

ISSN 1563-0625 (print)
ISSN 2313-741X (online)

Том 27, № 2. С. 237-466

2025

Официальный журнал
Санкт-Петербургского Регионального Отделения
Российской Ассоциации
Аллергологов и Клинических Иммунологов

МЕДИЦИНСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ

ИЛЛЮСТРАЦИИ К СТАТЬЕ «ВЛИЯНИЕ МИКОБАКТЕРИИ ТУБЕРКУЛЕЗА НА ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ТУБЕРКУЛЕМЫ ЛЕГКИХ СТАБИЛЬНОГО ТЕЧЕНИЯ» (АВТОРЫ: ГИМАЛДИНОВА Н.Е., ЛЮБОВЦЕВА Л.А. [с. 311-316])

ILLUSTRATIONS FOR THE ARTICLE "EFFECT OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS ON IMMUNOHISTOCHEMICAL PARAMETERS OF STABLE PULMONARY TUBERCULOMA" (AUTHORS: GIMALDINOVA N.E., LYUBOVTSEVA L.A. [pp. 311-316])

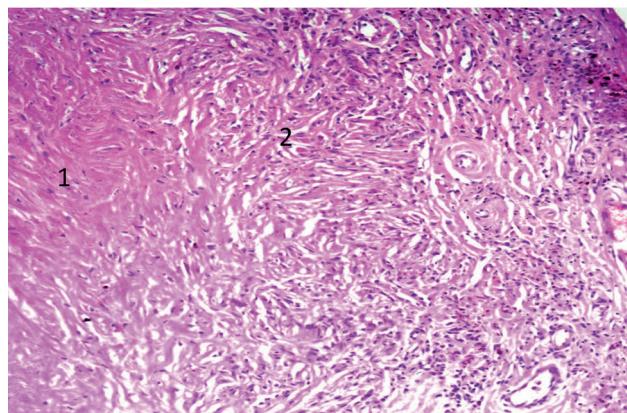


Рисунок 1. Микроскопическая картина стабильной туберкулемы легких: 1 – очаг казеозного некроза; 2 – соединительнотканная капсула

Примечание. Окраска гематоксилин – эозин. Микроскоп Carl Zeiss Primo Star. Ув. 400×.

Figure 1. Microscopic picture of stable pulmonary tuberculosis: 1, focus of caseous necrosis; 2, connective tissue capsule

Note. Hematoxylin, eosin staining. The microscope the Carl Zeiss Primo Star microscope. Magnification 400×.

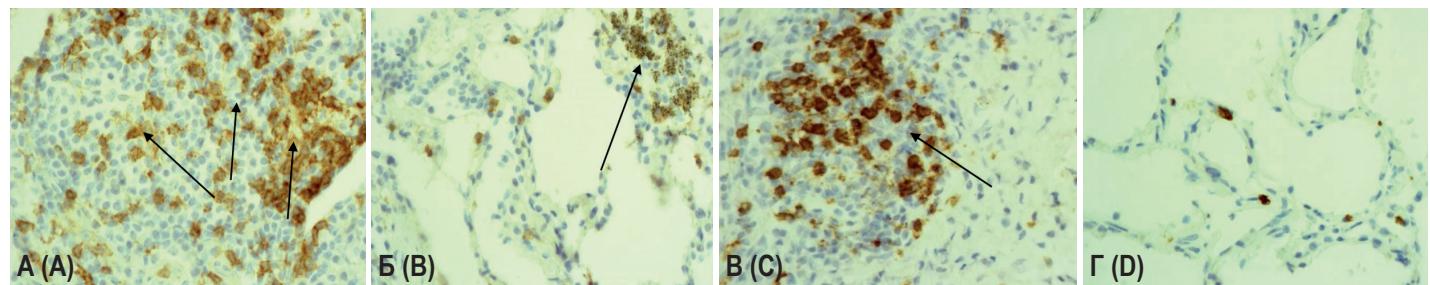


Рисунок 2. Иммуногистохимическое исследование CD4⁺ и CD8⁺ положительных клеток в стабильной туберкулеме

Примечание. А – образование групповых очагов скопления CD4⁺ клеток в капсуле стабильной туберкулемы. Б – CD4⁺ клетки в перифокальной зоне стабильной туберкулемы. В – локализация компактных групп CD8⁺ клеток вокруг зоны казеозного некроза в стабильной туберкулеме. Г – единичные CD8⁺ клетки в перифокальной зоне стабильной туберкулемы. Микроскоп Carl Zeiss Primo Star. Ув. 400×.

Figure 2. Immunohistochemical study of CD4⁺ and CD8⁺ positive cells in stable tuberculosis

Note. A, formation of group foci of accumulation of CD4⁺ cells in the capsule of stable tuberculoma. B, CD4⁺ cells in the perifocal zone of stable tuberculoma. C, localization of compact groups of CD8⁺ cells around the zone of caseous necrosis in stable tuberculoma. D, single CD8⁺ cells in the perifocal zone of stable tuberculoma. The Carl Zeiss Primo Star microscope. Magnification 400×.

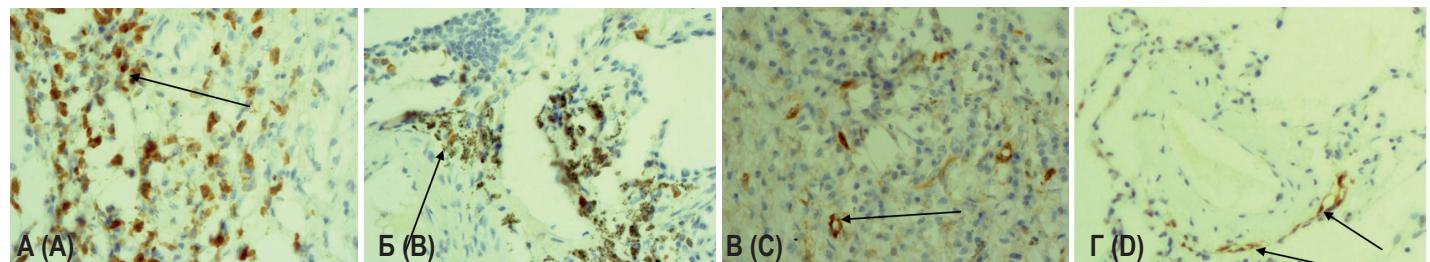


Рисунок 3. Иммуногистохимическое исследование CD79a и Fascin положительных клеток в стабильной туберкулеме

Примечание. А – образование групповых очагов скопления CD79a-клеток в капсуле стабильной туберкулемы. Б – CD79a-клетки в перифокальной зоне стабильной туберкулемы. В – локализация компактных групп Fascin-клеток вокруг зоны казеозного некроза в стабильной туберкулеме. Г – единичные Fascin-клетки в перифокальной зоне стабильной туберкулемы. Микроскоп Carl Zeiss Primo Star. Ув. 400×.

Figure 3. Immunohistochemical study of CD79a and Fascin positive cells in stable tuberculosis

Note. A, formation of group foci of accumulation of CD79a cells in the capsule of stable tuberculoma. B, CD79a cells in the perifocal zone of stable tuberculoma. C, localization of compact groups of Fascin cells around the zone of caseous necrosis in stable tuberculoma. D, single Fascin cells in the perifocal zone of stable tuberculoma. The Carl Zeiss Primo Star microscope. Magnification 400×.

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОЕ РЕГИОНАЛЬНОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
РОССИЙСКОЙ АССОЦИАЦИИ АЛЛЕРГОЛОГОВ И КЛИНИЧЕСКИХ ИММУНОЛОГОВ
(СПб РО РААКИ)

МЕДИЦИНСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ

март-апрель

2025, том 27

№ 2

Основан в марте 1999 года

Главный редактор

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

Исполняющий обязанности главного редактора

Тотолян Арг Артемович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, заведующий лабораторией молекулярной иммунологии и сероэпидемиологии, Санкт-Петербург, Россия

Редакционная коллегия

Горячкина Людмила Александровна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой клинической аллергологии Российской медицинской академии последипломного образования Минздрава России, Москва, Россия

Кашкин Кирилл Павлович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой иммунологии Российской медицинской академии последипломного образования Минздрава России, Москва, Россия

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

Мазуров Вадим Иванович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, президент Северо-Западного государственного медицинского университета имени И.И. Мечникова Минздрава России, заведующий кафедрой терапии и ревматологии имени Э.Э. Эйхвальда, Санкт-Петербург, Россия

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

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

Ответственный секретарь:

Ракитянская Н.В.

E-mail: medimmun@spbraaci.ru

Редактор перевода:

д.м.н. Чухловин А.Б.

Редактор электронной версии:

Ерофеева В.С.

Редакция: тел./факс (812) 233-08-58

Адрес для корреспонденции:

197101, Санкт-Петербург, а/я 130.

Электронная версия: www.mimmutn.ru; www.elibrary.ru

© Медицинская иммунология

Журнал зарегистрирован Северо-Западным региональным управлением Государственного комитета РФ по печати 26 марта 1999 г. Свидетельство о регистрации № П 3612.

Министерством РФ по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций 30 июня 2003 г.

Свидетельство о регистрации ПИ № 77-15892.

Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)

Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ №ФС77-60436 30 декабря 2014 г.

Данный материал распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0 License.

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 13.02.2025 г. Формат 60 x 90 1/8. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 28,75. Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.) Заказ № 014

Напечатано в ООО «АРТЕМИДА».

199178, Санкт-Петербург, 8-я линия В.О., 83, корп. 1, Литер А

Тел.: (812) 950-10-99.

С 2001 года журнал «Медицинская иммунология» регулярно входит в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации на соискание ученой степени доктора наук», рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ.

С 2016 года журнал «Медицинская иммунология» включен в международную базу SCOPUS.

Пинегин Борис Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела иммунодиагностики и иммунокоррекции ГНЦ Институт иммунологии ФМБА России, Москва, Россия

Симбирцев Андрей Семенович – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, научный руководитель Государственного НИИ особо чистых биопрепараторов ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

Смирнов Вячеслав Сергеевич – доктор медицинских наук, профессор, научный руководитель Медико-биологического научно-производственного комплекса «Цитомед», Санкт-Петербург, Россия

Черных Елена Рэмовна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заместитель директора по научной работе НИИ фундаментальной и клинической иммунологии Сибирского отделения РАН, заведующая лабораторией клеточной иммунотерапии, Новосибирск, Россия

Редакционный совет

Ласунская Елена – доктор медицинских наук, профессор, Государственный университет Северной Флориды, Лаборатория биологии распознавания, Рио-де-Жанейро, Бразилия

Мароди Ласло – доктор медицинских наук, профессор, Университет Дебрецена, Медицинский научный центр, Отдел инфекционной и педиатрической иммунологии, Дебрецен, Венгрия

Михалек Ярослав – доктор медицинских наук, Университет города Брно, заведующий кафедрой фармакологии медицинского факультета, Брно, Чехия

Роггенбук Дирк – доктор медицинских наук, профессор, Университет Лаузиц «University of Applied Sciences», Зенфтенберг, Германия

Сеонг Сеунг-Йонг – доктор медицинских наук, Национальный Университет, руководитель кафедры микробиологии и иммунологии, Сеул, Корея

Тендлер Евгений – доктор медицинских наук, Медицинский центр Рамбам, Отдел клинической биохимии, Хайфа, Израиль

Фейст Евгений – доктор медицинских наук, Университет Гумбольдта, клиника «Шарите», руководитель отделения ревматологии и клинической иммунологии, Берлин, Германия

Халдояниди Софья – доктор медицинских наук, профессор, Институт молекулярных исследований, Сан-Диего, Калифорния, США

RUSSIAN ASSOCIATION OF ALLERGOLOGISTS AND CLINICAL IMMUNOLOGISTS,
ST. PETERSBURG REGIONAL BRANCH
(SPb RAACI)

MEDICAL IMMUNOLOGY/ MEDITSINSKAYA IMMUNOLOGIYA

March-April

2025, volume 27

No. 2

Published since March 1999

Editor-in-Chief

Irina S. Freidlin – PhD, MD, Professor, RAS corresponding member, Institute of Experimental Medicine, Department of Immunology, Chief researcher, St. Petersburg, Russian Federation

Acting Editor-in-Chief

Areg A. Totolian – PhD, MD, Professor, RAS full member, Saint Petersburg Pasteur Institute, Director, Laboratory of Molecular Immunology and Seroepidemiology, Chief, St. Petersburg, Russian Federation

Editorial Board

Ludmila A. Goriachkina – PhD, MD, Russian Academy of Postgraduate Medical Education, Department of Clinical Allergology, Chief, Moscow, Russian Federation

Kirill P. Kashkin – PhD, MD, Professor, RAS full member, Russian Academy of Postgraduate Medical Education, Department of Immunology, Chief, Moscow, Russian Federation

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

Vadim I. Mazurov – PhD, MD, Professor, RAS full member, Northwestern State Medical University, President, Department of Therapy and Rheumatology, Chief, St. Petersburg, Russian Federation

Alexander V. Karaulov – PhD, MD, Professor, RAS full member, I. Sechenov First Moscow State Medical University, Department of Clinical Immunology and Allergology, Chief, Moscow, Russia

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

Boris V. Pinegin – PhD, MD, Professor, Institute of Immunology, Department of Immunodiagnostics and Immunotherapy, Chief, Moscow, Russian Federation

Andrei S. Simbirtsev – PhD, MD, Professor, RAS corresponding member, St. Petersburg Institute of Pure Biochemicals, Scientific Director, St. Petersburg, Russian Federation

Viacheslav S. Smirnov – PhD, MD, Professor, "Cytomed" Ltd., Director on Science, St. Petersburg, Russian Federation

Elena R. Chernykh – PhD, MD, Professor, RAS corresponding member, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Deputy-director on Science, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Chief, Novosibirsk, Russian Federation

Editorial Council

Eugen Feist – PD, MD, Department of Rheumatology and Clinical Immunology, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Free University and Humboldt University of Berlin, Berlin, Germany

Sophia Khaldoyanidi – PhD, MD, Associate Member, Torrey Pines Institute for Molecular Studies, San Diego, CA, USA

Elena Lasunskaya – PhD, MD, Associated Professor, Laboratory of Biology of Recognition, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Rio de Janeiro, Brazil

László Maródi – PhD, MD, Professor, Department of Infectious and Pediatric Immunology, University of Debrecen Medical and Health Science Centre, Debrecen, Hungary

Jaroslav Michálek – PhD, MD, Faculty of Medicine, Department of Pharmacology, Masaryk University, Brno, Czech Republic

Dirk Roggenbuck – PhD, MD, Professor, Lausitz University of Applied Sciences, Senftenberg, Germany

Seung-Yong Seong – PhD, MD, Seoul National University, Associate Dean for Planing, Department of Microbiology and Immunology, Chief, Seoul, South Korea

Yevgeny Tendler – PhD, MD, Department of Clinical Biochemistry, Rambam Medical Center, Haifa, Israel

Managing Editor:

Natalia Rakitianskaia
E-mail: medimmun@spbraaci.ru

Translation editor:

Alexey B. Chukhlovin, PhD, MD

Online version editorial manager:

Erofeeva V.S.

Editorial Office: phone/fax +7 812 233-08-58

Address for correspondence:

197101, St. Petersburg, P.O. Box 130.

Electronic version: www.mimmmun.ru; www.elibrary.ru

© Medical Immunology

The Journal is registered at the North Western

Regional Administration for the Press Affairs
of the Russian Federation, March 26, 1999.

Certificate of registration PI № 77-15892

by the Ministry of Press, Television,

Broadcasting and Mass media of the Russian Federation, June 30, 2003.

Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media (ROSKOMNADZOR)

Certificate on registration of mass media PI №FS77-60436, December 30, 2014

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

Chelovek Publishing House

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

E-mail: mail@mirmed.ru

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

Passed for printing 13.02.2025. Print format 60 x 90 1/8. Offset printing.

Printed sheets 28.75. Circulation 2000 copies. (1st edition – 1000 copies.)

Print in LLC «ARTEMIDA»

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

Phone: (812) 950-10-99

Since 2001, the Medical Immunology Journal is admitted to the Index of leading peer-reviewed scientific Journals intended for publication of key research results of MD Theses, as recommended by the Higher Attestation Commission of the Russian Ministry of Education and Science.

Since 2016, the Medical Immunology Journal is included into international SCOPUS database.

СОДЕРЖАНИЕ

Обзоры

Белевич А.С., Ярмолинская М.И., Сельков С.А., Соколов Д.И. КОНТРОЛЬНЫЕ ТОЧКИ ИММУНИТЕТА В КОНТЕКСТЕ НАРУЖНОГО ГЕНИТАЛЬНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА	245
Яцков И.А., Белоглазов В.А., Бублей К.В. ДИСБАЛАНС ЛИПОПОЛИСАХАРИД-СВЯЗЫВАЮЩИХ СИСТЕМ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОЕ ЗВЕНО ПАТОГЕНЕЗА РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА	265
Лазарева А.М., Смирнова О.В. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ФЕНОТИПОВ ХРОНИЧЕСКОГО РИНОСИНУСИТА.....	275
Мачарадзе Д.Ш. РОЛЬ IL-4 И IL-13 В ПАТОГЕНЕЗЕ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА: ПУТИ ИНГИБИРОВАНИЯ	287

Оригинальные статьи

Абакушина Е.В., Журиков Р.В., Балышева К.Д., Бекетова М.В., Румянцев С.А. ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАТУРАЛЬНЫХ КИЛЛЕРОВ ПОСЛЕ ГЕНЕРАЦИИ И АКТИВАЦИИ <i>IN VITRO</i>	297
Скупневский С.В., Савельев Р.В., Пухаева Е.Г., Морозова Я.В., Радаев С.М., Смирнов В.А., Гринь А.А. МОНОНУКЛЕАРНЫЕ КЛЕТКИ ПУПОВИННО-ПЛАЦЕНТАРНОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА: ОЦЕНКА АЛЛЕРГЕННОСТИ И ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ИММУННЫЙ СТАТУС В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА ТЕПЛОКРОВНЫХ	303
Гималдинова Н.Е., Любовцева Л.А. ВЛИЯНИЕ МИКОБАКТЕРИИ ТУБЕРКУЛЕЗА НА ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ТУБЕРКУЛЕМЫ ЛЕГКИХ СТАБИЛЬНОГО ТЕЧЕНИЯ	311
Любезнова О.Н., Бондаренко А.Л. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНОВ HLA II ТИПА (DRB1, DQA1 И DQB1) ПРИ КЛЕЩЕВОМ ЭНЦЕФАЛИТЕ	317
Аббас Халили, Фатиме азади Талаб Давудабади, Бамдад Садеги ОЦЕНКА ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ СПОНТАННОЙ КРАПИВНИЦЕ.....	329
Эйсса Самар Ахмед, Кешк Рабаб, Ахмед Хебаталла Абд Эльмаксуд, Салех Салли Али ОЦЕНКА УРОВНЯ CD163 В МОЧЕ КАК БИОМАРКЕРА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ВОЛЧАНОЧНОГО НЕФРИТА.....	335
Поливанова Т.В., Вишев В.А. ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ У ШКОЛЬНИКОВ С ГАСТРИТОМ ПРИ СЕМЕЙНОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ	343
Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Пирогова Н.А., Наумов Д.Е., Гассан Д.А., Перельман Ю.М. СОДЕРЖАНИЕ Th17-СВЯЗАННЫХ И Th2-ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ С ХОЛОДОВОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТЬЮ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ.....	351
Костинов А.М., Конищева А.Ю., Протасов А.Д., Костинов М.П. ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ У ПАЦИЕНТОВ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ РАЗНЫХ ЭНДОТИПОВ ПРИ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ПНЕВМОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ	361
Ли Ю.А., Дмитраченко М.Н., Маркелова Е.В., Костинов М.П., Королев И.Б., Немцев К.К. УРОВЕНЬ АНТИТЕЛ И ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ СЫВОРОТКИ КРОВИ У МОЛОДЫХ ЛЮДЕЙ В ПЕРИОД ПАНДЕМИИ COVID-19	369
Давыдовна Н.В., Путков С.Б., Решетняк Д.В., Казаков С.П. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ И ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЦИТОКИНОВ В ОЦЕНКЕ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ БОЛЬНЫХ COVID-19	379
Юшкова С.В., Костинов М.П., Гладкова Л.С., Камелева А.А., Качнова А.С., Костинова А.М., Соловьева И.Л., Андреева Н.П., Дагиль Ю.А., Настаева Н.Ю., Крюкова Н.О., Сайфутдинов К.А., Линок А.В., Храпунова И.А., Раичич С.Р., Локтионова М.Н., Полищук В.Б., Албаханса М.И. СОСТОЯНИЕ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ПОЖИЛЫХ, ПРИВИТЫХ ПРОТИВ ГРИППА НАКАНУНЕ ОТМЕНЫ СТАТУСА ПАНДЕМИИ COVID-19	395
Гельм Ю.В., Грибцова Л.Ю., Пасова И.А., Константинова Т.В., Мушкина Т.Ю., Иванов С.А., Каприн А.Д. ПРИМЕНЕНИЕ IFN γ ИЛИ TNF α -Т В ПРОТОКОЛАХ ПОЛУЧЕНИЯ ЦИК ДЛЯ АДОПТИВНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ.....	407

Краткие сообщения

Яцков И.А., Белоглазов В.А., Агеева Е.С., Аблаева Р.Н., Жукова А.А., Онучина И.Г. ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА IL-2 T-330G НА МАРКЕРЫ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ, КИШЕЧНОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ И СОСУДИСТОЙ РЕГУЛЯЦИИ У ПАЦИЕНТОВ В ПОСТКОВИДНОМ ПЕРИОДЕ	417
Гордеева Л.А., Воронина Е.Н., Поленок Е.Г., Мун С.А., Оленикова Р.В., Гареева Ю.В., Глушков А.Н. РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА HLA-G В ФОРМИРОВАНИИ ПАТОЛОГИИ В СИСТЕМЕ «МАТЬ – ПЛОД»	423
Ерохина М.В., Павлова Е.Н., Щербакова Е.А., Рыбалкина Е.Ю., Лепеха Л.Н., Тарасов Р.В., Тарасова Е.К. КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ МУЛЬТИФУНКЦИОНАЛЬНОГО БЕЛКА YB-1, ЦИТОКИНОВ ВОСПАЛЕНИЯ И БЕЛКА ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ Р-grp В ОПЕРАЦИОННОМ МАТЕРИАЛЕ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ	429
Бухарин О.В., Иванова Е.В., Чайникова И.Н., Перунова Н.Б., Бондаренко Т.А., Бекпергенова А.В. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ, ИНДУЦИРУЕМОГО СУПЕРНАТАНТАМИ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ И КИШЕЧНЫХ ШТАММОВ БИФИДО- И ЛАКТОБАКТЕРИЙ В УСЛОВИЯХ <i>IN VITRO</i>	437
Гребенкина П.В., Михайлова В.А., Беспалова О.Н., Сельков С.А., Соколов Д.И. РЕГУЛЯЦИЯ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ НК-КЛЕТОК ФАКТОРАМИ МИКРООКРУЖЕНИЯ, ХАРАКТЕРНЫМИ ДЛЯ БЕРЕМЕННОСТИ	445
Альпидовская О.В. ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ В ПЕЧЕНИ ПРИ ЕЕ ДИФФУЗНОМ ПОВРЕЖДЕНИИ И ВВЕДЕНИИ ГЕПТОРА	451

Иммунологические методы

Шушкова И.Г., Панина А.А., Никулина Л.В., Павловская В.Н., Олейникова И.С. ВНЕДРЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ МЕТОДОМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОФЛУОРИМЕТРИИ В КЛИНИЧЕСКУЮ ЛАБОРАТОРНУЮ ПРАКТИКУ	457
--	-----

Авторский указатель	465
---------------------------	-----

Предметный указатель	466
----------------------------	-----

CONTENTS

Reviews

Belevich A.S., Yarmolinskaya M.I., Selkov S.A., Sokolov D.I.

IMMUNE CHECKPOINTS IN THE CONTEXT OF EXTERNAL GENITAL ENDOMETRIOSIS 245

Yatskov I.A., Beloglazov V.A., Bubley K.V.

IMBALANCE OF LIPOPOLYSACCHARIDE-BINDING SYSTEMS AS A POTENTIAL LINK IN PATHOGENESIS OF RHEUMATOID ARTHRITIS 265

Lazareva A.M., Smirnova O.V.

IMMUNOLOGICAL FEATURES OF DIFFERENT PHENOTYPES IN CHRONIC RHINOSINUSITIS 275

Macharadze D.Sh.

PATHOGENETIC ROLE OF IL-4 AND IL-13 IN ATOPIC DERMATITIS: THE INHIBITORY PATHWAYS 287

Original articles

Abakushina E.V., Zhurikov R.V., Balyshova K.D., Beketova M.V., Rumyantsev S.A.

PHENOTYPIC CHARACTERISTICS OF NATURAL KILLER CELLS AFTER THEIR GENERATION AND ACTIVATION *IN VITRO* 297

Skupnevskiy S.V., Saveljev R.V., Pukhaeva E.G., Morozova Ya.V., Radaev S.M., Smirnov V.A., Grin A.A.

MONONUCLEAR CELLS FROM HUMAN UMBILICAL CORD/PLACENTAL BLOOD: ASSESSMENT OF ALLERGENICITY AND IMPACT ON IMMUNE STATUS IN EXPERIMENTAL WARMBLOODED ANIMALS 303

Gimaldinova N.E., Lyubovtseva L.A.

EFFECT OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* ON IMMUNOHISTOCHEMICAL PARAMETERS OF STABLE PULMONARY TUBERCULOMA 311

Lyubeznova O.N., Bondarenko A.L.

CLINICAL SIGNIFICANCE OF CLASS II HLA GENES (DRB1, DQA1 AND DQB1) IN TICK-BORN ENCEPHALITIS 317

Abbas Khalili, Fatemeh Azadi Talab Davoudabadi, Bamdad Sadeghi

EVALUATION OF LIPID PROFILES IN PATIENTS WITH CHRONIC SPONTANEOUS URTICARIA: A CASE-CONTROL STUDY 329

Eissa Samar Ahmed, Keshk Rabab Alaa Eldin, Ahmed Hebatalla Abd Elmaksoud, Saleh Sally Ali

EVALUATION OF URINARY CD163 LEVEL AS A BIOMARKER FOR THE DIAGNOSIS OF LUPUS NEPHRITIS 335

Polivanova T.V., Vshivkov V.A.

AGE-RELATED FEATURES OF BLOOD CYTOKINE CONTENTS IN SCHOOLCHILDREN WITH GASTRITIS AND FAMILY PREDISPOSAL TO PEPTIC ULCER DISEASE 343

Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Pirogova N.A., Naumov D.E., Gassan D.A., Perelman J.M.

CONTENT OF Th17 RELATED AND Th2 CYTOKINES IN ASTHMA PATIENTS WITH COLD AIRWAY HYPERRESPONSIVENESS 351

Kostinov A.M., Konishcheva F.Yu., Protasov A.D., Kostinov M.P.

CYTOKINE PROFILE IN THE PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA OF DIFFERENT ENDOTYPES AFTER VACCINATION AGAINST PNEUMOCOCCUS 361

Li Yu.A., Dmitrachenko M.N., Markelova E.V., Kostinov M.P., Korolev I.B., Nemtsev K.K.

THE LEVELS OF SARS-CoV-2 IgG ANTIBODY AND CYTOKINE PROFILE IN BLOOD SERUM OF YOUNG PEOPLE DURING THE COVID-19 PANDEMIC 369

Davydova N.V., Putkov S.B., Reshetnyak D.V., Kazakov S.P.

STUDYING INTERCONNECTIONS OF CYTOKINES AND THEIR DIAGNOSTIC EFFECTIVENESS WHEN ASSESSING SEVERITY GRADE IN COVID-19 PATIENTS 379

Iushkova S.V., Kostinov M.P., Gladkova L.S., Kameleva A.A., Kachnova A.S., Kostinova A.M., Solovyeva I.L., Andreeva N.P., Dagil Yu.A., Nastaeva N.Yu., Kryukova N.O., Saifutdinov K.A., Linok A.V., Khrapunova I.A., Raicic S.R., Loktionova M.N., Polishchuk V.B., Albahansa M.Y.

HUMORAL IMMUNITY IN ELDERLY PERSONS VACCINATED AGAINST INFLUENZA SHORTLY BEFORE CANCELLATION OF COVID-19 PANDEMIC 395

Gelm Yu.V., Grivtsova L.Yu., Pasova I.A., Konstantinova T.V., Mushkarina T.Yu., Ivanov S.A., Kaprin A.D.

