 144/26,0 |
| χ^2 (p) | 0,01 (0,940) | | 0,28 (0,597) | | 0,28 (0,594) | |
| 3.2. IgG-Es/IgG-Pg $\leq 1,0$ $> 1,0$ | 23/25,3 186/33,9 | 68/74,7 362/66,1 | 43/47,3 286/52,2 | 48/52,7 266/47,8 | 65/71,4 405/73,9 | 26/28,6 143/26,1 |
| χ^2 (p) | 2,28 (0,131) | | 0,58 (0,448) | | 0,14 (0,713) | |
| 4.1. IgG-Bp/IgG-Pg $\leq 1,0$ + IgG-Es/IgG-Pg $\leq 1,0$ | 9/23,7 | 29/76,3 | 14/36,8 | 24/63,8 | 27/71,1 | 11/28,9 |
| 4.2. IgG-Bp/IgG-Pg $> 1,0$ + IgG-Es/IgG-Pg $\leq 1,0$ | 14/26,4 | 39/73,6 | 29/54,7 | 24/45,3 | 38/71,7 | 15/28,3 |
| 4.3. IgG-Bp/IgG-Pg $\leq 1,0$ + IgG-Es/IgG-Pg $> 1,0$ | 18/38,3 | 29/61,7 | 27/57,4 | 20/42,6 | 33/70,2 | 14/29,8 |
| 4.4. IgG-Bp/IgG-Pg $> 1,0$ + IgG-Es/IgG-Pg $> 1,0$ | 168/33,5 | 333/66,5 | 259/51,7 | 242/48,3 | 372/74,3 | 129/25,7 |
| χ^2 (p), df = 3 | 3,18 (0,365) | | 4,16 (0,245) | | 0,61 (0,894) | |

наружены с Pg и Pg/Es, аналогичные таковым у здоровых женщин, но менее выраженные и менее статистически значимые. Так, высокие уровни Pg при протективном фенотипе встречались в 59,6%, а при проканцерогенном – в 45,5% ($p = 0,05$). Аналогичные значения Pg/Es составили, соответственно, 41,6 и 24,4% ($p = 0,007$).

Соотношения исследуемых антител класса G ни по отдельности (позиции 3.1-3.2), ни в комбинациях (позиции 4.1-4.2) не были ассоциированы с указанными гормональными показателями.

Обсуждение

В результате сопоставления сравниваемых групп по ROC-анализу выяснилось, что у больных РМЖ частота обнаружения высоких уровней Es выше, а Pg – ниже по сравнению со здоровыми женщинами. Поэтому высокие значения индивидуальных соотношений Pg/Es у здоровых женщин встречались чаще, чем у больных РМЖ, и были обозначены как «физиологический гормональный баланс». Соответственно, низкие значения Pg/Es встречались чаще у больных РМЖ и были обозначены как «проканцерогенный гормональный дисбаланс».

В предыдущей статье [3] были выделены четыре иммунологических фенотипа по индивидуальным соотношениям IgA-Bp/IgA-Pg и IgA-Es/IgA-Pg, по-разному ассоциированных с РМЖ. В настоящей работе впервые описаны взаимосвязи между этими фенотипами и гормональным балансом. Так, у здоровых женщин протективный иммунологический фенотип соответствовал физиологическому гормональному балансу, а проканцерогенный иммунологический фенотип – проканцерогенному гормональному дисбалансу. Аналогичные взаимосвязи состояния гормонального баланса/дисбаланса выявлены с иммунологическими фенотипами, протективным и проканцерогенным, обусловленными соотношениями IgG-Bp/IgG-Pg и IgG-Es/IgG-Pg. Указанные ассоциации были связаны с преимущественным влиянием иммунологических фенотипов на содержание Pg, но не Es.

У больных РМЖ взаимосвязи IgA-обусловленных фенотипов с гормональным балансом/дисбалансом были значительно слабее и менее достоверными, а IgG-обусловленных фенотипов отсутствовали.

Принимая во внимание известные данные о стимулирующем пролиферацию клеток молочной железы действии Es и тормозящем Pg [6, 10], стали более понятными механизмы участия специфических иммунных реакций на химические канцерогены окружающей среды и эндогенные стероидные гормоны в процессах малигнизации гормонозависимых клеток. В то же время дальнейшее развитие этого направления исследований возможно лишь с учетом одновременного участия широкого спектра антител, различных по специфичности, изотипической принадлежности и аффинности к указанным соединениям, а также соответствующих антиидиотипических антител, обнаруженных нами ранее у женщин в постменопаузе [4].

Список литературы / References

1. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Костянко М.В., Антонов А.В., Вержбицкая Н.Е., Вафин И.А., Рагожина С.Е. Влияние антител к эстрадиолу и прогестерону на содержание этих гормонов в сыворотке крови у здоровых женщин и больных раком молочной железы // Российский иммунологический журнал, 2017. Т. 11 (20), № 1. С. 26-34. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Kostyanko M.V., Antonov A.V., Verzhbitskaya N.E., Vafin I.A., Ragozhina S.E. Effect of antibodies to estradiol and progesterone on the concentrations these hormones in serum of healthy women and breast cancer patients. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2017, Vol. 11 (20), no. 1, pp. 26–34. (In Russ.)]
2. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Костянко М.В., Рогозин А.И., Антонов А.В., Вержбицкая Н.Е. Совместное влияние антител к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону на содержание женских половых гормонов в сыворотке крови у больных раком молочной железы // Российский иммунологический журнал, 2018. Т. 12, № 21. С. 40-45. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Kostyanko M.V., Rogozin A.I., Antonov A.V., Verzhbitskaya N.E. Combination effects of antibodies to benzo[a]pyrene, estradiol and progesterone onto concentrations of female sex hormones in blood serum of the breast cancer patients risks. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2018, Vol. 12, no. 21, pp. 40–45. (In Russ.)]
3. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Мун С.А., Гордеева Л.А., Костянко М.В., Антонов А.В., Вержбицкая Н.Е., Вафин И.А. Индивидуальный иммунологический фенотип и риск рака молочной железы у женщин в постменопаузе // Российский иммунологический журнал, 2019. Т. 13 (22), № 1. С. 46-54. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Mun S.A., Gordeeva L.A., Kostyanko M.V., Antonov A.V., Verzhbitskaya N.E., Vafin I.A. Personal immunological phenotype and breast cancer risk in postmenopausal women. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2019, Vol. 13 (22), no. 1, pp. 46–54. (In Russ.)]
4. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Костянко М.В., Антонов А.В., Вержбицкая Н.Е., Вафин И.А., Рагожина С.Е. Антитела и анти-антитела к стероидным гормонам и риск рака молочной железы // Медицинская иммунология, 2017. Т. 19, № 5. С. 577-584. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Kostyanko M.V., Antonov A.V., Verzhbitskaya N.E., Vafin I.A., Ragozhina S.E. Antibodies and anti-antibodies to steroid hormones, and breast cancer risk. *Meditsinskaya immunologia = Medical Immunology (Russia)*, 2017, Vol. 19, no. 5, pp. 577–584. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-577-584.
5. Злокачественные новообразования в России в 2017 (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России. 2018. 250 с. [Malignant neoplasms in Russia in 2017 (morbidity and mortality). Ed. A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, G.V. Petrova.] Moscow: P. Hertsen Moscow Oncology Research Institute, 2018. 250 p.
6. Федотчева Т.А., Шимановский Н.Л. Роль гестагенов и антигестагенов в регуляции пролиферативной активности клеток рака молочной железы // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии, 2005. № 3. С. 3-11. [Fedotcheva T.A., Shimahovsky N.L. Role of gestagens and antigestagens in the regulation of proliferate activity of breast cancer cells. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii = Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*, 2005, no. 3, pp. 3–11. (In Russ.)]
7. Caldwell B.V., Tillson S.A., Esber H., Thorneycroft I.H. Survival of tumors after immunization against oestrogens. *Nature*, 1971, Vol. 231, no. 5298, pp. 118-119.

8. Hajian-Tilaki K. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis for medical diagnostic test evaluation. *Caspian J. Intern. Med.*, 2013, Vol. 4, no. 2, pp. 627-635.
9. Hillier S.G., Groom G.V., Boyns A.R., Cameron E.H. Effects of active immunisation against steroids upon circulating hormone concentrations. *J. Steroid Biochem.*, 1975, Vol. 6, no. 3-4, pp. 529-535.
10. Mohammed H., Russell I.A., Stark R., Rueda O.M., Hickey T.E., Tarulli G.A., Serandour A.A., Birrell S.N., Bruna A., Saadi A., Menon S., Hadfield J., Pugh M., Raj G.V., Brown G.D., D'Santos C., Robinson J.L., Silva G., Launchbury R., Perou C.M., Stingl J., Caldas C., Tilley W.D., Carroll J.S. Progesterone receptor modulates ER α action in breast cancer. *Nature*, 2015, Vol. 523, no. 7560, pp. 313-317.
11. Rawlings N.C., Kennedy S.W., Henricks D.M. The active immunization of the cyclic ewe against an estrone protein conjugate. *Theriogenology*, 1979, Vol. 12, no. 3, pp. 139-151.
12. Schwartz U., Dyrenfurth I., Khalaf S., Vande Wiele R.L., Ferin M. A comparison of the effects of active immunization of female rhesus monkeys to estradiol-17 or progesterone-20-protein conjugates. *J. Steroid Biochem.*, 1975, Vol. 6, no. 3-4, pp. 541-545.
13. Sundaram K., Tsong Y.Y., Hood W., Brinson A. Effect of immunization with estrone-protein conjugate in rhesus monkeys. *Endocrinology*, 1973, Vol. 93, no. 4, pp. 843-847.

Авторы:

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

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

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

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

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

Луценко В.А. — к.м.н., главный врач ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер», г. Кемерово, Россия

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

Брежнев Е.В. — заведующая маммологическим отделением ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер», г. Кемерово, Россия

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

Authors:

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

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

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

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

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

Lutsenko V.A., PhD (Medicine), Chief Physician, Regional Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

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

Brezhneva E.V., Head, Mammology Department, Regional Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

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

Поступила 15.05.2019

Отправлена на доработку 17.09.2019

Принята к печати 10.12.2019

Received 15.05.2019

Revision received 17.09.2019

Accepted 10.12.2019

АНТИТЕЛА К ХИМИЧЕСКИМ КАНЦЕРОГЕНАМ И ПОЛОВЫМ СТЕРОИДАМ И СОДЕРЖАНИЕ ЭСТРАДИОЛА И ПРОГЕСТЕРОНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЖЕНЩИН, БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, И МУЖЧИН, БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО

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

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

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

³ ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет», г. Кемерово, Россия

⁴ ГБУЗ КО «Кемеровский клинический консультативно-диагностический центр», г. Кемерово, Россия

⁵ ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер», г. Кемерово, Россия

⁶ ГКУЗ КО «Кемеровский областной центр крови», г. Кемерово, Россия

Резюме. Ранее были обнаружены ассоциации антител класса А, специфичных к бензо[а]пирену (IgA-Bp), эстрадиолу (IgA-Es) и прогестерону (IgA-Pg) с раком молочной железы (РМЖ) у женщин и раком легкого (РЛ) у мужчин. Предположили, что указанные антитела влияют на содержание Es и Pg в сыворотке крови.

Цель исследования – выявить предполагаемые особенности взаимного влияния IgA-Bp, IgA-Es и IgA-Pg на содержание Es и Pg в сыворотке крови здоровых женщин и больных РМЖ, а также у здоровых мужчин и больных РЛ.

Исследовали содержание Es и Pg, а также IgA-Bp, IgA-Es, IgA-Pg с помощью иммуноферментного анализа у 190 здоровых некурящих женщин, 518 больных РМЖ, 312 здоровых курящих мужчин и 196 больных РЛ.

Наиболее выраженная разница между здоровыми людьми и больными раком была выявлена по индивидуальным соотношениям Pg/Es: у здоровых женщин 6,6 против 2,9 у больных РМЖ ($p < 0,0001$); у здоровых мужчин 5,2 против 10,1 у больных РЛ ($p < 0,0001$).

Адрес для переписки:

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

Address for correspondence:

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

Образец цитирования:

А.Н. Глушков, Е.Г. Поленок, С.А. Мун, Л.А. Гордеева, М.В. Костянко, Г.И. Колпинский, В.А. Луценко, А.В. Антонов, В.А. Титов, И.А. Вафин «Антитела к химическим канцерогенам и половым стероидам и содержание эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови женщин, больных раком молочной железы, и мужчин, больных раком легкого» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 1. С. 69-78.
doi: 10.46235/1028-7221-008-AST

© Глушков А.Н. и соавт., 2020

For citation:

A.N. Glushkov, E.G. Polenok, S.A. Mun, L.A. Gordeeva, M.V. Kostyanko, G.I. Kolpinskiy, V.A. Lutsenko, A.V. Antonov, V.A. Titov, I.A. Vafin "Antibodies specific to chemical carcinogens and sex steroids as well as serum estradiol and progesterone levels in females with breast cancer and lung cancer males", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 1, pp. 69-78.
doi: 10.46235/1028-7221-008-AST

DOI: 10.46235/1028-7221-008-AST

Индивидуальные соотношения Pg/Es у здоровых женщин с одновременно высокими соотношениями IgA-Bp/IgA-Pg > 1,5 и IgA-Es/IgA-Pg > 1,5 были ниже, чем у женщин с одновременно низкими соотношениями IgA-Bp/IgA-Pg ≤ 1,5 и IgA-Es/IgA-Pg ≤ 1,5 (3,5 против 9,7, p < 0,0001). У больных РМЖ такие взаимодействия не выявлены. У здоровых мужчин индивидуальное соотношение Pg/Es было наименьшим при IgA-Es/IgA-Pg > 1,5 в сочетании с IgA-Bp/IgA-Pg ≤ 1,5 (2,9) и наибольшим при одновременно низких и одновременно высоких уровнях IgA-Bp и IgA-Es по сравнению с уровнем IgA-Pg (5,2, p = 0,005 и 6,5, p = 0,002). У больных РЛ, напротив, наименьшее соотношение Pg/Es имело место при одновременно высоких уровнях IgA-Bp и IgA-Es (7,4) при сопоставлении с одновременно низкими уровнями этих антител (11,3, p = 0,002) по сравнению с уровнями IgA-Pg.

Индивидуальные соотношения Pg/Es зависят от индивидуальных соотношений IgA-Bp/IgA-Pg и IgA-Es/IgA-Pg. Совместное влияние специфических антител против химических канцерогенов окружающей среды и эндогенных стероидов на баланс половых гормонов в сыворотке крови имеет характерные особенности у здоровых людей и больных РМЖ и РЛ.

Полученные результаты могут быть полезными при разработке новых стратегий профилактики рака: в превентивном лечении селективными модуляторами эстрогеновых рецепторов и ингибиторами ароматазы, а также в создании антиканцерогенных вакцин.

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

ANTIBODIES SPECIFIC TO CHEMICAL CARCINOGENS AND SEX STEROIDS AS WELL AS SERUM ESTRADIOL AND PROGESTERONE LEVELS IN FEMALES WITH BREAST CANCER AND LUNG CANCER MALES

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

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

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

^c Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation

^d Kemerovo Clinical Diagnostic Center, Kemerovo, Russian Federation

^e Regional Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

^f Regional Center of Blood, Kemerovo, Russian Federation

Abstract. Previous studies found some associations between immunoglobulin class A antibodies specific to benzo[a]pyrene (IgA-Bp), estradiol (IgA-Es) and progesterone (IgA-Pg) as well as breast cancer (BC) in females and lung cancer (LC) in males. It was suggested that such antibodies affect serum Es and Pg levels.

Our study was aimed at revealing putative features of mutual effects of IgA-Bp, IgA-Es and IgA-Pg on serum Es and Pg level both in healthy and BC females as well as healthy and LC males.

Serum levels of Es and Pg and IgA-Bp, IgA-Es and IgA-Pg were measured by ELISA in 190 non-smoking healthy and 518 BC females as well as 312 smoking healthy and 196 LC males.

It was found that healthy subjects vs cancer patients prominently differed by assessing individual Pg/Es ratios: healthy vs BC females had it set at 6.6 vs 2.9 (p < 0.0001), respectively, whereas in healthy vs LC males it was at 5.2 vs 10.1 (p < 0.0001), respectively.

Individual Pg/Es ratio paralleled in healthy females with high vs low IgA-Bp/IgA-Pg > 1.5 and IgA-Es/IgA-Pg > 1.5 ratios (3.5 vs 9.7, p < 0.0001). No T such associations were observed in BC patients. In addition, the lowest individual Pg/Es ratio in healthy males was found together with IgA-Es/IgA-Pg > 1.5 ratios accompanied with IgA-Bp/IgA-Pg ≤ 1.5 (2.9) and peaked in case of concurrently low IgA-Bp/IgA-Pg ≤ 1.5 and IgA-Es/IgA-Pg ≤ 1.5 (5.2, p = 0.005) or high IgA-Bp/IgA-Pg > 1.5

and IgA-Es/IgA-Pg > 1.5 (6.5, $p = 0.002$). In contrast, the lowest Pg/Es ratio (7.4) was revealed in LC patients simultaneously bearing high IgA-Bp/IgA-Pg > 1.5 and low IgA-Es/IgA-Pg ≤ 1.5 ratios compared to simultaneously low ratios (11.3, $p = 0.002$).

In conclusion, individual Pg/Es ratios depended on individual IgA-Bp/IgA-Pg and IgA-Es/IgA-Pg ratios. A cooperative influence of serum antibodies specific to environmental chemical carcinogens and endogenous steroids on hormone balance was featured both in healthy subjects as well as BC females and LC males.

The data obtained may be useful while developing new strategies to cancer prevention: by using selective modulators of estrogen receptors and aromatase inhibitors as well as for development of anti-cancer vaccines.

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

Работа выполнена в рамках проекта VI.59.1.1. Программы фундаментальных научных исследований СО РАН (гос. задание № 0352-2019-0011).

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) у женщин и рак легкого (РЛ) у мужчин остаются самыми распространенными онкологическими заболеваниями в мире [19]. Изучение механизмов их возникновения необходимо для создания новых средств профилактики. Известно, что химические канцерогены, такие как бензо[а]пирен (Bp), и стероидные гормоны, в частности эстрадиол (Es), образуют аддукты с ДНК, тем самым запуская процессы малигнизации клеток [5, 6, 16]. Канцерогенные эффекты Bp и Es проявляются сильнее при их совместном воздействии [7, 12, 13]. Прогестерон (Pg), напротив, обладает антипролиферативным действием на клетки, экспрессирующие рецепторы эстрогенов [14].

В то же время антитела, специфичные к Bp, Es и Pg, у иммунизированных животных способны значительно повышать содержание этих соединений в сыворотке крови и модулировать их биологические эффекты [9, 10, 11, 15].

Ранее были выявлены ассоциации антител к Bp, Es и Pg с РМЖ у женщин и РЛ у мужчин: высокие уровни антител к Bp одновременно с высокими уровнями антител к Es и низким — к Pg чаще обнаруживали у больных, чем у здоровых [1, 4]. Взаимное усиление эффектов антител к Bp и Es, стимулирующих процессы инициации и промоции канцерогена, при слабом антипромоторном действии антител к Pg и ослабление проканцерогенного эффекта антител к Bp и Es при выраженном действии антител к Pg назвали иммунологической интерференцией. Однако механизмы этого феномена, в первую очередь гормональные, оставались неизвестными. Предварительные исследования показали, что индивидуальные соотношения уровней Pg и Es ассоциированы

с индивидуальными соотношениями уровней специфических антител у больных РМЖ [2].

Цель настоящего исследования — выявить предполагаемые особенности взаимного влияния антител к Bp, Es и Pg на содержание Es и Pg в сыворотке крови здоровых женщин и больных РМЖ, а также здоровых мужчин и больных РЛ.

Материалы и методы

Нами было обследовано 1416 человек. В первую исследуемую группу были включены 518 некурящих женщин в постменопаузе с диагнозом «инвазивная карцинома молочной железы», которые поступили на лечение в Областной клинический онкологический диспансер г. Кемерово. Диагноз «РМЖ» в каждом случае был подтвержден морфологически. У большинства женщин была выявлена I и II стадии заболевания (38,2 и 42,3%), III и IV стадии составили 18,9 и 0,6% соответственно. Медиана возраста женщин в исследуемой группе — 63 года (интерквартильный размах 58-69). В группу сравнения были включены 190 условно здоровых некурящих женщин в постменопаузе, проживающих на территории Кемеровской области, и доноры Кемеровского центра крови, без патологии молочной железы. Медиана возраста женщин в группе сравнения — 58 лет (интерквартильный размах 54-60).

Во вторую исследуемую группу были включены 196 курящих мужчин с установленным диагнозом «РЛ», которые поступили на лечение в Областной клинический онкологический диспансер г. Кемерово. Диагноз «РЛ» в каждом случае был подтвержден морфологически, рентгенологически и эндоскопически. У большинства больных РЛ была диагностирована плоскоклеточная форма (47,4%) и аденокарцинома (32,1%), мелкоклеточный рак встречался у 9,2%, крупноклеточный рак у 1,5% и на долю всех остальных типов РЛ пришлось 9,7%. У большинства больных РЛ были

выявлены I и III стадии (27,0 и 39,3%), II и IV стадии составили 15,8 и 17,9% соответственно. Медиана возраста мужчин в исследуемой группе — 61 год (интерквартильный размах 56-65). В группу сравнения были включены 312 условно здоровых курящих мужчин, проживающих на территории Кемеровской области, и доноры Кемеровского центра крови без патологии органов дыхания. Медиана возраста мужчин в группе сравнения — 52 года (интерквартильный размах 48-58).

Забор периферической крови осуществлялся согласно этическим стандартам в соответствии с Хельсинкской декларацией 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 г. Все лица, участвовавшие в исследовании, дали информированное письменное согласие на участие в нем.

Иммуноанализ антител класса А к Вр, Es и Pг (IgA-Вр, IgA-Es, IgA-Pг) проводили с помощью неконкурентного иммуноферментного анализа согласно методике, описанной в работе [4]. В качестве антигенов использовали конъюгаты Вр, Es и Pг с бычьим сывороточным альбумином (BSA). Связавшиеся антитела выявляли с помощью козьих антител против IgA человека, меченных пероксидазой хрена (Novex, США). Регистрацию адсорбированных на планшете антител проводили с помощью субстратного буфера, содержащего тетраметилбензидин (ТМВ, США), на фотометре Multiscan FC (Thermo Scientific, Финляндия) при длине волны 450 нм. Уровни АТ выражали в относительных единицах и вычисляли по формуле:

$$\text{IgA-X} = (\text{OD}_{\text{X-BSA}} - \text{OD}_{\text{BSA}}) / \text{OD}_{\text{BSA}}$$

где X = Вр, Es, Pг; $\text{OD}_{\text{X-BSA}}$ — связывание АТ с конъюгатом гаптен-BSA, OD_{BSA} — фоновое связывание с BSA.

