

НОВЫЙ ПОДХОД К ИММУНОСУПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ С НЕФРОТИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Кудряшов С.И.¹, Стенина М.А.², Карзакова Л.М.¹, Луткова Т.С.¹

¹ ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», г. Чебоксары, Россия

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

Резюме. Гломерулонефриты (ГН) — группа иммуновоспалительных заболеваний почек с преимущественным поражением клубочков, трудно поддающихся лечению. Наибольшие проблемы доставляет лечение ГН с нефротическим синдромом, который зачастую имеет рецидивирующее течение. Цель исследования — изучение эффективности включения рекомбинантного интерлейкина-2 (rIL-2) в комплекс лечения ГН с нефротическим синдромом. В исследование было отобрано 62 пациента с нефротической формой первичного ГН с частыми рецидивами, госпитализированных в нефрологическое отделение. Возраст больных — от 18 до 65 лет. Больным проводили стандартное обследование, а также иммунологические исследования до назначения противорецидивного лечения и через 12 месяцев от начала лечения: иммунофенотипирование лимфоцитов с идентификацией Т- и В-лимфоцитов, иммунорегуляторных и активированных субпопуляций Т-лимфоцитов, определение в моче уровней иммуноглобулинов IgM, IgG, IgA иммунотурбидиметрическим методом, провоспалительных цитокинов — IL-1 β , IL-8, IL-17A и противовоспалительного цитокина IL-10 методом иммуноферментного анализа. В результате проведенного исследования у обследованных больных установлено увеличение показателей содержания Т-хелперных, активированных Т-лимфоцитов (CD8⁺HLA-DR⁺CD45⁺, CD3⁺CD8^{bright}CD38⁺) на фоне уменьшения числа Treg-клеток и повышенное содержание в моче провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-8, IL-17A и иммуноглобулинов всех трех классов.

Когорта отобранных в исследование пациентов с ГН была разделена на две группы (основная группа и группа сравнения). Схема лечения больных основной группы включала помимо нефропротективной и стероидной терапии rIL-2, а группы сравнения — Циклофосфан. Независимо от применяемого способа в результате лечения снижались относительно исходных значений уровни белка, IgG и IL-17A в моче, уменьшалось содержание В-клеток и HLA-DR⁺-цитотоксических Т-лимфоцитов в крови. Отмеченные изменения были более выражены в основной группе больных и спустя 12 месяцев от начала лечения перечисленные показатели основной группы стали существенно различаться от таковых в группе сравнения. Сывороточный уровень креатинина, число Т-хелперных клеток и Treg-клеток, уровень IL-1 β в моче не претерпевали существенных изменений в группе сравнения, в то вре-

Адрес для переписки:

Кудряшов Сергей Игоревич
ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет
имени И.Н. Ульянова»
428015, Россия, г. Чебоксары, Московский пр., 15.
Тел.: 8 (917) 652-34-99.
E-mail: medicpro21@mail.ru

Address for correspondence:

Sergey I. Kudryashov
I. Ulianov Chuvash State University
15 Moskovsky Ave
Cheboksary
428015 Russian Federation
Phone: +7 (917) 652-34-99.
E-mail: medicpro21@mail.ru

Образец цитирования:

С.И. Кудряшов, М.А. Стенина, Л.М. Карзакова,
Т.С. Луткова «Новый подход к иммуносупрессивной
терапии у больных гломерулонефритом
с нефротическим синдромом» // Медицинская
иммунология, 2024. Т. 26, № 1. С. 181-190.
doi: 10.15789/1563-0625-ANA-2670

© Кудряшов С.И. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

S.I. Kudryashov, M.A. Stenina, L.M. Karzakova,
T.S. Lutkova "A new approach to immunosuppressive therapy
in patients with glomerulonephritis with nephrotic syndrome",
Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya,
2024, Vol. 26, no. 1, pp. 181-190.
doi: 10.15789/1563-0625-ANA-2670

© Kudryashov S.I. et al., 2024

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

DOI: 10.15789/1563-0625-ANA-2670

мя как в основной группе пациентов происходило снижение уровней креатинина в сыворотке крови и IL-1 β в моче, уменьшалось число Т-хелперов и увеличивалось число Treg-клеток. В основной группе больных, леченных rIL-2, среднее число рецидивов за год уменьшилось в 4 раза, в сравниваемой группе — лишь в 1,2 раза. Терапия низкими дозами rIL-2 может рассматриваться как эффективная и безопасная альтернатива традиционной иммуносупрессивной терапии и как новый вариант таргетного лечения ГН с частыми рецидивами нефротического синдрома.

Ключевые слова: иммуносупрессия, гломерулонефрит, рекомбинантный интерлейкин-2, нефротический синдром, Treg-клетки, лечение гломерулонефритов

A NEW APPROACH TO IMMUNOSUPPRESSIVE THERAPY IN PATIENTS WITH GLOMERULONEPHRITIS WITH NEPHROTIC SYNDROME

Kudryashov S.I.^a, Stenina M.A.^b, Karzakova L.M.^a, Lutkova T.S.^a

^a I. Ulianov Chuvash State University, Cheboksary, Russian Federation

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

Abstract. Glomerulonephritis (GN) is a group of immuno-inflammatory kidney diseases with predominant glomerular lesions that are difficult to treat. The greatest problems are caused by the treatment of GN with nephrotic syndrome, which often has a recurrent course. The aim of the research was to study the effectiveness of recombinant interleukin-2 (rIL-2) therapy in the GN patients with nephrotic syndrome.

62 patients with a nephrotic form of primary GN with frequent relapses admitted to the Nephrology Department have been recruited into the study. The age of patients was from 18 to 65 years. The patients underwent standard examinations, as well as immunological studies, before administration of the anti-relapse treatment, and 12 months after the treatment was started. Immunological testing included immunophenotyping of lymphocytes with counting of T and B lymphocytes, immunoregulatory and activated subpopulations of T lymphocytes, determination of urinary immunoglobulins (IgM, IgG, IgA) by immunoturbidimetric assays, proinflammatory cytokines — IL-1 β , IL-8, IL-17A and anti-inflammatory cytokine IL-10 by ELISA tests. As a result of studies, the examined patients showed an increased contents of T helper cells, activated T lymphocytes (CD8⁺HLA-DR⁺CD45⁺, CD3⁺CD8^{bright}CD38⁺) along with decreased numbers of Treg cells and an increased contents of proinflammatory cytokines IL-1 β , IL-8, IL-17A and immunoglobulins of all three classes in urinary samples.