USAGE OF IFN γ OR TNF α -T IN PROTOCOLS FOR OBTAINING CYTOKINE-INDUCED KILLER CELLS FOR ADOPTIVE IMMUNOTHERAPY 407

Short communications

Yatskov I.A., Beloglazov V.A., Ageeva E.S., Ablaeva R.N., Zhukova A.A., Onuchina I.G.	
EFFECT OF IL-2 T-330G POLYMORPHISM ON MARKERS OF SYSTEMIC INFLAMMATION, INTESTINAL PERMEABILITY AND VASCULAR REGULATION IN POST-COVID PATIENTS	417
Gordeeva L.A., Voronina E.N., Polenok E.G., Mun S.A., Olennikova R.V., Gareeva Yu.V., Glushkov A.N.	
THE ROLE OF HLA-G GENE POLYMORPHISM IN THE FORMATION OF PATHOLOGY IN MATERNAL-FETAL INTERFACE.....	423
Erokhina M.V., Pavlova E.N., Scherbakova E.A., Rybalkina E.Yu., Lepekha L.N., Tarasov R.V., Tarasova E.K.	
CORRELATIONS BETWEEN EXPRESSION LEVELS OF GENES ENCODING MULTIFUNCTIONAL YB-1 PROTEIN, INFLAMMATORY CYTOKINES AND MULTIDRUG RESISTANCE P-gp PROTEIN IN SURGICAL MATERIAL FROM PATIENTS WITH LUNG TUBERCULOSIS	429
Bukharin O.V., Ivanova E.V., Chainikova I.N., Perunova N.B., Bondarenko T.A., Bekpergenova A.V.	
COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF CYTOKINE PROFILE INDUCED <i>IN VITRO</i> BY SUPERNATANTS OF INDUSTRIAL AND INTESTINAL STRAINS OF BIFIDO- AND LACTOBACTERIA	437
Grebennikina P.V., Mikhailova V.A., Bespalova O.N., Selkov S.A., Sokolov D.I.	
REGULATION OF THE CYTOKINE PROFILE OF NK CELLS BY THE MICROENVIRONMENT FACTORS TYPICAL FOR PREGNANCY.....	445
Alpidovskaya O.V.	
CYTOKINE PROFILE IN THE LIVER DURING ITS DIFFUSE DAMAGE AND HEPTOR INTRODUCTION	451

Immunological methods

Shushkova I.G., Panina A.A., Nikulina L.V., Pavlovskaya V.N., Oleinikova I.S.	
IMPLEMENTATION OF FLOW CYTOMETRY TECHNIQUE FOR EVALUATION OF NEUTROPHIL PHAGOCYTIC ACTIVITY IN CLINICAL LABORATORY PRACTICE	457

Author index.....	465
-------------------	-----

Subject index.....	466
--------------------	-----

КОНТРОЛЬНЫЕ ТОЧКИ ИММУНИТЕТА В КОНТЕКСТЕ НАРУЖНОГО ГЕНИТАЛЬНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА

Белевич А.С.¹, Ярмолинская М.И.¹, Сельков С.А.^{1, 2}, Соколов Д.И.^{1, 2}

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия

²ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Наружный генитальный эндометриоз – хроническое рецидивирующее заболевание, патогенез которого остается до конца не изученным. Эндометриоз делит общие черты с опухолевым процессом. Так, для данного заболевания характерно распространение ткани, подобной эндометрию, вне полости матки. Пролиферация и инвазия клеток в эктопических очагах возможна только при нарушении местных процессов иммунной защиты. Одним из механизмов избегания иммунологического надзора, доказанным для опухолевого процесса, является использование контрольных точек иммунитета. Контрольные точки иммунитета представляют собой белки, расположенные на поверхности клеток иммунной системы (преимущественно Т-лимфоцитов). Связывание контрольных точек иммунитета с их лигандами на поверхности опухолевой клетки приводит к ингибированию клеток иммунитета и помогает таким образом опухоли «выжить». В данном обзоре собраны данные литературы об известных на сегодняшний день контрольных точках иммунитета: CTLA-4, PD-1, LAG-3, Tim-3, TIGIT, 4-1BB, GITR. Рассмотрены наиболее изученные их лиганды, такие как: CD80/CD86, PD-1L, Gal-3, Gal-9. В обзоре систематизированы данные о клетках, на которых экспрессируются контрольные точки иммунитета и их белки с ними связывающиеся, приведены примеры опухолей, которые используют данное взаимодействие для защиты от распознавания. Помимо этого, в обзоре описаны препараты – ингибиторы контрольных точек иммунитета, успешно используемые в терапии определенных опухолей. Наряду с отсутствием полноты знаний о патогенезе эндометриоза, на сегодняшний день единственным достоверным методом его диагностики является проведение лапароскопии с визуализацией очагов и последующим их гистологическим исследованием. В обзоре собраны результаты исследований, посвященных изучению некоторых биомаркеров для неинвазивной диагностики эндометриоза: CA-125, MCP-1, IL-6, BDNF и других. Авторами рассмотрены результаты нескольких работ, в которых контрольные точки иммунитета изучались в аспекте наружного генитального эндометриоза. Следует подчеркнуть, что по результатам этих исследований экспрессия контрольных точек иммунитета Т-лимфоцитами и концентрация растворимых форм была значимо повышена среди женщин с эндометриозом. Также в обзоре представлены результаты эксперимента, в котором определение уровня одного из лигандов контрольных точек иммунитета в крови пациенток

Адрес для переписки:

Белевич Анастасия Сергеевна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
акушерства, гинекологии и репродуктологии
имени Д.О. Отта»
199034, Россия, Санкт-Петербург,
Менделеевская линия, 3.
Тел.: 8 (981) 860-30-11.
E-mail: belevich.anastasia@mail.ru

Address for correspondence:

Anastasia S. Belevich
D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology
and Reproductology
3 Mendeleevskaya Line
St. Petersburg
199034 Russian Federation
Phone: +7 (981) 860-30-11.
E-mail: belevich.anastasia@mail.ru

Образец цитирования:

А.С. Белевич, М.И. Ярмолинская, С.А. Сельков, Д.И. Соколов «Контрольные точки иммунитета в контексте наружного генитального эндометриоза» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 245-264. doi: 10.15789/1563-0625-ICI-2923

© Белевич А.С. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.S. Belevich, M.I. Yarmolinskaya, S.A. Selkov, D.I. Sokolov
“Immune checkpoints in the context of external genital
endometriosis”, Medical Immunology (Russia)/Meditinskaya
Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 245-264.
doi: 10.15789/1563-0625-ICI-2923

© Belevich A.S. et al., 2025

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

DOI: 10.15789/1563-0625-ICI-2923

показало высокую чувствительность и специфичность. Таким образом, изучение контрольных точек иммунитета в качестве механизма, потенциально используемого эндометриоидными клетками для уклонения от иммунологического ответа, а также биомаркеров неинвазивной диагностики является многообещающим направлением.

Ключевые слова: контрольные точки иммунитета, эндометриоз, CTLA-4, PD-1, LAG-3, Tim-3, TIGIT, 4-1BB, GITR

IMMUNE CHECKPOINTS IN THE CONTEXT OF EXTERNAL GENITAL ENDOMETRIOSIS

Belevich A.S.^a, Yarmolinskaya M.I.^a, Selkov S.A.^{a, b}, Sokolov D.I.^{a, b}

^a D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russian Federation

^b First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Endometriosis is a chronic recurrent disease with insufficiently studied pathogenesis. Endometriosis is known to share similar features with tumors. Thus, the outgrowth of endometrium-like tissue outside the uterus is the main feature of this condition. The dysfunction of local immune response is required for cell proliferation and invasion in ectopic sites. The involvement of immune checkpoints is among the mechanisms allowing avoidance of immune surveillance shown for the tumors. Immune checkpoints are presented by proteins expressed on immune cells (most on T cells). The checkpoint binding to its ligand expressed on immune cells leads to its functional inhibition and, thus, facilitates survival of tumor cells. The data about immune checkpoints, e.g., CTLA-4, PD-1, LAG-3, Tim-3, TIGIT, 4-1BB, GITR are summarized in this review. Their ligands (CD80/CD86, PD-1L, Gal-3, Gal-9) are also described. The review article contains information about cells expressing checkpoints and other proteins involved. We also discuss the examples of tumors using such checkpoint-ligand interactions in order to avoid recognition by immune cells. Furthermore, the review describes immune checkpoint inhibitors currently used in cancer therapy. Due to scarce knowledge about endometriosis pathogenesis, the only diagnostics of this condition is laparoscopic surgery with visualization of ectopic loci and histological study of biopsies. The studies of some biomarkers for non-invasive diagnosis of endometriosis, such as CA-125, MCP-1, IL-6, BDNF etc. are also discussed in this review. The authors describe some studies which concern immune checkpoints in the context of endometriosis. Noteworthy an elevated expression of some checkpoints by T cells was found, along with elevated concentration of their soluble forms in blood of women with endometriosis. The review also includes the studies showing significant sensitivity and specificity of immune checkpoint ligand measurement in patients with endometriosis. Hence, investigation of immune checkpoints as a potential mechanism to avoid immune reaction used by endometriotic cells, and its application as a biomarker for non-invasive diagnostics is a promising direction for the further studies.

Keywords: immune checkpoints, endometriosis, CTLA-4, PD-1, LOG-3, Tim-3, TIGER, 4-1BB, GITR

Работа выполнена при поддержке темы ФНИ № 122041500063-2.

Введение

Наружный генитальный эндометриоз (НГЭ) – это хроническое рецидивирующее заболевание, поражающее около 10% женщин репродуктивного возраста [81], сопровождающееся разрастанием эктопического эндометрия вне полости матки, сходным, но не идентичным по морфологическим и функциональным свойствам с эндометрием здоровой женщины. Эндометриоз – доброкачественное заболевание, характеризующееся пролиферацией, миграцией,

имплантацией и «метастазированием». Помимо этого, доказано, что клетки эндометриоидных гетеротопий имеют онкогенные мутации генов KRAS, ARID1A, PIK3CA, PPP2R1A [14], при этом общий риск малигнизации при наличии у пациентки эндометриоза возрастает в 2,8 раза [19, 20]. Патогенез эндометриоза по-прежнему до конца не изучен. Наиболее популярной является теория J. Sampson, предложенная в 1927 г., согласно которой первопричиной развития эндометриоза является ретроградный заброс менструальной крови. Однако данная теория имеет свои ограничения: она не может объяснить развитие эндометриоза у девочек до наступления менархе, а

также у пациенток с синдромом Майера–Рокитанского–Кюстнера–Хаузера (аплазией матки и влагалища). Более того, доказано, что не у всех женщин рефлюкс менструальной крови приводит к развитию заболевания. Было показано, что для выживания эндометриоидных очагов важна не только устойчивость к апоптозу, но и способность ткани избегать иммунологический надзор. Важной характеристикой заболевания также является высокая пролиферативная активность клеток, которая стимулируется воспалительным микроокружением ткани, обусловленной местными нарушениями иммунитета [27, 41]. Во многих исследованиях показана сниженная цитотоксичность Т-лимфоцитов у пациенток с эндометриозом, в том числе и ингибирование активности данного вида клеток при добавлении к ним сыворотки пациенток с эндометриозом [88]. Активность естественных киллеров также значительно снижена у пациенток с НГЭ, однако считается, что это явление – лишь следствие развития заболевания, а не его причина [70, 89]. Также по результатам исследований доказано более высокое содержание Т-хеллеров 17-го типа в перitoneальной жидкости пациенток с эндометриозом и увеличение их концентрации с прогрессированием стадии заболевания [74]. Все вышеперечисленные звенья и обуславливают способность эндометриоидных гетеротопий выживать вне полости матки, избегая «атаки» иммунными клетками.

Помимо фрагментарности знаний о патогенезе эндометриоза, задержка в постановке диагноза на сегодняшний день в среднем составляет от 7 до 9 лет от момента первых клинических проявлений [66]. Такой временной разрыв не может не оказывать негативное влияние на качество жизни женщины и впоследствии на ее овариальный резерв, так как доказано более прогрессивное его снижение среди пациенток с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ) [46]. Золотым стандартом диагностики по-прежнему остается лапароскопия с последующей гистологической верификацией эндометриоза. Так как данный метод требует инвазивного вмешательства, а также имеет высокую стоимость, то множество исследований было проведено в попытке разработать метод неинвазивной диагностики с достаточной чувствительностью и специфичностью. В качестве материала исследователи используют различные биологические жидкости: менструальную или периферическую кровь, перitoneальную жидкость, мочу. В связи с тем, что эндометриоз – многофакторное и гетерогенное заболевание, то интерес представляет исследование комбинации

маркеров и разработка диагностической модели. На протяжении многих лет проводятся исследования, в которых оцениваются концентрации различных цитокинов в периферической крови пациенток с эндометриозом (табл. 1), однако достоверного способа диагностики до сих пор не найдено. Так, S. Naseri и соавт. в своей работе сравнивали содержание патогенетически значимых для НГЭ цитокинов в периферической и менструальной крови здоровых женщин и женщин с эндометриозом. Из шестидесяти двух проанализированных цитокинов значимые различия в проанализированных группах женщин обнаружили только для трех из них [72]. Систематический обзор 2014 г., посвященный использованию хемокинов (в исследование были включены 27 различных молекул) в качестве неинвазивной диагностики, отметил IL-8, MCP-1 и RANTES как наиболее перспективные молекулы, чьи уровни в периферической крови женщин с эндометриозом были значительно выше по сравнению с уровнями в крови здоровых пациенток [18]. Метаанализ 2023 г. продемонстрировал высокую эффективность оценки IL-6 для диагностики эндометриоза [50]. Различные исследования также показали значимое повышение уровня IL-6 среди пациенток с НГЭ любой стадии [76], что позволило увеличить чувствительность и специфичность методов ранней диагностики эндометриоза [53].

Наиболее широко изученной и используемой молекулой в качестве диагностики эндометриоза является раковый антиген-125 (СА-125), онкомаркер эпителиальных опухолей яичника, что еще раз указывает на схожесть эндометриоза с опухолевым процессом. По данным исследования 2023 г., в котором сравнивались уровни концентраций различных веществ в периферической крови здоровых женщин и пациенток с эндометриозом, наиболее значимые различия были в значениях СА-125 [22]. Также уровни СА-125 оценивались не только изолированно, но и в комбинации с другими веществами. Например, E. Kovalak и соавт. использовали оценку комбинации уровней аннексина-5, растворимой молекулы межклеточной адгезии-1 (ICAM-1), вакулярной молекулы клеточной адгезии-1 (VCAM-1), IL-6, TNF α , VEGF и СА-125. Значения концентраций ни одной из молекул, оцениваемых по отдельности, не имели статистической значимости при сравнении с таковыми у здоровых пациенток; только комбинация уровней СА-125 и аннексина-5 имела чувствительность 73% и специфичность 98% для диагностики эндометриоза [55, 87]. Диагностическая модель с использованием уровня гемоглобина крови в

ТАБЛИЦА 1. НЕИНВАЗИВНЫЕ МАРКЕРЫ ДИАГНОСТИКИ НГЭ

TABLE 1. SOME BIOMARKERS FOR THE NON-INVASIVE DIAGNOSIS OF ENDOMETRIOSIS

Белок плазмы Serum protein	Роль белка в патогенезе НГЭ Protein's function in endometriosis pathogenesis	Наибольшая диагностическая значимость достигается за счет определения белка в периферической крови Highest diagnostic value is reached with protein measurement
IL-6	подавление активности NK-клеток [67] inhibition of NK cell activity [67]	изолированно (только IL-6) – чувствительность 93% и специфичность 80% [72] single (IL-6 alone) – sensitivity 93%, specificity 80% [72]
IL-32	стимулирует пролиферацию, подвижность клеток [75] induction of cell proliferation and motility [75]	в сочетании с CA-125 – чувствительность 60%, специфичность 72,9% [35] in combination with CA-125 – sensitivity 60%, specificity 72,9% [35]
MCP-1	активация макрофагов [65] monocyte and macrophage activation [65]	в сочетании с CA-125 – чувствительность 92,2%, специфичность 81,6% [4] in combination with CA-125 – sensitivity 92,2%, specificity 81,6% [4]
TNF α	индуцирует воспаление через NF-Карпа-В [13] induction of inflammation via NF-Kappa-B [13]	в сочетании с VEGF, IL-6, MCP-1, растворимым рецептором FMS-подобной киназы – чувствительность 85,8%, специфичность 87,4% [86, 124] in combination with VEGF, IL-6, MCP-1, soluble receptor FMS-like kinase – sensitivity 85,8%, specificity 87,4% [86, 124]
Растворимый рецептор TNF α Soluble receptor TNF α (sTNFR1)	снижает индуцированный TNF α апоптоз клеток эктопического эндометрия reduces TNF α -induced apoptosis of ectopic endometrial cells	изолированно (только sTNFR1) – чувствительность 51,6% и специфичность 75,0% [102] single (only sTNFR1) – sensitivity 51,6%, specificity 75,0% [102]
Каспаза-3 Caspase-3	апоптоз клеток cell apoptosis	изолированно (только каспаза-3) – чувствительность 90% специфичность 87% [68] single (only caspase-3) – sensitivity 90%, specificity 87% [68]
Трансформирующий фактор роста β Transforming growth factor β (TGF- β)	адгезия и инвазия клеток cell adhesion and invasion	в сочетании с CA-125 – чувствительность 83% и специфичность 67% [61] in combination with CA-125 – sensitivity 83%, specificity 67% [61]
BDNF	стимуляция роста нервных волокон stimulation of nerve fibers growth	изолированно (только BDNF) – чувствительность 91,7% и специфичность 69,4% [137] single (only BDNF) – sensitivity 91,7%, specificity 69,4% [137]
CA-125	маркер эпителиальных опухолей яичника tumor marker of epithelial ovarian cancer	в сочетании с аннексином-5 – чувствительность 73% и специфичность 100% [157] in combination with annexin-5 – sensitivity 73%, specificity 100% [157]
Фактор транскрипции-1 белков теплового шока (HSP-1) HSP-1 transcription factor	способствует росту и подвижности клеток эндометрия promote endometrial cell growth and motility	изолированно (только HSP-1) – чувствительность 91,3% и специфичность 63,4% [104] single (only HSP-1) – sensitivity 91,3%, specificity 63,4% [104]
Сиртуин Sirtuin	опосредует резистентность к прогестерону [110] mediate progesterone resistance [110]	в сочетании с BCL6 [110] in combination with BCL-6 [110]

сочетании с уровнями СА-125, человеческого эпидидимального белка-4 (НЕ-4) и СА-199 среди 137 пациенток с установленным диагнозом «эндометриоз» продемонстрировала чувствительность 85,4% и специфичность 78,83% [28]. Помимо определения известного онкомаркера в периферической крови проводились исследования его концентраций и в других биологических жидкостях. Например, уровни СА-125 в комбинации с уровнем белка, связывающего витамин D (VDBP) и альфа-антитрипсина в моче пациенток с эндометриозом продемонстрировали 81,8% чувствительности и 76,5% специфичности [29]. Несмотря на многочисленные исследования данного маркера, согласно рекомендациям ESHRE 2022 г., определение уровня СА-125 не рекомендовано для диагностики эндометриоза [107]. Так, например, в исследовании J.M. Wessels определение нейротрофического фактора мозга (BDNF) продемонстрировало более высокую чувствительность и специфичность, 97,1% и 69,4%, в диагностике ранних стадий эндометриоза по сравнению с СА-125 [97]. Другой, менее изученный в рамках диагностики эндометриоза опухолевый маркер – липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов (NGAL), был исследован в крови пациенток с эндометриозом. В отличие от СА-125 концентрация NGAL была значительно повышена у пациенток с НГЭ по сравнению с группой контроля [40].

Помимо сходства патогенеза эндометриоза с опухолевым процессом очевидным является и наличие общих черт с аутоиммунной патологией [82]. В связи с этим в литературе найдено множество исследований, посвященных определению ауто-антител в крови пациенток, пораженных данным заболеванием. Метаанализ 2021 г. продемонстрировал небольшую диагностическую значимость определения ауто-антител, сопоставимую по специфичности и чувствительности с определением уровня СА-125 [54]. Сопоставимые результаты были получены и в 2023 г. при определении содержания ауто-антител в перitoneальной жидкости женщин с НГЭ [57].

Поиск маркеров эндометриоза с целью его раннего выявления включает в себя анализ множества молекул, в теории способных участвовать в реализации механизмов патогенеза этого заболевания. Установлено, что содержание фибронектина [96] и урокортина-1 [13] в перitoneальной жидкости и в периферической крови женщин с НГЭ превышает таковые показатели у здоровых женщин. Перспективным для дальнейшего изучения оказался цитокератин-19, чей уровень в сыворотке крови был статистически значимо

более высоким среди женщин с НГЭ [105]. Сиртуин совместно с белком-6 клеточной лимфомы (BCL6) опосредует резистентность к прогестерону и, по данным исследования A. Samsone, определение его концентрации в крови женщин также может быть использовано в качестве диагностики эндометриоза [79].

Изучение метаболома больных с эндометриозом рассматривается как многообещающее направление в последние годы. Результаты исследований соотношения различных аминокислот, органических кислот, профиля липидов и других соединений имеют противоречивые данные, которые можно объяснить отсутствием единых критерии оценки концентраций метаболитов в различных метаболических жидкостях, а также их подверженности влиянию множества факторов, начиная от внешней среды и заканчивая днем цикла пациентки [75].

Несмотря на обилие исследований, посвященных поиску маркеров неинвазивной диагностики эндометриоза, эталонный метод все еще не найден. Причина этого отчасти заключается в недостатке знаний о патогенезе такого многофакторного заболевания, как НГЭ. Поэтому поиски дополнительных маркеров неинвазивной диагностики эндометриоза и их комбинаций продолжаются.

Контрольные точки иммунитета

Как уже было сказано выше, эндометриоз делит общие черты с опухолевым процессом, важнейшей из которых является способность избегать иммунологического надзора. Опухолевые клетки ускользают от распознавания иммунной системой с помощью различных механизмов, например, за счет активации контрольных точек иммунитета (КТИ) [1, 5, 6, 8]. КТИ (табл. 2) называют белки на поверхности иммунных клеток (преимущественно Т-клеток), которые распознают и связываются с лигандами на поверхности некоторых антиген-презентирующих (АПК) или опухолевых клеток. Связывание КТИ со своим лигандом на поверхности другой клетки воспринимается иммунной клеткой как сигнал к «выключению», опосредуя тем самым иммунологическую толерантность и выживание клетки. К КТИ относят следующие белки: CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte-associated protein 4), PD-1 (programmed cell death protein 1), LAG-3 (lymphocyte-activation gene 3), Tim-3 (T cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3), TIGIT (T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains), VISTA (V-domain Ig suppressor of T cell activation), CD137 (4-1BB, TNFRSF9), GITR (glucocorticoid-induced TNFR-related protein, CD357). Наиболее

изученными лигандами вышеуказанных белков являются: PD-1L – лиганд PD-1; CD86 – лиганд CTLA-4 на поверхности дендритных клеток; галектин-3 (Gal3) – белок семейства галектинов, лиганд LAG-3; Gal-9 – белок семейства галектинов, связывается с рецептором TIM-3.

Следует отметить, что КТИ могут не только ингибировать, но и стимулировать сигналы иммунной системы и регулировать ее функции, поддерживая таким образом иммунологическое постоянство. Так, например, Т-клетки активируются двойным сигналом: связыванием своего рецептора (TCR) и рецептором главного комплекса гистосовместимости (МНС) на поверхности клетки-мишени и, второй сигнал, через костимуляторные молекулы – КТИ. Одной из таких КТИ является молекула 4-1BB (CD137), о функции которой будет рассказано ниже.

В рамках изучения канцерогенеза КТИ доказали свою неоспоримую значимость и сформировали новую мишень для терапии – ингибиторы КТИ (ИКТИ). Данная группа препаратов широко используется в терапии опухолей различных локализаций, демонстрируя эффективность. Рассмотрим функции основных КТИ, а также их потенциальную роль в патогенезе опухолеподобного заболевания, такого как эндометриоз.

CTLA-4

Первая ингибиторная КТИ – CTLA-4 описана в 1995 г. M.F. Krummel и J.P. Allison [56] и является критическим регулятором иммунной системы, оказывая влияние на процессы аутоиммунитета и гомеостаза Т-клеток. Данная КТИ экспрессируется на поверхности Т-клеток, дендритных клеток [11, 93]. В качестве лиганда данной молекулы выступают белки CD80 и CD86, при этом CD86 обладает большим аффинитетом к CTLA-4 [111]. Помимо мембранный формы, существует также и растворимая молекула CTLA-4 (sCTLA-4), которая секретируется дендритными клетками и опосредует снижение экспрессии CD80/CD86 на их поверхности [83]. CTLA-4 конкурирует с CD28 в связывании с общим для них лигандом CD80/CD86, экспрессируемым Т-лимфоцитами. Рецептор CD28 – костимуляторная молекула, активирующая Т-лимфоциты, тогда как CTLA-4, напротив, ингибирует активность Т-лимфоцитов [25]. CTLA-4 играет роль в формировании иммунологической толерантности, что было доказано в эксперименте на мышах, у которых отсутствие данной КТИ на поверхности Т-регуляторных клеток привело к развитию выраженной спленомегалии, лимфаденопатии, высокому титру антител в крови и последующему летальному исходу [99]. Блокировка CTLA-4 с по-

мощью антител или его генетическая делеция индуцируют образование Th17-лимфоцитов и улучшают дифференцировку Th2-лимфоцитов [3, 91]. Для опухолей различных локализаций доказано, что взаимодействие CTLA-4 со своим лигандом CD80/CD86 приводит к апоптозу клеток иммунной системы и обеспечивает таким образом избегание иммунологического надзора [10, 34]. Исследование M. Abramuk и соавт. уровня экспрессии мембранныго CTLA-4 на CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитах в периферической крови пациенток с НГЭ показало, что среди пациенток с НГЭ уровень экспрессии данной КТИ на поверхности CD4⁺ Т-клеток статистически значимо выше по сравнению с пациентками без эндометриоза, а также имеет положительную корреляционную взаимосвязь с тяжестью течения заболевания; степень выраженности спаечного процесса также имела положительную корреляцию с содержанием в периферической крови Т-лимфоцитов с фенотипом CD4⁺CTLA-4⁺ и CD8⁺CTLA-4⁺ [12]. Однако взаимосвязи между уровнем экспрессии CTLA-4 на поверхности Т-клеток и клиническими проявлениями эндометриоза не было найдено [12]. Уровень растворимого CTLA-4 в периферической крови женщин с эндометриозом был значительно выше по сравнению со здоровыми женщинами, но не зависел от стадии заболевания, сопутствующего бесплодия или спаечного процесса [12]. В то время как, по данным B. Santoso и соавт., растворимый CTLA-4 содержится в больших концентрациях у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием по сравнению с пациентками с бесплодием, ассоциированным с другими причинами [80]. Данная группа исследователей продемонстрировала положительную корреляцию между уровнем sCTLA-4 в периферической крови и перитонеальной жидкости, что потенциально делает возможным использование данной КТИ в качестве маркера неинвазивной диагностики эндометриоза [80]. Использование антител к CTLA-4 в качестве терапии эндометриоза на экспериментальной животной модели продемонстрировало эффективное торможение пролиферации и инвазии эндометриоидных очагов за счет уменьшения продукции IL-10 и TGF- β [61, 68].

PD-1

PD-1 – наиболее хорошо изученная на сегодняшний день молекула. Она экспрессируется дендритными клетками, Т-лимфоцитами, В-лимфоцитами, естественными киллерами. Лигандами для PD-1 являются два рецептора: PD-1L и PD-2L. Рецептор PD-1L экспрессируется клетками различных опухолей, а также ин-

ТАБЛИЦА 2. КОНТРОЛЬНЫЕ ТОЧКИ ИММУНИТЕТА И ИХ ЛИГАНДЫ

TABLE 2. IMMUNE CHECKPOINTS AND LIGANDS

Контроль- ная точка иммунитета Immune checkpoint	Клетки, экспрессирующие контрольную точку иммунитета The cell expressing immune checkpoint	Лиганд Ligand	Экспрессирующие лиганд Ligand expressing	
			клетки иммунной системы immune cells	клетки опухоли tumor cells
CTLA-4	Т-лимфоциты T lymphocytes	CD80, CD86	антигенпрезенти- рующие клетки antigen-presenting cells	меланома [38], печеночно-клеточ- ная карцинома [30], немелкокле- точный рак легкого (НМРЛ) [140], злокачественная мезотелиома плевры [93] melanoma [38], hepatocellular carcinoma [30], non-small cell lung cancer (NSCLC) [140], malignant pleural mesothelioma [93]
PD-1	Т- и В-лимфоциты, NK-клетки, дендритные клетки [69] T, B lymphocytes, NK cells, dendritic cells [69]	PD-L1	Т- и В-лимфоциты, дендритные клет- ки, макрофаги [69] T, B lymphocytes, dendritic cells, macrophages [69]	рак молочной железы (РМЖ) [11], рак яичника [52], рак мочевого пузыря [95], рак поджелудочной железы [97] breast cancer [11], ovarian cancer [52], bladder cancer [95], pancreas cancer [97]
		PD-L2	дендритные клет- ки, макрофаги, тучные клетки [69] dendritic cells, macrophages, mast cells [69]	аденокарцинома легкого [87], В-клеточная лимфома [47], рак яичника [144], РМЖ [11] lung adenocarcinoma [87], B cell lymphoma [47], ovarian cancer [144], breast cancer [11]
LAG-3	Т-лимфоциты, NK-клетки, В-лимфоциты, дендритные клетки T lymphocytes, NK cells, B lymphocytes, dendritic cells	Gal-3	нейтрофилы, ден- дритные клетки, макрофаги neutrophils, dendritic cells, macrophages	рак предстательной железы [116], РМЖ [21], рак яичников [118], печен- очно-клеточная карцинома [71] prostate cancer [116], breast cancer [21], ovarian cancer [118], hepatocellular carcinoma [71]
TIM-3	дендритные клетки, макрофаги, NK-клетки, Т-лимфоциты dendritic cells, macrophages, NK cells, T lymphocytes	Gal-9	антигенпрезенти- рующие клетки antigen presenting cells	РМЖ [148], НМР [53] breast cancer [148], NSCLC [53]
TIGIT	Т-лимфоциты, NK-клетки T lymphocytes, NK cells	PVR	антигенпрезенти- рующие клетки antigen presenting cells	НМРЛ [103], меланома [81], печен- очно-клеточная карцинома [41] NSCLC [103], melanoma [81], hepatocellular carcinoma [41]
4-1BB	дендритные клетки, NK-клетки, Т-лимфоциты, моноциты, нейтрофилы dendritic cells, NK cells, T lymphocytes, monocytes, neutrophils	4-1BBL	антигенпрезенти- рующие клетки antigen presenting cells	рак предстательной железы [160], РМЖ [8] prostate cancer [160], breast cancer [8]
GITR	Т-лимфоциты, дендрит- ные клетки, NK-клетки T lymphocytes, dendritic cells, NK cells	GITRL	антигенпрезенти- рующие клетки antigen presenting cells	печеночно-клеточная карцинома, НМР, рак почки, плоскоклеточный рак кожи [128] hepatocellular carcinoma, NSCLC, renal cancer, squamous cell carcinoma of skin [128]

фильтрирующих опухоль клеток [35, 109, 112]. Взаимодействие PD-1 на Т-клетке с PD-1L на опухолевой клетке или АПК может эффективно ингибировать активацию Т-клетки и даже вызывать ее апоптоз, таким образом обеспечив избегание опухолью иммунного распознавания и выживание последней [15, 64]. Использование ингибиторов PD-1/PD-1L предотвращает их взаимодействие друг с другом и обеспечивает распознавание и гибель опухолевой клетки. PD-L2 экспрессируется на клетках некоторых опухолей, зачастую совместно с PD-L1, а также на дендритных клетках, макрофагах и тучных клетках [7, 94]. Растворимый PD-1 (sPD-1) может выступать как конкурентный лиганд PD-1 на Т-клетках и блокировать его взаимодействие с PD-1L, способствуя противоопухолевому иммунитету [2, 4, 39, 86]. Так, использование аденоовириуса для переноса sPD-1 в клетки опухоли вызывало ее регресс [110]. Среди всех ИКТИ ингибиторы PD1/PD-L1 являются самой широко используемой группой препаратов. К ним относятся ниволумаб, пембролизумаб, цемиплимаб, ретифанлимаб. Данные об ИКТИ и их использовании в терапии опухолей представлены в таблице 3. M. Walankiewicz впервые оценила уровень экспрессии PD-1 и PD-1L на мононуклеарных лимфоцитах периферической крови 25 пациентов с установленным диагнозом «эндометриоз» [92].