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

Статистический анализ полученных результатов проводился с помощью пакета статистических программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). Ненормальный характер распределения количественных показателей определяли с помощью критерия Шапиро—Уилка и в дальнейшем статистически значимые различия между группами выявляли с помощью U-критерия Манна—Уитни. Количественные признаки представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (25-й и 75-й процентиля). За критический уровень значимости принималось значение $p < 0,05$.

Результаты

Особенности содержания эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови здоровых доноров и больных раком молочной железы и раком легкого

Исследовали содержание Es и Pг в сыворотке крови у людей в сравниваемых группах и рассчитывали индивидуальные соотношения Pг/Es. Медианы полученных значений Es, Pг и Pг/Es представлены в таблице 1. У больных РМЖ содержание Es оказалось статистически значимо больше, а Pг — меньше. Соответственно, индивидуальные соотношения Pг/Es у больных РМЖ были ниже, чем у здоровых в 2,3 раза.

У больных РЛ наблюдалась обратная ситуация: содержание Es было ниже, а Pг — выше, чем у здоровых мужчин. Индивидуальные соотношения Pг/Es у больных РЛ оказались выше, чем у здоровых мужчин в 1,9 раза.

Таким образом, наибольшие различия между сравниваемыми группами здоровых доноров и онкологических больных имели место при сопоставлении индивидуальных соотношений Pг/Es.

Влияние антител к Вр, Es и Pг на содержание Es и Pг в сыворотке крови здоровых женщин и больных раком молочной железы

В сыворотке крови здоровых женщин и больных РМЖ с помощью иммуноферментного анализа определили уровни антител класса А, специфичных к Вр, Es и Pг (IgA-Вр, IgA-Es, IgA-Pг). Рассчитали индивидуальные соотношения IgA-Вр/IgA-Pг и IgA-Es/IgA-Pг, исходя из предположения о том, что IgA-Вр и IgA-Es стимулируют процессы инициации и промоции канцерогенеза, а IgA-Pг, наоборот, обладают антипромоторным действием. Определили медианы указанных соотношений антител в данной выборке исследуемых женщин, которые составили 1,5 для IgA-Вр/IgA-Pг и IgA-Es/IgA-Pг.

После этого рассчитали содержание Es и Pг, а также соотношение Pг/Es для каждого из указанных соотношений исследуемых антител по отдельности (позиции 1.1 и 1.2 для IgA-Вр/IgA-Pг и 2.1-2.2 для IgA-Es/IgA-Pг в таблице 2) и в четырех возможных комбинациях (позиции 3.1-3.4 в таблице 2).

У здоровых женщин содержание Es в сыворотке крови не зависело от соотношения IgA-Вр/IgA-Pг (позиции 1.1-1.2), но было незначительно выше при высоких соотношениях IgA-Es/IgA-Pг $> 1,5$, чем при низких IgA-Es/IgA-Pг $\leq 1,5$ (0,2 против 0,14 нмоль/л, $p = 0,033$). Такое превышение имело место только при одновременно высоких уровнях IgA-Вр и IgA-Es по сравнению с уровнями IgA-Pг (позиция 3.4; 0,21 нмоль/л) в сопоставлении с обратной ситуацией, когда уро-

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ ЭСТРАДИОЛА (Es) И ПРОГЕСТЕРОНА (Pg), ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ СООТНОШЕНИЯ Pg/Es В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, У ЗДОРОВЫХ МУЖЧИН И БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО

TABLE 1. SERUM ESTRADIOL (Es) AND PROGESTERONE (Pg) LEVELS AND INDIVIDUAL Pg/Es RATIO IN HEALTHY AND BC FEMALES AS WELL AS HEALTHY AND LC MALES

| Группы Groups | n | Me (IQR) | | |
|--|-----|------------------------|------------------------|-----------------------|
| | | Es (нмоль/л) nmol/l | Pg (нмоль/л) nmol/l | Pg/Es |
| 1. Здоровые женщины Healthy women | 190 | 0,16 (0,09-0,28) | 0,87 (0,76-1,31) | 6,62 (3,07-13,76) |
| 2. Больные раком молочной железы BC females | 518 | 0,26 (0,210-0,410) | 0,77 (0,65-0,91) | 2,93 (1,85-4,09) |
| p 1-2 | | < 0,0001 | < 0,0001 | < 0,0001 |
| 3. Здоровые мужчины Healthy men | 312 | 0,25 (0,14-0,38) | 1,17 (0,95-1,65) | 5,21 (2,78-9,40) |
| 4. Больные раком легкого LC males | 196 | 0,16 (0,11-0,30) | 1,74 (1,15-2,13) | 10,11 (5,54-14,26) |
| p 3-4 | | < 0,0001 | < 0,0001 | < 0,0001 |

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ ЭСТРАДИОЛА (Es) И ПРОГЕСТЕРОНА (Pg), ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ СООТНОШЕНИЯ Pg/Es В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН С РАЗНЫМИ ИНДИВИДУАЛЬНЫМИ СООТНОШЕНИЯМИ ИССЛЕДОВАННЫХ АНТИТЕЛ

TABLE 2. SERUM ESTRADIOL (Es) AND PROGESTERONE (Pg) LEVELS AND INDIVIDUAL Pg/Es RATIO IN HEALTHY FEMALES BEARING DIVERSE ANTIBODY RATIOS

| Индивидуальные соотношения антител Individual antibody ratios | n | Здоровые женщины Healthy women Me (IQR) | | |
|--|-----|---|------------------------|-------------------|
| | | Es (нмоль/л) nmol/l | Pg (нмоль/л) nmol/l | Pg/Es |
| 1.1. IgA-Bp/IgA-Pg ≤ 1,5 | 109 | 0,15 (0,10-0,25) | 1,05 (0,81-1,52) | 8,10 (3,59-14,52) |
| 1.2. IgA-Bp/IgA-Pg > 1,5 | 81 | 0,20 (0,09-0,33) | 0,81 (0,73-0,94) | 3,66 (2,40-10,18) |
| p | | 0,258 | < 0,0001 | 0,002 |
| 2.1. IgA-Es/IgA-Pg ≤ 1,5 | 103 | 0,14 (0,09-0,25) | 1,10 (0,81-1,55) | 9,24 (3,54-16,79) |
| 2.2. IgA-Es/IgA-Pg > 1,5 | 87 | 0,20 (0,10-0,35) | 0,81 (0,73-0,93) | 3,68 (2,50-8,47) |
| p | | 0,033 | < 0,0001 | < 0,0001 |
| 3.1. IgA-Bp/IgA-Pg ≤ 1,5 + IgA-Es/IgA-Pg ≤ 1,5 | 76 | 0,15 (0,10-0,23) | 1,31 (0,86-1,66) | 9,66 (4,91-16,67) |
| 3.2. IgA-Bp/IgA-Pg > 1,5 + IgA-Es/IgA-Pg ≤ 1,5 | 27 | 0,13 (0,05-0,28) | 0,86 (0,76-0,95) | 5,73 (2,87-17,29) |
| 3.3. IgA-Bp/IgA-Pg ≤ 1,5 + IgA-Es/IgA-Pg > 1,5 | 33 | 0,16 (0,11-0,27) | 0,87 (0,73-0,94) | 4,23 (3,07-8,47) |
| 3.4. IgA-Bp/IgA-Pg > 1,5 + IgA-Es/IgA-Pg > 1,5 | 54 | 0,21 (0,09-0,38) | 0,80 (0,73-0,87) | 3,54 (2,20-8,38) |
| p 3.1-3.2 | | 0,848 | 0,0005 | 0,182 |
| p 3.1-3.3 | | 0,249 | 0,0002 | 0,003 |
| p 3.1-3.4 | | 0,043 | < 0,0001 | < 0,0001 |

вень IgA-Pg превосходил уровни и IgA-Bp, и IgA-Es (позиция 3.1; 0,15 нмоль/л, $p = 0,043$).

Содержание Pg было статистически значимо ниже у здоровых женщин с высокими значениями соотношений IgA-Bp/IgA-Pg и PgA-Es/IgA-Pg по сравнению с низкими (0,81 нмоль/л против 1,05 и 1,10 соответственно, $p < 0,0001$). Наибольшая концентрация Pg (1,31 нмоль/л) выявлена в тех случаях, когда низкие значения IgA-Bp/IgA-Pg сочетались с низкими значениями IgA-Es/IgA-Pg (позиция 3.1). Когда одно из этих соотношений было выше 1,5, а другое ниже 1,5 (позиции 3.2 и 3.3), содержание Pg было ниже по сравнению с позицией 3.1 (0,86 и 0,87 нмоль/л), но максимальная концентрация Pg (0,8 нмоль/л) с максимальной статистической значимостью ($p < 0,0001$) имела место при одновременном превышении уровней IgA-Bp и IgA-Es над уровнем IgA-Pg (позиция 3.4).

Аналогичная закономерность обнаружена и при анализе индивидуальных соотношений Pg/Es. При высоких значениях IgA-Bp/IgA-Pg и IgA-Es/IgA-Pg (позиции 1.2 и 2.2) соотношение Pg/Es было статистически значимо ниже (3,66 и 3,68), чем при высоких (8,10 и 9,24 соответственно). Максимальное значение Pg/Es

(9,66; позиция 3.1) обнаружено при одновременно низких уровнях IgA-Bp и IgA-Es по сравнению с IgA-Pg. Минимальные соотношения Pg/Es (3,54) имели место при одновременном превышении уровней IgA-Bp и IgA-Es над уровнем IgA-Pg (позиция 3.4). Если уровни IgA-Bp или IgA-Es были выше или ниже уровня IgA-Pg (позиции 3.2 и 3.3), соотношения Pg/Es занимали промежуточные значения.

Очевидно, что влияние исследуемых антигенов на индивидуальные соотношения Pg/Es зависело от их действия на содержание Pg в сыворотке крови в гораздо большей степени, чем на содержание Es.

У больных РМЖ иммуно-гормональные взаимосвязи существенно отличались от таковых у здоровых женщин (табл. 3). Содержание Es, Pg и соотношение Pg/Es не зависело от IgA-Bp/IgA-Pg (позиция 1.1-1.2). У больных РМЖ с IgA-Es/IgA-Pg > 1,5 повышение Es до 0,27 нмоль/л ($p < 0,05$) и понижение Pg до 0,76 нмоль/л ($p > 0,05$) отражалось в снижении Pg/Es до 2,73 ($p = 0,017$) по сравнению с IgA-Es/IgA-Pg ≤ 1,5 (позиция 2.1-2.2). Содержание Pg и Pg/Es были минимальными только при сочетании высоких уровней IgA-Es и низких уровней IgA-Bp по сравне-

ТАБЛИЦА 3. СОДЕРЖАНИЕ ЭСТРАДИОЛА (Es) И ПРОГЕСТЕРОНА (Pg), ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ СООТНОШЕНИЯ Pg/Es В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЖЕНЩИН С РАЗНЫМИ ИНДИВИДУАЛЬНЫМИ СООТНОШЕНИЯМИ ИССЛЕДОВАННЫХ АНТИТЕЛ

TABLE 3. SERUM ESTRADIOL (Es) AND PROGESTERONE (Pg) LEVELS AND INDIVIDUAL Pg/Es RATIO IN BC FEMALES BEARING DIVERSE ANTIBODY RATIOS

| Индивидуальные соотношения антител Individual antibody ratios | n | Больные раком молочной железы Women with breast cancer Me (IQR) | | |
|--|-----|---|------------------------|------------------|
| | | Es (нмоль/л) nmol/l | Pg (нмоль/л) nmol/l | Pg/Es |
| 1.1. IgA-Bp/IgA-Pg ≤ 1,5 | 296 | 0,27 (0,21-0,39) | 0,76 (0,64-0,90) | 2,89 (1,79-4,13) |
| 1.2. IgA-Bp/IgA-Pg > 1,5 | 222 | 0,26 (0,21-0,41) | 0,78 (0,66-0,93) | 2,94 (1,86-3,99) |
| p | | 0,815 | 0,470 | 0,812 |
| 2.1. IgA-Es/IgA-Pg ≤ 1,5 | 265 | 0,26 (0,21-0,36) | 0,77 (0,66-0,94) | 3,05 (2,16-4,13) |
| 2.2. IgA-Es/IgA-Pg > 1,5 | 253 | 0,27 (0,21-0,45) | 0,76 (0,64-0,86) | 2,73 (1,59-3,97) |
| p | | 0,046 | 0,159 | 0,017 |
| 3.1. IgA-Bp/IgA-Pg ≤ 1,5 + IgA-Es/IgA-Pg ≤ 1,5 | 204 | 0,26 (0,21-0,37) | 0,78 (0,66-0,92) | 3,07 (2,15-4,18) |
| 3.2. IgA-Bp/IgA-Pg > 1,5 + IgA-Es/IgA-Pg ≤ 1,5 | 61 | 0,25 (0,21-0,29) | 0,77 (0,63-0,95) | 3,02 (2,19-3,89) |
| 3.3. IgA-Bp/IgA-Pg ≤ 1,5 + IgA-Es/IgA-Pg > 1,5 | 92 | 0,34 (0,20-0,45) | 0,72 (0,59-0,85) | 2,34 (1,44-3,81) |
| 3.4. IgA-Bp/IgA-Pg > 1,5 + IgA-Es/IgA-Pg > 1,5 | 161 | 0,26 (0,21-0,45) | 0,78 (0,66-0,90) | 2,94 (1,75-4,04) |
| p 3.1-3.2 | | 0,173 | 0,545 | 0,970 |
| p 3.1-3.3 | | 0,094 | 0,006 | 0,006 |
| p 3.1-3.4 | | 0,305 | 0,785 | 0,246 |

нию с уровнями IgA-Pg (позиция 3.3 в сопоставлении с позицией 3.1; $p = 0,006$).

Влияние антител к Вр, Es и Pg на содержание Es и Pg в сыворотке крови здоровых мужчин и больных раком легкого

Исследование иммуно-гормональных взаимодействий у мужчин выполняли по алгоритму, описанному в предыдущем разделе. Результаты представлены в таблице 4.

Содержание Es в сыворотке крови здоровых мужчин с высоким соотношением IgA-Вр/IgA-Pg было ниже, чем с высоким (0,22 против 0,28 нмоль/л; позиции 1.1-1.2), и только в сочетании с высоким значением PgA-Es/IgA-Pg (позиция 3.4 в сравнении с 3.1) с незначительной статистической значимостью ($p = 0,016$ и $p = 0,046$). Максимальная концентрация Es имела место при сочетании высоких уровней IgA-Es и низких уровней IgA-Вр по сравнению с уровнями IgA-Pg (позиция 3.3 в сопоставлении с позициями 3.2; $p = 0,042$ и 3.4; $p = 0,007$).

Содержание Pg и соотношение Pg/Es не зависели от каждого из соотношений исследуемых антител по отдельности. Вместе с тем, если уровни IgA-Es были выше, а IgA-Вр ниже, чем уровни IgA-Pg (позиция 3.3), со-

отношение Pg/Es оказалось значительно меньше (2,86), чем при одновременно низких (позиция 3.1) или одновременно высоких (позиция 3.4) уровнях IgA-Вр и IgA-Es (5,19, $p = 0,005$ и 6,46, $p = 0,002$ соответственно).

У больных РЛ каждое из соотношений исследованных антител по отдельности оказалось взаимосвязанным только с индивидуальным соотношением Pg/Es (табл. 5). Повышение уровней IgA-Вр (позиция 1.2) или уровней IgA-Es (позиция 2.2) над уровнями IgA-Pg было ассоциировано с низкими значениями Pg/Es ($p = 0,007$ и $p = 0,015$ соответственно). Вместе с тем минимальные значения Pg/Es (7,42) имели место только при одновременно высоких соотношениях IgA-Вр/IgA-Pg и PgA-Es/IgA-Pg (позиция 3.4).

Таким образом, иммуно-гормональные взаимодействия у здоровых мужчин и больных РЛ существенно отличались от таковых у здоровых женщин и больных РМЖ.

Обсуждение

Роли стероидных гормонов и их клеточных рецепторов посвящено большое количество научных исследований. Настоящая работа касается только участия антител в регуляции

ТАБЛИЦА 4. СОДЕРЖАНИЕ ЭСТРАДИОЛА (Es) И ПРОГЕСТЕРОНА (Pg), ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ СООТНОШЕНИЯ Pg/Es В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЗДОРОВЫХ МУЖЧИН С РАЗНЫМИ ИНДИВИДУАЛЬНЫМИ СООТНОШЕНИЯМИ ИССЛЕДОВАННЫХ АНТИТЕЛ

TABLE 4. SERUM ESTRADIOL (Es) AND PROGESTERONE (Pg) LEVELS AND INDIVIDUAL Pg/Es RATIO IN HEALTHY MALES BEARING DIVERSE ANTIBODY RATIOS

| Индивидуальные соотношения антител Individual antibody ratios | n | Здоровые мужчины Me (IQR) Healthy men Me (IQR) | | |
|--|-----|--|------------------------|-------------------|
| | | Es (нмоль/л) nmol/l | Pg (нмоль/л) nmol/l | Pg/Es |
| 1.1. IgA-Вр/IgA-Pg ≤ 1,5 | 165 | 0,28 (0,17-0,39) | 1,31 (0,95-1,70) | 4,80 (2,64-9,41) |
| 1.2. IgA-Вр/IgA-Pg > 1,5 | 147 | 0,22 (0,13-0,38) | 1,10 (0,96-1,52) | 5,94 (3,26-9,39) |
| p | | 0,016 | 0,224 | 0,136 |
| 2.1. IgA-Es/IgA-Pg ≤ 1,5 | 179 | 0,25 (0,15-0,38) | 1,28 (0,99-1,67) | 4,92 (2,89-9,46) |
| 2.2. IgA-Es/IgA-Pg > 1,5 | 133 | 0,25 (0,13-0,39) | 1,10 (0,89-1,64) | 5,59 (2,58-9,28) |
| p | | 0,482 | 0,057 | 0,963 |
| 3.1. IgA-Вр/IgA-Pg ≤ 1,5 + IgA-Es/IgA-Pg ≤ 1,5 | 131 | 0,25 (0,15-0,39) | 1,36 (1,01-1,73) | 5,19 (2,89-9,73) |
| 3.2. IgA-Вр/IgA-Pg > 1,5 + IgA-Es/IgA-Pg ≤ 1,5 | 48 | 0,23 (0,15-0,37) | 1,10 (0,98-1,47) | 4,80 (3,10-7,75) |
| 3.3. IgA-Вр/IgA-Pg ≤ 1,5 + IgA-Es/IgA-Pg > 1,5 | 34 | 0,33 (0,25-0,39) | 0,98 (0,71-1,68) | 2,86 (1,95-6,02) |
| 3.4. IgA-Вр/IgA-Pg > 1,5 + IgA-Es/IgA-Pg > 1,5 | 99 | 0,21 (0,13-0,39) | 1,10 (0,90-1,64) | 6,46 (3,26-10,07) |
| p 3.1-3.2 | | 0,550 | 0,055 | 0,561 |
| p 3.1-3.3 | | 0,079 | 0,020 | 0,005 |
| p 3.1-3.4 | | 0,046 | 0,093 | 0,284 |

содержания некоторых из них, Es и Pg, в сыворотке крови здоровых женщин и больных РМЖ, а также здоровых мужчин и больных РЛ. Отметим лишь, что наибольшие различия между сравниваемыми группами имели место при сопоставлении индивидуальных соотношений Pg/Es, причем у больных РМЖ эти соотношения были значительно меньше, а у больных РЛ – больше, чем у здоровых.

Во всех исследованных группах выявлены те или иные взаимосвязи содержания Es и Pg не только с соответствующими специфическими антителами, но и с антителами к Bp. В частности, минимальные значения индивидуальных соотношений Pg/Es имели место при сочетании высоких уровней и IgA-Bp, и IgA-Es над уровнями IgA-Pg у здоровых женщин. Такой синергизм влияния антител к Bp и к Es, очевидно, отражает синергетические эффекты Bp и Es в процессах инициации и промоции канцерогенеза и частично раскрывает механизм иммунологической интерференции.

У онкологических больных иммуно-гормональные взаимодействия имели отличительные особенности. В частности, одновре-

менное превышение уровней IgA-Bp и IgA-Es над уровнями IgA-Pg у больных РМЖ не было ассоциировано с низкими значениями индивидуального соотношения Pg/Es, в отличие от здоровых женщин. А у больных РЛ с аналогичным иммунологическим фенотипом соотношение Pg/Es было минимальным, в отличие от здоровых мужчин. Причины нарушения иммунорегуляция гормонального статуса у больных раком остаются неизвестными.

Полученные результаты подтверждают предположение о том, что совместные специфические иммунные реакции на химические канцерогены окружающей среды и эндогенные стероидные гормоны принимают активное участие в канцерогенезе у человека, в том числе за счет влияния на содержание половых гормонов в сыворотке крови. Очевидно, что такое влияние различно в стадии инициации/промоции канцерогенеза (у здоровых людей) и в стадии прогрессии опухоли (у больных раком). За рамками настоящей работы осталась роль антиидиотипических антител к Bp, Es и Pg, выявленных ранее при РМЖ и РЛ [3, 20], в иммуно-гормональном гомеостазе и его нарушениях при канцерогенезе.