The cohort of patients with GN selected for the study was divided in two groups (the main group and the comparison group). In addition to nephroprotective and steroid therapy, the treatment regimen of patients included rIL-2 in the main group, or cyclophosphamide in the comparison group. Regardless of the method used, the levels of protein, IgG and IL-17A in the urine proved to be decreased relative to the initial values; the contents of B cells and HLA-DR⁺ cytotoxic T lymphocytes in peripheral blood were found to be decreased. The revealed changes were more pronounced in the main group of patients. By 12 months after starting the treatment, the mentioned indexes began to differ significantly in the main group from those in the comparison group. Serum creatinine levels, numbers of T helper cells and Treg cells, IL-1 β levels in urine did not undergo significant changes in the comparison group, whereas a decrease in serum creatinine and urinary IL-1 β was registered in the main group of patients, along with decreased number of T helpers and increased numbers of Treg cells. In the main group of patients treated with rIL-2, the average number of relapses per year decreased by 4 times, showing only a 1.2-fold decrease in the comparison group. Hence, the low-dose therapy with rIL-2 may be considered an effective and safe alternative to conventional immunosuppressive therapy and a new option of the targeted treatment of glomerulonephritis with frequent recurrence of nephrotic syndrome.

Keywords: immunosuppression, glomerulonephritis, recombinant interleukin-2, nephrotic syndrome, Treg cells, treatment of glomerulonephritis

Введение

Гломерулонефриты (ГН) — группа иммуновоспалительных заболеваний почек с преимущественным поражением клубочков. ГН являются одной из распространенных причин развития хронического заболевания почек (ХБП), приводящей к терминальной стадии почечной недостаточности, требующей гемодиализа или трансплантации донорской почки. ГН поражают людей различных регионов мира и всех возрастов, обычно более распространены в молодой возрастной группе и трудно поддаются лечению [2]. Наибольшие проблемы доставляет лечение ГН с нефротическим синдромом, который зачастую имеет рецидивирующее течение. В качестве инициального способа лечения ГН с нефротическим синдромом независимо от морфологической формы заболевания используют стероидную терапию, при рецидивах назначают иммунодепрессанты (микофеноловая кислота, ингибиторы кальциневрина, алкилирующие соединения) и моноклональные антитела [7]. Нередко развивающаяся стероидорезистентность и множество агрессивных сопутствующих эффектов от применения иммунодепрессантов [7] требуют поиска новых подходов к лечению ГН, лишенных побочных эффектов. Известные к настоящему времени результаты исследований на животных позволяют считать основным механизмом развития ГН — нарушение соотношения субпопуляций Т-хелперов (Th), в частности Th17 и Т-регуляторных клеток (Treg-клеток) [1, 15]. Введение цитокина интерлейкин-2 (interleukin-2 — IL-2) мышам с экспериментально созданной моделью волчаночного нефрита приводило к увеличению числа Treg-клеток и уменьшению накопления в почечной ткани CD4⁺ Т-клеток [12]. Описаны первые успешные клинические испытания по использованию человеческого рекомбинантного IL-2 (rIL-2) в лечении пациентов с ревматическими заболеваниями [8]. Однако к настоящему времени не известно об использовании rIL-2 в лечении ГН.

Цель исследования — изучение эффективности включения человеческого rIL-2 в комплекс лечения ГН с нефротическим синдромом рецидивирующего течения.

Материалы и методы

В исследование было отобрано 62 больных ГН, госпитализированных в нефрологическое отделение БУ «Республиканская клиническая больница» Министерства здравоохранения Чувашской Республики в 2015–2022 гг. в связи с рецидивом ГН, а также 25 практически здоровых лиц (контрольная группа). ГН диагностировали, осно-

вываясь на данных клинических, лабораторных, лучевых и гистоморфологических исследований. Часто рецидивирующими считали ГН с нефротическим синдромом, рецидивирующим не менее 2 раз в течение 6 месяцев после адекватного инициального лечения заболевания [7]. Критериями включения служили: возраст от 18 до 65 лет, установление нефротической формы первичного ГН с частыми рецидивами. В качестве критериев исключения рассматривали: вторичный нефротический синдром, сопутствующие заболевания (сердечно-сосудистые, желудочно-кишечные, эндокринные), беременность, возраст старше 65 лет, почечную недостаточность (креатинин сыворотки крови выше 200 мкг/л, скорость клубочковой фильтрации — СКФ, определенная расчетным методом CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration), ниже 60 мл/мин). Медиана значений возраста отобранных в исследование пациентов составила 33 года, при этом межквартильный интервал равнялся 21–44 годам. Среди обследованных больных ГН число мужчин на 16% превышало число женщин. Среди различных морфологических форм ГН преобладала мембранозная нефропатия (у 69%), реже встречались нефропатия с минимальными изменениями (20%) и мезангиопролиферативный ГН (11%). Помимо общепринятого исследования больным проводили иммунологические исследования: идентификацию Т- и В-лимфоцитов, иммунорегуляторных и активированных субпопуляций Т-лимфоцитов методом иммунофенотипирования моноклеарных клеток периферической крови с помощью моноклональных антител (МКАТ), меченных двумя или тремя различными флюоресцирующими метками (реагенты и проточный цитофлуориметр Fc500 производства Beckman Coulter, США). При проведении данных тестов руководствовались методиками, предлагаемыми производителем реактивов. В моче определяли концентрации иммуноглобулинов IgM, IgG, IgA иммунотурбидиметрическим методом с использованием автоматического биохимического анализатора DxC 700 AU (Beckman Coulter, США), содержание провоспалительных цитокинов — IL-1 β , IL-8, IL-17A и противовоспалительного цитокина IL-10 методом иммуноферментного анализа с использованием стандартного набора реагентов (АО «Вектор-Бест», Россия) в соответствии с методикой производителя тест-набора на иммуноферментном анализаторе Infinite F-50 (Tecan, Швейцария). Описанные исследования проводили дважды — до назначения противорецидивного лечения и через 12 месяцев от начала лечения. Полученные показатели у больных ГН сравнивали с таковыми у здоровых лиц.