Установлено, что Т-лимфоциты и В-лимфоциты периферической крови женщин с НГЭ обладают повышенной экспрессией PD-1 [59, 100], а содержание PD-L1 (sPD-L1) в их периферической крови было ниже [85], чем у здоровых женщин. Параллельно установлено, что экспрессия PD-1 и PD-1L эзотопическим эндометрием женщин с НГЭ выше, чем таковая у здоровых женщин; при этом не обнаружено разницы экспрессии этих молекул эзотопическим и эктопическим эндометрием [59, 100]. В других исследованиях описаны совершенно противоположные отмеченный выше данные о содержании sPD-1 и sPD-1L в периферической крови женщин с НГЭ и здоровых женщин [73, 80]. Такие противоречивые данные о концентрациях sPD-1L еще раз доказывают необходимость дальнейшего изучения роли PD-1 в патогенезе эндометриоза и его диагностической значимости.

LAG-3/Gal-3

Следующая ингибиторная КТИ, схожая по своим функциям с CTLA-4 – LAG-3, продукт транскрипции гена-3, активирующего лимфоциты (*Lymphocyte activation gene 3*). Относится к белку семейства иммуноглобулинов, который оказывает множество влияний на Т-клетки и на-

ряду с CTLA-4 оказывает супрессорное действие. Белок LAG-3 экспрессируется на поверхности естественных киллеров, Т- и В-лимфоцитов, дендритных клеток [65]. LAG-3 взаимодействует с главным комплексом гистосовместимости II (МНС II), что приводит к подавлению пролиферации CD4⁺Т-клеток и секреции ими цитокинов [9, 44]. Для клеток меланомы доказано, что взаимодействие МНС II с LAG-3 позволяет им избегать не только атаку иммунных клеток, но и лекарственно-индукционный апоптоз [45]. Помимо МНС II в качестве лиганда LAG-3 также выступает галектин-3 (Gal-3) и лектин синусоидальных эндотелиальных клеток печени (LSECtin) [49]. Взаимодействие LAG-3 с галектином-3 в свою очередь ведет к подавлению активности CD8⁺Т-лимфоцитов [37]. Роль LSECtin наиболее изучена для клеток меланомы, где его взаимодействие с LAG-3 способствует росту опухоли за счет снижения активности Т-лимфоцитов [101]. Доказана роль данной КТИ в развитии аутоиммунных состояний: NOD-мыши (non-obese diabetes, модель диабета без ожирения) нокаутные по *Lag3*, кодирующему белок LAG-3, продемонстрировали усиленный инвазивный инсульт с более выраженной инфильтрацией островков Лангерганса CD4⁺CD8⁺Т-лимфоцитами [17]. Нам не удалось найти в литературе данных о роли LAG-3 в патогенезе эндометриоза. Вместе с тем широко изучена роль LAG-3 в патогенезе и терапии рака эндометрия и яичников [38, 47, 48, 108], что не исключает возможного участия этой КТИ в развитии такого опухолеподобного процесса, как НГЭ. Исследователи отмечают значительное повышение экспрессии Gal-3 клетками как эзотопического, так и эктопического эндометрия, сопровождающейся снижением активностью NK-клеток [102] и повышенным содержанием Gal-3 в перitoneальной жидкости женщин с эндометриозом [24]. В связи с недостаточными данными о роли LAG-3/Gal-3 в патогенезе НГЭ их изучение является перспективным направлением.

Tim-3/Gal-9

Tim-3 экспрессируется на Т-лимфоцитах (преимущественно на CD4⁺ и CD80⁺), дендритных клетках, макрофагах, естественных киллерах [43, 103]. Основным его лигандом является галектин-9 (Gal-9), взаимодействие с которым ведет к апоптозу Th1- и Th17-лимфоцитов [95, 114]. Роль Tim-3 в подавлении противоопухолевого иммунитета доказана для рака толстой кишки [113], мочевого пузыря [104], рака шейки матки [23], немелкоклеточного рака легкого [106]. Помимо широкого изучения взаимодействия Tim-3 с Gal-9 в онкологии есть исследования, посвящен-

ТАБЛИЦА 3. ИНГИБИТОРЫ КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК ИММУНИТЕТА

TABLE 3. IMMUNE CHECKPOINTS INHIBITORS

Контрольная точка иммунитета Immune checkpoint	Препарат, блокирующий контрольную точку иммунитета Inhibitor of immune checkpoint	Опухоли, поддающиеся терапии препаратом Tumor treated with immune checkpoint inhibitor
CTLA-4	ипилимумаб ipilimumab	меланома [43], почечно-клеточный рак [22, 109], колоректальный рак [109], печеночно-клеточная карцинома [161], НМЛР [40], злокачественная мезотелиома плевры [108] melanoma [43], renal cell cancer [22, 109], colorectal cancer [109], hepatocellular cancer [161], NSCLC [40], malignant pleural mesothelioma [108]
PD-1	ниволумаб nivolumab	меланома, НМЛР [127], печеночно-клеточная карцинома [45], почечно-клеточный рак [143] melanoma, NSCLC [127], hepatocellular cancer [45], renal cell cancer [143]
	пембролизумаб pembrolizumab	РМЖ [113], меланома [83], НМЛР [5] breast cancer [113], melanoma [83], NSCLC [5]
	цемиплимаб cemiplimab	плоскоклеточный рак кожи [4] squamous cell cancer of the skin [4]
	ретифанлимаб retifanlimab	карцинома Меркеля [66] Merkel carcinoma [66]
PD-L1	атезолизумаб atesolismab	уротелиальный рак [120], печеночно-клеточная карцинома [125] urothelial cancer [120], hepatocellular cancer [125]
	авелумаб avelumab	карцинома Меркеля [37] Merkel carcinoma [37]
	дурвалумаб durvalumab	уротелиальный рак [6], НМРЛ [96] urothelial cancer [6], NSCLC [96]
LAG-3	эфтилагимод альфа eftilagimod alpha	РМЖ, меланома [9] breast cancer, melanoma [9]
	релатимаб relatlimab	меланома [107] melanoma [107]
TIM-3	нет зарегистрированных препаратов, препараты в разработке no registered medicines, medicines are in development	
TIGIT	нет зарегистрированных препаратов, препараты в разработке no registered medicines, medicines are in development	
4-1BB	урелумаб urelumab	В-клеточная лимфома [126] B cell lymphoma [126]
	утомилумаб utomilumab	колоректальный рак [32] colorectal cancer [32]
GITR	нет зарегистрированных препаратов, препараты в разработке no registered medicines, medicines are in development	

ные изучению их роли в репродуктивной системе женщины. Так, в 2005 г. R.M. Popovici изучала уровень мРНК Gal-9 в ткани эндометрия в течение менструального цикла и на ранних стадиях беременности. В результате исследования были получены данные о нарастании концентрации мРНК Gal-9 во второй фазе менструального цикла и, в особенности, в период окна имплантации [77].

Подобные результаты заложили перспективу дальнейшего изучения Gal-9 в механизмах рецептивности эндометрия. В литературе освещена роль Tim-3/Gal-9 в регуляции иммунного ответа и развитии толерантности, в том числе и во время беременности [30, 78]. Показано, что экспрессия Tim-3 снижена на NK-клетках пациенток с привычным выкидышем, в то время как концентра-

ция его основного лиганда – Gal-9 повышена в периферической крови, что делает данные маркеры потенциальными предикторами успешного вынашивания беременности [60]. Впервые исследование уровня Gal-9 в крови пациенток с эндометриозом было проведено в 2017 г. R. Brubel и соавт. [21]. Они показали статистически значимое повышение уровня Gal-9 в крови пациенток с эндометриозом по сравнению с пациентками с другими доброкачественными гинекологическими заболеваниями (среди них: миома матки, кисты яичников, внематочная беременность, бесплодие неясной этиологии), а также по сравнению с женщинами без гинекологической патологии. Авторы продемонстрировали высокую чувствительность (94%) и специфичность (93,75%) уровня Gal-9 в периферической крови в качестве диагностического маркера эндометриоза [21]. Исследование 2022 г. также показало, что определение уровня Gal-9 в крови пациенток с эндометриозом имеет высокую чувствительность (100%) и специфичность (88,46%) [51]. Изучение роли взаимодействия Tim-3/ Gal-9 в патогенезе эндометриоза продолжили M. Meggyes и соавт., которые оценивали экспрессию указанных КТИ на мононуклеарных лимфоцитах перитонеальной жидкости и периферической крови женщин с эндометриозом [67]. Экспрессия Gal-9 была значительно повышена на CD4⁺Т-лимфоцитах и Т-регуляторных клетках периферической крови по сравнению с контрольными женщинами. Помимо этого его значительно более высокая экспрессия была обнаружена на CD8⁺Т-клетках, CD56⁺, CD56^{dim}, CD56^{bright} NK-клетках перитонеальной жидкости в сравнении с клетками периферической крови пациенток с эндометриозом. Также было установлено, что экспрессия Tim-3 на CD4⁺Т-лимфоцитах пациенток с НГЭ была значительно ниже в периферической крови по сравнению с перитонеальной жидкостью, что свидетельствует о сниженном влиянии Tim-3/Gal-9 на периферии по сравнению с полостью малого таза, где непосредственно происходит развитие эндометриоидных гетеротопий. В то же время на CD8⁺Т-клетках перитонеальной жидкости экспрессия Tim-3 была значительно повышена. Общий уровень Т-регуляторных клеток был ниже как перитонеальной жидкости, так и в периферической крови женщин с эндометриозом. Однако степень экспрессии на них данных белков была выше. Такой дисбаланс может являться отличительной характеристикой нарушения иммунной функции при эндометриозе. В противоположность Т-регуляторным клеткам уровень экспрессии Tim-3 на NK-клетках был значительно ниже.

Как было отмечено выше, для женщин с эндометриозом характерно повышение концентрации Gal-9 как в крови, так и в перитонеальной жидкости [21]. Постоянное взаимодействие галектина со своим рецептором Tim-3 на NK-клетках может вызывать снижение экспрессии этого рецептора и, как следствие, дисфункцию NK-клеток, характерную для эндометриоза [52, 70]. Исследование 2019 г. продемонстрировало, что у пациенток с ВИЧ-инфекцией повышенная экспрессия Gal-9 на NK-клетках приводит к уменьшению продукции ими гранзима B, перфорина, гранулицина, и повышению синтеза интерферона-гамма [69]. Подобный механизм может лежать в основе сниженной цитотоксической активности естественных киллеров женщин с НГЭ.

TIGIT

Данная КТИ открыта впервые в 2009 г. и экспрессируется на поверхности Т-лимфоцитов и естественных киллеров. Его основным лигандом является рецептор полиовируса (PVR) – CD155, при взаимодействии с которым происходит ингибирование Т-лимфоцитов и снижение цитотоксической активности NK-клеток [62, 84]. Избегание иммунологического надзора с помощью данной КТИ доказано для меланомы [63], колоректального рака [71], печеночноклеточной карциномы [36]. В 2023 г. C. Li и соавт. опубликовали исследование, на основании результатов которого не было обнаружено различий в уровне экспрессии данной КТИ на поверхности CD4⁺Т-лимфоцитов между пациентками с эндометриозом и контрольной группой [58].

Наиболее изученные КТИ, в том числе в контексте эндометриоза, были рассмотрены выше. Далее мы рассмотрим КТИ, для которых описана роль в патогенезе опухолей, но имеющих потенциальные перспективы и для патогенеза НГЭ.

4-1BB

Несмотря на свое открытие еще в 1989 г. КТИ 4-1BB (CD137) и ее роль в развитии заболеваний еще далеко не изучены. 4-1BB экспрессируется Т-лимфоцитами, NK-клетками, дендритными клетками, гранулоцитами и макрофагами. В отличие от всех рассмотренных выше КТИ молекул, 4-1BB – костимуляторная молекула [90], которая взаимодействуя с лигандом 4-1BBL, экспрессируемым антигенпрезентирующей клеткой, приводит к активации Т-лимфоцитов, включая цитотоксические, NK-клетки [111]. Блокирование специфическими антагонистическими антителами 4-1BB в эксперименте приводит к апоптозу вышеперечисленных клеток [31, 32]. Широко изучены агонисты 4-1BB и их противоопухолевые эффекты, которые действуют по противопо-

ложному ИКТИ принципу [16, 33]. Нам не удалось найти в литературе данных, посвященных изучению 4-1BB при эндометриозе, однако его потенцирующее действие на цитотоксическую активность Т-клеток и естественных киллеров может оказаться перспективным патогенетически обоснованным направлением терапии НГЭ.

GITR

Глюокортикоид-индуцируемый рецептор туморонекротического фактора GITR был впервые открыт в 1997 г. Данная КТИ преимущественно экспрессируется на Т-регуляторных лимфоцитах [42], в меньшей степени на CD4⁺ или CD8⁺Т-лимфоцитах, естественных киллерах и дендритных клетках [26]. В качестве его лиганда выступает GITRL, обнаруженный на поверхности АПК. Так же как и 4-1BB, GITR является костимулирующей молекулой. На сегодняшний день не существует зарегистрированных и разрешенных к использованию в терапии моноклональных антител к GITR. Экспериментальные данные демонстрируют их эффективное использование на мышах в терапии плоскоклеточного рака пищевода [98]. Нам не удалось найти в литературе данных, посвященных изучению GITR при эндометриозе, что не снижает его потенциальной роли в патогенезе НГЭ.

Заключение

В связи с отсутствием высоко чувствительного и специфичного метода диагностики НГЭ поиск новых маркеров, наряду с поиском новых теорий возникновения этого заболевания, остается актуальной задачей для исследователей. Наличие общих черт у эндометриоза с опухолевым процессом является очевидным, в связи с чем роль КТИ в установке иммунологической толерантности при этой патологии является перспективным направлением изучения. Принимая во внимание теорию ретроградной менструации, следует отметить, что само по себе явление характерно для большинства женщин, однако наружный ге-

нитальный эндометриоз развивается лишь у некоторых из них. При попадании менструальной крови в перitoneальную полость у здоровых женщин реализуется адекватный иммунологический ответ, сопровождающийся активацией клеток врожденного и адаптивного иммунитета и препятствующий образованию эндометриоидных гетеротопий. Известно, что у пациенток с эндометриозом ответ иммунной системы недостаточный для подавления развития заболевания, что доказывают многочисленные исследования о снижении цитотоксической активности клеток среди данных больных. Главная функция КТИ заключается в подавлении активации иммунных клеток и, как следствие, выключении иммунологического надзора и прогрессии опухолей. Развитие эндометриоза возможно при наличии подобных нарушений местного иммунного ответа. Имеющиеся данные о дисбалансе экспрессии CTLA-4, PD-1, Tim-3, Gal-9 на иммунных клетках как периферической крови, так и перitoneальной жидкости подтверждают вовлечение этих молекул в патогенез заболевания. Использование ИКТИ может стать новым патогенетически обоснованным методом терапии НГЭ, механизм действия которого будет заключаться в индукции иммунного ответа. Помимо этого, отсутствие точного и малоинвазивного метода диагностики эндометриоза заставляет обратить внимание на галектин-9, чье достоверное увеличение концентрации в крови пациенток с эндометриозом, по сравнению со здоровыми женщинами, показало высокую диагностическую ценность. Таким образом, КТИ иммунного ответа, доказавшие свою высокую значимость в патогенезе онкологических заболеваний и ставшие эффективным методом их терапии, являются многообещающим направлением и в рамках изучения эндометриоза, разделяющими большое число характеристик опухолевого процесса.

Список литературы / References

1. Боголюбова А.В., Ефимов Г.А., Друтская М.С., Недоспасов С.А. Иммунотерапия опухолей, основанная на блокировке иммунологических контрольных «точек» («чекпойнтов») // Медицинская иммунология, 2015. Т. 17, № 5. С. 395-406. [Bogolyubova A.V., Efimov G.A., Drutskaya M.S., Nedospasov S.A. Cancer immunotherapy based on the blockade of immune checkpoints. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2015, Vol. 17, no. 5, pp. 395-406. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2015-5-395-406.
2. Герштейн Е.С., Уткин Д.О., Горячева И.О., Хуламханова М.М., Петрикова Н.А., Виноградов И.И., Алферов А.А., Стилиди И.С., Кушлинский Н.Е. Растворимые формы рецептора контрольной точки иммунитета PD-1 и его лиганда PD-L1 в плазме крови больных новообразованиями яичников // Альманах клинической медицины, 2018. Т. 46. С. 690-698. [Gershtein E.S., Utkin D.O., Goryacheva I.O., Khulamkhanova M.M., Petrikova N.A., Vinogradov I.I., Alferov A.A., Stilidi I.S., Kushlinskii N.E. Soluble forms of immune checkpoint

receptor PD-1 and its ligand PD-L1 in plasma of patients with ovarian neoplasms. *Almanakh klinicheskoy meditsiny = Almanac of Clinical Medicine*, 2018, Vol. 46, pp. 690-698. (In Russ.)]

3. Даренская А.Д., Румянцев А.А., Гуторов С.Л., Тюляндина А.С. Эволюция системной лекарственной терапии диссеминированного рака эндометрия. Обзор литературы // Злокачественные опухоли, 2023. Т. 13, № 2. С. 80-98. [Darenskaya A.D., Rumyantsev A.A., Gutorov S.L., Tyulyandina A.S. Evolution of systemic therapy for disseminated endometrial cancer: literature review. *Zlokachestvennye opukholi = Malignant Tumours*, 2023, Vol.13, no. 2, pp. 80-98. (In Russ.)]

4. Ковалева О.В., Белова Т.П., Кушлинский Д.Н., Короткова Е.А., Подлесная П.А., Грачев А.Н., Зиновьев С.В., Терешкина И.В., Соколов Н.Ю., Кудлай Д.А., Кушлинский Н.Е. Растворимые формы контрольных точек иммунитета при раке яичников // Клиническая лабораторная диагностика, 2021. Т. 66, № 2. С. 80-86. [Kovaleva O.V., Belova T.P., Kushlinsky D.N., Korotkova E.A., Podlesnaya P.A., Grachev A.N., Zinoviev S.V., Tereshkina I.V., Sokolov N.Yu., Kudlai D.A., Kushlinsky N.E. Soluble forms of immune checkpoints in ovarian cancer. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2021, Vol. 66, no. 2, pp. 80-86. (In Russ.)]

5. Кушлинский Н.Е., Герштейн Е.С., Горячева И.О., Морозов А.А., Алферов А.А., Бежанова С.Д., Казанцева И.А., Базаев В.В., Матвеев В.Б. Растворимые формы рецептора контрольной точки иммунитета PD-1 и его лиганды PD-L1 в сыворотке крови больных почечно-клеточным раком: клинико-морфологические корреляции // Онкоурология, 2019. Т. 15, № 1. С. 15-22. [Kushlinskii N.E., Gershtein E.S., Goryatcheva I.O., Morozov A.A., Alferov A.A., Bezhanova S.D., Kazantseva I.A., Bazaev V.V., Matveev V.B. Soluble forms of the immune check-point receptor PD-1 and its ligand PD-L1 in blood serum of patients with renal cell carcinoma: clinical and pathologic correlations. *Onkourologiya = Cancer Urology*, 2019, Vol. 15, no. 1, pp. 15-22. (In Russ.)]

6. Лядова М.А., Лядов В.К. Иммunoопосредованные нежелательные явления при терапии ингибиторами контрольных точек иммунитета: обзор литературы // Современная онкология, 2021. Т. 23, № 2. С. 319-326. [Lyadova M.A., Lyadov V.K. Immune-mediated adverse events in immune checkpoint inhibitors therapy: literature review. *Sovremennaya onkologiya = Journal of Modern Oncology*, 2021, Vol. 23, no. 2, pp. 319-326. (In Russ.)]

7. Мансорунов Д.Ж., Алимов А.А., Апанович Н.В., Кузеванова А.Ю., Богуш Т.А., Стилиди И.С., Карпухин А.В. Иммунотерапия рака желудка // Российский биотерапевтический журнал, 2019. Т. 18, № 4. С. 6-16. [Mansorunov D.Z., Alimov A.A., Apanovich N.V., Kuzevanova A.Yu., Bogush T.A., Stiliidi I.S., Karpukhin A.V. Gastric cancer immunotherapy. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy*, 2019, Vol. 18, no. 4, pp. 6-16. (In Russ.)]

8. Поддубская Е.В., Секачева М.И., Гурьянова А.А. Эндокринологические осложнения ингибиторов контрольных точек иммунитета: результаты одноцентрового исследования // Сеченовский вестник, 2019. Т. 10, № 4. С. 4-11. [Poddubskaya E.V., Sekacheva M.I., Guryanova A.A. Endocrine adverse events of immune checkpoint inhibitors: results of a single-center study. *Sechenovskiy vestnik = Sechenov Medical Journal*, 2019, Vol. 10, no. 4, pp. 4-11. (In Russ.)]

9. Цепелев В.Л., Четверяков А.В. Патогенетическое значение Lag-3 у пациентов с колоректальным раком // Российские биомедицинские исследования, 2023. Т. 8, № 2. С. 12-17. [Chetveryakov A.V., Tsepelev V.L. Pathogenetic significance of LAG-3 in patients with colorectal cancer. *Rossiyskie biomeditsinskie issledovaniya = Russian Biomedical Research*, 2023, Vol. 8, no. 2, pp. 12-17. (In Russ.)]

10. Шубникова Е.В., Букатина Т.М., Вельц Н.Ю., Каперко Д.А., Кутехова Г.В. Ингибиторы контрольных точек иммунного ответа: новые риски нового класса противоопухолевых средств // Безопасность и риск фармакотерапии, 2020. Т. 8, № 1. С. 9-22. [Shubnikova E.V., Bukatina T.M., Velts N.Yu., Kaperko D.A., Kutekhova G.V. Immune checkpoint inhibitors: new risks of a new class of antitumour agents. *Bezopasnost i risk farmakoterapii = Safety and Risk of Pharmacotherapy*, 2020, Vol. 8, no. 1, pp. 9-22. (In Russ.)]

11. Abdala-Saleh N., Lugassy J., Shivakumar-Kalvhati A., Turky A., Abu Ras S., Razon H., Berger N., Bar-On D., Bar-On Y., Taura T., Wilson D., Karin N. PD-1 and CTLA-4 serve as major gatekeepers for effector and cytotoxic T-cell potentiation by limiting a CXCL9/10-CXCR3-IFNgamma positive feedback loop. *Front. Immunol.*, 2024, Vol. 15, 1452212. doi: 10.3389/fimmu.2024.1452212.

12. Abramiuk M., Bebnowska D., Hrynkiewicz R., Polak P.N.G., Kotarski J., Rolinski J., Grywalska E. CLTA-4 Expression is associated with the maintenance of chronic inflammation in endometriosis and infertility. *Cells*, 2021, Vol. 10, no. 3, 487. 10.3390/cells10030487.

13. Abramiuk M., Frankowska K., Kulak K., Tarkowski R., Mertowska P., Mertowski S., Grywalska E. Possible Correlation between Urocortin 1 (Ucn1) and immune parameters in patients with endometriosis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, Vol. 24, no. 9, 7787. doi: 10.3390/ijms24097787.

14. Agic A., Djalali S., Wolfler M.M., Halis G., Diedrich K., Hornung D. Combination of CCR1 mRNA, MCP1, and CA125 measurements in peripheral blood as a diagnostic test for endometriosis. *Reprod. Sci.*, 2008, Vol. 15, no. 9, pp. 906-911.

15. Akinboro O., Larkins E., Pai-Scherf L.H., Mathieu L.N., Ren Y., Cheng J., Fiero M.H., Fu W., Bi Y., Kalavar S., Jafri S., Mishra-Kalyani P.S., Fourie Zirkelbach J., Li H., Zhao H., He K., Helms W.S., Chuk M.K., Wang M., Bulatao I.,

- Herz J., Osborn B.L., Xu Y., Liu J., Gong Y., Sickafuse S., Cohen R., Donoghue M., Pazdur R., Beaver J.A., Singh H. FDA Approval Summary: Pembrolizumab, Atezolizumab, and Cemiplimab-rwlc as Single Agents for First-Line Treatment of Advanced/Metastatic PD-L1-High NSCLC. *Clin Cancer Res.*, 2022, Vol. 28, no. 11, pp. 2221-2228.
16. Alsharedi M., Srivastava R., Elmsherghi N. Durvalumab for the treatment of urothelial carcinoma. *Drugs Today (Barc.)*, 2017, Vol. 53, no. 12, pp. 647-652.
17. Anglesio M.S., Papadopoulos N., Ayhan A., Nazeran T.M., Noe M., Horlings H.M., Lum A., Jones S., Senz J., Seckin T., Ho J., Wu R.C., Lac V., Ogawa H., Tessier-Cloutier B., Alhassan R., Wang A., Wang Y., Cohen J.D., Wong F., Hasanovic A., Orr N., Zhang M., Popoli M., McMahon W., Wood L.D., Mattox A., Allaire C., Segars J., Williams C., Tomasetti C., Boyd N., Kinzler K.W., Gilks C.B., Diaz L., Wang T.L., Vogelstein B., Yong P.J., Huntsman D.G., Shih I.M. Cancer-Associated Mutations in Endometriosis without Cancer. *N. Engl. J. Med.*, 2017, Vol. 376, no. 19, pp. 1835-1848.
18. Arabpour M., Ghods A., Shariat M., Talei A.R., Mehdipour F., Ghaderi A. Correlation of 4-1BBL⁺ B Cells in Tumor Draining Lymph Nodes with Pathological Characteristics of Breast Cancer. *Iran J. Immunol.*, 2019, Vol. 16, no. 2, pp. 108-116.
19. Atkinson V., Khattak A., Haydon A., Eastgate M., Roy A., Prithviraj P., Mueller C., Brignone C., Triebel F. Eftilagimod alpha, a soluble lymphocyte activation gene-3 (LAG-3) protein plus pembrolizumab in patients with metastatic melanoma. *J. Immunother. Cancer*, 2020, Vol. 8, no. 2, e001681. doi: 10.1136/jitc-2020-001681.
20. Azimnasab-Sorkhabi P., Soltani-Asl M., Kfouri Junior J.R. Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (CTLA-4) as an undetermined tool in tumor cells. *Hum. Cell*, 2023, Vol. 36, no. 4, pp. 1225-1232.
21. Baptista M.Z., Sarian L.O., Derchain S.F., Pinto G.A., Vassallo J. Prognostic significance of PD-L1 and PD-L2 in breast cancer. *Hum. Pathol.*, 2016, Vol. 47, no. 1, pp. 78-84.
22. Bardhan K., Anagnostou T., Boussiotis V.A. The PD1:PD-L1/2 pathway from discovery to clinical implementation. *Front. Immunol.*, 2016, Vol. 7, 550. doi: 10.3389/fimmu.2016.00550.
23. Barra F., Ferro Desideri L., Leone Roberti Maggiore U., Gaetano Vellone V., Maramai M., Scala C., Ferrero S. Endometriosis classification and the role of tumor necrosis factor-alpha polymorphisms as a therapeutic target. *Int. J. Fertil. Steril.*, 2020, Vol. 14, no. 1, pp. 76-77.
24. Bartkowiak T., Curran M.A. 4-1BB Agonists: multi-potent potentiators of tumor immunity. *Front. Oncol.*, 2015, Vol. 5, 117. doi: 10.3389/fonc.2015.00117.
25. Bettini M., Szymczak-Workman A.L., Forbes K., Castellaw A.H., Selby M., Pan X., Drake C.G., Korman A.J., Vignali D.A. Cutting edge: accelerated autoimmune diabetes in the absence of LAG-3. *J. Immunol.*, 2011, Vol. 187, no. 7, pp. 3493-3498.
26. Borrelli G.M., Abrao M.S., Mechsner S. Can chemokines be used as biomarkers for endometriosis? A systematic review. *Hum. Reprod.*, 2014, Vol. 29, no. 2, pp. 253-266.
27. Brinton L.A., Gridley G., Persson I., Baron J., Bergqvist A. Cancer risk after a hospital discharge diagnosis of endometriosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1997, Vol. 176, no. 3, pp. 572-579.
28. Brinton L.A., Sakoda L.C., Sherman M.E., Frederiksen K., Kjaer S.K., Graubard B.I., Olsen J.H., Mellemkjaer L. Relationship of benign gynecologic diseases to subsequent risk of ovarian and uterine tumors. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2005, Vol. 14, no. 12, pp. 2929-2935.
29. Brubel R., Bokor A., Pohl A., Schilli G.K., Szereday L., Bacher-Szamuel R., Rigo J. Jr., Polgar B. Serum galectin-9 as a noninvasive biomarker for the detection of endometriosis and pelvic pain or infertility-related gynecologic disorders. *Fertil. Steril.*, 2017, Vol. 108, no. 6, pp. 1016-1025e2.
30. Burghaus S., Drazic P., Wolfler M., Mechsner S., Zeppernick M., Meinhold-Heerlein I., Mueller M.D., Rothmund R., Vigano P., Becker C.M., Zondervan K.T., Beckmann M.W., Fasching P.A., Berner-Gatz S., Grunewald F.S., Hund M., Kastner P., Klammer M., Laubender R.P., Wegmeyer H., Wienhues-Thelen U.H., Renner S.P. Multicenter evaluation of blood-based biomarkers for the detection of endometriosis and adenomyosis: A prospective non-interventional study. *Int. J. Gynaecol. Obstet.*, 2023, Vol. 164, no. 1, pp. 305-314.
31. Cakir Y., Talu C.K., Trabulus D.C., Mermut O. The immunohistochemical Galectin-3 expression in tumor and cancer-associated fibroblasts in invasive ductal carcinomas of breast and their relationship with clinicopathological parameters. *Indian J. Pathol. Microbiol.*, 2023, Vol. 66, no. 3, pp. 456-464.
32. Canales Rojas R. Update on immunotherapy for renal cancer. *Medwave*, 2021, Vol. 21, no. 5, e8202. doi: 10.5867/medwave.2021.05.8202.
33. Cao Y., Zhou X., Huang X., Li Q., Gao L., Jiang L., Huang M., Zhou J. Tim-3 expression in cervical cancer promotes tumor metastasis. *PLoS One*, 2013, Vol. 8, no. 1, e53834. doi: 10.1371/journal.pone.0053834.
34. Caserta D., Di Benedetto L., Bordi G., D'Ambrosio A., Moscarini M. Levels of Galectin-3 and Stimulation Expressed Gene 2 in the peritoneal fluid of women with endometriosis: a pilot study. *Gynecol. Endocrinol.*, 2014, Vol. 30, no. 12, pp. 877-880.
35. Chambers C.A., Kuhns M.S., Egen J.G., Allison J.P. CTLA-4-mediated inhibition in regulation of T cell responses: mechanisms and manipulation in tumor immunotherapy. *Annu. Rev. Immunol.*, 2001, Vol. 19, pp. 565-594.
36. Chattopadhyay S., Chakraborty N.G. GITR expression on T-cell receptor-stimulated human CD8 T cell in a JNK-dependent pathway. *Indian J. Hum. Genet.*, 2009, Vol. 15, no. 3, pp. 121-124.