ТАБЛИЦА 5. СОДЕРЖАНИЕ ЭСТРАДИОЛА (Es) И ПРОГЕСТЕРОНА (Pg), ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ СООТНОШЕНИЯ Pg/Es В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО С РАЗНЫМИ ИНДИВИДУАЛЬНЫМИ СООТНОШЕНИЯМИ ИССЛЕДОВАННЫХ АНТИТЕЛ

TABLE 5. SERUM ESTRADIOL (Es) AND PROGESTERONE (Pg) LEVELS AND INDIVIDUAL Pg/Es RATIO IN LC MALES BEARING DIVERSE ANTIBODY RATIOS

| Индивидуальные соотношения антител Individual antibody ratios | n | Больные раком легкого Men with lung cancer Me (IQR) | | |
|--|-----|---|------------------------|--------------------|
| | | Es (нмоль/л) nmol/l | Pg (нмоль/л) nmol/l | Pg/Es |
| 1.1. IgA-Bp/IgA-Pg ≤ 1,5 | 104 | 0,15 (0,11-0,25) | 1,79 (1,26-2,25) | 11,30 (7,43-15,00) |
| 1.2. IgA-Bp/IgA-Pg > 1,5 | 92 | 0,18 (0,11-0,34) | 1,63 (1,06-2,00) | 8,54 (4,66-13,34) |
| p | | 0,090 | 0,075 | 0,007 |
| 2.1. IgA-Es/IgA-Pg ≤ 1,5 | 95 | 0,14 (0,11-0,25) | 1,75 (1,15-2,10) | 11,31 (8,26-14,58) |
| 2.2. IgA-Es/IgA-Pg > 1,5 | 101 | 0,19 (0,11-0,35) | 1,73 (1,13-2,20) | 8,49 (4,56-13,51) |
| p | | 0,091 | 0,853 | 0,015 |
| 3.1. IgA-Bp/IgA-Pg ≤ 1,5 + IgA-Es/IgA-Pg ≤ 1,5 | 77 | 0,15 (0,11-0,21) | 1,78 (1,28-2,11) | 11,31 (8,35-14,58) |
| 3.2. IgA-Bp/IgA-Pg > 1,5 + IgA-Es/IgA-Pg ≤ 1,5 | 18 | 0,13 (0,10-0,28) | 1,40 (1,03-2,02) | 11,30 (6,28-14,12) |
| 3.3. IgA-Bp/IgA-Pg ≤ 1,5 + IgA-Es/IgA-Pg > 1,5 | 27 | 0,20 (0,10-0,39) | 1,99 (1,13-2,58) | 11,29 (3,69-20,97) |
| 3.4. IgA-Bp/IgA-Pg > 1,5 + IgA-Es/IgA-Pg > 1,5 | 74 | 0,19 (0,12-0,34) | 1,64 (1,12-1,97) | 7,42 (4,26-12,94) |
| p 3.1-3.2 | | 0,913 | 0,372 | 0,809 |
| p 3.1-3.3 | | 0,306 | 0,304 | 0,967 |
| p 3.1-3.4 | | 0,018 | 0,239 | 0,002 |

незе. Тем не менее выбранное направление исследований представляется перспективным для оптимизации применения известных средств профилактики рака с помощью модуляторов эстрогеновых рецепторов и ингибиторов ароматазы [18, 21], а также для разработки новых средств иммунологической

защиты человека от химических канцерогенов окружающей среды [8, 17]. В частности, изменение уровней IgA-Вр может повлечь за собой изменения содержания в сыворотке Es и Pg и их индивидуальных соотношений Pg/Es вследствие изменений взаимных эффектов IgA-Вр, IgA-Es и IgA-Pg.

Список литературы / References

1. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Гордеева Л.А., Мун С.А., Костянко М.В., Антонов А.В., Титов В.А., Вержбицкая Н.Е., Вафин И.А. Иммунологический дисбаланс при раке молочной железы и раке легкого у женщин в постменопаузе // Медицинская иммунология, 2018. Т. 20, № 6. С. 927-934. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Gordeeva L.A., Mun S.A., Kostyanko M.V., Antonov A.V., Titov V.A., Verzhbitskaya N.E., Vafin I.A. Immunological imbalance in breast cancer and lung cancer in postmenopausal women. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2018, Vol. 20, no. 6, pp. 927-934. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2018-6-927-934.
2. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Костянко М.В., Рогозин А.И., Антонов А.В., Вержбицкая Н.Е. Совместное влияние антител к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону на содержание женских половых гормонов в сыворотке крови у больных раком молочной железы // Российский иммунологический журнал, 2018. Т. 12, № 21. С. 40-45. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Kostyanko M.V., Rogozin A.I., Antonov A.V., Verzhbitskaya N.E. Combinational effects of antibodies to benzo[a]pyrene, estradiol and progesterone onto concentrations of female sex hormones in blood serum of the breast cancer patients risks. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2018, Vol. 12, no. 21, pp. 40-45. (In Russ.)]
3. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Костянко М.В., Антонов А.В., Вержбицкая Н.Е., Вафин И.А., Рагожина С.Е. Антитела и анти-антитела к стероидным гормонам и риск рака молочной железы // Медицинская иммунология, 2017. Т. 19, № 5. С. 577-584. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Kostyanko M.V., Antonov A.V., Verzhbitskaya N.E., Vafin I.A., Ragozhina S.E. Antibodies and anti-antibodies to steroid hormones, and breast cancer risk. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2017, Vol. 19, no. 5, pp. 577-584. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-577-58.
4. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Мун С.А., Гордеева Л.А., Костянко М.В., Антонов А.В., Вержбицкая Н.Е., Вафин И.А. Индивидуальный иммунологический фенотип и риск рака молочной железы у женщин в постменопаузе // Российский иммунологический журнал, 2019. Т. 13, № 1. С. 44-52. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Mun S.A., Gordeeva L.A., Kostyanko M.V., Antonov A.V., Verzhbitskaya N.E., Vafin I.A. Personal immunological phenotype and breast cancer risk in postmenopausal women. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2019, Vol. 13, no. 1, pp. 44-52. (In Russ.)]
5. Cavalieri E.L., Rogan E.G. Depurinating estrogen-DNA adducts, generators of cancer initiation: their minimization leads to cancer prevention. *Clin. Transl. Med.*, 2016, Vol. 5, no. 1, 12. doi: 10.1186/s40169-016-0088-3.
6. Ceppi M., Munnia A., Cellai F., Bruzzone M., Peluso MEM. Linking the generation of DNA adducts to lung cancer. *Toxicology*, 2017, Vol. 390, pp. 160-166.
7. Chen Z., Zhang Y., Yang J., Jin M., Wang X.W., Shen Z.Q., Qiu Z., Zhao G., Wang J., Li J.W. Estrogen promotes benzo[a]pyrene-induced lung carcinogenesis through oxidative stress damage and cytochrome c-mediated caspase-3 activation pathway in female mice. *Cancer Lett.*, 2011, Vol. 308, no. 1, pp. 14-22.
8. DeBuck S.S., Muller C.P. Immunopropylactic approaches against chemical carcinogenesis. *Vaccine*, 2005, Vol. 23, no. 17-18, pp. 2403-2406.
9. Elsaesser F. Effects of active immunization against oestradiol-17 beta, testosterone or progesterone on receptivity in the female rabbit and evaluation of specificity. *J. Reprod. Fertil.*, 1980, Vol. 58, no. 1, pp. 213-218.
10. French L.R., Spennetta B. Effects of antibodies to progesterone on reproduction of ewes. *Theriogenology*, 1981, Vol. 16, no. 4, pp. 407-418.
11. Grova N., Prodhomme E.J., Schellenberger M.T., Farinelle S., Muller C.P. Modulation of carcinogen bioavailability by immunisation with benzo[a]pyrene – conjugate vaccines. *Vaccine*, 2009, Vol. 27, no. 31, pp. 4142-4151.
12. Kang S.C., Lee B.M. Effect of estrogen receptor (ER) on benzo[a]pyrene-DNA adduct formation in human breast cancer cells. *J. Toxicol. Environ. Health A*, 2005, Vol. 68, no. 21, pp. 1833-1840.
13. Lin S., Lin C.J., Hsieh D.P., Li L.A. ER α phenotype, estrogen level, and benzo[a]pyrene exposure modulate tumor growth and metabolism of lung adenocarcinoma cells. *Lung Cancer*, 2012, Vol. 75, no. 3, pp. 285-292.
14. Mohammed H., Russell I.A., Stark R., Rueda O.M., Hickey T.E., Tarulli G.A., Serandour A.A., Birrell S.N., Bruna A., Saadi A., Menon S., Hadfield J., Pugh M., Raj G.V., Brown G.D., D'Santos C., Robinson J.L., Silva G., Launchbury R., Perou C.M., Stingl J., Caldas C., Tilley W.D., Carroll J.S. Progesterone receptor modulates ER α action in breast cancer. *Nature*, 2015, Vol. 523, no. 7560, pp. 313-317.
15. Rosenberg M., Amir D., Folman Y. The effect of active immunization against progesterone on plasma concentrations of total and free progesterone, estradiol-17beta and LH in the cyclic ewe. *Theriogenology*, 1987, Vol. 28, no. 4, pp. 417-426.

16. Rundle A., Tang D., Hibshoosh H., Estabrook A., Schnabel F., Cao W., Grumet S., Perera F.P. The relationship between genetic damage from polycyclic aromatic hydrocarbons in breast tissue and breast cancer. *Carcinogenesis*, 2000, Vol. 21, no. 7, pp. 1281-1289.
17. Schellenberger M.T., Farinelle S., Willième S., Muller C.P. Evaluation of adjuvants for a candidate conjugate vaccine against benzo[a]pyrene. *Hum. Vaccin.*, 2011, Vol. 7, no. 1, pp. 166-173.
18. Sestak I. Preventative therapies for healthy women at high risk of breast cancer. *Cancer Manag. Res.*, 2014, Vol. 6, pp. 423-430.
19. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer statistics, 2017. *CA Cancer J. Clin.*, 2017, Vol. 67, no. 1, pp. 7-30.
20. Ustinov V.A., Matveeva V.A., Kostyanko M.V., Glushkov A.N. Antibodies against benzo[a]pyrene in immunized mouse and lung cancer patients. *Exp. Oncol.*, 2013, Vol. 35, no. 3, pp. 207-210.
21. Vogel V.G. Role of hormones in cancer prevention. *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book*, 2014, pp. 34-40.

Авторы:

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

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

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

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

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

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

Луценко В.А. — к.м.н., главный врач ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер», г. Кемерово, Россия

Антонов А.В. — заведующий маммологическим отделением ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер», г. Кемерово, Россия

Титов В.А. — врач-онколог ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер», г. Кемерово, Россия

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

Authors:

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

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

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

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

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

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

Lutsenko V.A., PhD (Medicine), Chief Physician, Regional Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

Antonov A.V., Head, Mammology Department, Regional Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

Titov V.A., Oncologist, Regional Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

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

Поступила 30.03.2020

Принята к печати 01.04.2020

Received 30.03.2020

Accepted 01.04.2020

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПАЦИЕНТАМ С ПЕРВИЧНЫМИ ИММУНОДЕФИЦИТАМИ ОТ АЛЬТЕРНАТИВНОГО ДОНОРА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ИНЖИНИРИНГА ТРАНСПЛАНТАТА

Балашов Д.Н., Масчан М.А., Щербина А.Ю., Румянцев А.Г.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. Цель исследования – анализ результатов трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) от альтернативных доноров при первичных иммунодефицитных синдромах.

С 2012 по 2017 год в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева выполнено 110 ТГСК пациентам с ПИДС от альтернативных доноров (неродственных, n = 85; гаплоидентичных, n = 25). Во всех случаях использовались режимы кондиционирования с редуцированной токсичностью на основе тресульфана. В качестве базовой подготовки трансплантата использовалась TCRotP⁺/CD19⁺ деплеция с помощью иммуномагнитного метода.

Кумулятивная вероятность острой РТПХ составила 17% (95% ДИ 10-25) (n = 18), однако следует отметить, что в 16 из 18 случаев отмечалась острая РТПХ II стадии, с хорошим ответом на первую линию терапии; лишь у 2 пациентов была выявлена острая РТПХ III стадии. Реактивация цитомегаловирусной инфекции оставалась одной из серьезных проблем, с кумулятивной вероятностью реактивации 50% и частотой висцеральных инфекций 15,4%.

Режим кондиционирования у пациентов с синдромом Вискотта–Олдрича с использованием гранулоцитарного колониестимулирующего фактора и плексиафора продемонстрировал полный контроль дисфункций трансплантата по сравнению с контрольной группой.

Темпы иммунологической реконституции при применении ТГСК на платформе TCRotP⁺/CD19⁺ деплеции не отличались по своей динамике от восстановления иммунного статуса после недеплезированной ТГСК с использованием нативных источников гемопоэтических стволовых клеток в исторической когорте. Вероятность общей выживаемости всей когорты пациентов с ПИДС составила 84% (95% ДИ 77-92). Различий в группах пациентов, трансплантированных от неродственного и гаплоидентичного донора, не было выявлено ни в одном из исследуемых параметров.

Адрес для переписки:

Балашов Дмитрий Николаевич
ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр детской гематологии,
онкологии и иммунологии имени Дмитрия
Рогачева»
117997, Россия, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
Тел.: 8 (495) 221-66-40.
E-mail: bala8@yandex.ru

Address for correspondence:

Balashov Dmitry N.
D. Rogachev National Medical Research Centre for
Pediatric Hematology, Oncology and Immunology
117997, Russian Federation, Moscow,
Samori Mashela str., 1
Phone: 7 (495) 221-66-40.
E-mail: bala8@yandex.ru

Образец цитирования:

Д.Н. Балашов, М.А. Масчан, А.Ю. Щербина,
А.Г. Румянцев «Трансплантация гемопоэтических
стволовых клеток пациентам с первичными
иммунодефицитами от альтернативного донора
с использованием новых технологий инжиниринга
трансплантата» // Российский иммунологический
журнал, 2020. Т. 23, № 1. С. 79-90.
doi: 10.46235/1028-7221-009-HSC

© Балашов Д.Н. и соавт., 2020

For citation:

D.N. Balashov, M.A. Maschan, A.Yu. Shcherbina,
A.G. Rumyantsev "Hematopoietic stem cell
transplantation in patients with primary immunodeficiency
from an alternative donor with use of new transplant
engineering technologies", Russian Journal of
Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal,
2020, Vol. 23, no. 1, pp. 79-90.
doi: 10.46235/1028-7221-009-HSC

DOI: 10.46235/1028-7221-009-HSC

Внедрение новых перспективных технологий ТГСК позволяет радикально изменить неблагоприятные исходы ПИДС и открывает новые горизонты для дальнейших исследований в области клеточной регуляции аутовоспалительных онкологических и инфекционных расстройств, приводящих к гибели больных ПИДС.

Ключевые слова: первичные иммунодефициты, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, TCRaP⁺/CD19⁺ деплеция, химеризм, гаплويدентичный донор

HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION IN PATIENTS WITH PRIMARY IMMUNODEFICIENCY DERIVED FROM AN ALTERNATIVE DONOR BY USING NEW TRANSPLANT ENGINEERING TECHNOLOGIES

Balashov D.N., Maschan M.A., Shcherbina A.Yu., Rummyantsev A.G.

*D. Rogachev National Medical Research Centre for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology,
Moscow, Russian Federation*

Abstract. Analysis of the results of hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) derived from alternative donors in patients with primary immunodeficiency syndromes. 110 HSCTs for patients with PIDs derived from alternative donors (unrelated, n = 85; haploidentical, n = 25) were performed at the Dmitry Rogachev National Medical Research Centre within 2012–2017 timeframe. In all cases, there were used conditioning regimes with reduced toxicity based on threosulfan TCRotP⁺/CD19⁺ depletion with immunomagnetic method were used as the basic cell transplant preparation. The cumulative probability of acute GVHD was 17% (95% CI 10–25) (n = 18); however, it should be noted that in 16 of 18 cases, an acute GVHD, stage II, was observed, showing a good response to the first line therapy; but acute GVHD, stage III, was documented only in 2 patients. Reactivation of cytomegalovirus infection remained one of the serious issues, with a cumulative probability of its reactivation reaching up to 50% and CMV visceral infection rate found in 15.4% cases. The conditioning regimen in patients with Wiskott–Aldrich syndrome by using granulocyte colony-stimulating factor and plerixafor demonstrated a full control over transplant dysfunction compared to control group.

Rate of immunological reconstitution upon inoculation of HSCT on the platform TCRotP⁺/CD19⁺ deletion did not differ in dynamics from that one after using undepleted HSCT together with native hematopoietic stem cell sources in a historical cohort. The overall survival probability for entire PID patient cohort was 84% (95% CI 77–92). No differences in patients transplanted from unrelated and haploidentical donors were revealed by assessing any of the studied parameters.

Introduction of new HSCT technologies allows us to dramatically minimize adverse outcomes of PIDs and opens new avenues for further research in cellular regulation of autoinflammatory oncological and infectious disorders resulting in lethal outcome in PID patients

Keywords: primary immunodeficiencies, hematopoietic stem cell transplantation, TCRaP⁺/CD19⁺ depletion, chimerism, haploidentical donor

Введение

Первичные иммунодефицитные состояния (ПИДС) — это группа гетерогенных заболеваний, вовлекающих механизмы врожденного и приобретенного иммунитета с дефектом развития или функции белков системы комплемента, фагоцитов, Т- и В-лимфоцитов, натуральных киллеров. В основе патогенеза ПИДС лежат молекулярные дефекты генов, ответственных за экспрессию структурных и сигнальных белков компонентов иммунной

системы [14]. Учитывая гетерогенные фенотипы иммунодефицитов, на основании патогенетических механизмов реализации различных молекулярных дефектов в настоящее время выделяют девять групп ПИДС [21]:

- 1) иммунодефициты с вовлечением клеточного и гуморального иммунитета;
- 2) комбинированные иммунодефициты с ассоциированными синдромальными проявлениями;
- 3) преимущественно антительные дефициты;

- 4) заболевания с иммунной дисрегуляцией;
- 5) врожденные дефекты количества и/или функции фагоцитов;
- 6) дефекты врожденного иммунитета;
- 7) аутовоспалительные заболевания;
- 8) дефицит комплемента;
- 9) фенокопии ПИД, вызванные соматическими мутациями.

Несмотря на то что адекватная заместительная терапия внутривенными иммуноглобулинами (ВВИГ), профилактическая противомикробная и другая сопроводительная терапия значительно улучшают качество жизни пациентов с ПИДС, единственным широко доступным методом радикального излечения больных является аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), которая используется для коррекции большинства иммунных дефектов [18].

Чаще всего кандидатами на проведение ТГСК являются пациенты с комбинированными дефектами иммунной системы.

Современная эра трансплантологии берет свое начало в 1968 году и именно пациенты с ПИДС были первыми реципиентами трансплантата [3, 10, 15]. Исторически лучшие результаты ТГСК отмечены при трансплантации от HLA-совместимых сиблингов, которые имеются лишь у небольшой части пациентов. Использование неродственных и гаплоидентичных родственных доноров всегда было ассоциировано с худшими исходами ввиду более высоких рисков целого ряда осложнений, таких как реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ), а также инфекционные осложнения в связи с пролонгированным периодом иммунологической реконструкции.

Именно поэтому на протяжении нескольких десятилетий подходы к проведению ТГСК от альтернативных доноров постоянно совершенствуются с акцентом на повышение их безопасности и эффективности.

РТПХ традиционно считается одной из наиболее существенных проблем ТГСК, а методы ее профилактики основаны на элиминации или подавлении активности донорских Т-лимфоцитов, что достигается с помощью лимфодеплетирующих фармпрепаратов или удалением лимфоцитов непосредственно из трансплантата с помощью иммуномагнитных методов CD34⁺ селекции или CD3⁺ деплеции. К сожалению, несмотря на то, что такая подготовка трансплантата достаточно эффективно предотвращает развитие РТПХ [25], она значительно повышает вероятность инфекций за счет полной элиминации из трансплантата иммунокомпетентных клеток и отсроченной иммунологической реконструкции [2, 4].

Именно инфекционные осложнения, вызванные различными, преимущественно оппортунистическими, патогенами, являются одними из частых причин трансплантат-ассоциированной летальности у пациентов с ПИДС. В первую очередь речь идет о вирусных инфекциях, актуальность развития которых сохраняется на протяжении нескольких месяцев после трансплантации. На длительность периода иммунологической некомпетентности после ТГСК влияют такие факторы, как применение иммуноаблативных агентов при кондиционировании и в посттрансплантационном периоде, а также использование CD3⁺ деплеции или CD34⁺ селекции, нередко применяемых при ТГСК от гаплоидентичных и неродственных доноров.

И все же энтузиазм в отношении ТГСК от альтернативных доноров значительно возрос за последние годы. Платформой для этого стали совершенствующиеся технологии клеточного инжиниринга, позволяющие изменять клеточные характеристики трансплантата. В частности, значительный интерес обращен в сторону метода TCR $\alpha\beta^+$ /CD19⁺ деплеции, позволяющего сохранить в трансплантате преимущественно Т-лимфоциты с фенотипом CD3⁺TCR $\gamma\delta^+$ [23]. Одним из свойств данной клеточной фракции является способность активироваться HLA-независимым путем, то есть без инициации аллореактивного каскада, приводящего к развитию РТПХ [16, 17]. Таким образом, сохраняющиеся в клеточном продукте CD3⁺TCR $\gamma\delta^+$ лимфоциты оказывают прямое цитотоксическое действие против различных инфекционных патогенов (в том числе вирусных, бактериальных, микобактериальных и других) [8]. Возможность эффективной профилактики РТПХ и хорошие шансы на иммунореконструкцию стали веским аргументом для активного изучения роли этой технологии при проведении ТГСК от альтернативного донора у пациентов с ПИДС [6, 7, 24].

Совершенствующиеся подходы к проведению ТГСК у пациентов с ПИДС оставляют, тем не менее, ряд нерешенных вопросов, в частности касающихся тяжелых дисфункций трансплантата, нередко ассоциированных со смешанным клеточным химеризмом после ТГСК. В отличие от полного донорского химеризма после аллогенной трансплантации, подразумевающего полное замещение гемопоэза и иммунопоэза донорскими клетками, смешанным считают наличие у реципиента клеточных популяций как донорского, так и собственного происхождения. Для верификации проблемы применяются, как правило, молекулярно-генетические методы диагностики. Прогностические риски смешанного химеризма неоднозначны при различных но-

зологиях. Тем не менее в большинстве случаев необходимо учитывать, что контроль проблем, ассоциированных с основным заболеванием при смешанном химеризме, может оказаться недостаточным. Одной из наиболее гомогенных и многочисленных групп в нашем исследовании стали пациенты с синдромом Вискотта–Олдрича (СВО), где проблема смешанного химеризма была изучена, а также предпринят целый ряд мер, направленных на изучение возможностей управления ситуацией. Хорошо известно, что персистенция собственного пула клеток наряду с трансплантатом у пациента с СВО может стать причиной тяжелых и типичных для этого заболевания аутоиммунных осложнений, а также клинически значимой тромбоцитопении, что, безусловно, не может считаться успехом ТГСК [19]. Помимо отсутствия контроля основного заболевания, смешанный химеризм может стать предиктором отторжения трансплантата, частота которого, по данным Ochs и соавт. [20], при СВО составляет 10%.

Чаще всего в качестве одного из путей решения вопроса контроля смешанного химеризма используют увеличение миелоаблативного потенциала подготовительной терапии, что увеличивает вероятность эрадикации резидуального пула собственных гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). К сожалению, эскалация интенсивности химиотерапии сверх стандартных высокоинтенсивных миелоаблативных режимов неминуемо влечет за собой увеличение частоты и тяжести жизнеугрожающих токсических осложнений и может приводить к значительному снижению качества жизни после перенесенной ТГСК. В качестве альтернативного варианта решения этого вопроса обсуждается возможность использования гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) и плериксафора в кондиционировании с целью мобилизации ГСК в сосудистое русло и освобождения свободного пространства в строме костного мозга для более эффективного приживания донорских клеток. Роль плериксафора сводится к блокаде хемокинового рецептора CXCR4, расположенного на поверхности гемопоэтической стволовой клетки, который участвует в ее фиксации к строме костного мозга («хоуминг»-эффект). Идея применения плериксафора и Г-КСФ пациентам во время кондиционирования в настоящее время реализована в когорте пациентов с СВО, что коренным образом меняет отношение к проблеме химеризма. Однако данная технология требует более углубленного изучения для определения показаний к ее применению [1, 5].

В данной работе представлен опыт проведения ТГСК от неродственных совместимых и гаплоидентичных родственных доноров

у пациентов с ПИДС в НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева за 6 лет работы.