Когорта отобранных в исследование пациентов с ГН была разделена на две группы (основная группа и группа сравнения) в зависимости от применяемого способа лечения. Основная группа включала пациентов, которым назначали нефропротективную терапию (ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента или антагонисты рецептора ангиотензина II в терапевтических дозах) и rIL-2 — Ронколейкин® (регистрационный номер ЛС-001810 от 27.07.2011, ООО «НПК «Биотех», Россия) в низкой дозе 8000–8300 МЕ/кг подкожно с интервалами в 7 дней ежеквартально в сочетании со стероидной терапией (в расчете на преднизолон 0,75–1 мг/кг в течение первых 28 дней, в последующем 1,5–2 мг через день с постепенным снижением дозы до достижения поддерживающей дозы 2,5 мг). Схема лечения группы сравнения отличалась тем, что вместо rIL-2 назначали цитостатик Циклофосфан в виде пульс-терапии по 15 мг/кг внутривенно через каждые 4 недели. Курс лечения в обеих группах больных длился 6–12 месяцев в зависимости от достижения полной ремиссии, критериями которой считали снижение суточной протеинурии ниже 0,35 г, нормализацию сывороточного уровня креатинина (ниже 116 мкмоль/л) или его снижение в пределах 50% от исходного значения [13].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica версии 10 (США). Перед проведением статистического анализа определяли характер распределения полученных в ходе исследования значений показателей, с этой целью применяли метод Холмогорова—Смирнова. Совокупности значений большинства изучаемых показателей демонстрировали неправильный характер распределения, для проведения статистического анализа этих показателей использовали непараметрические методы. При этом полученные данные представляли в виде $Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$, где Me — медиана, $Q_{0,25}-Q_{0,75}$ — межквартильный интервал частностей показателя. Различия значений показателей между группами исследования оценивали по U-критерию Манна—Уитни (p_{m-w}). Сравнение лабораторных показателей в динамике проводили по критерию Вилкоксона (p_w). Значения некоторых показателей имели правильный характер распределения, для их статистической обработки использовали параметрические методы: данные представляли в виде $M \pm SD$ (M — средняя арифметическая, SD — среднее квадратичное отклонение), различия значений показателей между группами исследования оценивали по критерию Стьюдента (p), динамику показателей до и после лечения — по парному критерию Стьюдента. Дихотомические показатели сравнивали друг с другом с помощью χ^2 -критерия (p_2).

Результаты и обсуждение

При анализе иммунологических показателей крови был выявлен ряд особенностей в Т-системе иммунитета у больных ГН, в частности повышение относительного значения содержания Т-лимфоцитов за счет Т-хелперных клеток, увеличение числа активированных Т-лимфоцитов, экспрессирующих антигены HLA-DR и уменьшение числа Treg-клеток (табл. 1). Что касается В-лимфоцитов, относительное значение их содержания не отличалось от значений здоровых, в то время как абсолютное значение было существенно увеличено.

В таблице 2 представлены показатели содержания иммуноглобулинов основных трех классов и исследуемых цитокинов, нормализованные по уровню креатинина в моче. Нормализация мочевых уровней данных биологических субстратов по креатинину проведена для нивелирования влияния на них экскреторной функции почек. Анализ представленных в таблице данных свидетельствует о повышении содержания в моче иммуноглобулинов и провоспалительных цитокинов у пациентов с ГН.

Таким образом, у больных ГН с нефротическим синдромом рецидивирующего течения увеличены показатели содержания Т-хелперных и активированных Т-лимфоцитов на фоне уменьшения числа Treg-клеток. Последние представляют собой подмножество $CD4^+Th$ -клеток, экспрессирующих фактор транскрипции forkhead box P3 (FoxP3), а также высокие уровни высокоаффинного рецептора IL-2 — IL-2R α (или CD25) [9]. Существуют две основные субпопуляции Treg-клеток в зависимости от места их происхождения. Натуральные Treg-клетки (nTreg-клетки), или тимические (tTreg-клетки), составляют 5–10% от всего числа периферических $CD4^+Th$ -клеток у здоровых людей, развиваются в тимусе путем распознавания собственных антигенов, представленных молекулами большого комплекса гистосовместимости класса II (МНСII) в процессе позитивной селекции. FoxP3 был идентифицирован как ключевой фактор транскрипции Treg-клеток, являющийся основным регуляторным геном для их развития. На периферии nTreg-клетки регулируют активацию эффекторных Т-клеток, распознающих собственные антигены. Они играют решающую роль в индукции толерантности к чужеродным антигенам — пищевым и бактериальным, в частности к антигенам бактерий-комменсалов. Индуцированные Treg-клетки (iTreg-клетки), или периферические Treg-клетки (pTreg-клетки) генерируются на периферии путем дифференцировки наивных $CD4^+FoxP3^-T$ -клеток в $CD4^+FoxP3^+Treg$ -клетки во время антигенной стимуляции в присутствии

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ Т-СИСТЕМЫ ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ГН С НЕФРОТИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ, Ме ($Q_{0,75}$ - $Q_{0,25}$)

TABLE 1. INDICATORS OF THE T SYSTEM OF IMMUNITY IN PATIENTS WITH GN WITH NEPHROTIC SYNDROME, Me ($Q_{0,75}$ - $Q_{0,25}$)