37. Chen S., Liu Y., Zhong Z., Wei C., Liu Y., Zhu X. Peritoneal immune microenvironment of endometriosis: Role and therapeutic perspectives. *Front. Immunol.*, 2023, Vol. 14, 1134663. doi: 10.3389/fimmu.2023.1134663.
38. Chen T., Wei J.L., Leng T., Gao F., Hou S.Y. The diagnostic value of the combination of hemoglobin, CA199, CA125, and HE4 in endometriosis. *J. Clin. Lab. Anal.*, 2021, Vol. 35, no. 9, e23947. doi: 10.1002/jcla.23947.
39. Chen W.C., Cheng C.M., Liao W.T., Chang T.C. Urinary Biomarkers for Detection of Clinical Endometriosis or Adenomyosis. *Biomedicines*, 2022, Vol. 10, no. 4, 833. doi: 10.3390/biomedicines10040833.
40. Chen X., Du Y., Hu Q., Huang Z. Tumor-derived CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells inhibit dendritic cells function by CTLA-4. *Pathol. Res. Pract.*, 2017, Vol. 213, no. 3, pp. 245-249.
41. Chen Z., Huang J., Kwak-Kim J., Wang W. Immune checkpoint inhibitors and reproductive failures. *J. Reprod. Immunol.*, 2023, Vol. 156, 103799. doi: 10.1016/j.jri.2023.103799.
42. Cheng L.S., Cheng Y.F., Liu W.T., Shen A., Zhang D., Xu T., Yin W., Cheng M., Ma X., Wang F., Zhao Q., Zeng X., Zhang Y., Shen G. A humanized 4-1BB-targeting agonistic antibody exerts potent antitumor activity in colorectal cancer without systemic toxicity. *J. Transl. Med.*, 2022, Vol. 20, no. 1, 415. doi: 10.1186/s12967-022-03619-w.
43. Chester C., Ambulkar S., Kohrt H.E. 4-1BB agonism: adding the accelerator to cancer immunotherapy. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2016, Vol. 65, no. 10, pp. 1243-1248.
44. Chester C., Sanmamed M.F., Wang J., Melero I. Immunotherapy targeting 4-1BB: mechanistic rationale, clinical results, and future strategies. *Blood*, 2018, Vol. 131, no. 1, pp. 49-57. doi: 10.1007/s00262-016-1829-2.
45. Choi Y.S., Kim S., Oh Y.S., Cho S., Hoon Kim S. Elevated serum interleukin-32 levels in patients with endometriosis: A cross-sectional study. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2019, Vol. 82, no. 2, e13149. doi: 10.1111/aji.13149.
46. Claus C., Ferrara-Koller C., Klein C. The emerging landscape of novel 4-1BB (CD137) agonistic drugs for cancer immunotherapy. *MAbs*, 2023, Vol. 15, no. 1, 2167189. doi: 10.1080/19420862.2023.2167189.
47. Collins J.M., Gulley J.L. Product review: avelumab, an anti-PD-L1 antibody. *Hum. Vaccin. Immunother.*, 2019, Vol. 15, no. 4, pp. 891-908.
48. Contardi E., Palmisano G.L., Tazzari P.L., Martelli A.M., Fala F., Fabbi M., Kato T., Lucarelli E., Donati D., Polito L., Bolognesi A., Ricci F., Salvi S., Gargaglione V., Mantero S., Alberghini M., Ferrara G.B., Pistillo M.P. CTLA-4 is constitutively expressed on tumor cells and can trigger apoptosis upon ligand interaction. *Int. J. Cancer*, 2005, Vol. 117, no. 4, pp. 538-550.
49. Daud A.I., Wolchok J.D., Robert C., Hwu W.J., Weber J.S., Ribas A., Hodi F.S., Joshua A.M., Kefford R., Hersey P., Joseph R., Gangadhar T.C., Dronca R., Patnaik A., Zarour H., Roach C., Toland G., Lunceford J.K., Li X.N., Emancipator K., Dolled-Filhart M., Kang S.P., Ebbinghaus S., Hamid O. Programmed Death-Ligand 1 Expression and Response to the Anti-Programmed Death 1 Antibody Pembrolizumab in Melanoma. *J. Clin. Oncol.*, 2016, Vol. 34, no. 34, pp. 4102-4109.
50. De Mello R.A.B., Voscaboinik R., Luciano J.V.P., Cremonese R.V., Amaral G.A., Castelo-Branco P., Antoniou G. Immunotherapy in Patients with Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Lacking Driver Mutations and Future Perspectives. *Cancers (Basel)*, 2021, Vol. 14, no. 1, 122. doi: 10.3390/cancers14010122.
51. Duan X., Liu J., Cui J., Ma B., Zhou Q., Yang X., Lu Z., Du Y., Su C. Expression of TIGIT/CD155 and correlations with clinical pathological features in human hepatocellular carcinoma. *Mol. Med. Rep.*, 2019, Vol. 20, no. 4, pp. 3773-3781.
52. Duman J., Dabelic S., Flogel M. Galectin-3: an open-ended story. *Biochim. Biophys. Acta*, 2006, Vol. 1760, no. 4, pp. 616-635.
53. Eggermont A.M., Robert C. New drugs in melanoma: it's a whole new world. *Eur. J. Cancer*, 2011, Vol. 47, no. 14, pp. 2150-2157.
54. Eurich K., De La Cruz P., Laguna A., Woodman M., McAdams J., Lips E., Ebott J., DiSilvestro J., Ribeiro J., James N. Multiplex serum immune profiling reveals circulating LAG-3 is associated with improved patient survival in high grade serous ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.*, 2023, Vol. 174, pp. 200-207.
55. Finkelmeier F., Waidmann O., Trojan J. Nivolumab for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Expert Rev. Anticancer Ther.*, 2018, Vol. 18, no. 12, pp. 1169-1175.
56. Geng H., Zhang G.M., Xiao H., Yuan Y., Li D., Zhang H., Qiu H., He Y.F., Feng Z.H. HSP70 vaccine in combination with gene therapy with plasmid DNA encoding sPD-1 overcomes immune resistance and suppresses the progression of pulmonary metastatic melanoma. *Int. J. Cancer*, 2006, Vol. 118, no. 11, pp. 2657-2664.
57. Gu Q., Li J., Chen Z., Zhang J., Shen H., Miao X., Zhou Y., Xu X., He S. Expression and Prognostic Significance of PD-L2 in Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Front. Oncol.*, 2021, Vol. 11, 664032. doi: 10.3389/fonc.2021.664032.
58. Guney G., Taskin M.I., Lagana A.S., Tolu E., Aslan F., Hismiogullari A.A., Kaya C. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin serum level: A potential noninvasive biomarker of endometriosis? *Medicine (Baltimore)*, 2023, Vol. 102, no. 41, e35539. doi: 10.1097/MD.00000000000035539.
59. Guo B., Chen J.H., Zhang J.H., Fang Y., Liu X.J., Zhang J., Zhu H.Q., Zhan L. Pattern-recognition receptors in endometriosis: A narrative review. *Front. Immunol.*, 2023, Vol. 14, 1161606. doi: 10.3389/fimmu.2023.1161606.
60. Gurney A.L., Marsters S.A., Huang R.M., Pitti R.M., Mark D.T., Baldwin D.T., Gray A.M., Dowd A.D., Brush A.D., Heldens A.D., Schow A.D., Goddard A.D., Wood W.I., Baker K.P., Godowski P.J., Ashkenazi A.

- Identification of a new member of the tumor necrosis factor family and its receptor, a human ortholog of mouse GITR. *Curr. Biol.*, 1999, Vol. 9, no. 4, pp. 215-218.
61. Hafler D.A., Kuchroo V. TIMs: central regulators of immune responses. *J. Exp. Med.*, 2008, Vol. 205, no. 12, pp. 2699-2701.
62. Hamanishi J., Mandai M., Iwasaki M., Okazaki T., Tanaka Y., Yamaguchi K., Higuchi T., Yagi H., Takakura K., Minato N., Honjo T., Fujii S. Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD8⁺ T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2007, Vol. 104, no. 9, pp. 3360-3365.
63. He Y., Jia K., Dziadziszko R., Zhao S., Zhang X., Deng J., Wang H., Hirsch F.R., Zhou C. Galectin-9 in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, 2019, Vol. 136, pp. 80-85.
64. He Y., Rivard C.J., Rozeboom L., Yu H., Ellison K., Kowalewski A., Zhou C., Hirsch F.R. Lymphocyte-activation gene-3, an important immune checkpoint in cancer. *Cancer Sci.*, 2016, Vol. 107, no. 9, pp. 1193-1197.
65. Hemon P., Jean-Louis F., Ramgolam K., Brignone C., Viguier M., Bachelez H., Triebel F., Charron D., Aoudjit F., Al-Daccak R., Michel L. MHC class II engagement by its ligand LAG-3 (CD223) contributes to melanoma resistance to apoptosis. *J. Immunol.*, 2011, Vol. 186, no. 9, pp. 5173-5183.
66. Hicks C., Leonardi M., Chua X.Y., Mari-Breedt L., Espanda M., El-Omar E.M., Condous G., El-Assaad F. Oral, Vaginal, and Stool Microbial Signatures in Patients with Endometriosis as Potential Diagnostic Non-Invasive Biomarkers: A Prospective Cohort Study. *BJOG*, 2024. doi: 10.1111/1471-0528.17979.
67. Hong J.H., Cho H.W., Ouh Y.T., Lee J.K., Chun Y. Lymphocyte activation gene (LAG)-3 is a potential immunotherapeutic target for microsatellite stable, programmed death-ligand 1 (PD-L1)-positive endometrioid endometrial cancer. *J. Gynecol. Oncol.*, 2023, Vol. 34, no. 2, e18. doi: 10.3802/jgo.2023.34.e18.
68. Huang R.Y., Francois A., McGraw A.R., Miliotto A., Odunsi K. Compensatory upregulation of PD-1, LAG-3, and CTLA-4 limits the efficacy of single-agent checkpoint blockade in metastatic ovarian cancer. *Oncoimmunology*, 2017, Vol. 6, no. 1, e1249561. doi: 10.1080/2162402X.2016.1249561.
69. Huo J.L., Wang Y.T., Fu W.J., Lu N., Liu Z.S. The promising immune checkpoint LAG-3 in cancer immunotherapy: from basic research to clinical application. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 956090. doi: 10.3389/fimmu.2022.95609.
70. Incognito G.G., Di Guardo F., Gulino F.A., Genovese F., Benvenuto D., Lello C., Palumbo M. Interleukin-6 as A Useful Predictor of Endometriosis-Associated Infertility: A Systematic Review. *Int. J. Fertil. Steril.*, 2023, Vol. 17, no. 4, pp. 226-230.
71. Jansa V., Pusic Novak M., Ban Frangez H., Rizner T.L. TGFBI as a candidate biomarker for non-invasive diagnosis of early-stage endometriosis. *Hum. Reprod.*, 2023, Vol. 38, no. 7, pp. 1284-1296.
72. Jarollahi S., Chaichian S., Jarollahi A., Hajmohammadi R., Mashayekhi R., Shahmohammadi F., Eslamivaghar M., Ghasemi Z. The Diagnostic Accuracy of Galectin-9 for Diagnosis of Endometriosis in Comparison with Laparoscopy. *J. Reprod. Infertil.*, 2022, Vol. 23, no. 4, pp. 271-278.
73. Jeung I., Cheon K., Kim M.R. Decreased cytotoxicity of peripheral and peritoneal natural killer cell in endometriosis. *Biomed Res. Int.*, 2016, Vol. 2016, e2916070. doi: 10.1155/2016/2916070.
74. Jiang J., Jiang Z., Xue M. Serum and peritoneal fluid levels of interleukin-6 and interleukin-37 as biomarkers for endometriosis. *Gynecol. Endocrinol.*, 2019, Vol. 35, no. 7, pp. 571-575. doi: 10.1080/09513590.2018.1554034.
75. Jolicoeur C., Boutouil M., Drouin R., Paradis I., Lemay A., Akoum A. Increased expression of monocyte chemotactic protein-1 in the endometrium of women with endometriosis. *Am. J. Pathol.*, 1998, Vol. 152, no. 1, pp. 125-133.
76. Kang C. Retifanlimab: First Approval. *Drugs*, 2023, Vol. 83, no. 8, pp. 731-737.
77. Kang Y.J., Jeung I.C., Park A., Park Y.J., Jung H., Kim T.D., Lee H.G., Choi I., Yoon S.R. An increased level of IL-6 suppresses NK cell activity in peritoneal fluid of patients with endometriosis via regulation of SHP-2 expression. *Hum. Reprod.*, 2014, Vol. 29, no. 10, pp. 2176-2189.
78. Kaya C., Alay I., Guraslan H., Gedikbasi A., Ekin M., Ertas Kaya S., Oral E., Yasar L. The Role of Serum Caspase 3 Levels in Prediction of Endometriosis Severity. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 2018, Vol. 83, no. 6, pp. 576-585.
79. Keir M.E., Butte M.J., Freeman G.J., Sharpe A.H. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu. Rev. Immunol.*, 2008, Vol. 26, pp. 677-704.
80. Kimber-Trojnar Z., Pilszyk A., Niebrzydowska M., Pilszyk Z., Ruszala M., Leszczynska-Gorzelak B. The potential of non-invasive biomarkers for early diagnosis of asymptomatic patients with endometriosis. *J. Clin. Med.*, 2021, Vol. 10, no. 13, e2762. doi: 10.3390/jcm10132762.
81. Kong F., Jin M., Cao D., Jia Z., Liu Y., Jiang J. Galectin-3 not Galectin-9 as a candidate prognosis marker for hepatocellular carcinoma. *PeerJ*, 2020, Vol. 8, e9949. doi: 10.7717/peerj.9949.
82. Kovalak E.E., Karacan T., Zengi O., Karabay Akgul O., Ozyurek S.E., Guraslan H. Evaluation of new biomarkers in stage III and IV endometriosis. *Gynecol. Endocrinol.*, 2023, Vol. 39, no. 1, 2217290. doi: 10.1080/09513590.2023.2217290.
83. Krummel M.F., Allison J.P. CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation. *J. Exp. Med.*, 1995, Vol. 182, no. 2, pp. 459-465.

84. Laudanski P., Rogalska G., Warzecha D., Lipa M., Manka G., Kiecka M., Spaczynski R., Piekarski P., Banaszewska B., Jakimiuk A., Issat T., Rokita W., Mlodawski J., Szubert M., Sieroszewski P., Raba G., Szczupak K., Kluz T., Kluza M., Neuman T., Adler P., Peterson H., Salumets A., Wielgos M. Autoantibody screening of plasma and peritoneal fluid of patients with endometriosis. *Hum. Reprod.*, 2023, Vol. 38, no. 4, pp. 629-643.
85. Lee M.Y., Kim S.H., Oh Y.S., Heo S.H., Kim K.H., Chae H.D., Kim C.H., Kang B.M. Role of interleukin-32 in the pathogenesis of endometriosis: in vitro, human and transgenic mouse data. *Hum. Reprod.*, 2018, Vol. 33, no. 5, pp. 807-816.
86. Li C., Zhou J., Shao J., Yuan L., Cheng Q., Wang L., Duan Z. Decrease in CD226 expression on CD4(+) T cells in patients with endometriosis. *Biosci. Trends*, 2023, Vol. 17, no. 2, pp. 168-171.
87. Li J., Yan S., Li Q., Huang Y., Ji M., Jiao X., Yuan M., Wang G. Macrophage-associated immune checkpoint CD47 blocking ameliorates endometriosis. *Mol. Hum. Reprod.*, 2022, Vol. 28, no. 5, gaac010. doi: 10.1093/molehr/gaac010.
88. Li Y., Zhang J., Zhang D., Hong X., Tao Y., Wang S., Xu Y., Piao H., Yin W., Yu M., Zhang Y., Fu Q., Li D., Chang X., Du M. Tim-3 signaling in peripheral NK cells promotes maternal-fetal immune tolerance and alleviates pregnancy loss. *Sci. Signal.*, 2017, Vol. 10, no. 498, eaah4323. doi: 10.1126/scisignal.aah4323.
89. Liu Q., Ma P., Liu L., Ma G., Ma J., Liu X., Liu Y., Lin W., Zhu Y. Evaluation of PLGA containing anti-CTLA4 inhibited endometriosis progression by regulating CD4⁺CD25⁺Treg cells in peritoneal fluid of mouse endometriosis model. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2017, Vol. 96, pp. 542-550.
90. Lozano E., Dominguez-Villar M., Kuchroo V., Hafler D.A. The TIGIT/CD226 axis regulates human T cell function. *J. Immunol.*, 2012, Vol. 188, no. 8, pp. 3869-3875.
91. Mahnke K., Enk A.H. TIGIT-CD155 Interactions in Melanoma: A Novel Co-Inhibitory Pathway with Potential for Clinical Intervention. *J. Invest. Dermatol.*, 2016, Vol. 136, no. 1, pp. 9-11.
92. Man Y., Dai C., Guo Q., Jiang L., Shi Y. A novel PD-1/PD-L1 pathway molecular typing-related signature for predicting prognosis and the tumor microenvironment in breast cancer. *Discov. Oncol.*, 2023, Vol. 14, no. 1, 59. doi: 10.1007/s12672-023-00669-4.
93. Martin-Liberal J., Kordbacheh T., Larkin J. Safety of pembrolizumab for the treatment of melanoma. *Expert Opin. Drug Saf.*, 2015, Vol. 14, no. 6, pp. 957-964.
94. Martire F.G., Russo C., Selntigia A., Nocita E., Soreca G., Lazzeri L., Zupi E., Exacoustos C. Early noninvasive diagnosis of endometriosis: dysmenorrhea and specific ultrasound findings are important indicators in young women. *Fertil. Steril.*, 2023, Vol. 119, no. 3, pp. 455-464.
95. Maruhashi T., Sugiura D., Okazaki I.M., Okazaki T. LAG-3: from molecular functions to clinical applications. *J. Immunother. Cancer*, 2020, Vol. 8, no. 2, e001014. doi: 10.1136/jitc-2020-001014.
96. Matalliotakis I., Neonaki M., Zolindaki A., Hassan E., Georgoulias V., Koumantakis E. Changes in immunologic variables (TNF-a, sCD8 and sCD4) during danazol treatment in patients with endometriosis. *Int. J. Fertil. Womens Med.*, 1997, Vol. 42, no. 3, pp. 211-214.
97. Matsubara E., Shinchi Y., Komohara Y., Yano H., Pan C., Fujiwara Y., Ikeda K., Suzuki M. PD-L2 overexpression on tumor-associated macrophages is one of the predictors for better prognosis in lung adenocarcinoma. *Med. Mol. Morphol.*, 2023, Vol. 56, no. 4, pp. 250-256.
98. Meggyes M., Szereday L., Bohonyi N., Koppan M., Szegedi S., Marics-Kutas A., Marton M., Tot Simon A., Polgar B. Different Expression Pattern of TIM-3 and Galectin-9 Molecules by Peripheral and Peritoneal Lymphocytes in Women with and without Endometriosis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, Vol. 21, no. 7, 2343. doi: 10.3390/ijms21072343.
99. Mikus M., Goldstajn M.S., Brlecic I., Dumancic S., Lagana A.S., Chiantera V., Vujic G., Coric M. CTLA4-Linked Autoimmunity in the Pathogenesis of Endometriosis and Related Infertility: A Systematic Review. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, Vol. 23, no. 18, 10902. doi: 10.3390/ijms231810902.
100. Motamedi M., Shahbaz S., Fu L., Dunsmore G., Xu L., Harrington R., Houston S., Elahi S. Galectin-9 Expression Defines a Subpopulation of NK Cells with Impaired Cytotoxic Effector Molecules but Enhanced IFN-gamma Production, Dichotomous to TIGIT, in HIV-1 Infection. *Immunohorizons*, 2019, Vol. 3, no. 11, pp. 531-546.
101. Muharam R., Bustami A., Gusti Mansur I., Zulkifli Jacob T., Giustiniani J., Schiavon V., Bensussan A. Cytotoxic activity of peripheral blood mononuclear cells in patients with endometriosis: A cross-sectional study. *Int. J. Reprod. Biomed.*, 2022, Vol. 20, no. 8, pp. 691-700.
102. Murakami D., Matsuda K., Iwamoto H., Mitani Y., Mizumoto Y., Nakamura Y., Matsuzaki I., Iwamoto R., Takahashi Y., Kojima F., Murata S.I., Yamaue H. Prognostic value of CD155/TIGIT expression in patients with colorectal cancer. *PLoS One*, 2022, Vol. 17, no. 3, e0265908. doi: 10.1371/journal.pone.0265908.
103. Mutti L., Valle M.T., Balbi B., Orengo A.M., Lazzaro A., Alciato P., Gatti E., Betta P.G., Pozzi E. Primary human mesothelioma cells express class II MHC, ICAM-1 and B7-2 and can present recall antigens to autologous blood lymphocytes. *Int. J. Cancer*, 1998, Vol. 78, no. 6, pp. 740-749.
104. Naseri S., Rosenberg-Hasson Y., Maecker H.T., Avrutsky M.I., Blumenthal P.D. A cross-sectional study comparing the inflammatory profile of menstrual effluent vs. peripheral blood. *Health Sci. Rep.*, 2023, Vol. 6, no. 1, e1038. doi: 10.1002/hsr.21038.

105. Nasr S., Haddad F.G., Khazen J., Kattan J., Trak-Smayra V. PD-L1 protein expression by Combined Positive Score (CPS) in patients with muscle invasive or advanced urothelial carcinoma: a single institution experience. *BMC Cancer*, 2023, Vol. 23, no. 1, 817. doi: 10.1186/s12885-023-11299-y.
106. Neumann M., Murphy N., Seetharamu N. The Evolving Role of PD-L1 Inhibition in Non-Small Cell Lung Cancer: A Review of Durvalumab and Avelumab. *Cancer Med. J.*, 2022, Vol. 5, no. 1, pp. 31-45.
107. Nomi T., Sho M., Akahori T., Hamada K., Kubo A., Kanehiro H., Nakamura S., Enomoto K., Yagita H., Azuma M., Nakajima Y. Clinical significance and therapeutic potential of the programmed death-1 ligand/programmed death-1 pathway in human pancreatic cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2007, Vol. 13, no. 7, pp. 2151-2157.
108. Oksasoglu B., Hepokur C., Misir S., Yildiz C., Sonmez G., Yanik A. Determination of PD-1 expression in peripheral blood cells in patients with endometriosis. *Gynecol. Endocrinol.*, 2021, Vol. 37, no. 2, pp. 157-161.
109. Olkowska-Truchanowicz J., Bialoszewska A., Zwierzchowska A., Sztokfisz-Ignasiak A., Janiuk I., Dabrowski F., Korczak-Kowalska G., Barcz E., Bocian K., Malejczyk J. Peritoneal Fluid from Patients with Ovarian Endometriosis Displays Immunosuppressive Potential and Stimulates Th2 Response. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, Vol. 22, no. 15, 8134. doi: 10.3390/ijms22158134.
110. Ortiz C.N., Torres-Reveron A., Appleyard C.B. Metabolomics in endometriosis: challenges and perspectives for future studies. *Reprod. Fertil.*, 2021, Vol. 2, no. 2, pp. R35-R50.
111. Othman Eel D., Hornung D., Salem H.T., Khalifa E.A., El-Metwally T.H., Al-Hendy A. Serum cytokines as biomarkers for nonsurgical prediction of endometriosis. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 2008, Vol. 137, no. 2, pp. 240-246.
112. Othman E.R., Hornung D., Hussein M., Abdelaal I.I., Sayed A.A., Fetih A.N., Al-Hendy A. Soluble tumor necrosis factor-alpha receptors in the serum of endometriosis patients. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 2016, Vol. 200, pp. 1-5.
113. Oyama R., Kanayama M., Mori M., Matsumiya H., Taira A., Shinohara S., Takenaka M., Yoneda K., Kuroda K., Tanaka F. CD155 expression and its clinical significance in non-small cell lung cancer. *Oncol. Lett.*, 2022, Vol. 23, no. 5, 166. doi: 10.3892/ol.2022.13286
114. Pan H.Y., Wan J. Serum HSF1 is upregulated in endometriosis patients and serves as a potential diagnostic biomarker. *Kaohsiung J. Med. Sci.*, 2023, Vol. 39, no. 10, pp. 1045-1051.
115. Popovici R.M., Krause M.S., Germeyer A., Strowitzki T., von Wolff M. Galectin-9: a new endometrial epithelial marker for the mid- and late-secretory and decidual phases in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2005, Vol. 90, no. 11, pp. 6170-6176.
116. Qi H., Li Y., Liu X., Jiang Y., Li Z., Xu X., Zhang H., Hu X. Tim-3 regulates the immunosuppressive function of decidual MDSCs via the Fyn-STAT3-C/EBPbeta pathway during Toxoplasma gondii infection. *PLoS Pathog.*, 2023, Vol. 19, no. 4, e1011329. doi: 10.1371/journal.ppat.1011329.
117. Raschi E., Comito F., Massari F., Gelsomino F. Relatlimab and nivolumab in untreated advanced melanoma: insight into RELATIVITY. *Immunotherapy*, 2023, Vol. 15, no. 2, pp. 85-91.
118. Rondon L., Fu R., Patel M.R. Success of checkpoint blockade paves the way for novel immune therapy in malignant pleural mesothelioma. *Cancers (Basel)*, 2023, Vol. 15, no. 11, 2940. doi: 10.3390/cancers15112940.
119. Rotte A. Combination of CTLA-4 and PD-1 blockers for treatment of cancer. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 2019, Vol. 38, no. 1, 255. doi: 10.1186/s13046-019-1259-z.
120. Sansone A.M., Hisrich B.V., Young R.B., Abel W.F., Bowens Z., Blair B.B., Funkhouser A.T., Schammel D.P., Green L.J., Lessey B.A., Blenda A.V. Evaluation of BCL6 and SIRT1 as non-invasive diagnostic markers of endometriosis. *Curr. Issues Mol. Biol.*, 2021, Vol. 43, no. 3, pp. 1350-1360.
121. Santoso B., Sa'adi A., Dwiningsih S.R., Tunjungseto A., Widyanugraha M.Y.A., Mufid A.F., Rahmawati N.Y., Ahsan F. Soluble immune checkpoints CTLA-4, HLA-G, PD-1, and PD-L1 are associated with endometriosis-related infertility. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2020, Vol. 84, no. 4, e13296. doi: 10.1111/aji.13296.
122. Shafrir A.L., Farland L.V., Shah D.K., Harris H.R., Kvaskoff M., Zondervan K., Missmer S.A. Risk for and consequences of endometriosis: A critical epidemiologic review. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*, 2018, Vol. 51, pp. 1-15.
123. Shah M., Osgood C.L., Amatya A.K., Fiero M.H., Pierce W.F., Nair A., Herz J., Robertson K.J., Mixter B.D., Tang S., Pazdur R., Beaver J.A., Amiri-Kordestani L. FDA approval summary: pembrolizumab for neoadjuvant and adjuvant treatment of patients with high-risk early-stage triple-negative breast cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2022, Vol. 28, no. 24, pp. 5249-5253.
124. Shigesi N., Kvaskoff M., Kirtley S., Feng Q., Fang H., Knight J.C., Missmer S.A., Rahmioglu N., Zondervan K.T., Becker C.M. The association between endometriosis and autoimmune diseases: a systematic review and meta-analysis. *Hum. Reprod. Update*, 2019, Vol. 25, no. 4, pp. 486-503.
125. Simone R., Pesce G., Antola P., Rumbullaku M., Bagnasco M., Bizzaro N., Saverino D. The soluble form of CTLA-4 from serum of patients with autoimmune diseases regulates T-cell responses. *Biomed. Res. Int.*, 2014, Vol. 2014, 215763. doi: 10.1155/2014/215763.