Материалы и методы

С 2012 по 2017 год в НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева выполнено 110 аллогенных ТГСК с TCR $\alpha\beta^+$ /CD19 $^+$ деплецией у пациентов с ПИДС (м:ж = 87:23 = 3,7:1). В представленный анализ не включались пациенты с тяжелой комбинированной иммунной недостаточностью (ТКИН) в связи со значимым отличием от других пациентов, обусловленным, как правило, тяжелым соматическим статусом на момент ТГСК (в первую очередь за счет инфекционных осложнений).

Диагноз «ПИДС» и его конкретный вариант были установлены на основании клинической картины, результатов иммунологических исследований в соответствии с критериями ESID (European Society for Immunodeficiency) [11] и в 48 случаях подтверждены генетически. Для генетической верификации диагноза пациентов использовали молекулярно-генетическое исследование ДНК методом ПЦР и прямого бидирекционного секвенирования по Сэнгеру (праймеры синтезировались в ЗАО «Евроген» (Россия), прибор GeneticAnalyzer 3500XL (США)). Структура диагнозов пациентов представлена на рисунке 1.

Медиана возраста пациентов на момент ТГСК – 3,7 года (0,5–17,6). Восемьдесят пять пациентов были трансплантированы от неродственных (62 пациента от полностью (10/10), 23 от парциально (21 от 9/10 и 2 от 8/10) HLA-совместимых доноров), 25 пациентов – от гаплоидентичных родственных доноров. Источником гемопоэтических стволовых клеток у всех пациентов являлась периферическая кровь после мобилизации CD34 $^+$ клеток посредством рекомбинантного гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ).

У 24 пациентов для кондиционирования использовался треосульфат 42 (или 36) г/м 2 в сочетании с флударабином 150 мг/м 2 . В 73 случаях применялись подготовительные режимы, содержащие треосульфат 42 (или 36) г/м, флударабин 150 мг/м, а также дополнительный алкилирующий агент мельфалан 140 мг/м 2 . Из 73 пациентов, получавших два алкилирующих препарата, у 16 пациентов (все пациенты с СВО) в режим кондиционирования были включены гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ) в суммарной дозе 50 мкг/кг (за 5 дней) и плериксафор в дозе 720 мкг/кг (за 3 дня). Пациентам с синдромом Ниймеген проводилось кондиционирование с редуцированной интенсивностью, что обусловлено особенностями

ми заболевания – бусульфан 4 мг/кг, флударабин 150 мг/м², циклофосфамид 40 мг/кг.

Во всех случаях проводилась серотерапия с помощью препарата АТГАМ 90 мг/кг, Pharmacia & Upjohn Company (n = 10) или тимоглобулин 5 мг/кг Genzyme Europe B.V. (n = 100). Кроме того, все пациенты получили ритуксимаб 100 мг/м² на -1 день для профилактики посттрансплантационного лимфопролиферативного процесса.

В качестве базовой подготовки трансплантата использовалась TCRαβ⁺/CD19⁺ деплеция с помощью иммуномагнитного метода в соответствии с инструкциями производителя (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Германия).

Для посттрансплантационной профилактики РТПХ пациенты получили такролимус с -1 до +45 дня; в 25 случаях к такролимусу был добавлен короткий курс метотрексата в дозе 5 мг/м (дни +1, +3, +6). Десяти пациентам дополнительно в качестве профилактики РТПХ был назначен абатацепт 10 мг/м² в дни -1, +5, +14, +28.

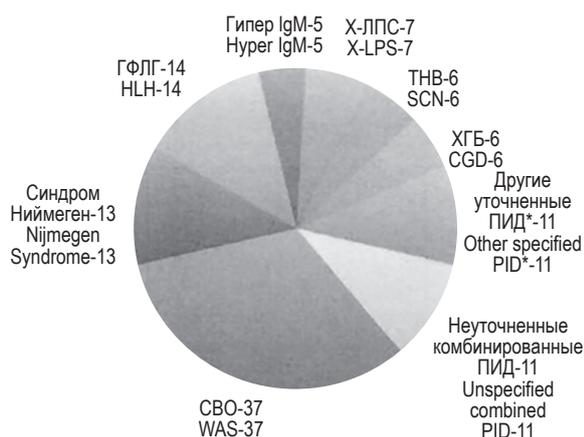


Рисунок 1. Варианты ПИДС у пациентов, которым выполнена ТГСК с TCRαβ⁺/CD19⁺ деплецией

Примечание. СВО – синдром Вискотта–Олдрича; ГФЛГ – гемафагоцитарный лимфогистиоцитоз; Гипер-IgM – гипер-IgM-синдром (дефицит CD40L); ТНВ – тяжелая врожденная нейтропения; ХГБ – хроническая гранулематозная болезнь; Х-ЛПС – X-сцепленный лимфопролиферативный синдром. * – другие уточненные ПИДС: IPEX-синдром – 3; синдром МакКьюсика – 1; WHIM-синдром – 1; синдром Чедиака–Хигаши – 2; X-сцепленная агаммаглобулинемия – 1, синдром активации PIK3d – 2, дефицит STAT1 – 1.

Figure 1. PIDS types in patients, underwent HSCT with TCRαβ⁺/CD19⁺ depletion

Note. WAS, Wiskott–Aldrich syndrome; HLH, hemophagocytic lymphohistiocytosis; Hyper IgM, hyper-IgM syndrome (CD40L deficiency); SCN, severe congenital neutropenia; CGD, chronic granulomatous disease; X-LPS, X-linked lymphoproliferative syndrome. *, other specified PIDS: IPEX syndrome – 3; McCusick's syndrome – 1; WHIM-syndrome – 1; Chediak–Higashi syndrome – 2; X-linked agammaglobulinemia – 1, PIK3d activation syndrome – 2, STAT1 – 1 deficiency.

Статистическая обработка данных производилась в программе XLSTAT (Addinsoft, Франция). Точками, ограничивающими анализ, были даты отторжения/неприживания трансплантата или смерти пациентов и даты последнего наблюдения для живых пациентов с функционирующими трансплантатами. Вероятности общей и бессобытийной выживаемости оценивались методом Каплана–Мейера. При оценке бессобытийной выживаемости за событие принимались отторжение, неприживание трансплантата, смерть пациента. Оценка вероятностей развития РТПХ, вирусных реактиваций, ассоциированной с ТГСК смертности проводилась с помощью метода кумулятивной вероятности с учетом конкурирующих рисков (отторжение/неприживание трансплантата, смерть пациента) с указанием доверительного интервала (ДИ). Отторжением трансплантата считалось более 90% собственных клеток в периферической крови или костном мозге по данным исследования химеризма (методом ПЦР). Реактивацией ЦМВ инфекции считалась ЦМВ-виремия, зафиксированная методом ПЦР при обнаружении > 500 копий вируса в миллилитре крови.

Результаты

Медиана наблюдения составила 22 месяца после ТГСК. Приживание нейтрофильного ростка у 108 пациентов зафиксировано на 9-28-е сутки (медиана – 14 дней) от ТГСК, у двоих пациентов с тяжелой врожденной нейтропенией отмечалось первичное неприживание трансплантата. Медиана приживания тромбоцитов составила 13 дней (разброс 7-43).

Приживание мегакариоцитарного ростка, к сожалению, невозможно было оценить в 7 случаях, в 2 из которых было зарегистрировано первичное неприживание трансплантата, в 2 случаях – смерть на ранних сроках после ТГСК, 3 пациента не соответствовали критериям приживания тромбоцитов, однако имели полный донорский химеризм в CD34⁺ субпопуляции на +30 день.

Кумулятивная вероятность острой РТПХ составила 17% (95% ДИ 10-25) (n = 18), однако следует отметить, что в 16 из 18 случаев отмечалась острая РТПХ II стадии, с хорошим ответом на первую линию терапии; лишь у 2 пациентов была выявлена острая РТПХ III стадии, причем в обоих случаях подтверждено вирусное поражение органа-мишени (HHV6 и аденовирусная инфекция) по результатам анализа гистологических материалов, полученных при диагностической биопсии. IV стадии острой РТПХ выявлено не было ни в одном случае. При сравнительном статистическом анализе кумулятивной вероятности

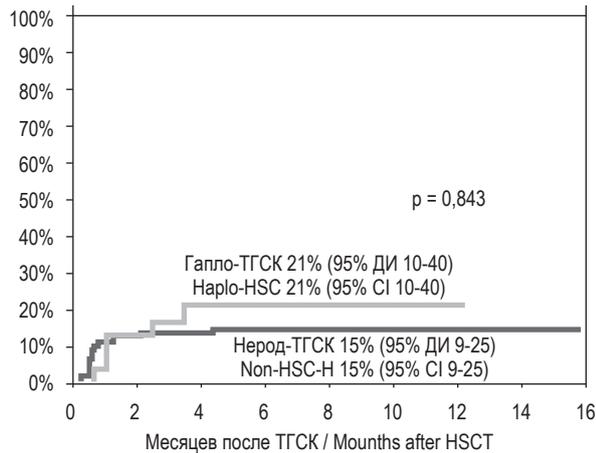


Рисунок 2. Кумулятивная вероятность развития острой РТПХ в группах пациентов, получивших трансплантат от гаплоидентичного (гапло-ТГСК) и неродственного (нерод-ТГСК) доноров

Figure 2. Cumulative probability of developing acute GVHD in groups of patients who received a transplant from haploidentical (haplo-HSC) and unrelated (non-HSC-H) donors

сти острой РТПХ, в группах пациентов, получивших трансплантат от HLA-совместимого неродственного и гаплоидентичного донора, статистически значимых различий выявлено не было (рис. 2). Вероятность хронической РТПХ составила 8% (95% ДИ 3-15).

Вирусные осложнения – одна из наиболее значимых проблем у пациентов после ТГСК с Т-клеточной деплецией. Кумулятивная вероятность реактивации ЦМВ-инфекции составила 50% (95% ДИ 41-61). У 16 пациентов (15,4%) верифицировано ЦМВ-заболевание:

ЦМВ-пневмония, хориоретинит, энцефалит (n = 1); ЦМВ пневмония (n = 2); ЦМВ хориоретинит (n = 13). Также зарегистрировано, что частота ЦМВ-реактивации была несколько выше у пациентов с комбинированными дефектами иммунитета, по сравнению с другими первичными иммунодефицитными синдромами, такими как дефекты фагоцитоза и иммунные дисрегуляции, а также не было выявлено статистических различий в частоте реактивации в группах, трансплантированных от гаплоидентичного и неродственного донора (рис. 3).

При сравнительной оценке недостаточности трансплантата отмечено, что при использовании кондиционирования с одним алкилирующим агентом кумулятивная вероятность первичного неприживания или отторжения была значительно выше (33% (8/24), 95% ДИ 19-59), по сравнению с результатами ТГСК с использованием 2 алкилирующих препаратов (10% (7/73), 95% ДИ 5-20) с высокой степенью значимости статистических различий (p = 0,01). Во всех случаях отторжение трансплантата было ассоциировано с верификацией смешанного химеризма.

При анализе ситуации с частотой встречаемости и прогностической значимостью смешанного химеризма данная проблема наиболее остро была обозначена в группе пациентов с СВО на промежуточном аналитическом этапе данного исследования. К 2016 году дисфункции трансплантата были выявлены у 7 из 18 пациентов, что в пяти случаях привело к отторжению трансплантата, а у двоих пациентов стало причиной тяжелой тромбоциго-

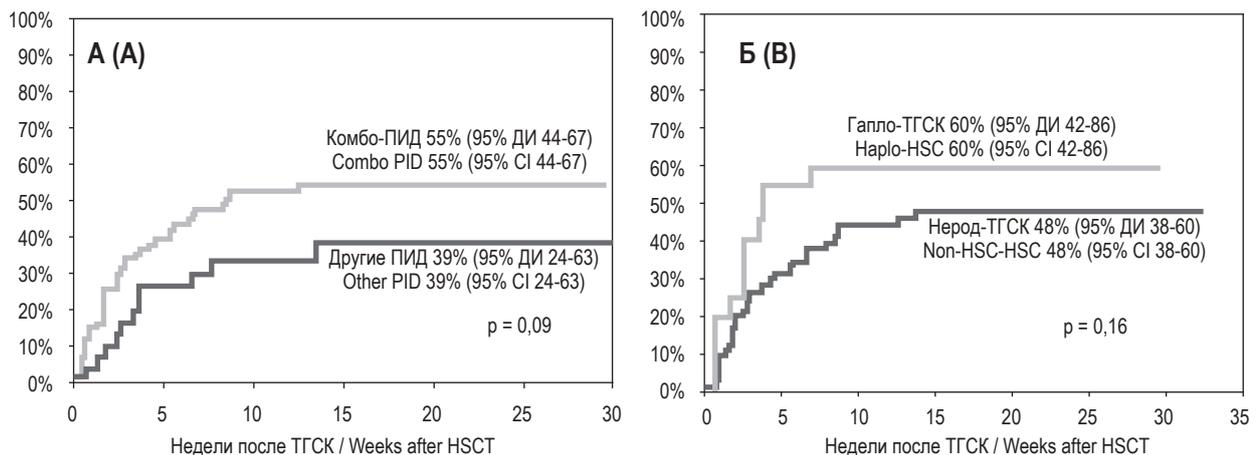


Рисунок 3. Кумулятивная вероятность реактивации ЦМВ-инфекции у пациентов с ПИДС после ТГСК

Примечание. А – частота реактивации ЦМВ у пациентов с комбинированными дефектами, по сравнению с другими ПИДС (иммунная дисрегуляция, дефекты фагоцитоза). Б – частота реактивации ЦМВ у пациентов, трансплантированных от гаплоидентичного (гапло-ТГСК) и неродственного доноров (нерод-ТГСК).

Figure 3. Cumulative probability of reactivation of CMV infection in patients with PIDS after HSCT

Note. A, frequency of CMV reactivation in patients with combined defects compared with other PIDS (immune dysregulation, defects of phagocytosis). B, frequency of CMV reactivation in patients transplanted from haploidentical (haplo-HSC) and unrelated donors (non-HSC-HSC).

пении, типичной для основного заболевания. Учитывая данную ситуацию, с мая 2016 года был использован новый режим подготовительной терапии с использованием Г-КСФ и плериксафора в качестве дополнительных агентов, что позволило полностью элиминировать вероятность смешанного химеризма и вторичных дисфункций трансплантата (рис. 4).

Темпы иммунологической реконституции при применении ТГСК на платформе $TCR\alpha\beta^+/CD19^+$ деплеции не отличались по своей динамике от восстановления иммунного статуса после недеплезированной ТГСК с использованием нативных источников гемопоэтических стволовых клеток. При более детальном анализе выяснено, что сроки восстановления фракции наивных Т-лимфоцитов также являются весьма обнадеживающими. У большинства пациентов к +120 дню после ТГСК регистрировалось значительное количество Т- и В-лимфоцитов, 500/мкл и 200/мкл соответственно. Интересное наблюдение относительно возможностей технологии $TCR\alpha\beta^+/CD19^+$ деплеции при гаплоидентичной ТГСК в отношении восстановления субпопуляции наивных Т-клеток было продемонстрировано на целой серии наблюдений, свидетельствующих о том, что уже через 4 месяца после ТГСК у пациента имеются хорошие шансы на восстановление адаптивного иммунологического ответа (рис. 5).

Вероятность общей выживаемости во всей исследуемой когорте пациентов с ПИДС составила 84% (95% ДИ 77-92), при этом не было получено статистически значимых различий по данному критерию у пациентов, трансплантированных от HLA-совместимого неродственного и гаплоидентичного родственного доноров (рис. 6).

Причиной летальных исходов после ТГСК являлись либо бактериальные и вирусные инфекционные осложнения ($n = 12$), либо рецидив опухоли у пациентов с синдромом Ниймеген ($n = 2$).

Обсуждение

Улучшение диагностических возможностей и знаний об особенностях течения ряда ПИДС на сегодняшний день обуславливает необходимость более частого применения аллогенной ТГСК как единственного куративного метода. При этом еще не так давно широкое применение ТГСК было нередко ограничено высокой токсичностью. Расширение возможностей по проведению менее токсичной подготовительной и адекватной сопроводительной терапии, а также совершенствование способов подготовки трансплантата в последние годы сделали этот метод лечения более безопасным

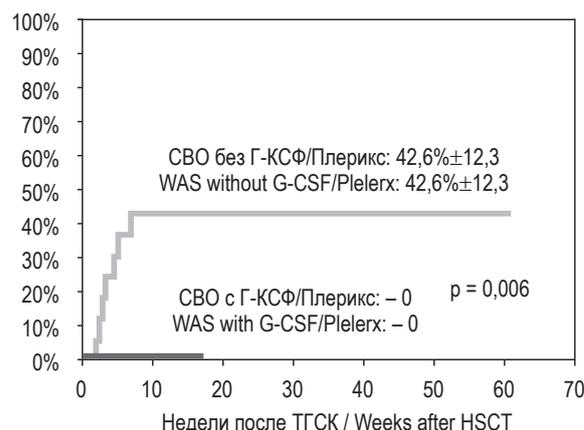


Рисунок 4. Вероятность дисфункций трансплантата у пациентов с синдромом Вискотта-Олдрича, ассоциированных со смешанным химеризмом, получавших режим кондиционирования в сочетании с Г-КСФ и плериксафором, по сравнению с ранее полученными данными у пациентов, получавших стандартные режимы с интенсивной миело/иммуноабляцией

Figure 4. Probability of transplant dysfunctions in patients with Wiskott-Aldrich syndrome associated with mixed chimerism, who received a conditioning regimen in combination with G-CSF and plelerxaphor, compared with previously obtained data in patients who received standard modes with intensive myeloid/immunoablation

и привели к улучшению выживаемости пациентов после ТГСК. Исторически наиболее эффективными являлись трансплантации от HLA-совместимых сиблингов. Многие годы применение трансплантатов от альтернативных доноров (неродственных и парциально совместимых) ограничивала высокая посттрансплантационная морбидность и летальность пациентов. Одной из наиболее серьезных проблем альтернативной ТГСК является высокий риск развития тяжелой РТПХ. Внедрение ряда технологий обработки трансплантата при ТГСК от гаплоидентичных доноров достаточно эффективно помогает контролировать эту проблему, однако зачастую приводит к задержке иммунологической реконституции пациентов, повышая тем самым риски инфекционных осложнений и смертность от них.

Однако применение $TCR\alpha\beta^+/CD19^+$ деплеции трансплантата при ПИДС уже продемонстрировало свою эффективность в отношении контроля острой и хронической РТПХ. РТПХ выше II стадии отмечена только у двух пациентов, причем в каждом из этих случаев были верифицированы дополнительные этиологические факторы поражения органов мишеней у пациентов, а именно инфекция HHV6 кожи у пациента с кожной формой острой РТПХ и аденовирусное по-

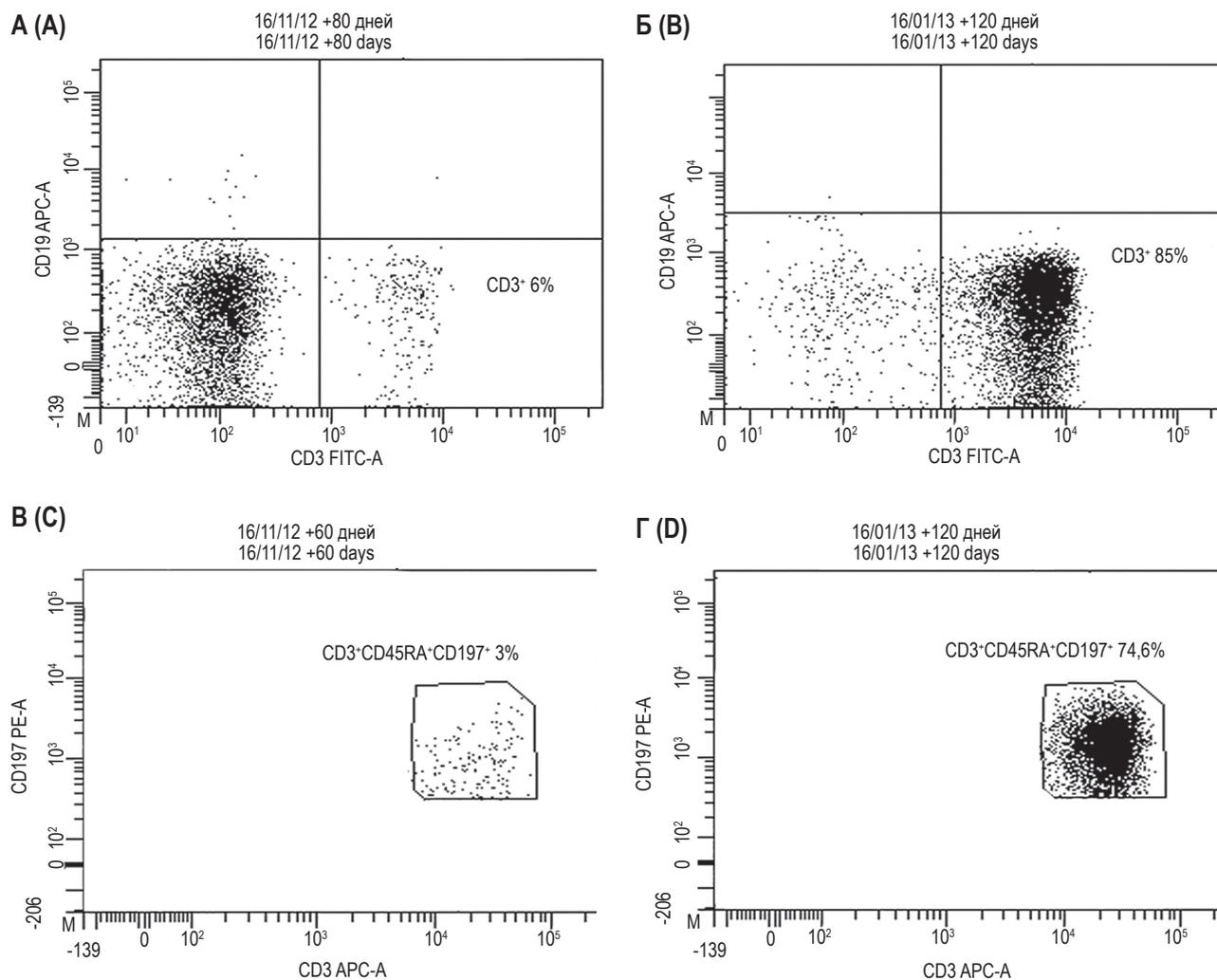


Рисунок 5. Результаты проточной цитометрии у пациента с ПИДС после ТГСК от гаплоидентичного донора с $TCR\alpha\beta^+/CD19^-$ деплецией трансплантата

Примечание. $CD3^+$ клетки на +60 день (А) и 120 день (Б) после ТГСК; наивные Т-клетки на +60 день (В) и 120 день (Г) после ТГСК.
Figure 5. Results of flow cytometry in a patient with PID after HSCT from a haploidentical donor with $TCR\alpha\beta^+/CD19^-$ graft depilation
Note. $CD3^+$ cells at +60 day (A) and 120 day (B) after HSCT; naive T cells at +60 day (C) and 120 day (D) after HSCT.