Показатель Indicator	Контрольная группа Control group n = 25	Больные ГН Patients with GN n = 62	p_{m-u}
В-лимфоциты (CD19⁺), × 10⁹/л B lymphocytes (CD19 ⁺), × 10 ⁹ /L	0,22 (0,12-0,42)	0,43 (0,15-0,72)	< 0,001
В-лимфоциты (CD19⁺), % B lymphocytes (CD19 ⁺), %	14,2 (5-24)	17 (9-25)	NS
Т-лимфоциты (CD3⁺CD19⁺), × 10⁹/л T lymphocytes (CD3 ⁺ CD19 ⁺), × 10 ⁹ /L	1,45 (0,80-2,20)	1,97 (1,62-2,16)	NS
Т-лимфоциты (CD3⁺CD19⁺), % T lymphocytes (CD3 ⁺ CD19 ⁺), %	69 (59-81)	76,33 (76,0-87,0)	< 0,05
Т-хелперы (CD3⁺CD4⁺CD45⁺), × 10⁹/л T helpers (CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45 ⁺), × 10 ⁹ /L	0,76 (0,51-0,99)	1,39 (0,88-1,47)	< 0,001
Т-хелперы (CD3⁺CD4⁺CD45⁺), % T helpers (CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45 ⁺), %	41 (32-50)	53,0 (48,02-56,00)	< 0,001
Цитотоксические Т-лимфоциты (CD3⁺CD8⁺CD45⁺), × 10⁹/л Cytotoxic T lymphocytes (CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45 ⁺), × 10 ⁹ /L	0,59 (0,29-0,88)	0,59 (0,47-0,68)	> 0,05
Цитотоксические Т-лимфоциты (CD3⁺CD8⁺CD45⁺), % Cytotoxic T lymphocytes (CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45 ⁺), %	24 (18-30)	26,0 (19,78-28,10)	> 0,05
Незрелые Т-лимфоциты (CD4⁺CD8⁺CD45⁺), % Immature T lymphocytes (CD4 ⁺ CD8 ⁺ CD45 ⁺), %	1 (0-2)	0,19 (0,14-0,31)	< 0,001
Иммунорегуляторный индекс (CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺) Immunoregulatory index (CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD3 ⁺ CD8 ⁺)	1,7 (1,2-2,3)	1,85 (1,66-2,90)	> 0,05
HLA-DR⁺ активированные Т-лимфоциты (CD3⁺HLA-DR⁺CD45⁺), × 10⁹/л HLA-DR ⁺ activated T lymphocytes (CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ CD45 ⁺), × 10 ⁹ /L	0,17 (0,025-0,300)	0,25 (0,18-0,36)	< 0,05
HLA-DR⁺ активированные Т-лимфоциты (CD3⁺HLA-DR⁺CD45⁺), % HLA-DR ⁺ activated T lymphocytes (CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ CD45 ⁺), %	5 (1,5-10,0)	10,50 (9,01-13,60)	< 0,001
CD25⁺ активированные Т-лимфоциты (CD3⁺CD25⁺CD45⁺), × 10⁹/л CD25 ⁺ activated T lymphocytes (CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ CD45 ⁺), × 10 ⁹ /L	0,14 (0,055-0,300)	0,13 (0,10-0,19)	> 0,05
CD25⁺ активированные Т-лимфоциты (CD3⁺CD25⁺CD45⁺), % CD25 ⁺ activated T lymphocytes (CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ CD45 ⁺), %	6,9 (4,0-12,0)	4,92 (4,38-5,88)	> 0,05
Treg-клетки (CD4⁺CD25^{bright}CD127^{neg}CD45⁺), % Treg cells (CD4 ⁺ CD25 ^{bright} CD127 ^{neg} CD45 ⁺), %	3,5 (2,1-5,5)	2,1 (1,63-3,53)	< 0,01
HLA-DR⁺ активированные цитотоксические Т-лимфоциты (CD8⁺HLA-DR⁺CD45⁺), × 10⁹/л HLA-DR ⁺ activated cytotoxic T lymphocytes (CD8 ⁺ HLA-DR ⁺ CD45 ⁺), × 10 ⁹ /L	0,045 (0,050-0,085)	0,14 (0,08-0,16)	< 0,001
HLA-DR⁺ активированные цитотоксические Т-лимфоциты (CD8⁺HLA-DR⁺CD45⁺), % HLA-DR ⁺ activated cytotoxic T lymphocytes (CD8 ⁺ HLA-DR ⁺ CD45 ⁺), %	1,9 (0,5-3,5)	4,22 (2,47-5,72)	< 0,001
Активированные цитотоксические Т-лимфоциты (CD3⁺CD8^{bright}CD38⁺), % Activated cytotoxic T lymphocytes (CD3 ⁺ CD8 ^{bright} CD38 ⁺), %	5 (0-8)	0,65 (0,52-0,89)	< 0,001

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ И ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В МОЧЕ У БОЛЬНЫХ ГН С НЕФРОТИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ, Me ($Q_{0,75}$ - $Q_{0,25}$)

TABLE 2. CONTENT OF CYTOKINES AND IMMUNOGLOBULINS IN URINE IN PATIENTS WITH GN WITH NEPHROTIC SYNDROME, Me ($Q_{0,75}$ - $Q_{0,25}$)

Показатель, пг/мкмоль креатинина мочи Indicator, pg/ μ m ol of urine creatinine	Контрольная группа Control group n = 25	Больные ГН Patients with GN n = 62	P_{m-u}
IgA	0,002 (0,000-0,012)	0,187 (0,000-0,378)	< 0,01
IgM	0	0	
IgG	0,070 (0,000-0,352)	1,316 (0,095-2,400)	< 0,001
IL-1β	0,00 (0,00-0,01)	1,18 (0,01-20,19)	< 0,001
IL-8	0,02 (0,00-3,66)	6,76 (1,72-34,04)	< 0,001
IL-10	0,27 (0,15-0,57)	0,31 (0,21-0,37)	> 0,05
IL-17A	4,55 (2,50-11,57)	8,84 (7,12-12,50)	< 0,05

IL-2 и трансформирующего фактора роста- β (TGF- β) [10]. CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺Treg-клетки поддерживают иммунный гомеостаз и предотвращают аутоиммунные и хронические воспалительные заболевания [9]. Показано, что инфильтрация опухолей Treg-клетками способствует прогрессированию опухолевого роста за счет подавления противоопухолевых иммунных реакций [5].