126. Souza D.S., Macheroni C., Pereira G.J.S., Vicente C.M., Porto C.S. Molecular regulation of prostate cancer by Galectin-3 and estrogen receptor. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, 2023, Vol. 14, 1124111. doi: 10.3389/fendo.2023.1124111.
127. Stanietsky N., Simic H., Arapovic J., Toporik A., Levy O., Novik A., Levine Z., Beiman M., Dassa L., Achdout H., Stern-Ginossar N., Tsukerman P., Jonjic S., Mandelboim O. The interaction of TIGIT with PVR and PVRL2 inhibits human NK cell cytotoxicity. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2009, Vol. 106, no. 42, pp. 17858-17863.
128. Stasenko M., Smith E., Yeku O., Park K.J., Laster I., Lee K., Walderich S., Spriggs E., Rueda B., Weigelt B., Zamarin D., Rao T.D., Spriggs D.R. Targeting galectin-3 with a high-affinity antibody for inhibition of high-grade serous ovarian cancer and other MUC16/CA-125-expressing malignancies. *Sci. Rep.*, 2021, Vol. 11, no. 1, 3718. doi: 10.1038/s41598-021-82686-3.
129. Suszczynski D., Skiba W., Zardziewialy W., Pawlowska A., Włodarczyk K., Polak G., Tarkowski R., Wertel I. Clinical Value of the PD-1/PD-L1/PD-L2 Pathway in Patients Suffering from Endometriosis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, Vol. 23, no. 19, 11607. doi: 10.3390/ijms231911607.
130. Suzman D.L., Agrawal S., Ning Y.M., Maher V.E., Fernandes L.L., Karuri S., Tang S., Sridhara R., Schroeder J., Goldberg K.B., Ibrahim A., McKee A.E., Pazdur R., Beaver J.A. FDA approval summary: atezolizumab or pembrolizumab for the treatment of patients with advanced urothelial carcinoma ineligible for cisplatin-containing chemotherapy. *Oncologist*, 2019, Vol. 24, no. 4, pp. 563-569.
131. Sznol M. Blockade of the B7-H1/PD-1 pathway as a basis for combination anticancer therapy. *Cancer J.*, 2014, Vol. 20, no. 4, pp. 290-295.
132. Tahermanesh K., Hakimpour S., Govahi A., Rokhgireh S., Mehdizadeh M., Minaeian S., Barati M., Chaichian S., Kashi A.M., Nassiri S., Eslahi N., Ajdary M., Ahmadi M. Evaluation of expression of biomarkers of PLAGL1 (ZAC1), microRNA, and their non-coding RNAs in patients with endometriosis. *J. Gynecol. Obstet. Hum. Reprod.*, 2023, Vol. 52, no. 4, 102568. doi: 10.1016/j.jogoh.2023.102568.
133. Tanaka E., Sendo F., Kawagoe S., Hiroi M. Decreased natural killer cell activity in women with endometriosis. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 1992, Vol. 34, no. 1, pp. 27-30.
134. Tang T., Lai H., Huang X., Gu L., Shi H. Application of serum markers in diagnosis and staging of ovarian endometriosis. *J. Obstet. Gynaecol. Res.*, 2021, Vol. 47, no. 4, pp. 1441-1450.
135. Tella S.H., Kommalapati A., Mahipal A., Jin Z. First-Line Targeted therapy for hepatocellular carcinoma: role of atezolizumab/bevacizumab combination. *Biomedicines*, 2022, Vol. 10, no. 6, 1304. doi: 10.3390/biomedicines10061304.
136. Timmerman J., Herbaux C., Ribrag V., Zelenetz A.D., Houot R., Neelapu S.S., Logan T., Lossos I.S., Urba W., Salles G., Ramchandren R., Jacobson C., Godwin J., Carpio C., Lathers D., Liu Y., Neely J., Suryawanshi S., Koguchi Y., Levy R. Urelumab alone or in combination with rituximab in patients with relapsed or refractory B-cell lymphoma. *Am. J. Hematol.*, 2020, Vol. 95, no. 5, pp. 510-520.
137. Vellanki P.J., Mulkey F., Jaigirdar A.A., Rodriguez L., Wang Y., Xu Y., Zhao H., Liu J., Howe G., Wang J., Choo Q., Golding S.J., Mansell V., Korsah K., Spillman D., de Claro R.A., Pazdur R., Beaver J.A., Singh H. FDA Approval Summary: Nivolumab with Ipilimumab and Chemotherapy for Metastatic Non-small Cell Lung Cancer, A Collaborative Project Orbis Review. *Clin. Cancer Res.*, 2021, Vol. 27, no. 13, pp. 3522-3527.
138. Vence L., Bucktrout S.L., Fernandez Curbelo I., Blando J., Smith B.M., Mahne A.E., Lin J.C., Park T., Pascua E., Sai T., Chaparro-Riggers J., Subudhi S.K., Scutti J.B., Higa M.G., Zhao H., Yadav S.S., Maitra A., Wistuba I.I., Allison J.P., Sharma P. Characterization and Comparison of GITR Expression in Solid Tumors. *Clin. Cancer Res.*, 2019, Vol. 25, no. 21, pp. 6501-6510.
139. Villanacci R., Bandini V., Ottolina J., Pagliardini L., Candiani M., Vigano P. The pathogenesis of endometriosis: clues from the immunological evidence. *Minerva Obstet. Gynecol.*, 2021, Vol. 73, no. 3, pp. 275-282.
140. Vinay D.S., Kwon B.S. 4-1BB signaling beyond T cells. *Cell. Mol. Immunol.*, 2011, Vol. 8, no. 4, pp. 281-284.
141. von Euw E., Chodon T., Attar N., Jalil J., Koya R.C., Comin-Anduix B., Ribas A. CTLA4 blockade increases Th17 cells in patients with metastatic melanoma. *J. Transl. Med.*, 2009, Vol. 7, 35. doi: 10.1186/1479-5876-7-35.
142. Walankiewicz M., Grywalska E., Polak G., Korona-Głowniak I., Witt E., Surdacka A., Kotarski J., Rolinski J. The increase of circulating PD-1- and PD-L1-expressing lymphocytes in endometriosis: correlation with clinical and laboratory parameters. *Mediators Inflamm.*, 2018, Vol. 2018, 7041342. doi: 10.1155/2018/7041342.
143. Wang X.B., Fan Z.Z., Anton D., Vollenhoven A.V., Ni Z.H., Chen X.F., Lefvert A.K. CTLA4 is expressed on mature dendritic cells derived from human monocytes and influences their maturation and antigen presentation. *BMC Immunol.*, 2011, Vol. 12, 21. doi: 10.1186/1471-2172-12-21.
144. Wang Y., Du J., Gao Z., Sun H., Mei M., Wang Y., Ren Y., Zhou X. Evolving landscape of PD-L2: bring new light to checkpoint immunotherapy. *Br. J. Cancer*, 2023, Vol. 128, no. 7, pp. 1196-1207.
145. Wang Y., Feng T., Li H., Xiong Y., Tao Y. Gal-9/Tim-3 signaling pathway activation suppresses the generation of Th17 cells and promotes the induction of Foxp3(+) regulatory T cells in renal ischemia-reperfusion injury. *Mol. Immunol.*, 2023, Vol. 156, pp. 136-147.
146. Warzecha D., Zalecka J., Manka G., Kiecka M., Lipa M., Spaczynski R., Piekarski P., Banaszewska B., Jakimiuk A., Issat T., Rokita W., Mlodawski J., Szubert M., Sieroszewski P., Raba G., Szczupak K., Kluz T., Kluza M.,

- Wielgos M., Oldak L., Lesniewska A., Gorodkiewicz E., Laudanski P. Plasma and peritoneal fluid fibronectin and collagen IV levels as potential biomarkers of endometriosis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, Vol. 23, no. 24, 15669. doi: 10.3390/ijms232415669.
147. Wessels J.M., Kay V.R., Leyland N.A., Agarwal S.K., Foster W.G. Assessing brain-derived neurotrophic factor as a novel clinical marker of endometriosis. *Fertil. Steril.*, 2016, Vol. 105, no. 1, pp. 119-128e1-5.
148. Wiles K.N., Tsikretsis L.E., Alioto C.M., Hermida de Viveiros P.A., Villaflor V.M., Tetreault M.P. GITR agonistic stimulation enhances the anti-tumor immune response in a mouse model of ESCC. *Carcinogenesis*, 2022, Vol. 43, no. 9, pp. 908-918.
149. Wing K., Onishi Y., Prieto-Martin P., Yamaguchi T., Miyara M., Fehervari Z., Nomura T., Sakaguchi S. CTLA-4 control over FoXP3⁺ regulatory T cell function. *Science*, 2008, Vol. 322, no. 5899, pp. 271-275.
150. Wroblewski J.M., Bixby D.L., Borowski C., Yannelli J.R. Characterization of human non-small cell lung cancer (NSCLC) cell lines for expression of MHC, co-stimulatory molecules and tumor-associated antigens. *Lung Cancer*, 2001, Vol. 33, no. 2-3, pp. 181-94.
151. Wu L., Lv C., Su Y., Li C., Zhang H., Zhao X., Li M. Expression of programmed death-1 (PD-1) and its ligand PD-L1 is upregulated in endometriosis and promoted by 17beta-estradiol. *Gynecol. Endocrinol.*, 2019, Vol. 35, no. 3, pp. 251-256.
152. Xu F., Liu J., Liu D., Liu B., Wang M., Hu Z., Du X., Tang L., He F. LSECtin expressed on melanoma cells promotes tumor progression by inhibiting antitumor T-cell responses. *Cancer Res.*, 2014, Vol. 74, no. 13, pp. 3418-3428.
153. Xu J.X., Maher V.E., Zhang L., Tang S., Sridhara R., Ibrahim A., Kim G., Pazdur R. FDA approval summary: nivolumab in advanced renal cell carcinoma after anti-angiogenic therapy and exploratory predictive biomarker analysis. *Oncologist*, 2017, Vol. 22, no. 3, pp. 311-317.
154. Xue C., Zhu D., Chen L., Xu Y., Xu B., Zhang D., Jiang J. Expression and prognostic value of PD-L1 and PD-L2 in ovarian cancer. *Transl. Cancer Res.*, 2019, Vol. 8, no. 1, pp. 111-119.
155. Yamashita S., Hashimoto K., Sawada I., Ogawa M., Nakatsuka E., Kawano M., Kinose Y., Kodama M., Sawada K., Kimura T. Endometrial galectin-3 causes endometriosis by supporting eutopic endometrial cell survival and engraftment in the peritoneal cavity. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2022, Vol. 87, no. 6, e13533. doi: 10.1111/aji.13533.
156. Yan J., Zhang Y., Zhang J.P., Liang J., Li L., Zheng L. Tim-3 expression defines regulatory T cells in human tumors. *PLoS One*, 2013, Vol. 8, no. 3, e58006. doi: 10.1371/journal.pone.0058006.
157. Yang M., Yu Q., Liu J., Fu W., Cao Y., Yu L., Shao S., Wang X., Niu H., Wang Y. T-cell immunoglobulin mucin-3 expression in bladder urothelial carcinoma: Clinicopathologic correlations and association with survival. *J. Surg. Oncol.*, 2015, Vol. 112, no. 4, pp. 430-435.
158. Yasinska I.M., Sakhnevych S.S., Pavlova L., Teo Hansen Selno A., Teuscher Abeleira A.M., Benlaouer O., Goncalves Silva I., Mosimann M., Varani L., Bardelli M., Hussain R., Siligardi G., Cholewa D., Berger S.M., Gibbs B.F., Ushkaryov Y.A., Fasler-Kan E., Klenova E., Sumbayev V.V. The Tim-3-Galectin-9 Pathway and Its Regulatory Mechanisms in Human Breast Cancer. *Front. Immunol.*, 2019, Vol. 10, 1594. doi: 10.3389/fimmu.2019.01594.
159. Yildiz C., Caner A., Oksasoglu B., Misir S., Yaylim I., Hepokur C. The role of cytokeratin 19 levels in the determination of endometriosis stages. *Gynecol. Endocrinol.*, 2022, Vol. 38, no. 10, pp. 879-884.
160. Zhang C., Xu L., Ma Y., Huang Y., Zhou L., Le H., Chen Z. Increased TIM-3 expression in tumor-associated macrophages predicts a poorer prognosis in non-small cell lung cancer: a retrospective cohort study. *J. Thorac. Dis.*, 2023, Vol. 15, no. 3, pp. 1433-1444.
161. Zhang Y., Wu L., Wen X., Lv X. Identification and validation of risk score model based on gene set activity as a diagnostic biomarker for endometriosis. *Helijon*, 2023, Vol. 9, no. 7, e18277. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e18277.
162. Zhang Y., Yang R., Xu C., Zhang Y., Deng M., Wu D., Tang F., Liu X., Han Y., Zhan Y., Miao J. Analysis of the immune checkpoint lymphocyte activation gene-3 (LAG-3) in endometrial cancer: An emerging target for immunotherapy. *Pathol. Res. Pract.*, 2022, Vol. 236, e153990. doi: 10.1016/j.prp.2022.153990.
163. Zhang Y., Yao Q., Pan Y., Fang X., Xu H., Zhao T., Zhu G., Jiang T., Li S., Cao H. Efficacy and Safety of PD-1/PD-L1 checkpoint inhibitors versus Anti-PD-1/PD-L1 combined with other therapies for tumors: a systematic review. *Cancers (Basel)*, 2023, Vol. 15, no. 3, 682. doi: 10.3390/cancers15030682.
164. Zhang Y., Zhang H., Wei M., Mou T., Shi T., Ma Y., Cai X., Li Y., Dong J., Wei J. Recombinant adenovirus expressing a soluble fusion protein PD-1/CD137L subverts the suppression of CD8(+) T cells in HCC. *Mol. Ther.*, 2019, Vol. 27, no. 11, pp. 1906-1918.
165. Zhang Y., Zheng J. Functions of immune checkpoint molecules beyond immune evasion. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2020, Vol. 1248, pp. 201-226.
166. Zheng D., Hou X., Yu J., He X. Combinatorial strategies with PD-1/PD-L1 immune checkpoint blockade for breast cancer therapy: mechanisms and clinical outcomes. *Front. Pharmacol.*, 2022, Vol. 13, 928369. doi: 10.3389/fphar.2022.928369.
167. Zheng L., Sun D.F., Tong Y. Exosomal miR-202 derived from leukorrhea as a potential biomarker for endometriosis. *J. Int. Med. Res.*, 2023, Vol. 51, no. 1, 3000605221147183. doi: 10.1177/03000605221147183.

168. Zhou E., Huang Q., Wang J., Fang C., Yang L., Zhu M., Chen J., Chen L., Dong M. Up-regulation of Tim-3 is associated with poor prognosis of patients with colon cancer. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, 2015, Vol. 8, no. 7, pp. 8018-8027.
169. Zhu C., Anderson A.C., Schubart A., Xiong H., Imitola J., Khouri S.J., Zheng X.X., Strom T.B., Kuchroo V.K. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity. *Nat. Immunol.*, 2005, Vol. 6, no. 12, pp. 1245-1252.
170. Zhu H., Wang M., Du Y., Liu X., Weng X., Li C. 4-1BBL has a possible role in mediating castration-resistant conversion of prostate cancer via up-regulation of androgen receptor. *J. Cancer*, 2019, Vol. 10, no. 11, pp. 2464-2471.
171. Ziogas I.A., Evangelou A.P., Giannis D., Hayat M.H., Mylonas K.S., Tohme S., Geller D.A., Elias N., Goyal L., Tsoulfas G. The role of immunotherapy in hepatocellular carcinoma: a systematic review and pooled analysis of 2,402 patients. *Oncologist*, 2021, Vol. 26, no. 6, pp. e1036-e1049.

Авторы:

Белевич А.С. – младший научный сотрудник отдела гинекологии и эндокринологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия

Ярмолинская М.И. – д.м.н., профессор, профессор РАН, руководитель отдела гинекологии и эндокринологии, руководитель центра «Диагностика и лечение эндометриоза» ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия

Сельков С.А. – д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий отделом иммунологии и межклеточных взаимодействий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта»; профессор кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Соколов Д.И. – д.б.н., доцент, заведующий лабораторией межклеточных взаимодействий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта»; профессор кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Belevich A.S., Junior Research Associate, Department of Gynecology and Endocrinology, D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russian Federation

Yarmolinskaya M.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Professor of the Russian Academy of Sciences, Head, Department of Gynecology and Endocrinology, Head, Center for Diagnostics and Treatment of Endometriosis, D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russian Federation

Selkov S.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Head, Department of Immunology and Intercellular Communications, D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology; Professor, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Sokolov D.I., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Head, Laboratory of Intercellular Communications, D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology; Professor, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

ДИСБАЛАНС ЛИПОПОЛИСАХАРИД-СВЯЗЫВАЮЩИХ СИСТЕМ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОЕ ЗВЕНО ПАТОГЕНЕЗА РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

Яцков И.А., Белоглазов В.А., Бублей К.В.

Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Резюме. Липополисахарид (LPS, эндотоксин) грамнегативной флоры является одним из сильнейших активаторов нативной иммунной системы и индуктором системного и локального воспаления. В связи с увеличением количества факторов, способствующих транслокации LPS в системный кровоток, будь то неадекватная антибиотикотерапия, применение энтеро- и гепатотоксичных лекарственных препаратов, а также повышение доли углеводной и жирной пищи в рационе современного человека, роль LPS в поддержании воспалительного фона, в том числе низкоинтенсивного растет. Взаимодействия эндотоксина с организмом человека опосредованы целым рядом рецепторов и молекул переносчиков, многие из которых можно выделить в группу так называемых «липополисахарид-связывающих систем», а именно липополисахарид-связывающий белок (LBP) и бактерицидный белок повышенной проницаемости бактерий (BPI). Характер ответа на повышение циркулирующего в крови пула LPS во многом зависит от данных молекул, а также дополнительных молекул, взаимодействующих с LPS и LPS-связывающими системами, в частности – липопротеидов низкой (LDL) и высокой плотности (HDL). Учитывая имеющиеся в литературе данные о регистрации повышенных уровней LPS у пациентов с ревматоидным артритом (РА), а также наличия у данных пациентов в подавляющем большинстве дислипидемических состояний, LPS потенциально является патогенетически важным фактором при РА. В данном обзоре представлены основные данные о биологии и роли LPS и «липополисахарид-связывающих систем» в развитии и поддержании воспаления при РА. Поиск информации проводился по ключевым словам «ревматоидный артрит и липополисахарид», «ревматоидный артрит и липополисахарид-связывающий белок», «ревматоидный артрит и BPI» в зарубежных и отечественных научометрических базах, в том числе e-Library и PubMed. Представленные данные дают право считать сочетание дисбаланса «липополисахарид-связывающих систем» и дислипидемии важным отягощающим провоспалительным фактором при РА, а поиск механизмов влияния на эти состояния по отдельности и в комбинации перспективным научным и клиническим направлением.

Ключевые слова: LPS, ревматоидный артрит, BPI, LBP, эндотоксин

Адрес для переписки:

Бублей Константин Викторович
Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский
институт имени С.И. Георгиевского
295051, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, б-р
Ленина, 5/7.
Тел.: 8 (978) 611-59-2
E-mail: bublej.99@mail.ru

Address for correspondence:

Konstantin V. Bublej
S. Georgievsky Medical Institute
5/7 Lenin Blvd
Simferopol, Republic of Crimea
295051 Russian Federation
Phone: +7 (978) 611-59-2
E-mail: bublej.99@mail.ru

Образец цитирования:

И.А. Яцков, В.А. Белоглазов, К.В. Бублей «Дисбаланс липополисахарид-связывающих систем как потенциальное звено патогенеза ревматоидного артрита» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 265-274.
doi: 10.15789/1563-0625-IOL-3019

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

For citation:

I.A. Yatskov, V.A. Beloglazov, K.V. Bublej “Imbalance of lipopolysaccharide-binding systems as a potential link in pathogenesis of rheumatoid arthritis”, Medical Immunology (Russia)/Meditinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 265-274.
doi: 10.15789/1563-0625-IOL-3019

© Yatskov I.A. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-IOL-3019

IMBALANCE OF LIPOPOLYSACCHARIDE-BINDING SYSTEMS AS A POTENTIAL LINK IN PATHOGENESIS OF RHEUMATOID ARTHRITIS

Yatskov I.A., Beloglazov V.A., Bubley K.V.

S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Abstract. Lipopolysaccharide (LPS, endotoxin) of Gram-negative bacteria is a strong activator of innate immune system and inducer of systemic and local inflammation. Due to increasing number of factors contributing to the translocation of LPS into the systemic bloodstream, e.g., non-adequate antibiotic therapy, usage of entero- and hepatotoxic drugs, as well as increased proportion of carbohydrate and fatty foods in the diet of modern people, the role of LPS is growing, in view of maintaining low-grade inflammatory background. Interactions of endotoxin within human body are mediated by a number of receptors and carrier molecules, many of which can be distinguished into a group of so-called “LPS-binding systems”, i.e., lipopolysaccharide-binding protein (LBP) and bactericidal/permeability-increasing protein (BPI). The character of response to increased LPS pool in blood circulation depends largely on these molecules, as well as additional substances that interact with LPS and LPS-binding systems, in particular, low-density lipoproteins (LDL) and high-density lipoproteins (HDL). Given current publications reporting elevated LPS levels in patients with rheumatoid arthritis (RA), and persistence of dyslipidemias in the vast majority of these patients, LPS is potentially a pathogenetically important factor in RA. This review presents basic data on the biology and role of LPS and “lipopolysaccharide-binding systems” in development and maintenance of inflammation state in RA. Information was searched using the keywords “rheumatoid arthritis and lipopolysaccharide”, “rheumatoid arthritis and lipopolysaccharide-binding protein”, “rheumatoid arthritis and BPI” in foreign and Russian scientific databases, including e-Library and PubMed. The presented data allow us to consider the combination of “lipopolysaccharide-binding systems” imbalance and dyslipidemia a sufficient aggravating pro-inflammatory factor in RA, and the search for potential mechanisms influencing these conditions, either separately, or in combined manner, as a promising field for clinical research.

Keywords: LPS, rheumatoid arthritis, BPI, LBP, endotoxin

Введение

Ревматоидный артрит (РА) – это хроническое системное воспалительное заболевание, поражающее синовиальную оболочку суставов, а также опосредованно через реакции системного хронического воспаления негативно влияет на органы и системы органов. Согласно Всемирной организации здравоохранения, РА болеет около 1% населения мира [1]. В России, по данным Федеральной службы государственной статистики, в 2018 году было зарегистрировано 312 631 больных РА в России (212,8 на 100 тыс. чел.) [1]. РА характеризуется лейко-/лимфоцитарной инфильтрацией синовиальной оболочки и суставной полости, вследствие чего происходит гиперплазия синовиальной ткани за счет лимфоидной

ткани с образованием пануса и формированием в последующем эрозий сустава и костей, участвующих в формировании суставов. При РА формируется хроническое аутоиммунное воспаление, которое проявляется такими симптомами, как утомляемость, анемия, остеопороз и сердечно-сосудистые заболевания [1, 10]. Патогенез РА не до конца изучен, но считается, что в нем участвуют генетические, иммунные, воспалительные и факторы окружающей среды [1, 8, 10]. Генетические факторы включают наличие аллелей генов комплекса гистосовместимости (КГС), таких как HLA-DRB1*04, а также индивидуальный полиморфизм генов, кодирующих цитокины, рецепторы и сигнальные молекулы, связанные с иммунным ответом [8, 45]. Иммунные факторы

включают аномальную активацию и дифференцировку Т- и В-лимфоцитов, продукцию антител против собственных антигенов, таких как циклический цитруллинированный пептид (CC-P), а также высвобождение противовоспалительных и пролиферативных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли-альфа (TNF α), интерлейкин-1 (IL-1), интерлейкин-6 (IL-6) и интерлейкин-17 (IL-17) [8, 45]. К факторам риска также относят курение, инфекции, стресс и диету [1, 10, 45].

В данном обзоре литературы представлены имеющиеся на сегодняшний день сведения о влиянии липополисахарида (LPS) грамнегативной флоры на развитие РА и роли липополисахарид-связывающего белка (LBP) и бактерицидного/повышающего проницаемость белка (BPI) в патогенезе РА. В статье рассматриваются ключевые аспекты биологии LBP/BPI и их роль в регуляции воспаления и гомеостаза, а также их потенциальная связь с РА и его осложнениями.

Липополисахарид-связывающие системы могут участвовать в патогенезе РА, индуцируя или поддерживая воспаление в суставах через рецептор CD14 и провоспалительные цитокины, такие как IL-6 и IL-17 [8, 45]. Так, LPS, поступающий из кишечника или других источников, активирует иммунные клетки и стимулирует выработку противовоспалительных цитокинов и хемокинов, которые могут привести к хроническому воспалению в суставах [40].

Связь LPS с РА и его осложнениями

Ряд исследований показывают, что LPS прямо или косвенно участвует в формировании и поддержании воспаления при РА [40, 53]. LPS стимулирует продукцию большого количества провоспалительных медиаторов, таких как TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12 и IL-18, а также хемокинов, таких как C-C motif ligand (CCL2, CCL3, CCL4 и CCL5) [9, 22, 29, 31, 44, 51]. Эти медиаторы воспаления способствуют рекрутированию и активации нейтрофилов, Т- и В-лимфоцитов, а также стимулируют синтез простагландинов, лейкотриенов, реактивных форм кислорода и азота, которые повреждают суставную ткань [18, 27, 69].

У пациентов с РА наблюдается повышение уровня LPS в крови и синовиальной жидкости, что свидетельствует о наличии бактериальной транслокации из кишечника или других источников [3, 61]. Повышение уровня LPS может стимулировать хроническое воспаление при РА, активируя TLR4 и CD14 на иммунных и эндо-

телиальных клетках. LPS также может индуцировать продукцию антител к собственным антигенам, таким как цитруллинированные белки, которые являются маркерами и патогенными факторами РА [3, 13, 23, 30, 61].

У пациентов с РА также наблюдается изменение уровня и функции LPS-связывающих систем (LBP и BPI), которые могут влиять на течение и исход заболевания. Повышенный уровень LBP в крови и синовиальной жидкости также коррелировал с активностью заболевания, уровнем СРБ, СОЭ и IL-6 [3, 23, 30, 61]. В другом исследовании сообщалось, что BPI имеет более сильное сродство к LPS, чем LBP. Прямая конкуренция между BPI и LBP за LPS может объяснить ингибирование BPI провоспалительных эффектов LBP в присутствии LPS [13]. Уровень и функция BPI при РА менее изучены, чем LBP. Есть противоречивые данные о функции BPI, например, зависимости от его уровня в крови и его дальнейшем эффекте на воспаление и иммунную систему при системной красной волчанке [17]. Примечательно, что адаптивный перенос BPI-содержащих экзосом повышал уровень IL-1 β и аутоантител в сыворотке крови у мышей-реципиентов. Перенесенные экзосомы проникли во многие ткани мышей-реципиентов, что привело к гепатиту, нефриту и артриту [17]. Эти противоречивые данные могут объясняться различиями в методах измерения, типах лечения, стадиях заболевания и генетических факторах.

Возможные места транслокации LPS

Пародонтит, при котором *Porphyromonas gingivalis* является основной патогенной бактерией, был связан с РА в эпидемиологических исследованиях, а также имеет сходные ассоциации генов и окружающей среды. Это также единственная идентифицированная бактерия, которая экспрессирует эндогенные цитруллинированные белки и свой собственный бактериальный фермент PAD, хотя точные молекулярные механизмы бактериального цитруллинирования еще предстоит изучить [19, 42, 48, 63].

Еще один источник эндотоксина в организме человека – это тонкий кишечник. В нормальных условиях кишечник непроницаем для эндотоксина благодаря многокомпонентному барьера [3, 6, 18]. Барьер состоит из механического (перистальтическое движение кишечника, слизистый барьер (в который входит муцины, IgA, антимикробные вещества)), клеточного (энтероциты, плотные клеточные контакты и т.д.), ло-

кального иммунного (лимфоидная ткань в толще слизистой, Пейеровы бляшки) и системного компонента (сосудистая стенка, кровь, системный иммунный ответ, БАВ крови). При нарушении одного из компонентов барьера кишечника возможна повышенная транслокация эндотоксина в толщу стенок слизистой (нарушение слизистого барьера, нарушение клеточных контактов), либо поступление LPS в лимфу и кровоток. При этом, поскольку LPS является иммунноактивной молекулой, развивается иммунный ответ с вовлечением лимфоидной ткани кишечника и активной секрецией LBP и BPI с возможным формированием системного иммунного ответа [3, 6, 18]. Повышение кишечной проницаемости способствует транслокации LPS из просвета кишечника в кровоток, вызывая «метаболическую эндотоксикемию» (рис. 1, см. 3-ю стр. обложки) [3, 6, 18].