ражение кишечника у ребенка с кишечными проявлениями РТПХ. Крайне важным результатом стало отсутствие различий в кумулятивной вероятности развития РТПХ при гаплоидентичной и совместимой неродственной ТГСК ($p = 0,843$). Значимой проблемой в данном исследовании стали вирусные инфекции после ТГСК. Несмотря на отсутствие статистических различий в частоте реактиваций ЦМВ при различных вариантах ПИДС, имеется прогрессивная тенденция в сторону увеличения данного показателя у пациентов с комбинированными дефектами иммунитета, что позволяет выделить их в отдельную группу риска. В целом частота ЦМВ-реактивации и висцеральных инфекций остается высокой,

что является аргументом для исследования новых подходов к их профилактике и лечению. В частности, активно изучаются методы терапии инфекционных, в первую очередь вирусных, осложнений клеточными продуктами, полученными в результате культивации или селекции клеток со специфическими узконаправленными функциональными характеристиками внутри отдельной субпопуляции. Клиническая эффективность и безопасность терапии вирус-специфическими Т-лимфоцитами и Т-лимфоцитами памяти (с фенотипом $CD3^+CD45RA^-$) активно исследуются [9, 12, 13, 22]. К сожалению, технические трудности и высокая стоимость заготовки унипотентных вирус-специфических клеток

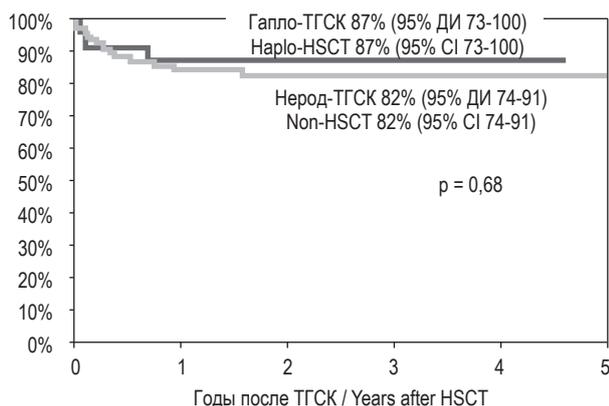


Рисунок 6. Общая выживаемость пациентов, трансплантированных от гаплоидентичного (гапло-ТГСК) и неродственного доноров (нерод-ТГСК)

Figure 6. Overall survival of patients transplanted from haploidentical (haplo-HSCT) and unrelated donors (non-HSCT)

ограничивает использование этой технологии. Однако использование клеточных продуктов с широким репертуаром патоген-специфической направленности ($CD3^+CD45RA^-$) вызывает значительный интерес у исследователей и клиницистов. Данная технология уже интегрирована в работу НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева в качестве клинического исследования и уже накоплен ряд клинических примеров ее эффективности, тем не менее объем данных пока не дает возможности статистической обработки полученных данных.

Чрезвычайно обнадеживающим результатом стало снижение частоты смешанного химеризма у пациентов с СВО после добавления в режим кондиционирования Г-КСФ и плексиафора. Ценность данного результата определяется не только снижением риска функциональных нарушений трансплантата, а в первую очередь возможностью элиминировать иммунологически опосредованные способности остаточной реципиентской клеточной фракции и клинические признаки основного заболевания, типичные для данной нозологии. Технология использования таргетных препаратов, не обладающих цитотоксическими свойствами для освобождения пространства, доступного для приживания донорских клеток, имеет перспективы для дальнейших исследований. Нельзя исключить, что позднее будет поставлен вопрос о редукции интенсивности химиотерапевтической подготовки в этой когорте пациентов. Полученные результаты у пациентов с СВО являются также поводом для исследования метода при других заболеваниях, при которых сохраняется высокий риск иммунологического дефекта при перси-

стенции смешанного химеризма, однако перенос технологии на другую нозологию требует предварительной скрупулезной оценки.

Одним из наиболее важных результатов ТГСК при ПИДС в НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева является отсутствие различий в выживаемости пациентов при гаплоидентичной и НЛА-совместимой неродственной трансплантации. В целом это отражает не только современные возможности, но и значительным образом влияет на такие факторы, как доступность донора, дополнительный шанс для выздоровления и улучшения качества жизни. Помимо такого аргумента, как почти 100-процентная доступность гаплоидентичного донора, появляется возможность проведения ТГСК в кратчайшие сроки после определения показаний к ТГСК конкретному пациенту, что чрезвычайно важно, так как даже при наличии подходящего неродственного донора в регистре, нередко уходит несколько месяцев на получение трансплантата. В действительности эта возможность позволяет многократно повысить вероятность удачного исхода у многих пациентов, в первую очередь с комбинированными дефектами.

Развитие технологии ТГСК от гаплоидентичного донора предоставляет возможность проведения трансплантации в клинических центрах, не имеющих авторизованного доступа в международный регистр. Не менее важным аргументом в пользу развития технологий гаплоидентичной ТГСК является также неотложная доступность такого донора для повторных донаций, нередко необходимых для посттрансплантационной клеточной терапии. Оценка фармакоэффективности технологии $TCRaP^+/CD19^+$ деплеции трансплантата может ответить на целый ряд вопросов, касающихся более глубокой интеграции ее в практическую деятельность. По данным van Sambeek и соавт. [26], несмотря на высокую стоимость расходных материалов, необходимых для проведения лабораторного этапа подготовки трансплантата, конечная стоимость процедуры позволяет удешевить трансплантацию за счет снижения иных расходов, связанных с ее реализацией.

Следует отметить, что когорта пациентов с ПИДС является уникальной с точки зрения репертуара их генетического, биологического и клинического разнообразия. Тем не менее для большинства из них именно ТГСК является единственным методом терапии, позволяющим рассчитывать на удачный исход заболевания. Изучение и внедрение эффективных технологий клеточного инжиниринга для ТГСК, демонстрируя положительные тенденции и результаты, безусловно, являются аргументами для дальнейших исследований.

Список литературы / References

1. Балашов Д.Н., Гутовская Е.И., Козловская С.Н., Радыгина С.А., Лаберко А.Л., Масчан А.А. Применение плериксафора и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора в кондиционировании перед трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с синдромом Вискотта–Олдрича // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии, 2017. Т. 16, № 3. С. 55-58. [Balashov D.N., Gutovskaya E.I., Kozlovskaya S.N., Radygina S.A., Laberko A.L., Maschan A.A. The use of plerixafor and g-CSF during conditioning for hematopoietic stem cell transplantation in a patient with Wiskott–Aldrich syndrome. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii = Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology*, 2017, Vol. 16, no. 3, pp. 55-58. (In Russ.)]
2. Aversa F., Tabilio A., Velardi A., Cunningham I., Terenzi A., Falzetti F., Falzetti F., Ruggeri L., Barbabietola G., Aristei C., Latini P., Reisner Y., Martelli M.F. Treatment of high-risk acute leukemia with T-cell-depleted stem cells from related donors with one fully mismatched HLA haplotype. *N. Engl. J. Med.*, 1998, Vol. 339, no. 17, 1186-1193.
3. Bach F., Albertini R., Joo P., Anderson J., Bortin M. Bone-marrow transplantation in a patient with the Wiskott–Aldrich syndrome. *Lancet*, 1968, Vol. 292, no. 7583, pp. 1364-1366.
4. Bacigalupo A., Mordini N., Pitto A., Piaggio G., Podesta M., Benvenuto F., van Lint M.T., Valbonesi M., Lercari G., Carlier P., Lamparelli T., Gualandi F., Occhini D., Bregante S., Figari O., Soracco M., Vassallo F., de Stefan G. Transplantation of HLA-mismatched CD34⁺ selected cells in patients with advanced malignancies: severe immunodeficiency and related complications. *Br. J. Haematol.*, 1997, Vol. 98, no. 3, pp. 760-766.
5. Balashov D., Laberko A., Shcherbina A., Trakhtman P., Abramov D., Gutovskaya E., Kozlovskaya S., Shelikhova L., Novichkova G., Maschan M., Rumiantsev A., Maschan A. A Conditioning regimen with plerixafor is safe and improves the outcome of TCRaP⁺⁺ and CD19⁺ cell-depleted stem cell transplantation in patients with Wiskott–Aldrich syndrome. *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 2018, Vol. 24, no. 7, pp. 1432-1440.
6. Balashov D., Shcherbina A., Maschan M., Trakhtman P., Skvortsova Y., Shelikhova L., Laberko A., Livshits A., Novichkova G., Maschan A. Single-center experience of unrelated and haploidentical stem cell transplantation with TCRaP and CD19 depletion in children with primary immunodeficiency syndromes. *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 2015, Vol. 21, no. 11, pp. 1955-1962.
7. Bertaina A., Merli P., Rutella S., Pagliara D., Bernardo M.E., Masetti R., Pende D., Falco M., Handgretinger R., Moretta F., Lucarelli B., Brescia L.P., Li Pira G., Testi M., Cancrini C., Kabbara N., Carsetti R., Finocchi A., Moretta A., Moretta L., Locatelli F. HLA-haploidentical stem cell transplantation after removal of $\alpha\beta^+$ T and B cells in children with nonmalignant disorders. *Blood*, 2014, Vol. 124, no. 5, pp. 822-826.
8. Bonneville M., O'Brien R.L., Born W.K. $\gamma\delta$ T cell effector functions: a blend of innate programming and acquired plasticity. *Nat. Rev. Immunol.*, 2010, Vol. 10, no. 7, pp. 467-478.
9. Brodzski N., Turkiewicz D., Toporski J., Truedsson L., Dykes J. Novel treatment of severe combined immunodeficiency utilizing ex-vivo T-cell depleted haploidentical hematopoietic stem cell transplantation and CD45RA⁺ depleted donor lymphocyte infusions. *Orphanet J. Rare Dis.*, 2016, Vol. 11, 5. doi: 10.1186/s13023-016-0385-3.
10. de Koning J., van Bekkum D.W., Dicke K.A., Dooren L.J., van Rood J.J., Radi J. Transplantation of bone-marrow cells and fetal thymus in an infant with lymphopenic immunological deficiency. *Lancet*, 1969, Vol. 293, no. 7608, pp. 1223-1227.
11. European Society for Immunodeficiencies. Registry Working Party Diagnosis criteria. Available at: <https://esid.org/Working-Parties/Registry-Working-Party/Diagnosis-criteria>.
12. Feuchtinger T., Matthes-Martin S., Richard C., Lion T., Fuhrer M., Hamprecht K., Handgretinger R., Peters C., Schuster F.R., Beck R., Schumm M., Lofti R., Jahn G., Lang P. Safe adoptive transfer of virus-specific T-cell immunity for the treatment of systemic adenovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Br. J. Haematol.*, 2006, Vol. 134, no. 1, pp. 64-76.
13. Feuchtinger T., Opherk K., Bethge W.A., Topp M.S., Schuster F.R., Weissinger E.M., Mohty M., Or R., Maschan M., Schumm M., Hamprecht K., Handgretinger R., Lang P., Einsele H. Adoptive transfer of pp65-specific T cells for the treatment of chemorefractory cytomegalovirus disease or reactivation after haploidentical and matched unrelated stem cell transplantation. *Blood*, 2010, Vol. 116, no. 20, pp. 4360-4367.
14. Fischer A. Human primary immunodeficiency diseases. *Immunity*, 2007, Vol. 27, no. 6, pp. 835-845.
15. Gatti R., Meuwissen H., Allen H., Hong R., Good R. Immunological reconstitution of sex-linked lymphopenic immunological deficiency. *Lancet*, 1968, Vol. 292, no. 7583, pp. 1366-1369.
16. Handgretinger R. Negative depletion of CD3⁺ and TcRa⁺ T cells. *Curr. Opin. Hematol.*, 2012, Vol. 19, no. 6, pp. 434-439.
17. Locatelli F., Bauquet A., Palumbo G., Moretta F., Bertaina A. Negative depletion of α/β^+ T cells and of CD19⁺ B lymphocytes: A novel frontier to optimize the effect of innate immunity in HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation. *Immunol. Lett.*, 2013, Vol. 155, no. 1-2, pp. 21-23.
18. Modell V., Gee B., Lewis D.B., Orange J.S., Roifman C.M., Routes J.M., Sorenson R.U., Notarangelo L.D., Modell F. Global study of primary immunodeficiency diseases (PI) – diagnosis, treatment, and economic impact: an updated report from the Jeffrey Modell Foundation. *Immunol. Res.*, 2011, Vol. 51, no. 1, pp. 61-70.

19. Moratto D., Guiliani S., Bonlim C., Mazzolari E., Fischer A., Ochs H.D., Cant A.J., Thrasher A.J., Cowan M.J., Albert M.H., Small T., Pai S.Y., Haddad E., Lisa A., Hambelton S., Slatter M., Cavazzana-Calvo M., Mahlaoui N., Picard C., Torgerson T.R., Burroughs L., Koliski A., Neto J.Z., Porta F., Qasim W., Veys P., Kavanau K., Hoenig M., Schulz A., Friedrich W., Notarangelo L.D. Long-term outcome and lineage-specific chimerism in 194 patients with Wiskott–Aldrich syndrome treated by hematopoietic cell transplantation in the period 1980-2009: an international collaborative study. *Blood*, 2011, Vol. 118, no. 6, pp. 1675-1684.

20. Ochs H.D., Filipovich A.H., Veys P., Cowan M.J., Kapoor N. Wiskott–Aldrich syndrome: diagnosis, clinical and laboratory manifestations, and treatment. *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 2009, Vol. 15, no. 1, pp. 84-90.

21. Picard C., Al-Herz W., Bousfiha A., Casanova J.-L., Chatila T., Conley M.E., Cunningham-Rundles C., Etzioni A., Holland S.M., Klein C., Nonoyama S., Ochs H.D., Oksenhendler E., Puck J.M., Sullivan K.E., Tang M.L., Franco J.L., Gaspar H.B. Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency 2015. *J. Clin. Immunol.*, 2015, Vol. 35, no. 8, pp. 696-726.

22. Rooney C.M., Ng C.Y., Loftin S., Smith C., Li C., Krance R., Brenner M.K., Heslop H.E. Use of gene-modified virus-specific T lymphocytes to control Epstein-Barr-virus-related lymphoproliferation. *Lancet Lond. Engl.*, 1995, Vol. 345, no. 8941, pp. 9-13.

23. Schumm M., Lang P., Bethge W., Faul C., Feuchtinger T., Pfeiffer M., Vogel W., Huppert V., Handgretinger R. Depletion of T-cell receptor alpha/beta and CD19 positive cells from apheresis products with the CliniMACS device. *Cytotherapy*, 2013, Vol. 15, no. 10, pp. 1253-1258.

24. Shah R.M., Elfeky R., Nademi Z., Qasim W., Amrolia P., Chiesa R., Rao K., Lucchini G., Silva J.M.F., Worth A., Barge D., Ryan D., Conn J., Cant A.J., Skinner R., Abd Hamid I.J., Flood T., Abinum M., Hambleton S., Gennery A.R., Veys P., Slatter M. T-cell receptor $\alpha\beta^+$ and CD19⁺ cell-depleted haploidentical and mismatched hematopoietic stem cell transplantation in primary immune deficiency. *Allergy Clin. Immunol.*, 2018, Vol. 141, no. 4, pp. 1417-1426.

25. Slatter M.A., Brigham K., Dickinson A.M., Harvey H.L., Barge D., Jackson A., Bown N., Flood T.J., Cant A.J., Abinum M., Gennery A.R. Long-term immune reconstitution after anti-CD52-treated or anti-CD34-treated hematopoietic stem cell transplantation for severe T-lymphocyte immunodeficiency. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2008, Vol. 121, no. 2, pp. 361-367.

26. van Sambeek B., Flattery M., Mitchell R., de Abreu Lourenco R. Comparing the cost of preparing matched unrelated donor and TCR $\alpha^+\beta^+$ /CD19⁺ depleted donor material for pediatric hematopoietic stem cell transplants in Australia. *Pediatr. Transplant.*, 2018, Vol. 22, no. 7, e13279. doi: 10.1111/petr.13279.

Авторы:

Балашов Д.Н. — д.м.н., профессор, заведующий отделением трансплантации гемопоэтических стволовых клеток № 2 ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Масчан М.А. — д.м.н., профессор, директор Высшей школы молекулярной и экспериментальной медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Balashov D.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Hematopoietic Stem Cell Transplantation Department No. 2, D. Rogachev National Medical Research Centre for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

Maschan M.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Director, High School of Molecular and Experimental Medicine, D. Rogachev National Medical Research Centre for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

Щербина А.Ю. — д.м.н., профессор, заведующая отделением клинической иммунологии, заместитель директора Института гематологии, иммунологии и клеточных технологий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Shcherbina A.Yu., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Clinical Immunology Department, Deputy Director, D. Rogachev National Medical Research Centre for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

Румянцев А.Г. — д.м.н., профессор, президент ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Rumyantsev A.G., PhD, MD (Medicine), Professor, President, D. Rogachev National Medical Research Centre for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

Поступила 17.03.2020
Отправлена на доработку 20.03.2020
Принята к печати 31.03.2020

Received 17.03.2020
Revision received 20.03.2020
Accepted 31.03.2020

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОЛИОКСИДОНИЯ В МЕДИКАМЕНТОЗНОМ ЛЕЧЕНИИ МОДЕЛИ ХРОНИЧЕСКОГО ПАРОДОНТИТА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

**Саркисян Н.Г.¹, Дроздова Л.И.², Умарова Д.С.¹, Соловьева Д.А.¹,
Хлыстова К.А.³**

¹ ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

² ФГБОУ ВО «Уральский государственный аграрный университет», г. Екатеринбург, Россия

³ ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук»,
г. Екатеринбург, Россия

Резюме. В данной статье освещены актуальные вопросы медикаментозного лечения хронического пародонтита. Отсутствие эффективного комплексного подхода в терапии хронического пародонтита требует поиска новейших принципов лечения, которые будут базироваться на патогенетических особенностях развития этой болезни. В экспериментальном исследовании на крысах линии Вистар была получена модель хронического пародонтита, которая создавалась по методу введения 12-миллиметровой иглы в пародонтальное пространство нижнего резца. Было получено 30 моделей хронического пародонтита. Предложен метод консервативной терапии с применением иммуномодулятора (полиоксидония). Целью исследования стала оценка эффективности полиоксидония в лечении модели хронического пародонтита. Для достижения поставленной цели проведено сравнение эффективности лечения полиоксидонием и лечением с использованием антибактериального препарата, геля «Метрогил Дента». Исследование включало в себя создание модели хронического пародонтита в двух группах. В первой группе проводилось лечение пародонтита с помощью инъекций полиоксидония в слизистую оболочку альвеолярного отростка нижней челюсти. Во второй группе – нанесение антибактериального геля «Метрогил Дента» на зону воспаления. В последующем произведена клиническая и гистологическая оценка эффективности проведенного лечения. Выявлено, что по основным клиническим показателям результаты после терапии иммуномодулятором не уступают результатам после лечения гелем «Метрогил Дента». В процессе лечения гиперемия, отек и кровоточивость десны уменьшались в обеих группах. Результаты оценки клинических данных после лечения полиоксидонием позволили предположить, что улучшение показателей является доказательством хорошей иммунологической активности препарата и необходимости дальнейшего изучения его эффектив-

Адрес для переписки:

Саркисян Нарине Гришаевна
ФГБОУ ВО «Уральский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
Тел.: 8 (902) 875-53-99.
E-mail: narine_25@mail.ru

Address for correspondence:

Sarkisyan Narine G.
Ural State Medical University
Phone: 7 (902) 875-53-99.
E-mail: narine_25@mail.ru

Образец цитирования:

Н.Г. Саркисян, Л.И. Дроздова, Д.С. Умарова,
Д.А. Соловьева, К.А. Хлыстова «Оценка
эффективности полиоксидония в медикаментозном
лечении модели хронического пародонтита
(экспериментальное исследование)» // Российский
иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 1.
С. 91-96.
doi: 10.46235/1028-7221-010-AEO

© Саркисян Н.Г. и соавт., 2020

For citation:

N.G. Sarkisyan, L.I. Drozdova, D.S. Umarova,
D.A. Solovyova, K.A. Khlystova "Assessed efficacy
of polyoxidonium in medicated treatment of modelled
chronic periodontitis (experimental study)", *Russian
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal*, 2020, Vol. 23, no. 1, pp. 91-96.
doi: 10.46235/1028-7221-010-AEO

DOI: 10.46235/1028-7221-010-AEO

ности при лечении воспалительных заболеваний пародонта. Для оценки гистологической картины было рассмотрено 60 изготовленных декальцинированных срезов по два от каждой особи соответственно. Данные по контрольной группе, где лечение не проводилось, ранее описаны в предшествующих исследованиях, и были использованы для сравнения. Гистологическое исследование подтвердило процесс заживления во всех трех группах. В первой группе, где лечение проводилось с применением иммуномодулятора, фармакологические свойства полиоксидония благоприятно повлияли на процессы регенерации тканей пародонта у исследуемых животных, но для этого потребовался более длительный срок, продолжительностью более 20 дней. Это доказывает значительную эффективность полиоксидония в лечении воспалительных заболеваний пародонта, даже без комбинированной терапии с антибактериальными препаратами.

Ключевые слова: полиоксидоний, иммуномодулятор, хронический пародонтит, лечение, антимикробная терапия, гистологическое исследование

ASSESSED EFFICACY OF POLYOXIDONIUM IN MEDICATED TREATMENT OF MODELLED CHRONIC PERIODONTITIS (EXPERIMENTAL STUDY)

Sarkisyan N.G.^a, Drozdova L.I.^b, Umarova D.S.^a, Solovyova D.A.^a, Khlystova K.A.^c

^a Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation

^b Ural State Agrarian University, Ekaterinburg, Russian Federation

^c Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation

Abstract. This article highlights current issues on medical treatment of chronic periodontitis. The lack of effective comprehensive approach to treatment of chronic periodontitis requires to seek for new treatment strategies, which will be based on pathogenetic features of disease development. Experimental study with Wistar rat strain was used as a model of chronic periodontitis created by inserting a 12 mm needle into the periodontal space of the lower incisor. More than 30 models of chronic periodontitis were obtained. A method of conservative therapy by using an immunomodulator (polyoxidonium) was proposed. The aim of the study was to evaluate efficacy of polyoxidonium in treatment of chronic periodontitis model. To do this, we compared efficacy of treatment with polyoxidonium and treatment with an antibacterial drug, Metrogil Denta gel. Development of model of chronic periodontitis was performed in two groups of our study. In the first group, periodontitis was treated with polyoxidonium injected into alveolar process mucosa of the lower jaw. In the second group – antibacterial gel “Metrogil Denta” was applied to the area of inflammation. Finally, clinical and histological assessment of therapeutic efficacy was performed. It was found that the main clinical parameters after immunomodulatory therapy were not inferior to those obtained after treatment with Metrogil Denta gel. During treatment, hyperemia, edema, and bleeding gums were decreased in both groups. Evaluation of clinical data after treatment with polyoxidonium suggested that improved parameters evidenced about good immune-mediated activity of the drug and need to continue further efficacy examination in treatment of inflammatory periodontal diseases. To assess the histological picture, 60 decalcified sections were examined (two per each animal, respectively). Data from control group without treatment were described previously, and were used for comparison. Histological examination confirmed ongoing healing process in all three groups. In group 1 treated with immunomodulator, pharmacological properties of polyoxidonium favorably affected regeneration of periodontal tissue, which, however, required longer period of time, more than 20 days. It proves a pronounced efficacy of polyoxidonium in

treatment of inflammatory periodontal diseases, even as a standalone therapy without combining with antibacterial drugs.