Изучение экспрессии различных антигенов на цитотоксических Т-лимфоцитах у пациентов с нефротическим ГН выявило повышенную экспрессию на клетках данной субпопуляции Т-лимфоцитов активационных антигенов – HLA-DR и CD38. Известно, что HLA-DR является одним из основных антигенов МНСII человека, степень его экспрессии на поверхности Т-клеток увеличивается на поздних стадиях активации клеток. Т-клетки, несущие маркер CD38, являются активированными, пролиферирующими и цитотоксическими транспортными клетками [3]. Известны результаты изучения роли различных субпопуляций Т-клеток в патогенезе ГН в экспериментальных исследованиях на лабораторных животных. При этом множество исследований было проведено на мышинной модели быстро прогрессирующего ГН с образованием полулуний, создаваемой путем введения в организм мышей антител против антигенов базальной мембраны клубочков. Модель ГН, созданная таким образом, по своей природе является нефротоксическим аутоиммунным ГН. При этом аутоиммунный процесс развивается за счет реализации клеточных реакций Th1- и Th17-клетками [1, 15]. Эксперименты по адоптивному переносу CD4⁺CD25⁺ регуляторных Т-клеток были первыми, продемонстрировавшими защитную роль Treg-клеток в модели нефротоксического аутоиммунного ГН. Так, перенос данных клеток снижал

степень протеинурии, образование полулуний в клубочках почек, накопление Т-клеток, макрофагов в почках и вызывал ослабление иммунного ответа Th1-клеток [14]. Стабильность Treg-клеток регулируется определенными поверхностными молекулами, цитокинами и другими факторами микроокружения. Значительно влияние на стабильность Treg-клеток местного цитокинового окружения. В соответствии с результатами исследований Nie H. и соавторов, IL-2 и индуцированное им фосфорилирование транскрипционного фактора STAT5 обеспечивали стабильность и пролиферацию Treg-клеток, в то время как другой цитокин – TNF α снижал фосфорилирование FoxP3 и тем самым дестабилизировал Treg-клетки [6]. Treg-зависимые механизмы иммуносупрессии широко изучались на описанной выше модели нефротоксического аутоиммунного ГН. Представлены доказательства того, что Treg-клетки продуцируют противовоспалительные цитокины – IL-10, TGF- β , ингибирующие иммунный ответ Th1- и Th17-клеток [1, 9]. Известно, что CD19⁺ В-клетки у мышей с нефротоксическим аутоиммунным ГН также продуцируют IL-10. Однако в процессе создания экспериментального вторичного, волчаночного ГН, было показано, что В-клетки, продуцирующие IL-10, не способны предотвратить развитие волчаночного нефрита у мышей [11]. Следовательно, IL-10, продуцируемый В-клетками, не обладает иммуносупрессивной функцией при ГН.

Итак, иммунный профиль пациентов с нефротическим вариантом ГН с частыми рецидивами нефротического синдрома отличается наличием дисбаланса иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов – увеличением числа Т-хелперных и активированных клеток на фоне уменьшения Treg-клеток, а также повышенным

содержанием в моче провоспалительных цитокинов и иммуноглобулинов.

С целью исследования взаимосвязи между иммунологическими факторами и патологическими показателями, происходящими в почках при ГН, был проведен корреляционный анализ между отличающимися от референтных значений иммунологическими показателями и общелабораторными показателями крови и мочи, в той или иной степени характеризующими выраженность нефротического синдрома и повреждение почек. Наиболее тесными были положительные корреляционные связи абсолютного содержания Т-хелперов с числом лейкоцитов в моче ($r_s = 0,62$, $p = 0,001$); относительного значения содержания HLA-DR⁺ активированных цитотоксических Т-лимфоцитов с числом палочкоядерных нейтрофилов ($r_s = 0,71$, $p = 0,001$) и уровнем белка в моче ($r_s = 0,68$, $p = 0,001$); нормализованного уровня IL-1 β с сывороточными уровнями α_1 -глобулинов ($r_s = 0,90$, $p = 0,001$), мочевины ($r_s = 0,84$, $p = 0,001$), креатинина ($r_s = 0,73$, $p = 0,001$), числом гиалиновых цилиндров в моче ($r_s = 0,74$, $p = 0,001$); нормализованного уровня IL-17A с сывороточным уровнем мочевины ($r_s = 0,98$, $p = 0,001$). Таким образом, представленные данные позволяют заключить, что число Т-хелперных клеток, активированных Т-клеток, нормализованные уровни IgG, провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-17A положительно связаны с маркерами повреждения почек и нефротического синдрома (протеинурия, лейкоцитурия, увеличение гиалиновых цилиндров в моче, повышение в крови содержания α_2 -глобулинов, креатинина, мочевины и палочкоядерных нейтрофилов). Лишь один иммунологический показатель (число Трег-клеток) влиял отрицательно на маркеры воспаления и повреждения почек — сывороточные уровни α_2 -глобулинов ($r_s = -0,46$, $p = 0,024$), β -глобулинов ($r_s = -0,52$, $p = 0,012$), протеинурию ($r_s = -0,69$, $p = 0,001$). При этом число Трег-клеток проявляло прямую связь с уровнями общего белка ($r_s = 0,47$, $p = 0,023$) и γ -глобулинов ($r_s = 0,50$, $p = 0,022$) в сыворотке крови. В ранее проведенных экспериментальных исследованиях было продемонстрировано, что количество Трег-клеток снижается у пациентов с волчаночным нефритом из-за нарушения опосредованной Т-клетками продукции IL-2. Введение IL-2 мышам способствовало пролиферации Трег-клеток, снижало выраженность протеинурии и улучшало выживаемость мышей [12]. Благодаря способности стимулировать пролиферацию Т-клеток *in vitro* IL-2 первоначально считался одним из факторов индукции провоспалительных реакций против инвазивных патогенов и опухолей и поэтому вводился в высоких дозах для лечения зло-