LBP и BPI играют важную роль в регуляции воспаления и гомеостаза, так как они участвуют в распознавании и клиренсе LPS, а также в модуляции секреции воспалительных медиаторов [20, 21, 60]. LBP и BPI могут влиять на выработку цитокинов, таких как TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 и IL-12, которые определяют характер и продолжительность воспалительного ответа [20, 21, 56, 60]. LBP и BPI также модулируют активацию и дифференцировку иммунных клеток, таких как макрофаги, дендритные клетки, Т- и В-лимфоциты, которые участвуют в адаптивном иммунитете [26, 56, 60]. LBP и BPI играют роль в процессах коагуляции и фибринолиза в данном контексте LBP и BPI могут влиять на эти процессы косвенно через их взаимодействие с компонентами иммунной системы. Например, активация иммунной системы может привести к изменениям в системе гемостаза, которая включает в себя коагуляцию и фибринолиз. Однако прямая роль LBP и BPI в этих процессах не является хорошо изученной и может потребовать дополнительных исследований для полного понимания [28, 38, 46, 68].

BPI – это белок, синтезируемый нейтрофилями и моноцитами и хранится в их гранулах, откуда он высвобождается при активации клеток, BPI обладает антибактериальной и противовоспалительной активностью [20, 21, 38, 56, 60]. BPI способен связываться с липидом A LPS и нейтрализовать его биологические эффекты, а также блокировать его взаимодействие с основным паттерн-распознающим рецептором для эндотоксина – толл-подобным рецептором 4-го типа (TLR4) [20, 21, 43]. Кроме того, в контексте

воспаления, BPI может участвовать в модуляции иммунного ответа, но его точное воздействие на противовоспалительные цитокины и хемокины может зависеть от конкретных условий и контекста воспалительного процесса [17, 20, 60]. BPI может снижать экспрессию молекул адгезии на эндотелиальных клетках, уменьшая тем самым проницаемость сосудов и миграцию лейкоцитов. BPI, вырабатываемый нейтрофилами и моноцитами, может контролировать воспаление, связываясь с LPS и блокируя его действие [12]. Однако BPI также может стимулировать дифференцировку Th17 и продукцию IL-17, который усиливает воспалительный ответ и тканевое разрушение [17]. Таким образом, воздействие BPI на организм пациента с РА может быть как провоспалительным, так и протективным, а условия данного взаимодействия не до конца изучены. LBP и BPI объединяют общность химического строения, обе молекулы являются гликопротеинами, состоящими из двух доменов: N-терминального и C-терминального [20, 21, 64]. N-терминальный домен LBP и BPI имеет высокую структурную гомологию и способен связывать LPS, тогда как C-терминальный домен имеет низкую гомологию и различные функции [50, 64].

LBP синтезируется в печени и секретируется в кровь, где он связывается с липопротеидами, особенно с липопротеидами высокой плотности (HDL) [2, 36].

LBP и BPI участвуют в переносе LPS к рецепторам TLR4 и CD14, которые расположены на поверхности макрофагов, дендритных клеток, эндотелиальных клеток и других типов клеток [2, 36, 50, 64]. Авторами сделано предположение, что *in vivo* синовиальные фибробласты у больных артритом могут быть чувствительны к ЭТ в присутствии растворимого sCD14 и ЭТ-связывающего протеина [49, 70]. TLR4 является трансмембранным белком, который активирует внутриклеточные сигнальные пути, ведущие к экспрессии генов, кодирующих воспалительные медиаторы [7, 59]. CD14 является гликозилфосфатидилинозитол-связанным белком, который усиливает связывание LPS с TLR4 и участвует в эндоцитозе LPS [35, 67]. LBP и BPI могут модулировать воспалительный ответ на LPS по-разному, в зависимости от их концентрации, соотношения и типа липопротеидов, с которыми они ассоциированы. Обе молекулы могут усиливать воспаление, а также индуцировать апоптоз эндотелиальных клеток, когда они связаны с LPS и липопротеидами низкой плотности (LDL), которые обеспе-

чивают перенос LPS к TLR4 и CD14 [2, 36, 50, 64, 67]. Однако, напротив, при связывании LBP или BPI с HDL может наблюдаться противоположный эффект – подавление воспаления путем элиминации LPS из циркуляции и блокирования его взаимодействия с TLR4 и CD14 [36, 62].

Интересным является факт блокирования BPI LPS-индуцированной резорбции костной ткани через подавление экспрессии RANKL, TNF α , IL-1, IL-6 и других факторов, а также стимулирование формирования костной ткани через активацию Wnt/β-катенин, BMP (костный морфогенетический белок), OPG (остеопротерин) и других факторов [5, 14, 55, 66]. В животных моделях РА, таких как коллаген-индуцированный артрит и адьювант-индуцированный артрит, монотерапия BPI или в комбинации с моноклональными антителами к TNF α приводила к уменьшению воспаления и замедлению деструкции суставов [15, 55, 66]. Кроме того, BPI 25 кД N-концевым фрагментом способен ингибиовать выработку TNF в цельной крови человека [37, 39]. Эти данные свидетельствуют о том, что BPI является фактором защиты от эффектов LPS при РА и что BPI может быть потенциальным препаратом для терапии РА. Однако есть противоречивые данные, которые показывают отрицательное влияние секретирующих BPI нейтрофилов при системной красной волчанке на течение артритов [17, 39].

IL-17 – это цитокин, который производится преимущественно Т-хелперами-17 (Th17), но также может быть секретирован другими клетками, такими как γδ-Т-клетки, врожденные лимфоидные клетки (ILCs), тучные клетки и нейтрофилы [32, 41, 47]. IL-17 взаимодействует с рецепторами IL-17RA и IL-17RC, которые экспрессируются на многих типах клеток, включая фибробласты, хондроциты, остеокласты, эндотелиальные клетки, макрофаги и дендритные клетки [32, 41, 47]. IL-17 усиливает воспалительный ответ, индуцируя продукцию противовоспалительных цитокинов, хемокинов, адгезионных молекул, металлопротеиназ и RANKL, которые способствуют рекрутированию и активации лейкоцитов, деструкции хряща и костной резорбции [32, 41, 47].

IL-17 может совместно с LPS участвовать в активации NF-κB и экспрессии генов, кодирующих цитокины, хемокины, адгезионные молекулы и другие медиаторы воспаления [16]. IL-17 также стимулирует пролиферацию и активацию

синовиоцитов, способствует инфильтрации и активации иммунных клеток [16, 32, 41, 47]. Кроме того, IL-17 может усиливать резорбцию костной ткани через активацию RANKL, TNF α , IL-6 и других факторов, а также подавлять формирование кости через ингибирование Wnt/β-катенин, BMP, OPG и других факторов [15, 41, 47]. В животных моделях РА, таких как коллаген-индуцированный артрит (КИА) и адьювантный артрит (АИА), проведение анти-IL-17 генной терапии приводит к ослаблению воспаления и замедлению деструкции суставов [7, 33]. В клинических исследованиях у пациентов с РА обнаружено повышение уровня IL-17 в сыворотке и синовиальной жидкости, что свидетельствует о том, что IL-17 может быть активирован при РА [57, 58]. Кроме того, блокировка IL-17 у пациентов с РА приводит к улучшению клинических и лабораторных показателей активности заболевания [4, 34, 54]. Эти данные свидетельствуют о том, что IL-17 является цитокином, потенцирующим эффекты LPS при РА, и что IL-17 может быть потенциальной мишенью для терапии РА. Однако необходимо проведение дальнейших углубленных исследований в связи с наличием противоречивых данных о двойственном влиянии IL-17 на LPS-индуцированное воспаление, что обуславливает потребность в поиске молекул «переключателей» данного эффекта.

Экспериментальные данные подтверждают влияние LPS на развитие и прогрессирование РА. На животных моделях РА, КИА и АИА введение LPS вызывает или усиливает воспаление и деструкцию суставов [52, 61]. LPS также может индуцировать артрит у мышей, что указывает на то, что LPS может инициировать артрит [7, 11, 24, 25]. Кроме того, LPS может усиливать артрит, индуцированный другими агентами, такими как кристаллы мочевой кислоты, адьювант Фрейнда или стафилококковый энтеротоксин В [7, 11, 24, 25]. В этих моделях LPS увеличивает экспрессию цитокинов, хемокинов, адгезионных молекул, РФ и других медиаторов воспаления в синовиальной ткани и суставной жидкости [7, 11, 24, 25]. LPS также стимулирует пролиферацию и активацию синовиоцитов, а также инфильтрацию и активацию иммунных клеток, таких как моноциты, макрофаги, дендритные клетки, Т- и В-лимфоциты, нейтрофилы и эозинофилы [7, 11, 24, 25]. LPS также влияет на дифференцировку и функцию остеокластов, клеток, ответственных за резорбцию кости, и остеобластов, клеток, от-

ветственных за формирование кости [7, 11, 24, 25]. LPS может усиливать резорбцию кости через активацию NF-κB, RANKL, TNF α , IL-1, IL-6 и других факторов, а также подавлять формирование кости через ингибирование Wnt/β-катенин, BMP, OPG и других факторов [7, 11, 24, 25]. Эти данные свидетельствуют о том, что LPS является важным фактором, способствующим воспалению и деструкции суставов при РА и что TLR4 является потенциальной мишенью для терапии РА.

Заключение

Влияние LPS, BPI и IL-17 на РА – это интересная и актуальная тема для исследований, которая может раскрыть новые механизмы патогенеза и потенциальные мишени для терапии этого заболевания. Однако необходимы дальнейшие экспериментальные и клинические исследования, чтобы подтвердить или опровергнуть эту гипотезу и уточнить роль LPS, BPI и IL-17 в развитии и прогрессировании РА.

Список литературы / References

1. Галушко Е.А., Насонов Е.Л. Распространенность ревматических заболеваний в России // Альманах клинической медицины, 2018. Т. 46, № 1. С. 32-39. [Galushko E.A., Nasonov E.L. Prevalence of rheumatic diseases in Russia. *Almanakh klinicheskoy meditsiny = Almanac of Clinical Medicine*, 2018, Vol. 46, no. 1, pp. 32-39. (In Russ.)]
2. Епифанцева Н.В., Емельянова А.Н., Калинина Э.Н., Караваева Т.М. Уровень липополисахарид-связывающего белка при острых кишечных инфекциях и влияние интерлейкинов-1 β и -10 на его синтез // Казанский медицинский журнал, 2020. № 4. С. 590-594. [Epifantseva N.V., Emelyanova A.N., Kalinina E.N., Karavaeva T.M. Level of lipopolysaccharide-binding protein in acute intestinal infections and the effect of interleukins-1 β and -10 on its synthesis. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal = Kazan Medical Journal*, 2020. no. 4, pp. 590-594. (In Russ.)]
3. Кунст М.А., Якупова С.П., Зинкевич О.Д., Абдракипов Р.З., Афанасьева М.А., Сухорукова Е.В. Роль микробной инфекции и проницаемости кишечника в патогенезе ревматоидного артрита // Практическая медицина, 2014. № 4. С. 54-58. [Kunst M.A., Yakupovha S.P., Zinkevich O.D., Abdراكипов R.Z., Afanasyeva M.A., Sukhorukova E.V. Role of microbial infection and intestinal permeability in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Prakticheskaya meditsina = Practical Medicine*, 2014, no. 4, pp. 54-58. (In Russ.)]
4. Матвеичев А.В., Талаев В.Ю., Евлопова И.А. Физиология и функционирование Т-хелперов 17-го типа // Успехи современной биологии, 2016. Т. 136, № 3. С. 285-300. [Matveichev A.V., Talaev V.Y., Evtolova I.A. Physiology and functioning of T-helper type 17. *Uspekhi sovremennoy biologii = Biology Bulletin Reviews*, 2016, Vol. 136, no. 3, pp. 285-300. (In Russ.)]
5. Сайдов М.З. Аутофагия, апоптоз, некроптоз, пироптоз и нетоз в патогенезе иммуновоспалительных ревматических заболеваний // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 4. С. 659-704. [Saidov M.Z. Autophagy, apoptosis, necroptosis, pyroptosis and netosis in the pathogenesis of immune-inflammatory rheumatic diseases. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2022, Vol. 24, no. 4, pp. 659-704. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-AAN-2482.
6. Яковлев М.Ю. “Эндотоксиновая агрессия” как предболезнь или универсальный фактор патогенеза заболеваний человека и животных // Успехи современной биологии, 2003. Т. 123, № 1. С. 31-40. [Yakovlev M.Yu. “Endotoxin aggression” as a pre-disease or a universal factor in the pathogenesis of human and animal diseases. *Uspekhi sovremennoy biologii = Biology Bulletin Reviews*, 2003, Vol. 123, no. 1, pp. 31-40. (In Russ.)].
7. Abdollahi-Roodsaz S., Joosten L.A., Koenders M.I., Devesa I., Roelofs M.F., Radstake T.R., Heuvelmans-Jacobs M., Akira S., Nicklin M.J., Ribeiro-Dias F., van den Berg W.B. Stimulation of TLR2 and TLR4 differentially skews the balance of T cells in a mouse model of arthritis. *J. Clin. Invest.*, 2008, Vol. 118, no. 1, pp. 205-216.
8. Alam J., Jantan I., Bukhari S.N.A. Rheumatoid arthritis: Recent advances on its etiology, role of cytokines and pharmacotherapy. *Biomed. Pharmacother.*, 2017, Vol. 92, pp. 615-633.
9. Alexander C., Rietschel E.T. Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity. *J. Endotoxin Res.*, 2001, Vol. 7, no. 3, pp. 167-202.
10. Alivernini S., Firestein G.S., McInnes I.B. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Immunity*, 2022, Vol. 55, no. 12, pp. 2255-2270.

11. Ancochea J., Girón R.M., López-Botet M. Production of tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 by alveolar macrophages from patients with rheumatoid arthritis and interstitial pulmonary disease. *Arch. Bronconeumol.*, 1997, Vol. 33, no. 7-8, pp. 335-340. (In Spanish)
12. Ardit M., Zhou J., Huang S.H., Luckett P.M., Marra M.N., Kim K.S. Bactericidal/permeability-increasing protein protects vascular endothelial cells from lipopolysaccharide-induced activation and injury. *Infect. Immun.*, 1994, Vol. 62, no. 9, pp. 3930-3936.
13. Arvikar S.L., Collier D.S., Fisher M.C., Unizony S., Cohen G.L., McHugh G., Kawai T., Strle K., Steere A.C. Clinical correlations with *Porphyromonas gingivalis* antibody responses in patients with early rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.*, 2013, Vol. 15, R109. doi: 10.1186/ar4289.
14. BJORSTAD A., Brown K., Forsman H., Dahlgren C., Karlsson-Bengtsson A., Bylund J. Antimicrobial host defence peptides of human neutrophils – roles in innate immunity. *Antiinfect Agents Med Chem*, 2008, Vol. 7, pp. 155-168.
15. Cho M.L., Jung Y.O., Kim K.W., Park M.K., Oh H.J., Ju J.H., Cho Y.G., Min J.K., Kim S.I., Park S.H., Kim H.Y. IL-17 induces the production of IL-16 in rheumatoid arthritis. *Exp. Mol. Med.*, 2008, Vol. 40, pp. 237-245.
16. Chovanova L., Vlcek M., Krskova K., Penesova A., Radikova Z., Rovensky J., Cholujova D., Sedlák J., Imrich R. Increased production of IL-6 and IL-17 in lipopolysaccharide-stimulated peripheral mononuclears from patients with rheumatoid arthritis. *Gen. Physiol. Biophys.*, 2013, Vol. 32, pp. 395-404.
17. Chuang H.C., Chen M.H., Chen Y.M., Yang H.Y., Ciou Y.R., Hsueh C.H., Tsai C.Y., Tan T.H. BPI overexpression suppresses Treg differentiation and induces exosome-mediated inflammation in systemic lupus erythematosus. *Theranostics*, 2021, Vol. 11, no. 20, pp. 9953-9966.
18. Currie C.G., McCallum K., Poxton I.R. Mucosal and systemic antibody responses to the lipopolysaccharide of *Escherichia coli* 0157 in health and disease. *J. Med. Microbiol.*, 2001, Vol. 50, no. 4, pp. 345-354.
19. Detert J., Pisched N., Burmester G.R., Buttigereit F. The association between rheumatoid arthritis and periodontal disease. *Arthritis Res. Ther.*, 2010, Vol. 12, no. 5, 218. doi: 10.1186/ar3106.
20. Ederer K.U., Holzinger J.M., Maier K.T., Zeller L., Werner M., Toelge M., Gessner A., Bülow S. A polymorphism of bactericidal/permeability-increasing protein affects its neutralization efficiency towards lipopolysaccharide. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, Vol. 23, no. 3, 1324. doi: 10.3390/ijms23031324.
21. Elsbach P., Weiss J. The bactericidal/permeability-increasing protein (BPI), a potent element in host-defense against gram-negative bacteria and lipopolysaccharide. *Immunobiology*, 1993, Vol. 187, no. 3-5, pp. 417-429.
22. Erridge C., Bennett-Guerrero E., Poxton I.R. Structure and function of lipopolysaccharides. *Microbes Infect.*, 2002, Vol. 4, no. 8, pp. 837-851.
23. Fabris M., Tolusso B., Di Poi E., Tomietto P., Sacco S., Gremese E., Ferraccioli G. Mononuclear cell response to lipopolysaccharide in patients with rheumatoid arthritis: relationship with tristetraprolin expression. *J. Rheumatol.*, 2005, Vol. 32, no. 6, pp. 998-1005.
24. Fabris M., Tolusso B., Gremese E., Tomietto P., Ferraccioli G. Analysis of the kinetic of expression of tristetraprolin and HuR by rheumatoid arthritis patients peripheral blood mononuclear cells stimulated with lipopolysaccharide. *Reumatismo*, 2004, Vol. 56, no. 2, pp. 94-103.
25. Gomes R.P., Bressan E., da Silva T.M., Gevaerd M. da S., Tonussi C.R., Domenech S.C. Effects of one minute and ten minutes of walking activity in rats with arthritis induced by complete Freund's adjuvant on pain and edema symptoms. *Rev. Bras. Reumatol.*, 2014, Vol. 54, no. 2, pp. 83-89.
26. Gangloff S.C., Zähringer U., Blondin C., Guenounou M., Silver J., Goyert S.M. Influence of CD14 on Ligand Interactions between Lipopolysaccharide and Its Receptor complex. *J. Immunol.*, 2005, Vol. 175, no. 11, pp. 3940-3945.
27. Hardardottir I., Grunfeld C., Feingold K.R. Effects of endotoxin and cytokines on lipid metabolism. *Curr. Opin. Lipidol.*, 1994, Vol. 5, pp. 207-215.
28. Heinzelmann M., Bosshart H. Heparin Binds to Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein, facilitates the transfer of LPS to CD14, and enhances LPS-induced activation of peripheral blood monocytes. *J. Immunol.*, 2005, Vol. 174, no. 4, pp. 2280-2287.
29. Huang Q., Ma Y., Adebayo A., Pope R.M. Increased macrophage activation mediated through toll-like receptors in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2007, Vol. 56, pp. 2192-2201.
30. Huang Z.Y., Stabler T., Pei F.X., Kraus V.B. Both systemic and local lipopolysaccharide (LPS) burden are associated with knee OA severity and inflammation. *Osteoarthritis Cartilage*, 2016, Vol. 24, Iss. 10, pp. 1769-1775.

31. James C. Diagnosis of endotoxemia with gram-negative bacteremia is bacterial species dependent: a meta-analysis of clinical studies. *J. Clin. Microbiol.*, 2009, Vol. 47, no. 12, pp. 3826-3831.
32. Jin W., Dong C. IL-17 cytokines in immunity and inflammation. *Emerg. Microbes Infect.*, 2013, Vol. 2, no. 9, e60. doi: 10.1038/emi.2013.58.
33. Jung Y.O., Cho M.L., Lee S.Y., Oh H.J., Park J.S., Park M.K., Park M.J., Ju J.H., Kim S.I., Park S.H., Kim H.Y., Min J.K. Synergism of toll-like receptor 2 (TLR2), TLR4, and TLR6 ligation on the production of tumor necrosis factor (TNF)-alpha in a spontaneous arthritis animal model of interleukin (IL)-1 receptor antagonist-deficient mice. *Immunol. Lett.*, 2009, Vol. 123, no. 2, pp. 138-143.
34. Kellner H. Targeting interleukin-17 in patients with active rheumatoid arthritis: rationale and clinical potential. *Ther. Adv. Musculoskeletal Dis.*, 2013, Vol. 5, no. 3, pp. 141-152.
35. Kitchens R.L., Thompson P.A. Modulatory effects of sCD14 and LBP on LPS-host cell interactions. *J. Endotoxin Res.*, 2005, Vol. 11, no. 4, pp. 225-229.
36. Levels J.H.M., Marquart J.A., Abraham P.R., van den Ende A.E., Molhuizen H.O.F., van Deventer S.J.H., Meijers J.C.M. Lipopolysaccharide is transferred from high-density to low-density lipoproteins by lipopolysaccharide-binding protein and phospholipid transfer protein. *Infect. Immun.*, 2005, Vol. 73, no. 4, pp. 2321-2326.
37. Levin M., Quint P., Goldstein B., Barton R., Bradley J., Shemie S., Yeh T., Kim S., Cafaro D., Scannon P., Giroir B. Recombinant bactericidal/permeability-increasing protein (rBPI 21) as adjunctive treatment for children with severe meningococcal sepsis: a randomised trial. *Lancet*, 2000, Vol. 356, pp. 961-967.
38. Levy O. A Neutrophil-Derived Anti-Infective Molecule: Bactericidal/Permeability-Increasing Protein. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2000, Vol. 44, no. 11, pp. 2925-2931.
39. Levy O., Sisson R.B., Kenyon J., Eichenwald E., Macone A.B., Goldmann D. Enhancement of neonatal innate defense: effects of adding an N-terminal recombinant fragment of bactericidal/permeability-increasing protein on growth and tumor necrosis factor-inducing activity of gram-negative bacteria tested in neonatal cord blood ex vivo. *Infect. Immun.*, 2000, Vol. 68, no. 9, pp. 5120-5125.
40. Lorenz W., Buhrmann C., Mobasher A., Lueders C., Shakibaei M. Bacterial lipopolysaccharides form procollagen-endotoxin complexes that trigger cartilage inflammation and degeneration: implications for the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.*, 2013, Vol. 15, R111. doi: 10.1186/ar4291.
41. Lubberts E., Joosten L.A., Oppers B., van den Bersselaar L., Coenen-de Roo C.J., Kolls J.K., Schwarzenberger P., van de Loo F.A., van den Berg W.B. IL-1-independent role of IL-17 in synovial inflammation and joint destruction during collagen-induced arthritis. *J. Immunol.*, 2001, Vol. 167, no. 2, pp. 1004-1013.
42. Mangat P., Wegner N., Venables P.J., Potempa J. Bacterial and human peptidylarginine deiminases: targets for inhibiting the autoimmune response in rheumatoid arthritis? *Arthritis Res. Ther.*, 2010, Vol. 12, no. 3, 209. doi: 10.1186/ar3000.
43. Marra M.N., Wilde C.G., Griffith J.E., Snable J.L., Scott R.W. Bactericidal/permeability-increasing protein has endotoxin-neutralizing activity. *J. Immunol.*, 1990, Vol. 144, no. 2, pp. 662-666.
44. McAleer J.P., Liu B., Li Z., Ngai S.M., Dai J., Oft M., Vella A.T. Potent intestinal Th17 priming through peripheral lipopolysaccharide-based immunization. *J. Leukoc. Biol.*, 2010, Vol. 88, no. 1, pp. 21-31.
45. McInnes I.B., Buckley C.D., Isaacs J.D. Cytokines in rheumatoid arthritis – shaping the immunological landscape. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2016, Vol. 12, no. 1, pp. 63-68.
46. Meszaros K., Aberle S., Dedrick R., Machovich R., Horwitz A., Birr C., Theofan G., Parent J.B. Monocyte tissue factor induction by lipopolysaccharide (LPS): dependence on LPS-binding protein and CD14, and inhibition by a recombinant fragment of bactericidal/permeability-increasing protein. *Blood*, 1994, Vol. 83, no. 9, pp. 2516-2525.
47. Mills K.H.G. IL-17 and IL-17-producing cells in protection versus pathology. *Nat. Rev. Immunol.*, 2023, Vol. 23, pp. 38-54.
48. Modi D.K., Chopra V.S., Bhau U. Rheumatoid arthritis and periodontitis: biological links and the emergence of dual purpose therapies. *Indian J. Dent Res.*, 2009, Vol. 20, no. 1, pp. 86-90.
49. Nair A., Kanda V., Bush-Joseph C., Verma N., Chubinskaya S., Mikecz K., Glant T.T., Malfait A.M., Crow M.K., Spear G.T., Finnegan A., Scanzello C.R. Synovial fluid from patients with early osteoarthritis modulates fibroblast-like synoviocyte responses to toll-like receptor 4 and toll-like receptor 2 ligands via soluble CD14. *Arthritis Rheum.*, 2012, Vol. 64, no. 7, pp. 2268-2277.

50. Ooi C.E., Weiss J., Doerfler M.E., Elsbach P. Endotoxin-neutralizing properties of the 25 kD N-terminal fragment and a newly isolated 30 kD C-terminal fragment of the 55-60 kD bactericidal/permeability-increasing protein of human neutrophils. *J. Exp. Med.*, 1991, Vol. 174, no. 3, pp. 649-655.
51. Panayi G.S. B cells: a fundamental role in the pathogenesis of rheumatoid arthritis? *Rheumatology*, 2005, Vol. 44, Suppl. 2, pp. 113-117.
52. Park J.H., Jeong S.Y., Choi A.J., Kim S.J. Lipopolysaccharide directly stimulates Th17 differentiation in vitro modulating phosphorylation of RelB and NF-κB1. *Immunol. Lett.*, 2015, Vol. 165, no. 1, pp. 10-19.
53. Qin Y., Chen Y., Wang W., Wang Z., Tang G., Zhang P., He Z., Liu Y., Dai S.M., Shen Q. HMGB1-LPS complex promotes transformation of osteoarthritis synovial fibroblasts to a rheumatoid arthritis synovial fibroblast-like phenotype. *Cell Death Dis.*, 2014, Vol. 5, e1077. doi: 10.1038/cddis.2014.48.
54. Rafael-Vidal C., Pérez N., Altabás I., García S., Pego-Reigosa J.M. Blocking IL-17: A promising strategy in the treatment of systemic rheumatic diseases. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, Vol. 21, no. 19, 7100. doi: 10.3390/ijms21197100.
55. Scanu A., Luisetto R., Oliviero F., Galuppi F., Lazzarin V., Pennelli G., Masiero S., Punzi L. Bactericidal/permeability-increasing protein downregulates the inflammatory response in in vivo models of arthritis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, Vol. 23, 13066. doi: 10.3390/ijms232113066.
56. Schultz H., Weiss J.P. The bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) in infection and inflammatory disease. *Clin. Chim. Acta*, 2007, Vol. 384, no. 1-2, pp. 12-23.
57. Sinkeviciute D., Aspberg A., He Y., Bay-Jensen A.C., Önnerfjord P. Characterization of the interleukin-17 effect on articular cartilage in a translational model: an explorative study. *BMC Rheumatol.*, 2020, Vol. 4, 30. doi: 10.1186/s41927-020-00122-x.
58. Snelling S.J.B., Bas S., Puskas G.J., Dakin S.G., Suva D., Finckh A., Gabay C., Hoffmeyer P., Carr A.J., Lübbeke A. Presence of IL-17 in synovial fluid identifies a potential inflammatory osteoarthritic phenotype. *PLoS One*, 2017, Vol. 12, no. 4, e0175109. doi: 10.1371/journal.pone.0175109.
59. Stierschneider A., Neuditschko B., Colleselli K., Hundsberger H., Herzog F., Wiesner C. Comparative and temporal characterization of LPS and blue-light-induced TLR4 signal transduction and gene expression in optogenetically manipulated endothelial cells. *Cells*, 2023, Vol. 12, no. 5, 697. doi: 10.3390/cells12050697.
60. Tobias P.S., Soldau K., Iovine N.M., Elsbach P., Weiss J. Lipopolysaccharide (LPS)-binding proteins BPI and LBP form different types of complexes with LPS. *J. Biol. Chem.*, 1997, 272, Iss. 30, pp. 18682-18685.
61. van der Heijden I.M., Wilbrink B., Tchetverikov I., Schrijver I.A., Schouls L.M., Hazenberg M.P., Breedveld F.C., Tak P.P. Presence of bacterial DNA and bacterial peptidoglycans in joints of patients with rheumatoid arthritis and other arthritides. *Arthritis Rheum.*, 2000, Vol. 43, no. 3, pp. 593-598.
62. Vesey C.J., Kitchens R.L., Wolfbauer G., Albers J.J., Munford R.S. Lipopolysaccharide-binding protein and phospholipid transfer protein release lipopolysaccharides from gram-negative bacterial membranes. *Infect. Immun.*, 2000, Vol. 68, no. 5, pp. 2410-2417.
63. Wang P.L., Ohura K. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide signaling in gingival fibroblasts-CD14 and Toll-like receptors. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, 2002, Vol. 13, no. 1, pp. 132-142.
64. Weiss J. Bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) and lipopolysaccharide-binding protein (LBP): structure, function and regulation in host defence against Gram-negative bacteria. *Biochem. Soc. Trans.*, 2003, Vol. 31, no. 4, pp. 785-790.
65. Wilde C.G., Seilhamer J.J., McGrogan M., Ashton N., Snable J.L., Lane J.C., Leong S.R., Thornton M.B., Miller K.L., Scott R.W. Bactericidal/permeability-increasing protein and lipopolysaccharide (LPS)-binding protein. LPS binding properties and effects on LPS-mediated cell activation. *J. Biol. Chem.*, 1994, Vol. 269, no. 26, pp. 17411-17416.
66. Wittmann I., Schönefeld M., Aichele D., Groer G., Gessner A., Schnare M. Murine bactericidal/permeability-increasing protein inhibits the endotoxic activity of lipopolysaccharide and gram-negative bacteria. *J. Immunol.*, 2008, Vol. 180, no. 11, pp. 7546-7552.
67. Wright S.D., Ramos R.A., Tobias P.S., Ulevitch R.J., Mathison J.C. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science*, 1990, Vol. 249, no. 4975, pp. 1431-1433.
68. Yamashita M. Bactericidal/permeability-increasing protein ameliorates hypercoagulability after hemorrhagic shock. *Thromb. Res.*, 1997, Vol. 87, Iss. 3, pp. 323-329.