Keywords: polyoxidonium, immunomodulator, chronic periodontitis, treatment, antimicrobial therapy, histological examination

Введение

Воспаление пародонта представляет собой важную и сложную для решения задачу в стоматологии. Распространенность заболеваний пародонта остается на высоком уровне, варьируя в разных группах населения от 50-98%. Пародонтит протекает с нарушением зубодесневого соединения и характеризуется прогрессирующей деструкцией костной ткани. Постепенно активизация патогенной микробиоты с нарастающим разрушением костной ткани альвеолы приводит к патологической подвижности зубов [1].

Отсутствие эффективного комплексного подхода в лечении хронического пародонтита обуславливает необходимость поиска новых принципов терапии, основанных на патогенетических особенностях развития болезни [5].

В связи с часто не обоснованным применением антибактериальных препаратов многие микроорганизмы приобрели лекарственную резистентность. Это диктует необходимость поиска новых методов терапии инфекционных заболеваний полости рта [6].

Использование иммуномодуляторов в комплексной терапии пародонтита является не менее целесообразным, как и использование антибиотиков. Склонность к генерализации процесса зависит не столько от видового и количественного состава микрофлоры, сколько от нарушений неспецифической защиты и иммунного ответа организма. Проблема эффективности терапии иммуномодуляторами при лечении хронического пародонтита без одновременного использования антимикробных препаратов изучена недостаточно. В клинической практике предпочтение отдают химически чистым синтезированным препаратам, которые имеют существенные преимущества перед иммуномодуляторами других групп (не содержат балластных примесей и патогенных включений). К таким препаратам относится полиоксидоний [7].

Основной механизм действия полиоксидония – прямое воздействие на фагоцитирующие клетки и естественные киллеры, также стимуляция антителообразования. Полиоксидоний активирует фагоциты периферической крови и тканевые макрофаги, что способствует более быстрой элиминации возбудите-

ля из организма при наличии очага инфекции. Кроме того, полиоксидоний активирует В-лимфоциты [2].

Таким образом, **целью исследования** стала оценка эффективности иммуномодулятора в лечении модели хронического пародонтита.

Материалы и методы

В 2018-2019 гг. на базе ФГБУН ИИФ УрО РАН г. Екатеринбург было проведено исследование на 2 группах лабораторных крыс линии Вистар. Исследование включало в себя создание модели хронического пародонтита в обеих группах. В первой группе проводилось лечение пародонтита с помощью инъекций полиоксидония в слизистую оболочку альвеолярного отростка нижней челюсти. Во второй группе – нанесение антибактериального геля «Метрогил Дента» на зону воспаления. В последующем произведена клиническая и гистологическая оценка эффективности лечения. Расчет дозы полиоксидония проводился с учетом массы тела крыс (0,1 мг/кг). Инъекции проводились с помощью инсулиновых шприцов в подслизистый слой в области центральных резцов нижней челюсти 1 раз в день в течение 7 дней. Нанесение геля «Метрогил Дента» осуществлялось с помощью ватной турунды на воспаленную слизистую 1 раз в день в течение 7 дней.

В каждую группу были включены по 15 самок в возрасте 3 месяцев, средний вес 310-320 г (табл. 1).

Модель хронического пародонтита была создана методом введения 12-миллиметровой иглы в пародонтальное пространство нижнего резца. После этого инородное тело удаляли на 26-й день эксперимента (патент РФ № 2545923) [3]. Все болезненные операции осуществлялись согласно Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным. В то время, когда игла находилась в пародонтальном пространстве, отмечались явные патологические изменения в месте введения иглы: гиперемия, отек и кровоточивость десны, образование пародонтального кармана, подвижность зуба (рис. 1, см. 3-ю стр. обложки). Помимо этого наблюдались зубные отложения.

Далее в течение 7 дней проводилось лечение пародонтита с помощью препаратов:

полиоксидоний в первой группе и гель «Метрогил Дента» во второй группе. После окончания 7-дневного терапевтического курса на 7-е, 14-е, 21-е сутки (то есть с 33-го дня эксперимента) производилась декапитация крыс по 1 особи в каждой группе с последующей резекцией нижней челюсти, которую фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Изготавливались декальцинированные срезы толщиной 3-5 мкм, которые окрашивались гематоксилином и эозином по стандартной методике для дальнейшего гистологического исследования. При анализе морфологической картины тканей, позволяющей оценить терапевтический эффект применяемых фармакологических средств, рассмотрено 60 срезов по два от каждой особи соответственно.

Данные по контрольной группе, где лечение не проводилось, ранее описаны в предшествующих исследованиях и были использованы для сравнения [4].

ТАБЛИЦА 1. СРЕДНИЙ ВЕС ИССЛЕДУЕМЫХ ЖИВОТНЫХ (В ГРАММАХ)

TABLE 1. AVERAGE WEIGHT OF THE STUDIED ANIMALS (IN GRAMS)

| | Средний вес (г) Average weight (g) |
|---|---------------------------------------|
| Группа «Полиоксидоний» Group "Polyoxidonium" | 310±2,92 |
| Группа «Метрогил Дента» Group "Metrogil Denta" | 320±2,06 |

Примечание. * – статистически значимые различия между показателями (p < 0,5).

Note. *, statistically significant differences between indicators (p < 0.5).

ТАБЛИЦА 2. ТАБЛИЧНОЕ ОТОБРАЖЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВЫРАЖЕННОСТИ ОСНОВНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ СИМПТОМОВ У ИССЛЕДУЕМЫХ ЖИВОТНЫХ

TABLE 2. TABULAR DISPLAY OF CHANGES IN THE SEVERITY OF THE MAIN CLINICAL SYMPTOMS IN THE STUDIED ANIMALS

| Группа «Полиоксидоний» Group "Polyoxidonium" | 1-й день 1 st day | 3-й день 3 rd day | 5-й день 5 th day | 7-й день 7 th day | Группа «Метрогил Дента» Group "Metrogil Denta" | 1-й день 1 st day | 3-й день 3 rd day | 5-й день 5 th day | 7-й день 7 th day |
|---|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|---|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| Гиперемия Hyperemia | + | + | + | - | Гиперемия Hyperemia | + | + | - | - |
| Отек Edema | + | + | + | - | Отек Edema | + | + | - | - |
| Кровоточивость Gingival hemorrhage | + | + | + | - | Кровоточивость Gingival hemorrhage | + | + | - | - |

Результаты

В процессе лечения гиперемия и отек десны уменьшались в обеих группах. В 1-й группе, с полиоксидонием, гиперемия и отечность десны полностью пропали на 6-е сутки. Во 2-й группе, лечение которой проводилось гелем «Метрогил Дента», отечность и гиперемия также полностью спадали на 4-е сутки (в 1,5 раза быстрее) (табл. 2).

Кроме того, у испытуемых отмечалось снижение веса в среднем на 33% (диаграмма 1).

Вероятно, это можно связать с тем, что крысы питались в основном гранулированным комбикормом. В начале лечения питание крыс нарушалось вследствие развития патоморфологических изменений в пародонте.

В гистологических препаратах тканей исследуемых животных 1-й группы, с применением полиоксидония, на 7-е сутки после лечения обнаружена выраженная лейкоцитарная реакция, начало образования грануляционной ткани (рис. 2, см. 3-ю стр. обложки).

На 14-е сутки также были выражены признаки инфильтрации лейкоцитами. На 21-е сутки после лечения в первой группе отмечались снижение выраженности лейкоцитарной инфильтрации, более организованные кровеносные сосуды (рис. 3, см. 3-ю стр. обложки).

Во второй группе, с «Метрогилом Дента», на 7-е сутки после лечения в гистологических препаратах наблюдались разрастание соединительной ткани, обильная васкуляризация (рис. 4, см. 3-ю стр. обложки).

На 14-е сутки в препаратах отмечалось более плотное строение соединительной ткани, более крупные сосуды, умеренная лейкоцитарная реакция (рис. 5, см. 3-ю стр. обложки).

На 21-е сутки после лечения во второй группе отмечалась рассеянная инфильтра-

ция лейкоцитами, венозные сосуды запустевшие, более оформленная соединительная ткань (рис. 6, см. 3-ю стр. обложки).

Обсуждение

Гель «Метрогил Дента» показал более хороший терапевтический эффект, чем полиоксидоний, так как клинические проявления воспаления пропадали в 1,5 раза быстрее по времени. Возможно, это связано с тем, что полиоксидоний вводился методом инъекций, тем самым травмируя слизистую оболочку альвеолярного отростка нижней челюсти, что способствовало более длительному стиханию местных симптомов. Также важен тот факт, что полиоксидоний активизирует фагоциты периферической крови, напрямую не снижая титр патогенных микроорганизмов, как это происходит при воздействии антибактериальных препаратов.

Результаты клинической картины после лечения полиоксидонием позволили предположить, что клиническое улучшение является показателем хорошей иммунологической активности препарата и необходимости дальнейшего изучения его эффективности при лечении воспалительных заболеваний пародонта.

По данным гистологических исследований препаратов в группе с полиоксидонием вы-

явлено уменьшение лейкоцитарной реакции на 21-й день после лечения. Кровеносные сосуды организованы, меньшее количество мелких сосудов. Данные признаки указывают на снижение воспалительной реакции и свидетельствуют о тенденции к регенерации тканей пародонта.

В гистологических препаратах группы с «Метрогилом Дента» уже на 14-е сутки после лечения наблюдалось уплотнение соединительной ткани, более крупные кровеносные сосуды и уменьшение инфильтрации лейкоцитами, что говорит о более быстром стихании воспалительного процесса в тканях после лечения антибактериальным гелем.

В контрольной группе, в которой не проводилось медикаментозное лечение, в гистологических препаратах на 10-й день после удаления иглы наблюдались выраженная эозинофильная инфильтрация и наличие грануляционной ткани, истончение стенок сосудов. Был отмечен процесс метаплазии в эпителии десны. На 15-й день в мягких тканях пародонта увеличивалась лейкоцитарная реакция, в кровеносных сосудах наблюдалось большое количество лейкоцитов, стенки сосудов, базальная мембрана и эпителий десны были разрушены. На 20-й день после удаления травмирующего фактора из тканей пародонта наблюдались процессы регенерации костной ткани. Восстановление подслизистого слоя происходило по типу рубцевания, что не дает возможности для полноценного функционирования пародонта [4].

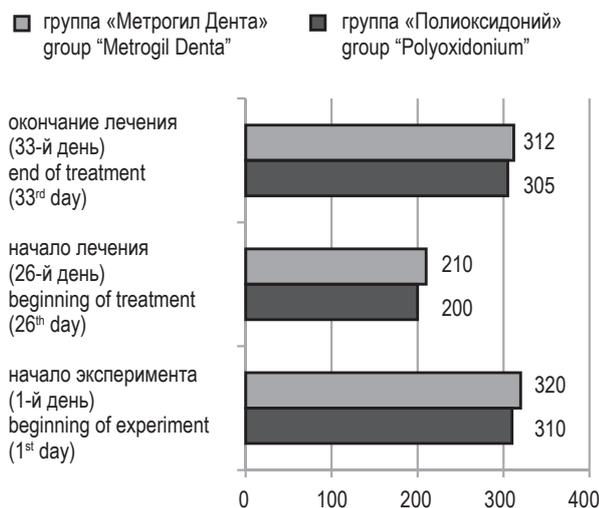


Диаграмма 1. Графическое отображение изменения среднего веса исследуемых животных в начале эксперимента, на начало лечения и после лечения (вес в граммах)

Diagram 1. Graphical representation of the change in the average weight of the studied animals at the beginning of experiment, at the beginning of treatment and after treatment (weight in grams)

Выводы

1. Гистологическое исследование подтвердило процесс заживления во всех группах. В первой группе иммуномодулирующие свойства полиоксидония благоприятно повлияли на процессы регенерации тканей пародонта у исследуемых животных, но для этого потребовался более длительный срок – продолжительностью более 20 дней.

2. Антибактериальная терапия гелем «Метрогил Дента» способствовала более быстрому наступлению клинического эффекта (в 1,5 раза быстрее).

Благодарности

Авторы выражают глубокую признательность директору ФГБУН ИИФ УрО РАН г. Екатеринбург д.ф.-м.н. Соловьевой О.Э. за предоставление возможности проведения исследования на базе учреждения.

Список литературы / References

1. Дмитриева Л.А. Пародонтология: нац. руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 712 с. [Dmitrieva L.A. Periodontology: national manual]. Moscow: GEOTAR-Media, 2013. 712 p. (In Russ.)
2. Саркисян Н.Г. Использование иммуномодуляторов в медикаментозном лечении заболеваний пародонта // Российский иммунологический журнал, 2014. Т. 8 (17), № 3. С. 720-722. [Sarkisian N.G. The use of immunomodulators in the medical treatment of periodontal diseases. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2014, Vol. 8 (17), no. 3, pp. 720-722. (In Russ.)]
3. Саркисян Н.Г., Тимченко А.С., Ларионов Л.П., Тузанкина И.А. Способ получения модели хронического пародонтита у крыс // Уральский медицинский журнал, 2014. № 3. С. 54-56. [Sarkisian N.G., Timchenko A.S., Larionov L.P., Tuzankin I.A. A method of obtaining a model of chronic periodontitis in rats. *Uralskiy meditsinskiy zhurnal = Ural Medical Journal*, 2014, no. 3, pp. 54-56. (In Russ.)]
4. Саркисян Н.Г., Ронь Г.И., Тузанкина И.А., Хонина Т.Г., Ларионов Л.П., Симбирцев А.С., Дроздова Л.И., Тимченко А.С. Морфологическая оценка эффективности использования фармакологических композиций на основе кремнийорганического глицерогидрогеля // Иммунология, 2017. Т. 38, № 2. С. 91-96. [Sarkisian N.G., Ron G.I., Tuzankina I.A., Khonina T.G., Larionov L.P., Simbirtsev A.S., Drozdova L.I., Timchenko A.S. Morphological assessment of the effectiveness of the use of pharmacological compositions based on organosilicon glycerohydrogel. *Immunologiya = Immunology*, 2017, Vol. 38, no. 2, pp. 91-96. (In Russ.)]
5. Скрипникова Т.П., Хавалкин Л.М., Хавалкина А.А. Рефрактерное течение пародонтита. Особенности его клиники // Украинський стоматологічний альманах, 2012. № 2. С. 50-52. [Skripnikova T.P., Khavalkin L.M., Khavalkina A.A. Refractory periodontitis. Features of his clinic. *Ukrayinskyy stomatolohichnyy almanakh = Ukrainian Dental Almanac*, 2012, no. 2, pp. 50-52. (In Russ.)]
6. Хаитов Р.М., Атауллаханов Р.И. Иммунотерапия: руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 35 с. [Khaitov R.M., Ataulakhanov R.I. Immunotherapy: manual]. Moscow: GEOTAR-Media, 2014. 35 p.
7. Brinkac L., Voorhies A., Gomez A., Nelson K.E. The threat of antimicrobial resistance on the human microbiome. *Microb. Ecol.*, 2017, Vol. 74, no. 4, pp. 1001-1008.

Авторы:

Саркисян Н.Г. — д.м.н., доцент кафедры терапевтической стоматологии и пропедевтики стоматологических заболеваний ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Дроздова Л.И. — д.в.н., профессор кафедры морфологии, экспертизы и хирургии ФГБОУ ВО «Уральский государственный аграрный университет», г. Екатеринбург, Россия

Умарова Д.С. — студент стоматологического факультета ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Соловьева Д.А. — студент стоматологического факультета ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Хлыстова К.А. — аспирант ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук», г. Екатеринбург, Россия

Authors:

Sarkisian N.G., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Department of Therapeutic Dentistry and Propedeutics of Dental Diseases, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation

Drozdova L.I., PhD, MD (Veterinary), Professor, Department of Morphology, Expertise and Surgery, Ural State Agrarian University, Ekaterinburg, Russian Federation

Umarova D.S., Student, Faculty of Dentistry, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation

Solovyova D.A., Student, Faculty of Dentistry, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation

Khlystova K.A., Postgraduate Student, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation

Поступила 09.11.2019

Отправлена на доработку 21.11.2019

Принята к печати 10.02.2020

Received 09.11.2019

Revision received 21.11.2019

Accepted 10.02.2020

ПОВЫШЕНИЕ УРОВНЯ ПЕПТИДИЛ-АРГИНИН ДЕИМИНАЗЫ 4 ТИПА В КРОВИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПОДТИПАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Терешин О.С.¹, Семенова А.Б.¹, Важенин А.В.¹, Долгушин И.И.²,
Никושкина К.В.², Никонова Т.И.²

¹ ГБУЗ «Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины», г. Челябинск, Россия

² ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Резюме. Уровень фермента пептидил-аргинин деиминазы 4 типа был определен в образцах сыворотки крови 98 первичных пациенток с раком молочной железы в период с января 2017 по апрель 2018 года. Они были разделены на 5 подгрупп на основании данных стандартного ИГХ: группа 1 – люминальный рак А, группа 2 – люминальный В HER2 негативный рак, 3 – люминальный В HER2 положительный, 4 – нелюминальный HER2 положительный и группа 5 – тройной негативный рак. Образцы крови (сыворотки) были забраны до начала любого вида специального лечения и в 41 случае также спустя 15-24 дня после радикальной операции. Контрольные образцы были взяты у 20 здоровых женщин. Уровень фермента определялся с помощью Human PAD-4 ELISA Kit (Wuhan Fine Biotech Co., Ltd, КНР) на автоматическом анализаторе ADALTIS Personal LAB (Adaltis S.r.l., Италия). Статистический анализ проводился с применением IBM SPSS Statistics 19.

Среднее значение уровня фермента в сыворотке крови до начала лечения было 9,0 нг/мл и не изменилось в группе повторных измерений после операции. Средний уровень фермента в 5 исследуемых подгруппах был следующим: группа 1 – 11,05 нг/мл, группа 2 – 11,9 нг/мл, группа 3 – 10,8 нг/мл, группа 4 – 7,99 нг/мл, группа 5 – 9,9 нг/мл. Средний уровень фермента у здоровых женщин оказался значительно ниже – 1,5 нг/мл (0,0-2,0) нг/мл, чем у пациенток с раком молочной железы (U-критерий Манна-Уитни, U = 38,500, p < 0,001). Также уровень фермента был выше в группах более благоприятного по прогнозу люминального рака, однако для статистической значимости необходимо больше наблюдений.

Ключевые слова: рак молочной железы, молекулярно-биологический подтип, противоопухолевый иммунитет

Адрес для переписки:

Терешин Олег Станиславович
ГБУЗ «Челябинский областной клинический центр
онкологии и ядерной медицины»
454087, Россия, г. Челябинск, ул. Блюхера, 42.
Тел.: 8 (902) 899-19-39.
E-mail: olegter@mail.ru

Address for correspondence:

Tereshin Oleg S.
Chelyabinsk Regional Clinical Center of Oncology and
Nuclear Medicine
454087, Russian Federation, Chelyabinsk,
Blyukher str., 42.
Phone: 7 (902) 899-19-39.
E-mail: olegter@mail.ru

Образец цитирования:

О.С. Терешин, А.Б. Семенова, А.В. Важенин,
И.И. Долгушин, К.В. Никושкина, Т.И. Никонова
«Повышение уровня пептидил-аргинин деиминазы
4 типа в крови при различных молекулярно-
биологических подтипах рака молочной железы»
// Российский иммунологический журнал, 2020.
Т. 23, № 1. С. 97-102.
doi: 10.46235/1028-7221-011-ISL
© Терешин О.С. и соавт., 2020

For citation:

O.S. Tereshin, A.B. Semenova, A.V. Vazhenin,
I.I. Dolgushin, K.V. Nikushkina, T.I. Nikonova
“Increased serum level of peptidyl arginine deiminase
type 4 in various molecular biological subtypes of breast
cancer”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 1,
pp. 97-102.
doi: 10.46235/1028-7221-011-ISL
DOI: 10.46235/1028-7221-011-ISL

INCREASED SERUM LEVEL OF PEPTIDYL ARGININE DEIMINASE TYPE 4 IN VARIOUS MOLECULAR BIOLOGICAL SUBTYPES OF BREAST CANCER

Tereshin O.S.^a, Semenova A.B.^a, Vazhenin A.V.^a, Dolgushin I.I.^b,
Nikushkina K.V.^b, Nikonova T.I.^b

^a Chelyabinsk Regional Clinical Center of Oncology and Nuclear Medicine, Chelyabinsk, Russian Federation

^b South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. Level of enzyme peptidyl arginine deiminase type 4 (PAD-4) was determined in serum samples collected from 98 females with primary breast cancer within January, 2017 – April, 2018 divided into 5 groups according to immunohistochemistry data: group 1 – luminal A cancer, 2 – luminal B Her-2 negative, 3 – luminal B Her-2 positive, 4 – non-luminal Her-2 positive, 5 – triple negative cancer. Samples were collected prior to the onset of any anti-cancer treatment, and in 41 cases – 15-24 days after performing radical surgery. Control samples were obtained from 20 healthy females. Serum PAD-4 level was measured with Human PAD-4 ELISA Kit (Wuhan Fine Biotech Co., Ltd, China) on automatic analyzer ADALTIS Personal LAB (Adaltis S.r.l., Italy). Statistical analysis was performed by using software IBM SPSS Statistics 19. Mean serum PAD-4 level before treatment was 9.0 ng/ml that did not change after surgery. However, mean PAD-4 level for healthy females was 1.5 ng/ml (0.0-2.0) ng/ml that significantly differed from cancer group (Mann–Whitney U test, $U = 38.500$, $p < 0.001$). In contrast PAD-4 level in various cancer groups was: group 1 – 11.05 ng/ml, group 2 – 11.9 ng/ml, group 3 – 10.8 ng/ml, group 4 – 7.99 ng/ml, group 5 – 9.9 ng/ml. Thus, level of serum PAD-4 was higher in groups with more favorable luminal cancer, but further research is needed to make definitive conclusions.