качественных и инфекционно-воспалительных заболеваний. Позже было показано, что IL-2 необходим для дифференцировки Трег-клеток в тимусе, а также последующего их воспроизводства и выживания в периферических лимфоидных органах [12]. Трег-клетки более чувствительны к IL-2, и для их стимуляции требуются гораздо меньшие дозы IL-2, нежели для цитотоксических Т-лимфоцитов и НК-клеток, участвующих в противоопухолевом иммунном ответе. Этот факт объясняется тем, что Трег-клетки конститутивно экспрессируют высокие уровни высокоаффинного рецептора IL-2R α . Перспективность использования rIL-2 — Алдеслейкина (Novartis A.S, Швейцария) с противовоспалительной целью была продемонстрирована в многоцентровом исследовании, включавшем 46 пациентов с 11 различными аутоиммунными заболеваниями [8]. В связи с заинтересованностью в изучении возможности применения rIL-2 в лечении пациентов с ГН наше внимание привлекли исследования Li Y. и соавторов, обнаруживших, что IL-2 в низких дозах способен повышать *in vitro* число Трег-клеток у больных хроническим ГН [4].

Нами было предпринято изучение эффективности включения rIL-2 в комплекс лечебных мероприятий у пациентов с нефротическим ГН рецидивирующего течения. При этом исследуемая когорта больных была разделена на основную группу и группу сравнения, для лечения больных основной группы включали дополнительно к нефропротективной и стероидной терапии rIL-2, а группы сравнения — Циклофосфан. Анализ показателей, характеризующих данные группы больных, свидетельствовал об отсутствии различий в составе групп по демографическим показателям (возраст пациентов основной группы 35 ± 9 лет, группы сравнения 32 ± 8 лет, $p > 0,05$; число мужчин в основной группе — 17, в группе сравнения — 18, $p_2 > 0,05$), продолжительности заболевания пациентов ГН (39 ± 10 и 41 ± 9 месяцев в основной группе и группе сравнения соответственно, $p > 0,05$), числу рецидивов за год ($3,6 \pm 1,3$ и $3,6 \pm 1,1$ в основной группе и группе сравнения соответственно, $p > 0,05$), а также представленности различных морфологических форм заболевания (наиболее часто встречающаяся форма — мембранозная нефропатия обнаруживалась у 23 пациентов основной группы и 21 пациента группы сравнения, $p_2 > 0,05$).

Особый интерес представляет сравнение динамики показателей, характеризующих функции и/или повреждение почек и коррелирующих с ними иммунологических показателей, в процессе проведения противорецидивного лечения. Независимо от применяемого способа в результате лечения снижались относительно исходных значений уровни белка, IgG и IL-17A в моче, умень-

ТАБЛИЦА 3. ВЛИЯНИЕ ПРОТИВОРЕЦИДИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ НА КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ БОЛЬНЫХ ГН С НЕФРОТИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

TABLE 3. EFFECT OF ANTI-RELAPSE TREATMENT ON THE CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL PARAMETERS OF PATIENTS WITH GN WITH NEPHROTIC SYNDROME

Показатели Indicator		Преднизолон + Циклофосфан Prednisone+ cyclophosphane n = 32		Преднизолон + rIL-2 Prednisone + rIL-2 n = 30		
		До лечения Before treatment	Через 12 месяцев от начала лечения 12 months after the start of treatment	До лечения Before treatment	Через 12 месяцев от начала лечения 12 months after the start of treatment	
1		2	3	4	5	3-5
Протеинурия, г/сутки Proteinuria, g/day	Me (Q _{0,75} -Q _{0,25}) Me (Q _{0,75} -Q _{0,25})	5,3 3,4-7,1	0,9* 0,5-1,4	5,5 3,3-7,2	0,03* 0,02-0,04	p _{m-w} < 0,001
Уровень общего белка в сыворотке крови, г/л The level of total protein in blood serum, g/L	Me (Q _{0,75} -Q _{0,25}) Me (Q _{0,75} -Q _{0,25})	57,2 36-59	60,1* 39-73	53,3 35-71	68,2* 45-79	p _{m-w} > 0,05
Уровень альбумина в сыворотке крови, г/л Serum albumin level, g/L	Me (Q _{0,75} -Q _{0,25}) Me (Q _{0,75} -Q _{0,25})	21,3 14-29	31,2* 24-39	23,2 15-24	41,2* 34-53	p _{m-w} < 0,001
Креатинин в сыворотке крови, мкмоль/л Serum creatinine, μmol/L	Me (Q _{0,75} -Q _{0,25}) Me (Q _{0,75} -Q _{0,25})	91,4 68-117	105,2 71-129	88,8 62-117	81,3* 60-93	p _{m-w} < 0,001
СКФ, мл/мин GFR, mL/min	Me (Q _{0,75} -Q _{0,25}) Me (Q _{0,75} -Q _{0,25})	72 64-108	78 53-103	73 57-110	94* 71-115	p _{m-w} < 0,001
В-лимфоциты (CD19 ⁺), × 10 ⁹ /л B lymphocytes (CD19 ⁺), × 10 ⁹ /L	Me (Q _{0,75} -Q _{0,25}) Me (Q _{0,75} -Q _{0,25})	0,43 0,13-0,70	0,37* 0,12-0,50	0,44 0,15-0,80	0,31* 0,12-0,41	p _{m-w} < 0,001
Т-хелперы (CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45 ⁺), × 10 ⁹ /л T helpers (CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45 ⁺), × 10 ⁹ /L	Me (Q _{0,75} -Q _{0,25}) Me (Q _{0,75} -Q _{0,25})	1,4 0,9-1,5	1,2 0,7-1,4	1,3 0,9-1,6	0,9* 0,5-1,0	p _{m-w} < 0,001
HLA-DR ⁺ активированные цитотоксические Т-лимфоциты (CD8 ⁺ HLA-DR ⁺ CD45 ⁺), % HLA-DR ⁺ activated cytotoxic T lymphocytes (CD8 ⁺ HLA-DR ⁺ CD45 ⁺), %	Me (Q _{0,75} -Q _{0,25}) Me (Q _{0,75} -Q _{0,25})	4,2 2,3-5,7	3,2* 0,9-4,3	4,3 2,6-5,5	2,3* 0,7-3,4	p _{m-w} < 0,05
Treg-клетки (CD4 ⁺ CD25 ^{bright} CD127 ^{neg} CD45 ⁺), % Treg cells (CD4 ⁺ CD25 ^{bright} CD127 ^{neg} CD45 ⁺), %	Me (Q _{0,75} -Q _{0,25}) Me (Q _{0,75} -Q _{0,25})	2,2 1,7-3,5	2,4 1,8-3,5	2,0 1,6-3,5	2,9* 2,2-4,7	p _{m-w} < 0,001
IgG в моче, пг/мкмоль креатинина мочи IgG in urine, pg/μmol of urine creatinine	Me (Q _{0,75} -Q _{0,25}) Me (Q _{0,75} -Q _{0,25})	1,4 0,1-1,8	0,3* 0,2-0,4	1,3 0,1-1,7	0,08* 0,04-0,12	p _{m-w} < 0,001
IL-1β в моче, пг/мкмоль креатинина мочи IL-1β in urine, pg/μmol of urine creatinine	Me (Q _{0,75} -Q _{0,25}) Me (Q _{0,75} -Q _{0,25})	1,2 0,05-19,00	0,9 0,05-14,00	1,1 0,05-20,00	0,2* 0,01-0,40	p _{m-w} < 0,001
IL-17A в моче, пг/мкмоль креатинина мочи IL-17A in urine, pg/μmol of urine creatinine	Me (Q _{0,75} -Q _{0,25}) Me (Q _{0,75} -Q _{0,25})	8,9 7,8-11,2	6,3* 4,8-8,3	8,7 8,5-13,1	4,8* 3,1-6,2	p _{m-w} < 0,001
Число рецидивов за 12 месяцев Number of relapses in 12 months	M±SD	3,6±1,1	3,0±0,9**	3,6±1,3	0,90±0,25**	p < 0,001