69. Yang M., Hase H. B cell maturation antigen, the receptor for a proliferation-inducing ligand and B cell-activating factor of the TNF family, induces antigen presentation in B cells. *J. Immunol.*, 2005, Vol. 175, pp. 2814-2824.
70. Yu S., Nakashima N., Xu B.H., Matsuda T., Izumihara A., Sunahara N., Nakamura T., Tsukano M., Matsuyama T. Pathological significance of elevated soluble CD14 production in rheumatoid arthritis: in the presence of soluble CD14, lipopolysaccharides at low concentrations activate RA synovial fibroblasts. *Rheumatol. Int.*, 1998, Vol. 17, no. 6, pp. 237-243.

Авторы:

Яцков И.А. – к.м.н., доцент кафедры внутренней медицины № 2, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Белоглазов В.А. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой внутренней медицины № 2, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Бублей К.В. – ассистент/ординатор кафедры внутренней медицины № 2, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Authors:

Yatskov I.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Internal Medicine No. 2, S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Beloglazov V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Internal Medicine No. 2, S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Bubley K.V., Assistant Professor, Department of Internal Medicine No. 2, S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ФЕНОТИПОВ ХРОНИЧЕСКОГО РИНОСИНУСИТА

Лазарева А.М., Смирнова О.В.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера», г. Красноярск, Россия

Резюме. Хронический риносинусит (ХРС) – патология, которая проявляется воспалением в верхних дыхательных путях и в которой можно выделить два главных фенотипа: РС с полипозной тканью в носу и околоносовых пазухах и РС без полипов. Полагаясь на высокие концентрации различных цитокинов, воспалительные реакции при ХРС можно разделить на три эндотипа: Th1 (IFN γ), Th2 (IL-4, IL-5 и IL-13) и Th3 (IL-17, IL-22). Патогенез воспаления как при ХРС без назальных полипов, так и при ХРС с назальными полипами достаточно различен, а частота встречаемости вышеуказанных эндотипов весьма противоречива по данным исследований, что подтверждает целесообразность дальнейшего изучения этапов развития ХРС. Эти важные медико-социальные черты заболеваний слизистой носа и придаточных пазух обуславливают необходимость дальнейшего исследования патогенеза ХРС. В данном обзоре освещена информация об иммунологических особенностях и дисфункциях, приводящих к появлению хронического риносинусита с полипами или без них. Цель данного обзора – изучить по данным литературы влияние первой линии защиты компонентов врожденного и приобретенного иммунитета на патогенез полипозного и неполипозного ХРС.

В статье представлен обзор зарубежной научной литературы. Авторами был проведен научный поиск по тематике иммунного ответа при формировании хронических риносинуситов с полипами и без них. Использовали соответствующие ключевые слова и фильтры в поисковых системах PubMed и Google Scholar, по базам данных Scopus, Web of Science.

Низкая эффективность различных используемых методов лечения может быть обусловлена гетерогенной иммунопатологией. Использование биологических препаратов, хотя и одобрено, может быть ненадежным, поскольку эти препараты, воздействующие на Th2, могут вводиться пациентам с заболеванием, не связанным с Th2. Наличие эозинофилов и гноя могут дать основу для экстраполяции эндотипа, но сейчас у врачей, лечащих ХРС, нет широкого распространенного доступа к лабораторным анализам для типирования РС и обоснования медикаментозной тактики. Пациенты с любым типом воспаления могут страдать от скрытых инфекций, вызванных бактериями и грибами или вирусами, и это затрудняет диагностику поляризации иммунного ответа. Дальнейшее изучение звеньев иммунологического патогенеза ХРС позволит разработать персонализированный алгоритм диагностики и лечения таких больных.

Ключевые слова: хронический риносинусит, полипозный риносинусит, эндотипы, иммунный ответ, патогенез, фенотип

Адрес для переписки:

Лазарева Анна Михайловна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
медицинских проблем Севера»
660022, Россия, г. Красноярск,
ул. Партизана Железняка, 3г.
Тел.: 8 (913) 030-60-98.
E-mail: a.m.lazareva88@gmail.com

Address for correspondence:

Anna M. Lazareva
Research Institute of Medical Problems of the North
3g Partizan Zheleznyak St
Krasnoyarsk
660022 Russian Federation
Phone: +7 (913) 030-60-98.
E-mail: a.m.lazareva88@gmail.com

Образец цитирования:

А.М. Лазарева, О.В. Смирнова «Иммунологические особенности различных фенотипов хронического риносинусита» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 275-286.
doi: 10.15789/1563-0625-IFO-3026

© Лазарева А.М., Смирнова О.В., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.M. Lazareva, O.V. Smirnova “Immunological features of different phenotypes in chronic rhinosinusitis”, Medical Immunology (Russia)/Meditinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 275-286.
doi: 10.15789/1563-0625-IFO-3026

© Lazareva A.M., Smirnova O.V., 2025
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-IFO-3026

IMMUNOLOGICAL FEATURES OF DIFFERENT PHENOTYPES IN CHRONIC RHINOSINUSITIS

Lazareva A.M., Smirnova O.V.

Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation

Abstract. Chronic rhinosinusitis (CRS) is a disease which manifests with inflammation of the upper respiratory tract. Two main phenotypes can be distinguished in CRS: a clinical form with polypous tissue, and a clinical variant without polyposis. With regard of increased cytokine concentrations, the inflammatory response in CRS can be divided into 3 endotypes: Th1 (IFN γ), Th2 (IL-4, IL-5, IL-13) and Th3 type (IL-17, IL-22). The pathogenesis of inflammation in CRS with nasal polyps and polyposis-free cases is quite different, and, according to current publications, the data on prevalence of different endotypes is very contradictory, thus confirming the need for further studies of CRS development. These important medical and social features of diseases affecting nasal mucosa and paranasal sinuses require further studies in pathogenesis of CRS. This review covers information about the immunological features and dysfunctions that lead to occurrence of CRS with or without polyps. The purpose of this review article is to study the influence of the first-line immune defense, components of innate and acquired immunity on the pathogenesis of CRS.

The article provides a review of the worldwide research publications in the field. The authors conducted a search for different items of immune response related to development of CRS with and without polyps. We used keywords and filters in the PubMed and Google Scholar, as well as in Scopus and Web of Science databases.

So far, low efficiency of various treatment methods used may be due to heterogeneous immunopathology. The use of biological preparations, although approved, may be non-reliable, since these Th2-targeted drugs may be administered to patients with non-Th2 disease. The presence of eosinophils and pus may provide a basis for endotype extrapolation. However, the clinicians treating CRS do not have widespread access to laboratory tests in order to specify the CRS type and to administer a tailored drug management. Patients with any type of inflammation may suffer from latent infections caused by bacteria, fungi or viruses, thus making difficult a specific evaluation of polarized immune response. Further studies on the links of immunological pathogenesis in CRS will allow us to develop a personalized algorithm for the diagnosis and treatment of such patients.

Keywords: chronic rhinosinusitis, polypous rhinosinusitis, endotypes, immune response, pathogenesis, phenotype

Хронический риносинусит (ХРС) – патология, которая проявляется воспалением в верхних дыхательных путях и в которой можно выделить два главных фенотипа: РС с полипозной тканью в носу и околоносовых пазухах и РС без полипов. Полагаясь на высокие концентрации различных цитокинов, воспалительные реакции при ХРС можно разделить на три эндотипа: Th1 (IFN γ), Th2-тип (IL-4, IL-5 и IL-13) и Th3-тип (IL-17). Патогенез воспаления при ХРС без назальных полипов, так и при ХРС с назальными полипами достаточно различен, а частота встречаемости вышеуказанных эндотипов весьма противоречива по данным исследований, что подтверждает целесообразность дальнейшего изучения этапов развития ХРС.

Респираторный эпителий носа и околоносовых пазух является своеобразным защитным барьером для инородных веществ. Различные виды изменений в работе этого барьера характерны для

любого эндотипа ХРС. Это подтверждает дисбаланс содержания эпителиальных цитокинов как проявления адаптивных реакций иммунной системы. Эпителий дыхательных путей активно принимает участие во врожденном иммунитете и через распознавание врожденными рецепторами патогенов. Выброс хемокинов и цитокинов характеризует звено адаптивного иммунитета

Цель этого обзора – изучить и систематизировать по данным литературы эндотипическую гетерогенность и различных механизмов патогенеза ХРС.

В статье представлен обзор зарубежной научной литературы. Выполнен научный поиск по теме патогенеза иммунного ответа при возникновении хронических риносинуситов с полипами и без них. Использованы соответствующие ключевые термины и фильтры в поисковых системах PubMed и Google Scholar, по базам данных Web of Science и Scopus.

Хронический риносинусит (ХРС) – это одно из самых распространенных хронических воспалительных патологий, встречаемое в работе врача-оториноларинголога. ХРС встречается примерно у 10% населения во всем мире.

ХРС является многоликим заболеванием, проявляющееся воспалительными явлениями в верхних дыхательных путях и придаточных околоносовых пазухах, эти явления присутствуют более 12 недель и оказывают выраженное негативное влияние на качество жизни пациентов.

Основополагающим делением ХРС по документу EPOS 2020 является разделение на 2 основных фенотипа на основании наличия или отсутствия назальных полипов (НП): ХРС с НП (полипозный риносинусит, ПРС) и ХРС без НП (ХРС) [2]. Многочисленные исследования показали, что воспаление при обоих вариантах ХРС очень гетерогенно, и каждый фенотип может проявлять 3 основных эндотипа воспаления: тип Th1, Th2 и Th3, в зависимости от повышения канонических цитокинов Т-клеток (Th1, Th2 и Th17). Многообразие эндотипов РС объясняет трудности терапии риносинуситов.

Роль эпителия слизистой оболочки носа и придаточных пазух в развитии ХРС

За последние несколько десятилетий исследования доказали, что эпителий слизистой носа обладает множеством иммунологических функций, как с врожденными, так и адаптивными компонентами. Развитие риносинусита связано с дисфункциональной регуляцией этих компонентов.

Слизистая оболочка носовых пазух является местом первичного контакта организма с внешними ингаляционными патогенами. Координированные изменения в работе респираторного эпителия при контакте с антигенами являются проявлением врожденного иммунитета. Неполноценная реакция, вызванная нарушением защитного барьера, запускает иммунологические реакции [10]. Различные наблюдения показали значимость дисфункции респираторного эпителия при ХРС. Наиболее часто описаны уменьшения плотных контактов, так и увеличением ионной проницаемости [10, 18]. Например, снижение экспрессии белков плотного соединения окклюдина-1 и zonula occludens 1 было продемонстрировано при ПРС по сравнению с контролем [12]. Аналогичным образом сообщалось об изменениях в синтезе Е-кадгерина, укорочении десмосом и снижении уровня клаудина-1 в образцах слизистой оболочки при ХРС [4, 11].

Описано, что обсеменение микроорганизмом *Pseudomonas aeruginosa* может разрушать как окклюдин, так и клаудин-1. Инфицирование же *Staphylococcus aureus*, как было обнару-

жено, секretирует продукты, разрушающие zona occludens 1 человека [16]. При Th2-типе цитокины IL-4 и IL-13 снижают функцию эпителиального барьера [12]. Активация эозинофилов также играет роль в барьерной дисфункции посредством высвобождения белков-гранул и эозинофильных внеклеточных ловушек [8, 18]. В условиях, отличных от Th2-типа, цитокин Th1типа IFN γ снижает функцию эпителиального барьера в синоназальных эпителиальных клетках [12]. Было обнаружено, что содержание различных биологических участников, таких как онкостатин M (OSM) и IL-6, высвобождаемый нейтрофилами, выше у пациентов с ПРС относительно ХРС. Эти медиаторы усиливают проницаемость тканей и приводят к биоэлектрическим нарушениям [2, 20]. Естественные клетки-киллы синтезируют гранзимы, которые могут инициировать нарушения в барьерной функции эпителия верхних дыхательных путей [5]. Исследования кинетики барьерной дисфункции у пациентов с ХРС – это перспективная отрасль, похожие нарушения обнаружены при астме и при атопическом дерматите [7].

Роль мукоцилиарного клиренса в формировании ХРС

Активным компонентом слизистой оболочки дыхательных путей является мукоцилиарный клиренс (МК), который очищает поверхность слизистой оболочки от различных инородных субстанций. МК регулируется низкомолекулярными нейромедиаторами и нейропептидами, которые влияют как на секрецию слоя слизи, так и на частоту сокращений ресничек [23, 28].

Нарушение работы МК наблюдается при таких заболеваниях как муковисцидоз и первичная дискинезия ресничек, способствующие хроническому синоназальному воспалению носовых пазух [9]. При ХРС очевидна приобретенная цилиарная дисфункция со снижением сокращения реснитчатых мышц на стимулы, стимулирующие подвижность, после воздействия инфекционных токсинов и/или эндогенного воспалительного процесса [22]. Микроорганизмы *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *S. aureus*, *Aspergillus fumigatus* и *P. aeruginosa* вырабатывают факторы, изменяющие нормальное функционирование мукоцилиарного клиренса.

Дисбаланс в работе респираторного эпителия при ХРС

Изменения в структурных особенностях врожденного мукозального иммунитета связаны с группой рецепторов, которые могут идентифицировать эпитопы чужеродных белков и инициировать быстрый иммунный ответ.

Рецепторы идентификации являются пептидами, они определяют большой перечень структур, известные как молекулярные паттерны, ассоциированные с антигенами [3]. Toll-подобные рецепторы (TLR) представляют собой интегральные мембранные гликопротеины, характеризующиеся доменом узнавания [1]. Вкусовые рецепторы являются участниками врожденного эпителиального иммунитета. Было показано, что полиморфизмы рецептора горького вкуса T2R38 лежат в основе отсутствия способности ощущать горькие соединения в пище. Нефункциональный аллель T2R38 был установлен как аллель риска тяжести заболевания как при ХРС без полипов, так и при муковисцидозе. Бактерии, образующие биопленки, могут активировать T2R38-индукционные реакции Ca^{2+} , что активирует работу мукоцилиарного клиренса и синтез оксида азота, обладающим антибактериальным действием [24].

TLR широко изучены относительно их возможности регулировать быстрый релиз антимикробных пептидов как эпителиальными, так и одиночными хемосенсорными клетками дыхательных путей в ответ на распознавание РАМР и трансдукцию вкусовых рецепторов соответственно [4]. Некоторые из наиболее широко изученных антимикробных пептидов – это лизоцим, лактоферрин, антиринин, дефензины, белки S100 и поверхностно-активные вещества [2]. Все они играют значительную роль в развитии ХРС. Например, при ПРС снижается уровень эпителиальных защитных белков S100A7 (псориазин) и S100A8/9 (кальпротектин) [4].

Хотя антимикробные пептиды могут высвобождаться непосредственно из эпителиальных клеток, они также были обнаружены в экзосомах слизистой оболочки носа [7]. Стимуляция TLR4 назального эпителия приводит к двукратному увеличению высвобождения экзосом, происходящих из слизистой оболочки носа, содержащих как индуцирующую NO-синтазу, так и множественные антимикробные пептиды, обеспечивая значительную микробицидную активность против *P. aeruginosa* [27].

Рецепторы распознавания паттернов играют решающую роль во врожденном иммунном ответе посредством прямой антипатогенной активности, они также способствуют синтезу многих провоспалительных цитокинов и хемокинов, рекрутирующих клетки иммунной системы, такие как Т- и В-клетки, базофилы и эозинофилы в эпителиальное микроокружение. При ХРС адаптивный иммунитет активно производит цитокины эпителиального происхождения, в том числе тимический стромальный лимфопоэтин (TSLP), IL-25, IL-33 и фактор активации

В-клеток семейства TNF [3]. Усиление выработки Р-гликопротеина (Р-gp) внутри мембраны клетки является признаком воспаления эпителия [8]. Р-gp может локально вырабатываться при ХРС, переноситься между клетками респираторного эпителия посредством экзосом и характеризуется спектром экспрессии, который наиболее выражен при заболевании Т2-типа [2, 5]. Было показано, что Р-gp модулирует высвобождение эпителиальных цитокинов при ХРС и способен усиливать глюкокортикоидную активность [14]. Эти данные позволяют предположить, что Р-gp можно идентифицировать как маркер усиления цитокин-опосредованного воспалительного процесса у пациентов с ХРС. Эта теория была доказана клиническим испытанием, которое показало улучшение показателей при ХРС после ингибиции Р-gp с помощью верапамила [5].

Дисбаланс эпителиальных протеаз и ингибиторов протеаз при ХРС

Как структурные, так и функциональные врожденные эпителиальные иммунные реакции происходят в ответ на атаку патогенов из окружающей среды, они осуществляют возврат к исходному гомеостатическому состоянию. При ХРС по различным причинам не удается затормозить каскад биохимических реакций воспаления, что ведет к появлению множества этиопатологических гипотез, фокусирующихся на взаимодействиях эпителия и окружающей среды хозяина как с грибами, так и с бактериями [5]. Также были исследованы «суперантителы» *S. aureus*, показывающие их потенциальную роль в некоторых формах ХРС [4].

Эти направления исследований предполагают общий путь чрезмерного воздействия протеаз.

Действительно, все аллергены, такие как клещи домашней и библиотечной пыли, плесневые грибы и различные бактерии, обладают выраженной эндогенной протеазной активностью, активируют клетки Th2-типа и врожденные лимфоидные клетки группы 2 (ILC2) для выработки цитокинов Т2-типа [1]. При воздействии эндогенных протеаз дыхательный эпителий вырабатывает эндогенные ингибиторы протеаз. При ХРС эндогенные ингибиторы протеазы, такие как цистатин А и ингибитор сериновой протеазы SPINK5, экспрессируются в недостаточной концентрации [16]. Однако было доказано, что концентрации эндогенных ингибиторов протеаз (цистатина SN и ингибитора цистеиновой протеазы) статистически значимо выше на слизистой оболочке носа и пазух у пациентов с эозинофильным типом ХРС (ХРС Т2) по сравнению с ХРС без Th2-типа [1, 17]. Цистатин SN способен запускать биосинтез TSLP и IL-33 [6]. Также циста-

тин SN индуцирует фибробласты НП, повышая экспрессию периостина.

Периостин является маркером эозинофильного воспаления, характерного для Th2-типа, т.к. он инициирует рекрутирование и активацию эозинофилов [9, 12]. Вероятно, общий дисбаланс между экзогенными протеазами и эндогенными ингибиторами протеаз может действовать как важный пусковой момент эпителиального воспаления при ХРС.

Эпителиальные реакции при воспалении дыхательных путей

Эпителий слизистой оболочки носа выступает как активный иммуномодулятор. К примеру, клетки эпителия респираторного тракта могут запускать миграцию дендритных клеток (ДК) в эпителий посредством медиатора CCL20 (MIP-3 α) в ответ на попадание инородных агентов [28]. CCL20 – единственный известный хемокин, осуществляющий контакт с CCR6, который экспрессируется незрелыми ДК и клетками Лангерганса [17].

Клетки респираторного эпителия оказывают воздействие на ДК при дифференцировке Th-клеток через синтез TSLP, активатора ДК, который может дополнительно синтезироваться под действием IL-4 [21]. Другими характерными проявлениями реакции эпителия на длительное воспаление является фиброз и ремоделирование тканей.

Изменения в работе коагуляционной и фибринолитической систем были широко описаны при ХРС на клинических и животных моделях [6]. Активации тромбина, снижения активности t-PA и повышение экспрессии фактора свертывания крови XIII-А стимулирует повышенное отложение фибрина в наночастицах [7]. Тромбин и пептиды-агонисты рецептора-1, активируемые протеазой, могут провоцировать увеличение эндотелиального фактора роста *in vitro*.

Эти труды демонстрируют, что активация свертывающей системы крови в комплексе со снижением фибринолиза приводит к выраженному ремоделированию слизистой оболочки носа и придаточных пазух при ХРС посредством захвата белков из плазмы, усилию тканевого отека, появлению псевдокист и выделению фактора роста эндотелия сосудов. Также тромбин может усугублять эпителиальную воспалительную реакцию, стимулируя производство простагландинов PGE2, CCL2, IL-6, IL-8, тромбоцитарного фактора роста и MUC5AC из эпителиальных клеток дыхательных путей [22].

Дальнейшие исследования ремоделирования эпителия при ХРС были сосредоточены на фиброзе слизистой решетчатой кости, а также на

пролиферации бокаловидных клеток. Активация преобразователя сигнала и активатора транскрипции 6 (STAT6) в клетках респираторного эпителия индуцирует IL-13-зависимое воспаление у мышей [18]. IL-13, помимо передачи сигналов рецептора эпидермального фактора роста, необходим для синтеза фибриногена и клеток-продуцентов назальной слизи.

Аналогично белок периостин может синтезироваться как IL-13, так и IL-4, может связывать белки внеклеточного матрикса (фибронектин, тенасцин-С, коллагены), участников процесса фиброза [27].

Полиморфизмы в матрикской металлопротеиназе-9, который разрушает белки внеклеточного матрикса, считаются геном риска при ПРС [21]. TGF- β является дополнительным важным медиатором фиброза дыхательных путей.

Было показано, что передача сигналов TGF- β повышена в тканях ХРС без полипов относительно группы здоровых [2]. Однако при анализе среди ПРС были получены противоречивые данные: исследования показали диапазон уровней его содержания наравне с контрольной группой [20, 28].

Эпителиально-мезенхимальный переход и цитологическое разнообразие при ХРС

Нарушение защитных механизмов эпителиального барьера, развитие фиброза и ремоделирование является частью эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП). Этапы ЭМП изучены при патологиях с Th2-типов, не только для ХРС [1, 19]. Инициирует ЭМП нарушение целостности респираторного эпителия и отклонения в системе гомеостаза, делающим невозможным возврат к исходному состоянию. Было описано, что множественные протеазы, включая протеазы респираторных аллергенов, таких как плесневые грибы и клещи домашней пыли запускают ЭМП [8]. В эпителии придаточных пазух носа ЭМП характеризуется потерей белков плотного соединения, включая ZO-1 и окклюдин. Показано снижение уровня Е-кадгерина при ХРС, а также низкие концентрации виментина и цитокератинов, что коррелировало с размером базальной мембранны и инфильтрацией эозинофилами [10]. Потеря соединительных белков вызывает отделение от базальной мембранны, снижение полярности и усиление деления клеток, чтобы заполнить место деструкции. Одномоментно клетки мезенхимы дифференцируются из базальных эпителиальных клеток и синтезируют большое количество компонентов внеклеточного матрикса: фибронектин, десмин, тенасцин, ламинин и коллагены для создания биосвязки на поврежденных местах. Специфические факторы,

которые связаны с ЭМП и акантозом при ХРС, включают TGF- α , OSM, эпирегулин и HIF1 α [18, 21]. Периостин играет важную роль в формировании ХРС не только как активатор притока эозинофилов, но и как участник ЭМП через TGF- β -зависимый путь [19].

ЭМП имеет определенные черты для каждого из этапов. По мере осуществления ЭМП увеличиваются определенные маркеры: повышение синтеза TGF- β , повышенное содержание α -гладкомышечных миофибробластов, интенсивное окрашивание виментином повышенное содержание фибронектина и более высокие уровни миофибробластов и концентрация макрофагов M2. Интенсивное отложение коллагена характерно для ПРС, что указывает на большую активность фибробластов на начальных стадиях формирования полипов [8].

Недавние исследования клеточных изменений при ХРС с использованием массово-параллельного секвенирования одноклеточной РНК предоставили дальнейшее представление об дисфункциях в эпителиальной клеточной экосистеме. Описано отсутствие клеточного разнообразия при гистологическом исследовании ткани полипа относительно контрольной ткани. При ХРС наблюдалась гиперплазия базальных клеток, снижение содержания железистых клеток и сдвигом транскриптомов секреторных клеток, включая значительное увеличение экспрессии цистатина SN [14].

Воспалительные эндотипы при ХРС

Исследования показывают, что воспаление при ХРС очень гетерогенно и может быть разделено на 3 основных эндотипа воспаления: тип Th1 по повышению цитокина T1 IFN γ , эндотип Th2 по эозинофилии и повышению цитокинов Th2 и эндотип Th3 по нейтрофилии и большому количеству IL-17. Обнаружена связь между эндотипами и клиническими проявлениями заболевания РС, вот некоторые ассоциации: эндотип Th2 связан с потерей обоняния, сопутствующей бронхиальной астмой и полипозом носа, тогда как эндотип Th3 связан с наличием интраоперационного гноя, что указывает на связь с инфекцией [18].

Эндотип Th2 является самым распространенным эндотипом в западных странах [13, 18]. Кроме того, распространенность Th2 в последние десятилетия растет, подобно другим аллергическим заболеваниям, таким как астма и аллергический ринит [3, 21]. Существует географическая изменчивость даже в пределах одной страны, и действительно, наличие Th2 ПРС сильно различалось между Пекином (60%) и Чэнду (20%) в Китае [10]. Это может означать то, что эндотип

воспаления контролируется микроокружением в большей степени, чем генетическими факторами.

ПРС Th2-типа цитокины Th2, включая IL-4, IL-5 и IL-13, продуцируемые клетками Th2, ILC2 и тучными клетками, играют важную роль в развитии ПРС T2-типа. IL-5 в первую очередь участвует в эозинофилии, а также участвует в активации плазматических клеток в тканях НП. IL-4 и IL-13 являются ключевыми факторами, которые контролируют многие важные факторы при НП, включая реакцию IgE, дисфункцию эпителиального барьера, выработку слизи, ремоделирование и отложение фибропластины [3]. Лечение антителом против IL-4R α (дупилумаб), которое ингибирует оба фактора: передача сигналов IL-4 и IL-13 уменьшила размер НП и улучшила качество жизни и симптомы, включая заложенность носа и аносмию, у пациентов с тяжелым течением ПРС [9].

Идентифицировали гены с повышенной регуляцией в НП Th2 [9, 20].

Гены с повышенной регуляцией в НП Th2 включали клеточные маркеры и хемокины для эозинофилов, макрофаги, Th2/ILC2, тучные клетки, эпидермальную дифференцировку и внеклеточный матрикс, и другие распространенные гены, индуцированные IL-4/IL-13 (цистатин SN и периостин) [9, 21]. Исследование пациентов с НП жителей Японии и жителей США путем секвенирования РНК и обнаружено, что профиль экспрессии генов в Th2 при НП из обеих групп показал почти полное перекрытие. Это говорит о том, что ключевые молекулярные механизмы НП Th2 в азиатских и западных странах, вероятно, одинаковы.

ILC2 и клетки TH2Антиген-независимое воспаление T2-типа в основном контролируется ILC2. ILC2 экспрессируют рецепторы, реагирующие на врожденные индукторы T2 эпителиальных клеток, TSLP, IL-25 и IL-33. В случае ХРС повышенный уровень TSLP в ткани НП T2 был обнаружен во всем мире [10, 15]. TSLP индуцируется вирусами, протеазосодержащими аллергенами и цитокинами Th2-типа IL-4 и IL-13 в эпителиальных клетках, а также комбинацией этих стимулов [6, 9]. Активность TSLP в ткани НП усиливалась за счет посттрансляционных модификаций тканевых протеаз, и эти активные метаболиты TSLP стимулируют ILC2, а также дендритные и тучные клетки гораздо эффективнее, чем зрелые TSLP [4, 7]. Напротив, повышение уровня других врожденных индукторов Th2 эпителиального происхождения, IL-25 и IL-33, является спорным. Повышение уровня IL-25 в НП было обнаружено в Азии, а исследование в

США также продемонстрировало, что IL-25 был обнаружен в незначительной подгруппе эпителиальных клеток, называемых одиночными хемосенсорными клетками, и был повышен в НП [15, 18]. Напротив, в других исследованиях показало почти неопределяемые низкие уровни IL-25 в НП [10].

Это может свидетельствовать о том, что IL-25 играет роль на каком-то определенном этапе развития полипозной ткани. Относительно IL-33 были получены неоднозначные результаты [2, 15]. Поскольку IL-33 требует двух стадий получения цитокиновой активности (высвобождения из ядра и расщепления ферментами), мы не можем делать выводы, основываясь только на его экспрессии [1, 11].

Предполагается, что активация 4 различных путей транскрипции (NF- κ B, ядерный фактор активированных Т-клеток (NFAT, STAT5 и STAT6) нужны для биосинтеза цитокинов Th2-типа в ILC2 [12]. Активаторы ядерного фактора каппа В (рецептор-активатор лиганда ядерного фактора каппа В, IL-25 в Азии и IL-33, NFAT (PGD2, цистеиниллейкотриен C4 и LTD4), STAT5 (TSLP) и все STAT6 (IL-13) повышены в ткани носовых полипов [12, 15]. Это предполагает, что ткань полипа имеет мощное микроокружение, которое активирует ILC2 для активной продукции цитокинов T2.

Клетки Th2-типа дифференцируются от наивных CD4 $^{+}$ Т-клеток через активацию передачи сигналов через рецептор Т-клеток и активации STAT6 сигналами цитокинов (IL-4 и IL-13), а GATA3 – это основной фактор транскрипции контролирующий дифференцировку Th2-типа [15, 25]. TSLP также участвует в дифференцировке Th2 посредством индукции OX40L на дендритных клетках, которые обнаружены в высоких количествах в полипах носа [17, 21]. Th2-клетки в наночастицах также экспрессируют рецептор-активатор лиганда ядерного фактора каппа В.