Keywords: breast cancer, molecular-biological subtype, tumor immune response

Введение

Появление в практической онкологии новых препаратов с иммунотерапевтическим механизмом действия усиливает внимание исследователей к давно изучаемым вопросам противоопухолевого иммунитета и роли в нем нейтрофилов. В частности, вызывает интерес формирование из нуклеиновых кислот нейтрофила при участии фермента пептидил-аргинин деиминазы 4 типа (peptidyl arginine deiminase type 4, PAD-4) нейтрофильной внеклеточной ловушки (neutrophil extracellular trap – NET) и значение этого явления в онкологии. Наиболее хорошо изученная роль ловушек – захват бактерий и патогенов, в то время как их возможная роль в противоопухолевом иммунитете оценивается по-разному. Tohme S. и соавт. при исследовании пациентов, которым произведена резекция печени по поводу метастазов колоректального рака, обнаружили, что при интенсивном формировании NET в тканях безрецидивная выживаемость снижалась более чем в 4 раза. Авторы также отмечают, что в экспериментальной

модели на мышах подобный негативный эффект был преодолен путем разрушения NET ферментом ДНКазой или подавлением активности пептидил-аргинин деиминазы [11]. Berger-Achituv S. и соавт. обнаружили NET в образцах опухоли у 2 из 8 пациентов педиатрической клиники, получавших химиотерапию с диагнозом «саркома Юинга». У обоих произошел ранний рецидив в сроки 12-18 мес. У шести пациентов без NETs рецидив не наступил при сроках наблюдения от 13 до 43 мес. Авторы делают вывод, что образование NET опухоль-ассоциированными нейтрофилами (tumor associated neutrophil) имеет протуморогенный эффект при саркоме Юинга и может рассматриваться как негативный прогностический фактор [1]. Поскольку ключевую роль в процессе формирования NETs играет пептидил-аргинин деиминаза 4 типа (PAD-4), осуществляющая цитруллинизацию гистонов в нейтрофилах [7, 14], роль этого фермента в реализации противоопухолевого иммунитета заслуживает отдельного внимания. Цитруллинизация – один из более 200 известных

на сегодня вариантов посттрансляционных модификаций генома, приводящих к изменению структуры и функции белков. Конвертирование пептидил-аргинина в пептидил-цитруллин впервые описано Rogers G. и Simmonds D. в 1958 г., при исследовании протеинов волосяного фолликула [8]. На сегодня известно 5 изоэнзимов: PAD-1-4 и PAD-6, с индивидуальной специфичностью, таргетными субстратами и распределением в тканях. Так, PAD-1, PAD-3 обнаруживаются в эпидермисе и волосяных фолликулах, PAD-2 – в ЦНС, селезенке, скелетных мышцах, лейкоцитах, PAD-4 – в лимфоцитах крови, макрофагах, нейтрофилах, клетках молочной железы и целом ряде злокачественных опухолей, PAD-6 – в ооцитах, эмбриональных стволовых клетках [12]. В нормальных физиологических условиях ферменты неактивны. Для активации необходим высокий уровень кальция, что происходит, например, при смерти клетки, когда кальций проходит из внеклеточного пространства через разрушенную клеточную оболочку или высвобождается из внутриклеточных структур [6]. После активации они осуществляют цитруллинизацию структурных протеинов, таких как виментин, филаггрин, гистоны H1, H2A, H3, H4, и ряда других [4, 9]. Роль PAD-4 в развитии онкологических заболеваний активно изучается.

Chang X. и соавт. провели исследование уровней PAD-4 в крови и тканях в норме и при различных заболеваниях, включая опухоли. При иммуногистохимическом исследовании образцов ткани экспрессия PAD-4 выявлена при всех видах исследованных солидных злокачественных опухолей с разной частотой и более чем в 40% при лимфомах. Экспрессия PAD-4 в 96,8-100% была обнаружена при раке молочной железы, мочевого пузыря, яичников, остеосаркоме, раке легкого (аденокарциноме), желудка, печени, кожи, эндометрия, хондроме; в 84-95% – еще при нескольких видах рака. При этом значимого повышения уровня не было найдено при лейомиоме желудка, миоме матки, гиперплазии эндометрия, нейрофиброме, шванноме и ряде других доброкачественных опухолей. Из 150 исследованных образцов рака молочной железы экспрессия PAD-4 выявлена в 96% случаев (144 образца из 150), а при фиброаденоме молочной железы – только в 6,5% (5 из 79 случаев). Уровень mPNC, кодирующей PAD-4, при фиброаденомах молочной железы был ниже, чем при раке, но выше, чем в

здоровых тканях. Также было проведено 1121 исследование уровня PAD-4 в крови (метод ELISA). Забор крови у пациентов со злокачественными опухолями производился за 4-6 дней до удаления опухоли и повторно – после операции, а также тесты были проведены у пациентов с доброкачественными новообразованиями, неопухолевыми воспалительными заболеваниями и здоровых добровольцев. Уровень PAD-4 в крови был значимо повышен у пациенток с раком молочной железы ($n = 112$), гепатоцеллюлярной карциномой, раком легкого, пищевода, желудка, толстой и прямой кишки, поджелудочной железы, яичника, простаты, шейки матки и мочевого пузыря ($p < 0,01$), но не был повышен при раке эндометрия и щитовидной железы, миоме матки. После удаления опухоли уровень фермента значительно уменьшался при раке молочной железы, гепатоцеллюлярной карциноме, раке легкого, желудка, толстой и прямой кишки, поджелудочной железы ($p < 0,05$). Пациенты с фиброаденомой молочной железы, аденомой щитовидной железы, гепатитами А и В, циррозом печени, пульмонитом, острым панкреатитом или аппендицитом имели более высокий уровень фермента, чем здоровые, а при циррозе печени – даже более высокий, чем при злокачественных новообразованиях [3]. Позднее авторы высказывали предположение, что обнаруженное ими исчезновение CD34 с поверхности опухолевых клеток, экспрессирующих PAD-4, может быть компонентом защиты опухолевой клетки от иммунной системы. По их мнению, повышенный уровень активности PAD в опухолевой ткани, цитруллинизация гистонов и структурных протеинов могут приводить к дисрегуляции экспрессии генов, в том числе генов-супрессоров опухолевого роста, стимулируя туморогенез и подавляя апоптоз [2]. По данным Guo Q., цитруллинизация при участии PAD-4 протеина «ингибитор роста 4» (ING4) предотвращает связывание последнего с геном p53, подавляя соответствующий сигнальный путь, что стимулирует пролиферацию [5]. Данные о роли PAD-4 в развитии опухолевого заболевания противоречивы. Stadler S. и соавт. считают, что PAD-4 снижает инвазивные свойства рака молочной железы *in vitro* и *in vivo*. В этом исследовании, проведенном на культуре клеток РМЖ и ксенографте у лабораторных животных, подавление активности PAD-4 приводило к увеличению эпителиально-мезенхимальных

переходов и инвазии [10]. По мнению других авторов, роль PAD-4 в туморогенезе и течения опухолевого процесса разнонаправлена при разных видах опухолей [13].

Несмотря на уже проведенные исследования, убедительно продемонстрировавшие повышение уровня PAD-4 при раке молочной железы и целом ряде других злокачественных опухолей, наши знания о роли фермента в возникновении и развитии заболевания весьма ограничены. В доступной нам литературе оценка уровня фермента при различных молекулярно-генетических подтипах РМЖ не проводилась, что является свидетельством актуальности исследования.

Цель исследования — определить уровень фермента PAD-4 в крови первичных пациенток с раком молочной железы различных молекулярно-генетических подтипов.

Материалы и методы

Исследован уровень пептидил-аргинин деиминазы 4 типа (PAD-4) в сыворотке крови 98 первичных пациенток с диагнозом «рак молочной железы», проходивших лечение в ГБУЗ «Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины» с января 2017 по апрель 2018 года. В исследуемой

группе больше всего было пациенток со 2-й стадией заболевания — 44, с 1-й стадией — 29, с 3-й стадией — 22, с 4-й стадией — 3. Пациентки с 4-й стадией получали химиотерапевтическое лечение, все остальные были радикально прооперированы, из них 15 — после завершения дооперационной химиотерапии. Забор крови производился до начала любого вида специального лечения и в 41 случае — повторно после радикальной операции. В качестве контроля использованы образцы сыворотки крови, взятые у 20 здоровых женщин-доноров областной станции переливания крови. Средний возраст женщин в исследуемой группе — 54,2 года (31-79), в контрольной — 55,6 лет. Исследование фермента проводилось с помощью Human PADI4 (Peptidyl arginine deiminase type IV) ELISA Kit (Wuhan Fine Biotech Co., Ltd, КНР) на автоматическом анализаторе ADALTI Personal LAB (Adaltis S.r.l., Италия). Статистический анализ выполнялся с помощью IBM SPSS Statistics 19.

Результаты

Медиана уровня PAD-4 до лечения в крови больных женщин составила 9,0 (7,0-12,1) нг/мл, в крови здоровых 1,5 (0,0-2,0) нг/мл, различие

ТАБЛИЦА 1. УРОВЕНЬ ПЕПТИДИЛ-АРГИНИН ДЕИМИНАЗЫ 4 ТИПА (PAD-4) В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПОДТИПАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И В КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЕ (ЗДОРОВЫЕ ЖЕНЩИНЫ)

TABLE 1. SERUM LEVEL OF ENZYME PEPTIDYL ARGININE DEIMINASE TYPE 4 (PAD-4) IN DIFFERENT MOLECULAR-BIOLOGICAL SUBTYPES OF BREAST CANCER AND CONTROL GROUP (HEALTHY INDIVIDUALS)

| Молекулярно-биологический подтип Molecular-biological subtype | Число наблюдений Amount of cases | Среднее значение PAD-4, нг/мл Mean value PAD-4, ng/ml | Ст. ошибка Mean-square error |
|--|-------------------------------------|--|---------------------------------|
| Люминальный А Luminal A | 35 | 11,0514 | 0,93345 |
| Люминальный В HER2- Luminal B HER2- | 22 | 11,8955 | 1,15362 |
| Люминальный В HER2+ Luminal B HER2+ | 12 | 10,7917 | 2,89177 |
| Нелюминальный HER2+ Non-luminal HER2+ | 7 | 7,9857 | 0,47027 |
| Тройной негативный Triple negative | 8 | 9,9 | 1,466 |
| Контрольная группа Control group | 20 | 1,92 | 0,314 |

статистически значимо (U-критерий Манна–Уитни, $U = 38,500$, $p < 0,001$). Все женщины исследуемой группы были разделены по суррогатным критериям стандартного иммуногистохимического исследования на 5 молекулярно-биологических подтипов: 1 – люминальный рак А (положительные рецепторы эстрогена и прогестерона, $Ki-67 \leq 20\%$), 2 – люминальный рак В HER2 отрицательный ($Ki-67 > 20\%$), 3 – люминальный В HER2 положительный рак, 4 – нелюминальный HER2 положительный рак, 5 – тройной негативный рак. Результаты тестирования для этих подгрупп и контрольной группы показаны в таблице 1.

Среднее значение PAD-4 для люминальных подтипов рака оказалось равным $11,6 \pm 6,14$ нг/мл, для нелюминальных – $8,82 \pm 3,31$ нг/мл, различие значимо при $p = 0,041$. У 41 пациентки кровь была взята повторно, через 20-24 дня после операции. Медиана уровня фермента после операции составила 9,0 нг/мл (6,9-13,1), значимых отличий с уровнем до лечения нет (критерий Вилкоксона $Z = -0,54$, $p = 0,59$). При исследовании непараметрических корреляций (тест Спирмена) уровня PAD-4 до лечения с размером опухоли, возрастом пациентки, SUV опухоли при позитронно-эмиссионной томографии, количеством пораженных лимфоузлов, степенью злокачественности, стадией по TNM, уровнем KI-67 имелась корреляционная связь с возрастом ($r_s = 0,2$; $p = 0,049$). При исследовании корреляций с теми же показателями уровня PAD-4 после лечения имелась корреляционная связь со значением N в классификации TNM ($r_s = 0,346$; $p = 0,031$). Для SUV опухоли установлена средняя прямая корреляционная связь с молекулярно-биологическим подтипом опухоли ($r_s = 0,57$; $p = 0,031$),

с уровнем KI-67 ($r_s = 0,634$; $p < 0,001$) и слабая со степенью злокачественности ($r_s = 0,352$; $p = 0,030$).

Обсуждение

Полученные данные свидетельствуют, что уровень пептидил-аргинин деиминазы 4 типа (PAD-4) в сыворотке крови пациенток с диагнозом «рак молочной железы» значимо выше, чем у здоровых женщин, что согласуется с литературными данными. В нашем исследовании не подтверждено описанное другими авторами снижение уровня фермента после удаления опухоли. При контрольном заборе крови через 20-24 дня после операции значимого снижения уровня фермента в нашем исследовании не выявлено. Прямое сравнение результатов считаем неоправданным – использовались разные тест-системы, разные контингенты больных, сроки забора материала. По нашим данным, уровень PAD-4 при более благоприятном по прогнозу люминальном раке молочной железы оказался выше, чем при более агрессивном нелюминальном и тройном негативном раке. Это может свидетельствовать о более эффективной защите от иммунного ответа более агрессивных опухолей, хотя эта гипотеза на данный момент не может считаться подтвержденной.

В целом сделаны только первые шаги к пониманию возможной роли пептидил-аргинин деиминазы 4 типа в патогенезе рака молочной железы. Оценивая результаты тестирования при разных подтипах рака молочной железы, следует учитывать, что гетерогенность заболевания далеко не исчерпывается упрощенным разделением на подтипы по результатам иммуногистохимического исследования.

Список литературы / References

1. Berger-Achituv S., Brinkmann V., Abed U.A., Kühn L.I., Ben-Ezra J., Elhasid R., Zychlinsky A. A proposed role for neutrophil extracellular traps in cancer immunoediting. *Front. Immunol.*, 2013, Vol. 4, pp. 1-5.
2. Chang X., Fang K. PADI4 and tumorigenesis. *Cancer Cell Int.*, 2010, Vol. 10, no. 7, pp. 1-6.
3. Chang X., Han J., Pang L., Zhao Y., Yang Y., Shen Z. Increased PADI4 expression in blood and tissues of patients with malignant tumors. *BMC Cancer*, 2009, Vol. 9, pp. 1-11.
4. Christophorou M.A., Castelo-Branco G., Halley-Stott R.P., Oliveira C.S., Loos R., Radzishewska A., Mowen K.A., Bertone P., Silva J.C., Zernicka-Goetz M., Nielsen M.L., Gurdon J.B., Kouzarides T. Citrullination regulates pluripotency and histone H1 binding to chromatin. *Nature*, 2014, Vol. 507, no. 7490, pp. 104-108.
5. Guo Q., Fast W. Citrullination of inhibitor of growth 4 (ING4) by peptidylarginine deiminase 4 (PAD4) disrupts the interaction between ING4 and p53. *J. Biol. Chem.*, 2011, Vol. 286, pp. 17069-17078.
6. Hensen S.M., Pruijn G.J. Methods for the detection of peptidylarginine deiminase (PAD) activity and protein citrullination. *Mol. Cell Proteomics.*, 2014, Vol. 13, pp. 388-396.
7. Nauseef W.M., Borregaard N. Neutrophils at work. *Nat. Immunol.*, 2014, Vol. 15, pp. 602-611.

8. Rogers G.E., Simmonds D.H. Content of citrulline and other aminoacids in a protein of hair follicles. *Nature*, 1958, Vol. 182, pp. 186-187.
9. Saiki M., Watase M., Matsubayashi H., Hidaka Y. Recognition of the N-terminal histone H2A and H3 peptides by peptidylarginine deiminase IV. *Protein Pept. Lett.*, 2009, Vol. 16, pp. 1012-1016.
10. Stadler S.C., Vincent C.T., Fedorov V.D., Patsialou A., Cherrington B.D., Wakshlag J.J., Mohanan S., Zee B.M., Zhang X., Garcia B.A., Condeelis J.S., Brown A.M., Coonrod S.A., Allis C.D. Dysregulation of PAD4-mediated citrullination of nuclear GSK3 β activates TGF- β signaling and induces epithelial-to-mesenchymal transition in breast cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2013, Vol. 110, pp. 11851-11856.
11. Tohme S., Yazdani H.O., Al-Khafaji A.B., Chidi A.P., Loughran P., Mowen K., Wang Y., Simmons R.L., Huang H., Tsung A. Neutrophil extracellular traps promote the development and progression of liver metastases after surgical stress. *Cancer Res.*, 2016, Vol. 76, pp. 1367-1380.
12. Wang S., Wang Y. Peptidylarginine deiminases in citrullination, gene regulation, health and pathogenesis. *Biochim. Biophys. Acta.*, 2013, Vol. 1829, pp. 1126-1135.
13. Witalison E., Thompson P., Hofseth L. Protein arginine deiminases and associated citrullination: physiological functions and diseases associated with dysregulation. *Curr. Drug. Targets.*, 2015, Vol. 16, pp. 700-710.
14. Zawrotniak M., Rapala-Kozik M. Neutrophil extracellular traps (NETs) – formation and implications. *Acta Biochim. Pol.*, 2013, Vol. 60, pp. 277-284.

Авторы:

Терешин О.С. – к.м.н., заведующий отделением опухолей молочной железы ГБУЗ «Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины», г. Челябинск, Россия

Семенова А.Б. – д.м.н., заведующая лабораторно-диагностической службой ГБУЗ «Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины», г. Челябинск, Россия

Важенин А.В. – д.м.н., профессор, академик РАН, заслуженный врач РФ, главный врач ГБУЗ «Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины», г. Челябинск, Россия

Долгушин И.И. – д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заслуженный деятель науки РФ, директор НИИ иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Никושкина К.В. – к.м.н., ведущий научный сотрудник НИИ иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Никонова Т.И. – младший научный сотрудник НИИ иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Authors:

Tereshin O.S., PhD (Medicine), Head, Breast Oncology Department, Chelyabinsk Regional Clinical Center of Oncology and Nuclear Medicine, Chelyabinsk, Russian Federation

Semenova A.B., PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory Department, Chelyabinsk Regional Clinical Center of Oncology and Nuclear Medicine, Chelyabinsk, Russian Federation

Vazhenin A.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Chief Physician, Chelyabinsk Regional Clinical Center of Oncology and Nuclear Medicine, Chelyabinsk, Russian Federation

Dolgushin I.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Honored Scientist of the Russian Federation, Director, Institute of Immunology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Nikushkina K.V., PhD (Medicine), Leading Research Associate, Institute of Immunology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Nikonova T.I., Junior Research Associate, Institute of Immunology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Поступила 31.05.2019

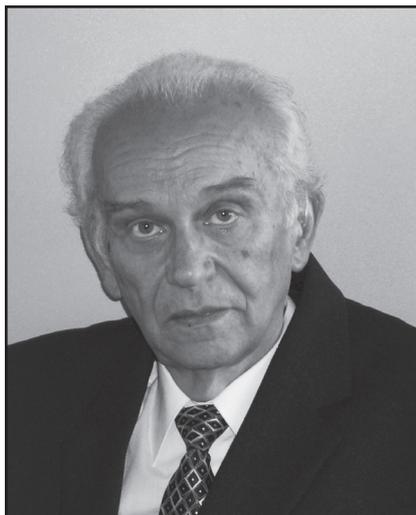
Отправлена на доработку 20.09.2019

Принята к печати 18.12.2019

Received 31.05.2019

Revision received 20.09.2019

Accepted 18.12.2019



АРИОН
ВИТАЛИЙ ЯКОВЛЕВИЧ
10.12.1933 – 09.02.2020

9 февраля 2020 года на 87-м году жизни скончался Виталий Яковлевич Арион, доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, академик РАЕН, лауреат премии Правительства РФ.

Виталий Яковлевич родился 10 декабря 1933 года в селе Марулешты, Молдавия.

В 1955 г. окончил Ленинградское военное училище военных сообщений и с 1955 по 1960 год служил в ВС СССР.

После демобилизации с 1960 по 1965 год учился в МГУ им. М.В. Ломоносова на биолого-почвенном факультете.

В 1965-1970 гг. работал стажером-исследователем, младшим научным сотрудником лаборатории нуклеиновых кислот Института молекулярной биологии АН СССР.

В 1968 г. защитил кандидатскую диссертацию, а в 1990 г. — докторскую диссертацию на тему: «Тактивин — физико-химические и биологические свойства».

В 1970-1984 гг. заведовал созданной им лабораторией молекулярной иммунологии во 2-м МОЛГМИ им. Н.И. Пирогова.

В 1984-2016 гг. работал заведующим лабораторией молекулярной иммунологии, заместителем директора по научной работе НИИ физико-химической медицины МЗ РФ, главным научным сотрудником ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА России. При непосредственном участии Виталия Яковлевича был создан и принят к производству медицинский препарат «Тактивин», за что в 1997 году он был удостоен премии Правительства РФ.

В.Я. Арион преподавал в вузах СССР, Вьетнама, Мексики. Подготовил 10 докторов и 36 кандидатов наук. Областями его научных интересов были: иммунология, тимология, связь иммунной и нервной систем. Имеет более 600 научных публикаций, включая монографии.

Был награжден орденом «Знак Почета», медалью «За заслуги перед отечественным здравоохранением», международной медалью имени Пауля Эрлиха. Был членом Союза иммунологов СССР и России, членом нескольких диссертационных советов по иммунологии.

Виталия Яковлевича ценили за деловые качества, умение добиваться поставленных целей, за доброту, терпимость и заботу. Он был хорошим человеком, прекрасным, заботливым отцом, мужем и дедом. Память о нем навсегда останется в наших сердцах.

Выражаем глубокие соболезнования всем родным, близким, коллегам и всем, кто знал и любил его.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Статьи представляются в редакцию через систему электронного издательства (<http://rusimmun.ru>) в соответствии с требованиями журнала «Российский иммунологический журнал» и «Инструкцией по подготовке и отправке статьи», представленной на сайте.

В журнал принимаются следующие виды публикаций:

Оригинальная статья

Статья должна описывать результаты законченного исследования. Допускается объем статьи до 20 машинописных страниц, включая рисунки, таблицы. Статья должна содержать: 1) введение; 2) материалы и методы; 3) результаты исследований; 4) обсуждение результатов; 5) благодарности.

- **Введение** содержит обоснование цели и задач проведенного исследования.
- **Материалы и методы** могут излагаться в виде отдельных фрагментов с короткими подзаголовками.
- Все нетрадиционные модификации методов должны быть описаны с достаточной степенью подробности. Для всех используемых в работе реактивов, животных, клеточных культур и т.д. необходимо точно указывать производителей и/или источники получения (с названиями страны, фирмы, института).
- **Результаты** описываются в логической последовательности в виде отдельных фрагментов, разделенных подзаголовками, без элементов обсуждения, без повторения методических подробностей, без дублирования цифровых данных, приведенных в таблицах и рисунках.
- В **обсуждении** проводится детальный анализ полученных данных в сопоставлении с данными литературы, что служит обоснованием выводов и заключений авторов.
- Раздел «**Благодарности**» не является обязательным, но крайне желателен. В этом разделе авторы могут выразить признательность организации, субсидировавшей проведение исследований, коллегам, консультировавшим работу в процессе ее выполнения и/или написания, а также техническому персоналу за помощь в выполнении исследований. Благодарности за предоставление специфических реактивов или оборудования, как правило, помещаются в разделе «Материалы и методы».