Примечание. * – статистически значимое изменение показателя относительно исходного значения по критерию Вилкоксона (p_w < 0,05), ** – статистически значимое изменение показателя относительно исходного значения по парному критерию Стьюдента (p < 0,05).

Note. *, statistically significant change in the indicator relative to the initial value according to the Wilcoxon criterion (p_w < 0.05); **, statistically significant change in the indicator relative to the initial value according to the Student's paired criterion (p < 0.05).

шалось содержание В-клеток и HLA-DR⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов в крови, наряду с этим повышалось содержание общего белка в сыворотке крови за счет уровня альбумина (табл. 3). Отмеченные изменения были более выражены в основной группе больных, в лечении которых использовали гIL-2 в сочетании с преднизолоном, и спустя 12 месяцев от начала лечения перечисленные показатели основной группы стали существенно различаться от таковых в группе сравнения. Другие показатели (сывороточный уровень креатинина, СКФ, число Т-хелперных клеток и Treg-клеток, уровень IL-1β в моче) не претерпевали существенных изменений в группе сравнения, получавших преднизолон в сочетании с Циклофосфаном, в то время как в основной группе пациентов происходило снижение уровней креатинина в сыворотке крови и IL-1β в моче, повышалась СКФ, уменьшалось число Т-хелперов и увеличивалось число Treg-клеток. Спустя 12 месяцев от начала лечения последние два показателя переставали отличаться от значений контрольной группы. В обеих группах больных уменьшалось число рецидивов. Однако сопоставление выраженности уменьшения числа рецидивов было в пользу основной группы. Так, если в группе больных, леченных гIL-2, среднее число рецидивов за год уменьшилось в среднем в 4 раза, то в сравниваемой группе лишь в 1,2 раза.

Основываясь на перечисленных особенностях динамики клиничко-лабораторных показателей в изучаемых группах больных, отличающихся способами лечения, можно отметить, что использование гIL-2 в сочетании со стероидным препаратом — преднизолоном позволяет добиться нормализации баланса иммунорегуляторных клеток за счет увеличения исходно уменьшен-

ного числа Treg-клеток и снижения показателя исходно повышенного содержания Т-хелперных клеток. Следствием этого является прекращение прогрессирования ГН, купирование его рецидива и установление ремиссии заболевания. Treg-клетки обладают противовоспалительным действием, сдерживают активность эффекторных клеток (Teff), принадлежащих к субпопуляции Т-хелперных клеток — Th17, продуцирующих IL-17, а также Th1-клеток, продуцирующих, как известно, IFNγ [1, 9, 15]. Что касается побочных реакций, гиперемия и инфильтрация, появлявшиеся в области подкожной инъекции гIL-2 у 50% пациентов, не могут считаться серьезными реакциями, поскольку они исчезали самопроизвольно без медицинских вмешательств. Таким образом, терапия низкими дозами гIL-2 может рассматриваться как эффективная и безопасная альтернатива традиционной иммуносупрессивной терапии и как новый вариант таргетного лечения ГН с частыми рецидивами нефротического синдрома.

Выводы

1. Предложенный нами способ иммуносупрессивной терапии (сочетание гIL-2 с преднизолоном), используемой в противорецидивном лечении ГН с нефротическим синдромом с частыми рецидивами, позволяет добиться уменьшения числа рецидивов нефротического синдрома.

2. Клиническая эффективность предложенного способа лечения связана с нормализацией иммунорегуляции — увеличения до референтного уровня числа Treg-клеток и уменьшения Т-хелперных клеток.

Список литературы / References

1. Diefenhardt P., Nosko A., Kluger M.A., Richter J.V., Wegscheid C., Kobayashi Y., Tiegs G., Huber S., Flavell R.A., Stahl R.A.K., Steinmetz O.M. IL-10 Receptor signaling empowers regulatory T cells to control Th17 responses and protect from GN. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2018, Vol. 29, no. 7, pp. 1825-1837.
2. Floege J., Amann K. Primary glomerulonephritides. *Lancet*, 2016, Vol. 387, no. 10032, pp. 2036-2048.
3. Khandelwal P., Chaturvedi V., Owsley E., Lane A., Heyenbruch D., Lutzko C.M., Leemhuis T., Grimley M.S., Nelson A.S., Davies S.M., Jordan M.B., Marsh R.A. CD38^{bright}CD8⁺ T Cells associated with the development of acute GVHD are activated, proliferating, and cytotoxic trafficking cells. *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 2020, Vol. 26, no. 1, pp. 1-6.
4. Li Y., Liu X., Wang W., Wang S., Zhang J., Jiang S., Wang Y., Li L., Li J., Zhang Y., Huang H. Low-dose IL-2 expands CD4⁺ regulatory T cells with a suppressive function in vitro via the STAT5-dependent pathway in patients with chronic kidney diseases. *Ren. Fail.*, 2018, Vol. 40, no. 1, pp. 280-288.
5. Marangoni F., Zhakyp A., Corsini M., Geels S.N., Carrizosa E., Thelen M., Mani V., Prüßmann J.N., Warner R.D., Ozga A.J., di Pilato M., Othy S., Mempel T.R. Expansion of tumor-associated Treg cells upon disruption of a CTLA-4-dependent feedback loop. *Cell*, 2021, Vol. 184, no. 15, pp. 3998-4015.e19.
6. Nie H., Zheng Y., Li R., Guo T.B., He D., Fang L., Liu X., Xiao L., Chen X., Wan B., Chin Y.E., Zhang J.Z. Phosphorylation of FOXP3 controls regulatory T cell function and is inhibited by TNF-α in rheumatoid arthritis. *Nat. Med.*, 2013, Vol. 19, pp. 322-328.

7. Peh C.A. Commentary on the KDIGO clinical practice guideline for glomerulonephritis. *Nephrology (Carlton)*, 2013, Vol. 18, no. 7, pp. 483-484.
8. Rosenzweig M., Lorenzon R., Cacoub P., Pham H.P., Pitoiset F., El Soufi K., Ribet C., Bernard C., Aractingi S., Banneville B., Beaugerie L., Berenbaum F., Champey J., Chazouilleres O., Corpechot C., Fautrel B., Mekinian A., Regnier E., Saadoun D., Salem J.E., Sellam J., Seksik P., Dagueneil-Nguyen A., Doppler V., Mariau J., Vicaute E., Klatzmann D. Immunological and clinical effects of low-dose interleukin-2 across 11 autoimmune diseases in a single, open clinical trial. *Ann. Rheum. Dis.*, 2019, Vol. 78, no. 2, pp. 209-217.
9. Sakaguchi S., Yamaguchi T., Nomura T., Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell*, 2008, Vol. 133, pp. 775-787.
10. Schmidt A., Elías S., Joshi R.N., Tegnér J. *In vitro* differentiation of human CD4⁺FOXP3⁺ induced regulatory T cells (iTregs) from naïve CD4⁺ T cells using a TGF- β -containing protocol. *J. Vis. Exp.*, 2016, Vol. 118, 55015. doi: 10.3791/55015.
11. Teichmann L.L., Kashgarian M., Weaver C.T., Roers A., Müller W., Shlomchik M.J. B cell-derived IL-10 does not regulate spontaneous systemic autoimmunity in MRL.Fas lpr mice. *J. Immunol.*, 2012, Vol. 188, pp. 678-685.
12. Tran G.T., Hodgkinson S.J., Carter N., Verma N.D., Robinson C.M., Plain K.M., Nomura M., Hall B.M. Autoantigen specific IL-2 activated CD4⁺CD25⁺T regulatory cells inhibit induction of experimental autoimmune neuritis. *J. Neuroimmunol.*, 2020, Vol. 15, no. 341, 577186. doi: 10.1016/j.jneuroim.2020.577186.
13. von Groote T.C., Williams G., Au E.H., Chen Y., Mathew A.T., Hodson E.M., Tunncliffe D.J. Immunosuppressive treatment for primary membranous nephropathy in adults with nephrotic syndrome. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2021, Vol. 11, no. 11, CD004293. doi: 10.1002/14651858.CD004293.pub4.
14. Wolf D., Hochegger K., Wolf A.M., Rumpold H.F., Gastl G., Tilg H., Mayer G., Gunsilius E., Rosenkranz A.R. CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells inhibit experimental anti-glomerular basement membrane glomerulonephritis in mice. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2005, Vol. 16, pp. 1360-1370.
15. Yang C., Huang X.-R., Fung E., Liu H.-F., Lan H.-Y. The Regulatory T-cell Transcription Factor Foxp3 Protects against Crescentic Glomerulonephritis. *Sci. Rep.*, 2017, Vol. 7, 1481. doi: 10.1038/s41598-017-01515-8.

Авторы:

Кудряшов С.И. — к.м.н., доцент кафедры внутренних болезней с курсом клинической иммунологии ФГБОУ ВО «Чувацкий государственный университет имени И.Н. Ульянова», г. Чебоксары, Россия

Стенина М.А. — д.м.н., профессор кафедры иммунологии ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, г. Москва, Россия

Карзакова Л.М. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой внутренних болезней с курсом клинической иммунологии ФГБОУ ВО «Чувацкий государственный университет имени И.Н. Ульянова», г. Чебоксары, Россия

Луткова Т.С. — к.м.н., доцент кафедры внутренних болезней с курсом клинической иммунологии ФГБОУ ВО «Чувацкий государственный университет имени И.Н. Ульянова», г. Чебоксары, Россия

Authors:

Kudryashov S.I., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Internal Diseases with the Course of Clinical Immunology, I. Ulianov Chuvash State University, Cheboksary, Russian Federation

Stenina M.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Immunology, N. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Karzakova L.M., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Internal Diseases with the Course of Clinical Immunology, I. Ulianov Chuvash State University, Cheboksary, Russian Federation

Lutkova T.S., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Internal Diseases with the Course of Clinical Immunology, I. Ulianov Chuvash State University, Cheboksary, Russian Federation

Поступила 21.03.2023

Отправлена на доработку 28.03.2023

Принята к печати 07.05.2023

Received 21.03.2023

Revision received 28.03.2023

Accepted 07.05.2023