Краткие сообщения

Журнал публикует небольшие по объему статьи, которые имеют безусловную новизну и значимость. Эти статьи проходят ускоренное рецензирование и публикуются в короткие сроки. Общий объем краткого сообщения ограничен 8 машинописными страницами, количество рисунков и/или таблиц не может быть более 3, а список использованных литературных источников не должен превышать 15. Титульный лист оформляется, как описано выше. Разделы краткого сообщения аналогичны вышеописанным разделам оригинальной статьи, но не выделяются заголовками и подзаголовками, результаты могут быть изложены вместе с обсуждением.

Обзорные статьи и лекции

Обзорные статьи и лекции в основном заказываются редакцией или могут быть рекомендованы одним из членов редколлегии. Более подробную информацию о правилах оформления этих статей можно узнать в редакции.

Библиографические стандарты описания цитируемых публикаций

Описание статьи из журнала:

Варюшина Е.А., Александров Г.В., Сазонова Т.А., Симбирцев А.С. Изучение влияния местного применения рекомбинантного человеческого интерлейкина-1 β на репарацию язвенных повреждений слизистой оболочки желудка // Цитокины и воспаление, 2012. Т. 11, № 1. С. 64-69. [Varyushina E.A., Alexandrov G.V., Sazonova T.A., Simbirtsev A.S. Study of the effect of local application of recombinant human interleukin-1 β in the repair of ulcerative lesions of gastric mucosa. Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation, 2012, Vol. 11, no. 1, pp. 64-69. (In Russ.)]

Описание статьи из книги (монографии):

Соколова Г.Н., Потапова В.Б. Клинико-патогенетические аспекты язвенной болезни желудка. М.: Анахарсис, 2009. 328 с. [Sokolova G.N., Potapova V.B. Clinical and pathogenetic aspects of gastric ulcer]. Moscow: Anacharsis, 2009. 328 p.

Примеры правильного оформления англоязычных ссылок:

Wells S.M., Kantor A.B., Stall A.M. CD43(S7) expression identifies peripheral B-cell subsets. *J. Immunol.*, 1994, Vol. 153, no. 12, pp. 5503-5515.

Goodman J.W., Parslow T.G. Immunoglobulin proteins. *Basic and Clinical Immunology*. Ed.

Stites D.P., Terr A.I., Parslow T.G., Appleton & Lange, 1994, pp. 66-79.

Ссылки на литературные источники в тексте статьи, в рисунках и таблицах обозначаются арабскими цифрами в квадратных скобках [1, 2, 3,...]. не допускаются ссылки на диссертации, авторефераты диссертаций, публикации в сборниках, методические документы местного уровня. Количество источников не ограничено. В каждой ссылке приводятся все авторы работы. Неопубликованные статьи в список не включаются.

Обозначения, сокращения и единицы измерения

Для сложных терминов или названий, наиболее часто используемых в тексте статьи, можно ввести (в круглых скобках после первого упоминания полного названия термина) не более 3–5 нетрадиционных сокращений. Установленные международными номенклатурами сокращения используются в соответствующей транскрипции. Например, для термина «интерлейкин» используется сокращение «IL», а не русскоязычный вариант «ИЛ»; аналогично этому используются сокращения: «TNF», а не «ТНФ» или «ФНО»; «CD», а не «СД». Названия микроорганизмов приводятся в оригинальной транскрипции с использованием курсива (*E. coli*, *Streptococcus pyogenes*). Единицы измерения приводятся без точки после их сокращенного обозначения (с, ч, см, мл, мг, kDa и т.д.), регламентированного международными правилами.

Оформление иллюстративного материала

Иллюстративный материал должен быть оригинальным, то есть ранее нигде не опубликованным. Общее количество иллюстраций (таблиц и рисунков) не должно превышать восьми. При большем количестве иллюстраций их публикация оплачивается автором. Публикация цветных иллюстраций (независимо от их количества) также оплачивается автором. Весь иллюстративный материал присылается в двух экземплярах и на диске в виде отдельных файлов.

Размеры иллюстраций:

- максимальная высота – 210 мм
- максимальная ширина для 1 столбца – 82 мм, для 2 столбцов – 170 мм

Таблицы. Каждая таблица печатается на отдельном листе (в отдельном файле на диске) через 2 интервала. Нумерация таблиц дается арабскими цифрами отдельно от нумерации рисунков (графиков и фото-

графий). Название печатается над таблицей. Весь текст на русском языке, содержащийся в таблице, включая единицы измерения, должен быть переведен на английский язык; при этом перевод следует помещать в ячейку с соответствующим русским текстом отдельной строкой. Название таблицы и текст примечания к ней также должны быть переведены на английский язык и приведены под русским текстом с новой строки. Для пометок в таблицах следует использовать одну или несколько (*). Пояснения печатаются после соответствующего количества (*) под таблицей. Единицы измерения, при необходимости, включаются в заголовки строк или столбцов.

Рисунки (графики и фотографии). В тексте статьи названия рисунков (графиков, фотографий) и таблиц размещаются сразу после абзаца, где на них дается первая ссылка. Все рисунки нумеруются последовательно арабскими цифрами по мере их использования в тексте статьи. Названия рисунков и подписи к ним выносятся в виде списка на отдельную страницу. В списке указываются: номер рисунка, название (с большой буквы), текст примечаний (для микрофотографий должно быть указано увеличение). Подписи к рисункам даются краткие, но достаточно информативные. Названия рисунков и примечаний к ним, нарисованные подписи, текст легенды должны быть переведены на английский язык и размещены под соответствующим текстом с новой строки. Рисунки могут быть представлены в графических форматах с расширением .tiff (разрешение не менее 300 dpi при 100% масштабе), .eps или .ai. Изображения, встроенные в документы Word, не принимаются. Графики и диаграммы предоставляются вместе с таблицами, на основе которых они были созданы, или с численными обозначениями показателей, отображаемых соответствующими графическими элементами (столбиками, секторами и т.п.) в виде файлов с расширениями .doc или, предпочтительнее, .xls.

Плата за публикацию статей

При соблюдении правил публикация статей в журнале «Российский иммунологический журнал» является бесплатной для авторов и учреждений, в которых они работают. Редакция может потребовать оплату в следующих случаях: 1) за публикацию цветных иллюстраций; 2) при большом количестве иллюстративного материала (свыше 8 иллюстраций).

Подготовка статей

Для представления статьи авторы должны подтвердить нижеследующие пункты. Рукопись может быть возвращена авторам, если она им не соответствует.

1. Направляя статью в журнал, авторы гарантируют, что поданные материалы не были ранее опубликованы полностью или по частям, в любой форме, в любом месте или на любом языке. Так же авторы гарантируют, что статья не представлена для рассмотрения и публикации в другом журнале. С момента принятия статьи к печати в журнале «Российский иммунологический журнал» приведенный в ней материал не может быть опубликован авторами полностью или по частям в любой форме, в любом месте и на любом языке без согласования с руководством журнала. Исключением может являться: 1) предварительная или последующая публикация материалов статьи в виде тезисов или короткого резюме; 2) использование материалов статьи как части лекции или обзора; 3) использование автором представленных в журнал материалов при написании диссертации, книги или монографии.

Воспроизведение всего издания или части любым способом запрещается без письменного разрешения издателей. Нарушение закона будет преследоваться в судебном порядке. Охраняется Законом РФ № 5351-1 «Об авторском праве и смежных правах» от 09.07.93 г.

2. Файл отправляемой статьи представлен в формате .doc, .docx, .rtf.

3. Помимо файла со статьей, предоставлены следующие файлы:

1) Файл с метаданными (при загрузке в систему ему присваивается имя «Метаданные»):

- Фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность автора, ответственного за дальнейшую переписку с редакцией (на русском и английском языках).

- Название учреждения, где работает ответственный автор (в русском и официально принятом английском вариантах).

- Почтовый адрес для переписки с указанием почтового индекса (на русском и английском языках).

- Телефон, факс (с указанием кода страны и города), e-mail.

- Фамилия и инициалы остальных соавторов, их ученые степени, ученые звания, должности.

- Полное название статьи, направляемой в редакцию.

- Количество страниц текста, количество рисунков, количество таблиц.

- Указать, для какого раздела журнала предназначена работа: оригинальные статьи, лекции, обзоры, «точка зрения», краткие сообщения, новые иммунологические методы, случаи из практики, дневник иммунолога, книжное обозрение.

- Дата отправления работы.

2) Отсканированная копия файла с метаданными подписанная всеми авторами (при загрузке в систему ему присваивается имя «Подписи авторов»)

3) Титульный лист (при загрузке в систему ему присваивается имя «Титульный лист»), по форме:

- название статьи (без использования каких-либо сокращений, на русском и английском языках);

- Фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность каждого из соавторов статьи (полностью, на русском и английском языках);

- подразделение и учреждение, в котором выполнялась работа (В случае, если авторами статьи являются сотрудники разных учреждений, то последние нумеруются по порядку, начиная с единицы, и соответствующая цифра размещается после фамилии автора, представляющего данное учреждение. Для маркировки авторов в англоязычной части статьи вместо цифр используются латинские буквы (a, b, c, d и т.д.);

- сокращенное название статьи для верхнего колонтитула (не более 35 символов, включая пробелы и знаки препинания, на русском и английском языках);

- не менее 6 ключевых слов на русском и английском языках (на русском и английском языках);

- адрес для переписки с указанием телефона, номера факса и адреса e-mail.

4) Резюме (при загрузке в систему ему присваивается имя «Резюме»). Предоставляется в виде одного абзаца без ссылок и специфических сокращений. Объем — не менее 300 слов. Резюме в полном объеме представляется также в переводе на английский язык. В отдельных случаях, по решению редакционной коллегии, может быть затребован развернутый вариант резюме на английском языке.

5) Рисунки, если они есть — каждый отдельным файлом (при загрузке в систему каждому

рисунку присваивается имя «Рисунок_Порядковый номер рисунка. Название рисунка»).

6) Файл в формате .doc, .docx., rtf, с названиями рисунков

7) Таблицы, если они есть – каждая отдельным файлом (Название каждой таблицы должно быть приведены заголовком в файле с самой таблицей)

8) Файл с цитируемой литературой (при загрузке в систему ему присваивается имя «Литература»), по следующей форме: таблица из четырех столбцов (альбомная ориентация), где:

| Порядковый номер ссылки | Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные | ФИО, название публикации и источника на английском | Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи |
|---|--|---|---|
| Размещаются в таблице в алфавитном порядке, вначале русскоязычные, затем на языках с латинской графикой | Указывать по библиографическому стандарту, представленному выше | Официальное англоязычное название публикации и источника, где она опубликована – для русскоязычных статей. В редких случаях, когда не существует официальных англоязычных названий (это возможно для таких типов публикаций, как тезисы, книги и др.) – редакция просит предоставить их перевод, используя красный цвет шрифта. <i>Для англоязычных публикаций и источников в этом столбце ставится прочерк</i> | В том случае, если информация о статье не размещена на официальном сайте издания, допустимо использовать URL статьи со сторонних сайтов, в том числе системы www.e-library.ru |

4. Текст набран с одинарным межстрочным интервалом; используется кегль шрифта в 14 пунктов; для выделения используется курсив, а не подчеркивание; все ссылки на иллюстрации, графики и таблицы расположены в соответствующих местах в тексте, а не в конце документа.

5. Текст соответствует стилистическим и библиографическим требованиям, описанным в Правилах для авторов, расположенных на странице «О Журнале».

6. Если вы отправляете статью в рецензируемый раздел журнала, то вы согласны с требованиями слепого рецензирования, подробнее о котором можно узнать из раздела Рецензирование, на странице «О Журнале».

Авторские права

Авторы, публикующие в данном журнале, соглашаются со следующим:

1. Авторы сохраняют за собой авторские права на работу и предоставляют журналу право первой публикации работы на условиях лицензии Creative Commons Attribution License, которая позволяет другим распространять данную работу с обязательным сохранением ссылок на авторов оригинальной работы и оригинальную публикацию в этом журнале.

2. Авторы сохраняют право заключать отдельные контрактные договорённости, касающиеся неэксклюзивного распространения версии работы в опубликованном здесь виде (например, размещение ее в институтском хранилище, публикацию в книге), со ссылкой на ее оригинальную публикацию в этом журнале.

3. Авторы имеют право размещать их работу в сети Интернет (например, в институтском хранилище или персональном сайте) до и во время процесса рассмотрения ее данным журналом, так как это может привести к продуктивному обсуждению и большему количеству ссылок на данную работу (См. The Effect of Open Access).

Приватность

Имена и адреса электронной почты, введенные на сайте этого журнала, будут использованы исключительно для целей, обозначенных этим журналом, и не будут использованы для каких-либо других целей или предоставлены другим лицам и организациям.

Вы можете оформить подписку на журнал «Российский иммунологический журнал» через отделения связи: Каталог «Пресса России» – индекс 15590. Подписка на электронную версию журнала на сайте www.e-library.ru

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

| | | | |
|------------------------|--------|------------------------|--------|
| Абакумова Ю.В. | 51 | Масляков В.В. | 51 |
| Антонов А.В. | 69 | Масчан М.А. | 79 |
| Астраханцева И.В. | 27 | Мун С.А. | 61, 69 |
| Асфандиярова Н.С. | 9 | Недоспасов С.А. | 27 |
| Балашов Д.Н. | 79 | Никонова Т.И. | 97 |
| Брежнева Е.В. | 61 | Никушкина К.В. | 97 |
| Бугоркова С.А. | 41 | Новоселецкая А.В. | 35 |
| Важенин А.В. | 97 | Павлова О.Н. | 51 |
| Василенко Е.А. | 27 | Поленок Е.Г. | 61, 69 |
| Вафин И.А. | 61, 69 | Райкина Е.В. | 19 |
| Гладкова Л.С. | 27 | Румянцев А.Г. | 19, 79 |
| Глушков А.Н. | 61, 69 | Саркисян Н.Г. | 91 |
| Гордеева Л.А. | 61, 69 | Семенова А.Б. | 97 |
| Демина О.М. | 19 | Соловьева Д.А. | 91 |
| Долгушин И.И. | 97 | Тарабыкин В.С. | 27 |
| Дроздова Л.И. | 91 | Терешин О.С. | 97 |
| Друцкая М.С. | 27 | Титов В.А. | 69 |
| Киселева Н.М. | 35 | Умарова Д.С. | 91 |
| Колпинский Г.И. | 61, 69 | Федотова Н.Н. | 51 |
| Королев А.Г. | 35 | Хлыстова К.А. | 91 |
| Костянко М.В. | 61, 69 | Шавина Н.Ю. | 41 |
| Курылина А.Ф. | 41 | Щербина А.Ю. | 79 |
| Луценко В.А. | 61, 69 | Щуковская Т.Н. | 41 |

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

| | | | |
|---|----------------|--|------------|
| акне | 19 | паркинсонизм | 35 |
| антимикробная терапия | 92 | патогенез | 9 |
| антитела | 61, 70 | первичные иммунодефициты | 80 |
| аутоиммунные реакции | 9 | полиоксидоний | 92 |
| бензо[а]пирен | 61, 70 | полногеномный мутагенез в мышцах | 28 |
| вакцинный штамм <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ | 41 | прогестерон | 61, 70 |
| вирусы семейства <i>Paramyxoviridae</i> | 9 | протективная активность | 41 |
| воспаление | 9, 19, 28, 52, | противоопухолевый иммунитет | 97 |
| врожденный иммунитет | 19 | рак легкого | 70 |
| гаплоидентичный донор | 80 | рак молочной железы | 61, 70, 97 |
| гендерные различия | 52 | сахарный диабет 2 типа | 9 |
| гистологическое исследование | 92 | септический шок | 28 |
| гуморальное звено системы иммунитета | 52 | тимулин | 35 |
| иммуноадьюванты | 41 | тимус | 35 |
| иммуномодулятор | 92 | трансплантация гемопоэтических | |
| инсулинорезистентность | 9 | стволовых клеток | 80 |
| интерлейкины | 19 | фактор некроза опухоли | 28 |
| ишемический инсульт | 19 | химеризм | 80 |
| клеточное звено системы иммунитета | 52 | хронический пародонтит | 92 |
| лечение | 92 | цитокины | 28 |
| молекулярно-биологический подтип | 97 | чума | 41 |
| | | эстрадиол | 61, 70 |
| | | α -субъединица | 35 |
| | | Na/K-АТФаза | 35 |
| | | TCRaP ⁺ /CD19 ⁺ деплеция | 80 |

ИЛЛЮСТРАЦИИ К СТАТЬЕ «ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОЛИОКСИДОНИЯ В МЕДИКАМЕНТОЗНОМ ЛЕЧЕНИИ МОДЕЛИ ХРОНИЧЕСКОГО ПАРОДОНТИТА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)» (АВТОРЫ: САРКИСЯН Н.Г., ДРОЗДОВА Л.И., УМАРОВА Д.С., СОЛОВЬЕВА Д.А., ХЛЫСТОВА К.А. [С. 91-96])

ILLUSTRATIONS FOR THE ARTICLE «EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF POLYOXIDONIUM IN THE MEDICAL TREATMENT OF A MODEL OF CHRONIC PERIODONTITIS (EXPERIMENTAL EXAMINATION)» (AUTHORS: SARKISYAN N.G.A, UMAROVA D.S., SOLOVYOVA D.A., DROZDOVA L.I., KHLYSTOVA K.A. [С. 91-96])

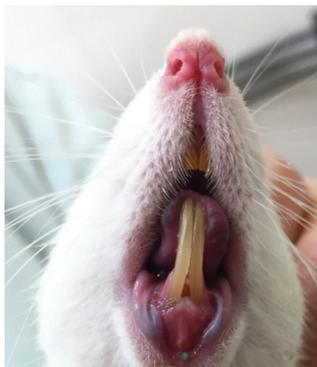


Рисунок 1. Гиперемия и отек десны в области нижних центральных резцов на модели хронического пародонтита

Figure 1. Hyperemia and edema of the gums in the area Central incisors on the model of chronic periodontitis.

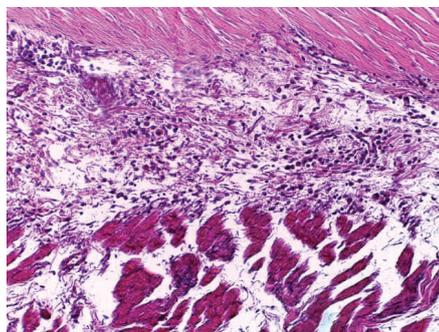


Рисунок 2. Лейкоцитарная реакция в слизистой оболочке десны (окраска гематоксилином и эозином)

Примечание. На 7-е сутки после лечения, 1-я группа (полиоксидоний). Ув. ×200.

Figure 2. Leukocytic reaction in the gingival mucosa (staining with hematoxylin and eosin)

Note. On the 7th day after treatment, group 1 (polyoxidonium). Magnification ×200.

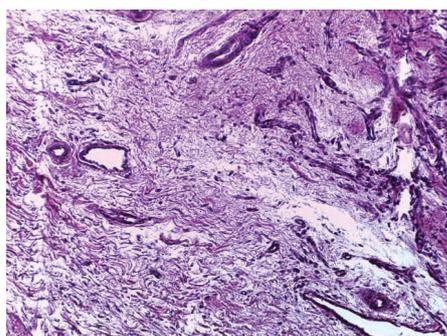


Рисунок 3. Рассеянная лимфоплазмочитарная инфильтрация в слизистой оболочке десны (окраска гематоксилином и эозином)

Примечание. На 21-е сутки после лечения, 1-я группа (полиоксидоний). Ув. ×200.

Figure 3. Diffuse lymphoplasmocytic infiltration in the gingival mucosa (staining with hematoxylin and eosin)

Note. On the 21st day after treatment, group 1 (polyoxidonium). Magnification ×200.

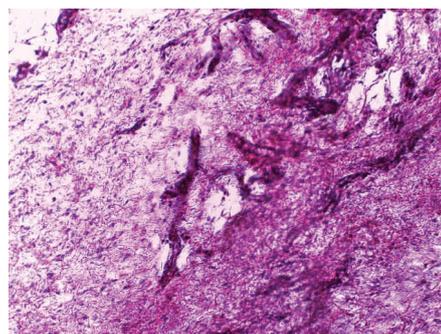


Рисунок 4. Разрастание соединительной ткани в слизистой оболочке десны (окраска гематоксилином и эозином)

Примечание. На 7-е сутки после лечения 2-я группа («Метрогил Дента»). Ув. ×200.

Figure 4. Growth of connective tissue in the gum mucosa (staining with hematoxylin and eosin)

Note. On the 7th day after treatment, the 2nd group ("Metrogil Denta"). Magnification ×200.

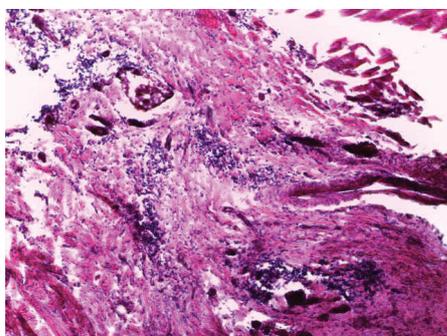


Рисунок 5. Плотная соединительная ткань. Умеренная инфильтрация лейкоцитами в слизистой оболочке десны (окраска гематоксилином и эозином)

Примечание. На 14-е сутки после лечения, 2-я группа («Метрогил Дента»). Ув. ×200.

Figure 5. Thick connective tissue. Moderate leukocyte infiltration in the gingival mucosa (stained with hematoxylin and eosin)

Note. On the 14th day after treatment, the 2nd group ("Metrogil Denta"). Magnification ×200.

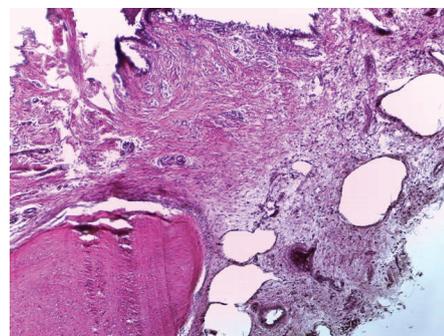


Рисунок 6. Рассеянная инфильтрация лейкоцитами, более оформленная соединительная ткань в слизистой оболочке десны (окраска гематоксилином и эозином)

Примечание. На 21-е сутки после лечения, 2-я группа («Метрогил Дента»). Ув. ×100.

Figure 6. Diffuse leukocyte infiltration, more formed connective tissue in the gingival mucosa (hematoxylin and eosin staining)

Note. On the 21st day after treatment, the 2nd group ("Metrogil Denta"). Magnification ×100.

**ПОДПИСНОЙ ИНДЕКС:
ПРЕССА РОССИИ – 15590**

ISSN 1028-7221



9 771234 567898