Доказано, что накопление клеток В-линии (В-клеток, плазмобластов и плазматических клеток) и высокие местные концентрации иммуноглобулинов (IgA, IgG и IgE) играют важную роль в развитии ПРС [9, 15]. Накопление клеток В-линии в носовых полипах было связано с локальной продукцией В-клеточного фактора активации семейства TNF. Повышенный уровень IgE играет роль при ПРС Th2 посредством активации тучных клеток и базофилов, а лечение антителом против IgE уменьшало размер полипа и улучшало симптомы у пациентов [27]. Использование антител IgE против энтеротоксинов *S. aureus* показало хорошие результаты [28]. Вы-

сокие уровни IgE в тканях также связаны с рецидивом НП [13]. Было обнаружено, что IgG4 и IgE были дополнительно повышены в ткани полипов у пациентов с астматической триадой (респираторный синдром, состоящий из тяжелого ПРС, бронхиальной астмы и непереносимости ингибиторов циклооксигеназы. Таким образом, IgG4 можно использовать в качестве биомаркера для прогнозирования тяжелого течения ПРС. Было обнаружено, что экспрессия IL-5Ra усиlena на плазматических клетках в наночастицах при астматической триаде, что IL-5 активирует плазматические клетки. Это свидетельствует о том, что биологические препараты, нацеленные на IL-5 и IL-5Ra, не только ингибируют эозинофилы, но и подавляют плазматические клетки, секретирующие антитела, что улучшает результаты лечения пациентов с АТ [13, 23].

Макрофаги

Макрофаги сдвинуты к фенотипу M2 и их количествоено в НП [6, 13]. Повышенное содержание макрофагов M2 в НЧ демонстрирует нарушение фагоцитарной активности против *S. aureus*. Сведение о колонизации *S. aureus* слизистой оболочки носа часто встречается в литературе при ПРС [13, 25]. Макрофаги фенотипа M2 продуцируют фактор XIII-А, который инициирует отложение фибринна, участвующего в образовании полипов носа. Макрофаги M2 также синтезируют CCL13 и CCL18, и хемокины, рекрутирующие эозинофилы и незрелые миелоидные ДК [9, 13].

Тучные клетки и базофилы

Тучные клетки и базофилы занимают основное положение в атаке против паразитов и аллергическом воспалении и [18]. Первичным стимулом для тучных клеток и базофилов при воспалении Т2 является активация посредством высокоаффинного рецептора IgE Fc ϵ RI. При перекрестном связывании Fc ϵ RI через IgE-антитела они высвобождают несколько медиаторов аллергического воспаления, включая гистамин и протеазы, и интенсивно синтезируют липидные медиаторы, включая CysLT и PGD2 [12]. IL-5 и IL-13 синтезируются тучными клетками, тогда как базофилы продуцируют главным образом IL-4. Тучные клетки отвечают на IL-33 и TSLP эпителиального происхождения, а также IL-1 β , происходящий из макрофагов/нейтрофилов, с дальнейшим выделением IL-5 и IL-13 [3, 14]. Тучные клетки можно разделить на 2 фенотипа: тучные клетки-триптаза (MCT) и триптаза/химаза тучных клеток (MCTC). Повышенный уровень MCT характерен для эпителия слизистой оболочки, а уровень MCTC повышен в железистом эпителии.

Активированные тучные клетки в высоких концентрациях определяются в полипозной ткани при Th2. Обнаружили, что уровень базофилов значительно повышен в НП при ПРС и более высок в НП при аспириновой триаде. Важно отметить, что базофилы в НП при триаде были более активированы и дегранулированы, а уровни этих маркеров в базофилах коррелировали с тяжестью синоназальных и легочных заболеваний [14]. Несомненно, базофилы участвуют в развитии ПРС, особенно в его серьезном варианте в виде астматической триады.

Эозинофилы и нейтрофилы

Большое количество эозинофилов – это важный отличительный признак Th2-типа при ХРС во всем мире, а лекарственные препараты биологической природы, нейтрализующие эозинофилы с помощью анти-IL-5 и анти-IL-5-рецепторов, применяются для лечения пациентов с тяжелым Th2-типов ПРС и БА [15]. Высокие концентрации эозинофилов при Th2-ответе на слизистой и особенно в полипозных тканях, контролируется локальным повышением молекул адгезии, индуцированных IL-4 и IL-13 [14]. Эозинофилы в НП демонстрируют повышенную экспрессию CD69, который является маркером активации [25].

При активации эозинофилы высвобождают предварительно сохраненные цитотоксические гранулярные белки, включая основной белок, катионный белок эозинофилов, нейротоксин и пероксидазу эозинофилов, которые способствуют повреждению и ремоделированию тканей [15, 17]. Активированные эозинофилы также могут проявлять гибель внеклеточных клеток-ловушек и высвобождать внеклеточные ловушки. Внеклеточные ловушки эозинофилов образуются из ДНК, белков-гранул и кристаллов Шарко-Лейдена, они индуцируют про воспалительные цитокины, включая IL-6, TNF и GM-CSF, а также рекрутирование нейтрофилов [20, 27]. Они являются адьювант для усиления Th2-иммунитета [27]. Активированные эозинофилы синтезируют и высвобождают cysLT.

Важно отметить, что эозинофилы носовых полипов имеют повышенные уровни LTC4-сингтазы и производят больше LTD4 при активации по сравнению с эозинофилами периферической крови [21]. Высвобожденные cysLT способствуют дальнейшему привлечению эозинофилов, секреции слизи, проницаемости сосудов и активации ILC2. Наконец, эозинофилы являются ключевым производителем хемокина CCL23, который рекрутирует моноциты и макрофаги в ткани НП [15].

Нейтрофилы играют важную роль в воспалении у пациентов с ПРС, с Th1- и Th17-типов

иммунного ответа [15]. После активации нейтрофилы высвобождают различные биологически активные вещества: эластазу, катепсин G, протеиназу, миелопероксидазу и антимикробные белки, защищающие от бактерий, которые повреждают и вызывают ремоделирование тканей нейтрофилы вырабатывают и секретируют липидные медиаторы (в основном LTB4), активные формы кислорода и некоторые цитокины и хемокины, онкостатинМ (OSM), IL-1 β и IL-8, способствуя развитию воспалению и рекрутированию нейтрофилов. Нейтрофилы высвобождают внеклеточные ловушки нейтрофилов.

Хотя нейтрофилы играют центральную роль в Th17, недавние исследования показывают, что нейтрофилы также способствуют патогенезу ХРС при Th2. Обнаружили, что цитокин OSM, разрушающий эпителиальный барьер, повышен при Th2 и что OSM обнаруживается в нейтрофилах в ткани НП при Th17 [19, 21]. Показано повышение количества нейтрофилов в НП Th2 и обнаружили, что отложение кристаллов Шарко-Лейдена связано с инфильтрацией нейтрофилов. Впоследствии показали повышение уровня активированных нейтрофилов в НП Th2 в США и обнаружили, что эти нейтрофилы способствуют выработке IL-1 β и связаны с рецидивом НП [12].

Также показано, что у пациентов со смешанным Th2/Th3 наблюдались самые высокие показатели симптомов заболевания ПРС. Поскольку тяжесть заболевания и частота рецидивов ниже при Th3, чем при НП Th2, нейтрофилы могут иметь разные патогенные роли между Т2 и не-Т2 ПРС [9, 13]. Отложение фибрина как основной механизм гипертрофии в полипах и пазухах. Установлено широко распространенное отложение фибрина в ткани НП. Ранее было представлено доказательство присутствия активного тромбина в жидкостях промывания носа у пациентов с ХРС. Это доказывает феномен активации системы свертывания крови. Процесс коагуляции запускается эндогенным путем через поверхность контакт, так и внешним путем через тканевый фактор.

Оба варианта имеют место при ПРС в тканях носовых полипов и ведут к активации фактора X с дальнейшим формированием тромбина и фибрин [8, 18]. Хотя можно ожидать, что любое состояние или заболевание, вызывающее нарушение проницаемости сосудов, будет способствовать сопутствующей активации коагуляции и образованию внесосудистого сгустка фибрин.

Тканевый активатор плазминогена, который в первую очередь продуцируется эпителиальными клетками дыхательных путей, активирует плазмин и вызывает разложение тканевого фибрин.

Выработку и отложение фибрину у пациентов с ПРС можно связать с ингибирированием производства и выброса tPA, что ведет к подавлению главного пути фибринолиза и тормозит деградацию сгустка [5, 26]. Экспрессия фактора XIII-А, фермента, который сшивает и стабилизирует фибрин, повышена на ткани НП. Его синтезируют альтернативно активированными макрофагами (макрофаги M2), которые в большом количестве обнаружаются в тканях пациентов с НП [13].

Интересно, что уровни как комплекса тромбин/антитромбин, так и тромбин-активированного ингибитора фибринолиза статистически значимо выше при ПРС с коморбидной астмой относительно групп ПРС без астмы. Это может говорить о том, что активация коагуляции коррелирует с тяжестью патологии [16]. Было описано, что культивирование полипозной ткани в течение суток с фибринолитическим ферментом наттокиназой привело к выраженному лизису и уменьшению размера полипа, но не до нормальных размеров слизистой.

Вероятно, что большая часть массы ткани полипа (около 90%) ассоциирована с задержкой воды на фибриновой сетке [11]. Это важное исследование демонстрирует, что появление полипов серьезно связано с отложением большого количества фибрину. Интересно, что в том же исследовании показано, что экспериментальная деградация фибрину в слизи привела к почти полной потере вязкости слизи, что позволяет предположить, что фибрин придает назальной слизи адгезивные и эластичные свойства [1].

Биохимический анализ для количественного определения фибрину показал 10-20-кратное его увеличение в ткани НП по сравнению с нормальной ткани решетчатых костей или крючковидного отростка. Интересно, что гипертрофированная ткань решетчатых пазух пациентов с ХРС без полипов также содержит фибриновую сетку, повышенную почти до того же уровня, что и в ткани НП.

Механизмы, с помощью которых путь коагуляции способствует отложению фибрину и последующему образованию, росту полипов и гиперпластических тканей, обсуждались в других исследованиях [18]. Обнаружено, что количество фибрину увеличивается, а концентрация тканевого активатора плазминогена снижается в тканях как эозинофильных, так и неэозинофильных полипов. Комплекс тромбин/антитромбин также был увеличен у всех эндотипов пациентов. Наконец, исследования *in vitro* подтвердили, что цитокины Th1 и Th3 могут уменьшать содержание тканевого активатора плазминогена [21]. Эта информация свидетельствует о том, что коагуляции

и отложение фибрину не характерны только для определенного эндотипа ХРС с определенным эндотипом ХРС.

Стоит отметить, что подавление коагуляции местными или системными препаратами может способствовать фибринолизу и сокращению НП независимо от эндотипа. Показано, что короткоцепочечные жирные кислоты, такие как пропионовая, масляная кислота и ретиноевая кислота, активны в индукции экспрессии тканевого активатора плазминогена в эпителиальных клетках [24]. Испытания антикоагулянтов, как местных, так и системных, также могут быть целесообразными, чтобы определить, способны ли эти препараты сокращать ткань НП [2, 27].

Гетерогенность эндотипов ХРС

Сложность эндотипирования ХРС усугубляется тем фактом, что во всем мире растет численность пациентов с аллергией. Трудно дифференцировать тип ХРС с учетом местных и системных биохимических процессов в организме. Гистологические исследования ткани при ХРС без полипов осложняются использованием различных участков биопсии придаточных пазух носа, возможно, имеющих тканеспецифические молекулярные различия. Каждый эндотип варьируется географически [7, 23, 27]. Эндотип Th2 стал наиболее распространенным в западных странах, он обнаружен от 30% до 55% пациентов с ХРС без полипов. Напротив, Th1 по-прежнему является преобладающим эндотипом при ХРС без полипов в странах Азии, где 30% до 40% пациентов с ХРС без полипов в Китае имеют эндотипы Th2 или Th3.

Исследование, включающее 354 пациента с ХРС, показало, что при ХРС (с полипами и без) наиболее часто встречаемый тип – это Th2, наименее это Th1, далее Th17-тип. Одна треть пациентов ХРС обоих вариантов имела комбинацию воспаления Th1, Th2 и/или Th3 и, таким образом, были отнесены к группе смешанных эндотипов. В другой трети пациентов (в обеих группах) не было обнаруживаемого повышения уровня воспаления Th1, Th2 или Th3, и поэтому их считали имеющими нетипируемый эндотип.

Было выполнен микрочиповый анализ предварительно эндотипированной слизистой оболочки решетчатой пазухи при ХРС без полипов. В этом исследовании установлены гены, определяющие эндотипы T1, T2 и T17, необходимые для расшифровки главных молекулярных механизмов отдельного эндотипа. Например, для Th1, помимо накопления ТН1 клеток, характерно увеличение CD8⁺ естественных клеток-киллеров, цитотоксических Т-клеток и антигенпрезентирующих клеток. Высвобождение IFN γ и цитотокси-

ческих молекул (гранзимы) может играть ключевую патогенную роль в Th1.

Th2-тип характеризуется повышением цитокинов Th2 IL-4, IL-5 и IL-13, маркеров иммунных клеток T2, включая клетки TH2, ILC2, эозинофилы, тучные клетки, базофилы, ДК и макрофаги M2. Маркеры регуляторных Т-клеток (FoxP3 и IL-10) также были повышены в Th2 без НП, и это может быть связано с присутствием обычных регуляторных Т-клеток [21]. Кроме того, это исследование выявило, что гены, специфичные для Th2 XPC без полипов, также повышены при ПРС с эндотипом Th2, что позволяет предположить, что механизмы воспаления Th2 при XPC очень схожи независимо от наличия полипозной ткани.

Для XPC Th3-типа без НП характерно высокое количество Th17, В-клеток, дендритных клеток, макрофагов (M1) и нейтрофилов. Высвобождение провоспалительных цитокинов TNF и IL-1 β макрофагами и нейтрофилами, активация нейтрофильных лейкоцитов и компонентов комплемента могут играть ключевую роль. Важно отметить, что у большого количества пациентов с XPC не наблюдалось видимого повышения каких-либо эндотипических маркеров Th1, Th2 или Th17 в слизистой оболочке решетчатой пазухи во всем мире [7, 18].

Существует множество потенциальных объяснений для этого: у этих пациентов может быть небольшое повышение эндотипических маркеров, но это не позволяет классифицировать их на основе пороговых значений; у них может быть воспаление Th1, Th2 или Th3 в других слизистых оболочках носовых пазух; или они могут иметь нераспознанные или смешанные эндотипы, помимо Th1, Th2 и Th17.

Выводы

Несмотря на большое количество современных исследований о гетерогенности XPC, это остается серьезной медико-социальной проблемой.

Низкая эффективность различных используемых методов лечения может быть частично обусловлена гетерогенной иммунопатологией и результаты могут быть разными. Использование биологических препаратов, хотя и одобрено, может быть ненадежным, поскольку эти препараты, воздействующие на Th2, могут вводиться пациентам с заболеванием, не связанным с Th2.

Наличие эозинофилов и гноя могут дать основу для экстраполяции эндотипа, но сейчас у врачей, лечащих XPC, нет широкого распространенного доступа к лабораторным анализам для типирования РС и обоснования медикаментозной тактики.

Пациенты с любым типом воспаления могут страдать от скрытых инфекций, вызванных бактериями и грибами или вирусами соответственно, и это затрудняет диагностику поляризации иммунного ответа.

Доступные и быстрые методы эндотипирования и эффективный выбор методов лечения могут быть улучшены. Эти анализы также могут стать основой для больших клинических, эпидемиологических или генетических исследований, которые позволят нам узнать о специфическом влиянии эндотипа на тяжесть заболевания, сопутствующие заболевания, исходы и помочь с правильной тактикой ведения пациентов.

Список литературы / References

1. Bae C.H., Na H.G., Choi Y.S., Song S.Y., Kim Y.D. Clusterin induces MUC5AC expression via activation of NF- κ B in human airway epithelial cells. *Clin. Exp. Otorhinolaryngol.*, 2018, Vol. 11, no. 2, pp. 124-132.
2. Boita M., Bucca C., Riva G., Heffler E. Release of type 2 cytokines by epithelial cells of nasal polyps. *J. Immunol. Res.*, 2016, Vol. 2016, 2643297. doi: 10.1155/2016/2643297.
3. Böscke R., Vladar E.K., Könnecke M., Hüsing B., Linke R., Pries R., Reiling N., Axelrod J.D., Nayak J.V., Wollenberg B. Wnt signaling in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2017, Vol. 56, Iss. 5, pp. 575-584.
4. Cho D.Y., Nayak J.V., Bravo D.T., Le W., Nguyen A. Expression of dual oxidases and secreted cytokines in chronic rhinosinusitis. *Int. Forum Allergy Rhinol.*, 2013, Vol. 3, pp. 376-383.
5. Du K., Wang M., Zhang N., Yu P., Wang P., Li Y. Involvement of the extracellular matrix proteins periostin and tenascin C in nasal polyp remodeling by regulating the expression of MMPs. *Clin. Transl. Allergy*, 2021, Vol. 11, e12059. doi: 10.33029/1816-2134-2023-44-3-379-390.
6. Ebenezer J.A., Christensen J.M., Oliver B.G., Oliver R.A., Tjin G., Ho J., Habib A.R. Periostin as a marker of mucosal remodelling in chronic rhinosinusitis. *Rhinology*, 2017, Vol. 55, Iss. 3, pp. 234-241.

7. Fokkens W.J., Lund V.J., Hopkins C., Hellings P.W., Kern R., Reitsma S., Toppila-Salmi S., Bernal-Sprekelsen M., Mullol J., Alobid I., Terezinha Anselmo-Lima W., Bachert C., Baroody F., Cervin A., Cohen N., Constantinidis J. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps, 2020. *Rhinology* 2020, Vol. 58, Suppl. S29, pp. 1-464.
8. Ito T., Ikeda S., Asamori T., Honda K., Kawashima Y. Increased expression of pendrin in eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Braz. J. Otorhinolaryngol.* 2019, Vol. 85, Iss. 6, pp. 760-765.
9. Jiao J., Duan S., Meng N., Li Y., Fan E. Role of IFN-gamma, IL-13, and IL-17 on mucociliary differentiation of nasal epithelial cells in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Clin. Exp. Allergy*, 2016, Vol. 46, pp. 449-460.
10. Johnston L.K., Bryce P.J. Understanding Interleukin 33 and its roles in eosinophil development. *Front. Med.*, 2017, Vol. 4, 51. doi: 10.3389/fmed.2017.00051.
11. Kaneko Y., Kohno T., Kakuki T., Takano K.I., Ogasawara N., Miyata R., Kikuchi S. The role of transcriptional factor p63 in regulation of epithelial barrier and ciliogenesis of human nasal epithelial cells. *Sci. Rep.*, 2017, Vol. 7, pp. 10-15.
12. Kao S.S., Bassiouni A., Ramezanpour M., Finnie J., Chegeni N., Colella A.D., Chataway T.K., Wormald P.J. Proteomic analysis of nasal mucus samples of healthy patients and patients with chronic rhinosinusitis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2021, Vol. 147, Iss. 1, pp. 168-178.
13. Kato A., Peters A.T., Stevens W.W., Schleimer R.P. Endotypes of chronic rhinosinusitis: Relationships to disease phenotypes, pathogenesis, clinical findings, and treatment approaches. *Allergy*, 2022, Vol. 77, Iss. 3, pp. 812-826.
14. Kato K., Chang E.H., Chen Y., Lu W., Kim M.M., Niihori M. MUC1 contributes to goblet cell metaplasia and MUC5AC expression in response to cigarette smoke *in vivo*. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, 2020, Vol. 319, Iss. 1 pp. L82-L90.
15. Kim D.K., Jin H.R., Eun K.M., Mo J.H., Cho S.H., Oh S. The role of interleukin-33 in chronic rhinosinusitis. *Thorax*, 2017, Vol. 72, Iss. 7, pp. 635-645.
16. Klingler A.I., Stevens W.W., Tan B.K., Peters A.T., Poposki J.A., Grammer L.C., Welch K.C., Smith S.S., Conley D.B., Kern R.C. Mechanisms and biomarkers of inflammatory endotypes in chronic rhinosinusitis without nasal polyps. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2021, Vol. 147, Iss. 4, pp. 1306-1317.
17. Liao B., Cao P.P., Zeng M., Zhen Z., Wang H. Interaction of thymic stromal lymphopoietin, IL-33, and their receptors in epithelial cells in eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Allergy*, 2015, Vol. 70, Iss. 9, pp. 1169-1180.
18. Meng J., Zhou P., Liu Y., Liu F., Yi X., Liu S., Holtappels G., Bachert C., Zhang N. The development of nasal polyp disease involves early nasal mucosal inflammation and remodelling. *Braz. J. Otorhinolaryngol.*, 2013, Vol. 1, pp. 3-39.
19. Mueller S.K., Wendler O., Nocera A., Grundtner P. Escalation in mucus cystatin 2, pappalysin-A, and periostin levels over time predict need for recurrent surgery in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Int. Forum Allergy Rhinol.*, 2019, Vol. 9, Iss. 10, pp. 1212-1219.
20. Nagarkar D.R., Poposki J.A., Tan B.K. Thymic stromal lymphopoietin activity is increased in nasal polyps of patients with chronic rhinosinusitis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2013, Vol. 132, Iss. 3, pp. 593-600.
21. Park S.K., Jin Y.D., Park Y.K., Yeon S.H., Xu J., Han R.N., Rha K.S. IL-25-induced activation of nasal fibroblast and its association with the remodeling of chronic rhinosinusitis with nasal polyposis. *PLoS One*, 2017, Vol. 12, e0181806. doi:10.1371/journal.pone.0181806.
22. Shin H.W., Kim D.K., Park M.H., Eun K.M., Lee M., So D., Kong I.G. IL-25 as a novel therapeutic target in nasal polyps of patients with chronic rhinosinusitis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2015, Vol. 135, Iss. 6, pp. 1476-1485.
23. Soler Z.M., Yoo F., Schlosser R.J., Mulligan J., Ramakrishnan V.R., Beswick D.M., Alt J.A., Mattos J.L. Correlation of mucus inflammatory proteins and olfaction in chronic rhinosinusitis. *Int. Forum Allergy Rhinol.*, 2020, Vol. 10, Iss. 3, pp. 343-355.
24. Soyka M.B., Wawrzyniak P., Eiwegger T., Holzmann D., Treis A., Wanke K. Effective epithelial barrier in chronic rhinosinusitis: The regulation of tight junctions by IFN-gamma and IL-4. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2012, Vol. 130, Iss. 5, pp. 1087-1096.e10.
25. Wise S.K., Laury A.M., Katz E.H., Den Beste K.A. Interleukin-4 and interleukin-13 compromise the sinonasal epithelial barrier and perturb intercellular junction protein expression. *Int. Forum Allergy Rhinol.*, 2014, Vol. 4, Iss. 5, pp. 361-370.
26. Wu D., Yan B., Wang Y., Wang C., Zhang L. Prognostic and pharmacologic value of cystatin SN for chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2021, Vol. 148, Iss. 2, pp. 450-460.

27. Xu X., Luo S., Li B., Dai H., Zhang J. IL-25 contributes to lung fibrosis by directly acting on alveolar epithelial cells and fibroblasts. *Exp. Biol. Med.*, 2019, Vol. 244, pp. 770-780.

28. Yan B., Lou H., Wang Y., Li Y., Meng Y., Qi S. Epithelium-derived cystatin SN enhances eosinophil activation and infiltration through IL-5 in patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2019, Vol. 144, Iss. 2, pp. 455-469.

Авторы:

Лазарева А.М. – к.м.н., младший научный сотрудник
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
медицинских проблем Севера», г. Красноярск, Россия

Смирнова О.В. – д.м.н., профессор, заведующая
лабораторией молекулярно-клеточной патофизиологии
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
медицинских проблем Севера», г. Красноярск, Россия

Authors:

Lazareva A.M., PhD (Medicine), Junior Research Associate,
Research Institute of Medical Problems of the North,
Krasnoyarsk, Russian Federation

Smirnova O.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head,
Laboratory of Molecular Cellular Pathophysiology, Research
Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk,
Russian Federation

Поступила 28.06.2024
Отправлена на доработку 04.07.2024
Принята к печати 14.09.2024

Received 28.06.2024
Revision received 04.07.2024
Accepted 14.09.2024

РОЛЬ IL-4 И IL-13 В ПАТОГЕНЕЗЕ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА: ПУТИ ИНГИБИРОВАНИЯ

Мачарадзе Д.Ш.

ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия

Резюме. Обзор посвящен двум ключевым цитокинам Th2 – IL-4 и IL-13, которые напрямую участвуют в иммунопатогенезе атопического дерматита. Впервые об идентификации IL-4 и IL-13 при АД сообщили Q. Hamid и соавт. в 1994 г. За это время появилось огромное количество исследований, подтверждающих связь этих цитокинов Th2 с нарушением эпидермального барьера кожи; снижением иммунного ответа кожи за счет ингибиции экспрессии антимикробных пептидов против золотистого стафилококка и т.д. Исследования также убедительно подтверждают связь с IL-4/IL-13 таких клинических проявлений атопического дерматита, как кожные инфекции, а также воспаление, лихенизация и зуд кожи. Роль IL-4 и IL-13 подтверждается и клиническими исследованиями, которые указывают на благоприятное влияние препаратов, ингибирующих эти цитокины, на купирование кожных симптомов атопического дерматита (зуд, высыпания). Оказалось, что IL-4 и IL-13 связывают сигнальный путь JAK/STAT за счет общей α -субъединицы рецептора IL-4 – IL-4R α . Еще одной важной способностью IL-4, IL-13 и других цитокинов (включая IL-31), является активация сенсорных нейронов, поэтому их часто рассматривают как мощные пруригены. В статье обсуждаются также вопросы, касающиеся роли сигнального пути JAK/STAT и, в частности, белка JAK1 в развитии атопического дерматита. Исходя из патогенетической значимости IL-4 и IL-13, в последнее время были разработаны препараты, блокирующие их активность и тем самым воздействующие на важные молекулярные пути развития атопического заболевания. Эти препараты классифицируются как системная терапия, которая включает, в том числе: 1) биологическую терапию (дупилумаб, первое моноклональное антитело IgG4), который блокирует IL-4R α и тем самым подавляет ось IL-4/IL-13, и 2) ингибиторы янускиназы (JAK) или ингибиторы малых молекул (на сегодня в России доступны такие препараты из группы ингибиторов янускиназы, как аброцитиниб, упадацитиниб и бароцитиниб). Исследования показывают, что и биологическая терапия, и малые молекулы оказывают иммуномодулирующее действие на течение атопического дерматита. В обзоре кратко представлены основные данные недавних метаанализов по сравнительной характеристике биологической терапии и ингибиторов янускиназы при данном заболевании.

Ключевые слова: атопический дерматит, IL-4, IL-13, лечение, дупилумаб, ингибиторы малых молекул, упадацитиниб, аброцитиниб

Адрес для переписки:

Мачарадзе Дали Шотаевна
ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора
125212, Россия, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10.
Тел.: 8 (495) 452-18-01.
Факс: 8 (495) 452-18-30.
E-mail: dalim_a@mail.ru

Address for correspondence:

Dali Sh. Macharadze
G. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology
10 Admiral Makarov St
Moscow
125212 Russian Federation
Phone: +7 (495) 452-18-01.
Fax: +7 (495) 452-18-30.
E-mail: dalim_a@mail.ru

Образец цитирования:

Д.Ш. Мачарадзе «Роль IL-4 и IL-13 в патогенезе атопического дерматита: пути ингибиции» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 287-296. doi: 10.15789/1563-0625-PRO-3070

© Мачарадзе Д.Ш., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

D.Sh. Macharadze “Pathogenetic role of IL-4 and IL-13 in atopic dermatitis: The inhibitory pathways”, *Medical Immunology (Russia)/Meditinskaya Immunologiya*, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 287-296.
doi: 10.15789/1563-0625-PRO-3070

© Macharadze D.Sh., 2025

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

DOI: 10.15789/1563-0625-PRO-3070

PATHOGENETIC ROLE OF IL-4 AND IL-13 IN ATOPIC DERMATITIS: THE INHIBITORY PATHWAYS

Macharadze D.Sh.

G. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

Abstract. The review article is devoted to the two key Th2 cytokines, IL-4 and IL-13, which are directly involved in the immunopathogenesis of atopic dermatitis (AD). The identification of IL-4 and IL-13 in AD was first reported by Q. Hamid et al. in 1994. Since then, a number of studies have appeared confirming the relationship of these Th2 cytokines with disruption of the skin epidermal barrier; a decrease in skin immune response due to inhibited expression of antimicrobial peptides against *Staphylococcus aureus*, etc. The convincing studies also confirm a relationship with IL-4/IL-13 to such clinical manifestations of ADs as skin infections, as well as inflammation, lichenification and itching of the skin. The role of IL-4 and IL-13 is also confirmed by clinical studies, which indicate a beneficial effect of drugs inhibiting these cytokines on the relief of skin symptoms in atopic dermatitis (itching, rashes). The IL-4 and IL-13 are shown to connect the JAK/STAT signaling pathway due to the common α -subunit of IL-4 receptor (IL-4R α). Importantly, IL-4, IL-13 and other cytokines (including IL-31) are capable of activating the sensory neurons, thus being often considered potent pruritogens. The article also discusses issues related to the role of the JAK/STAT signaling pathway and, in particular, the JAK1 protein in development of atopic dermatitis. As based on pathogenetic significance of IL-4 and IL-13, drugs have recently been developed that block their activity and, thereby, affect important molecular pathways of the AD development. These drugs are classified as systemic medications which include, e.g., (1) biological therapy (dupilumab, the first monoclonal IgG4 antibody), which blocks IL-4R α and, thereby, suppresses the IL-4/IL-13 axis, and (2). Janus kinase (JAK) inhibitors or small-molecule agents. Currently, some Janus kinase inhibitors, e.g., abrocitinib, upadacitinib, and barocitinib, are available in Russia. Clinical studies show that both biological therapy and small molecules have an immunomodulatory effect on the course of atopic dermatitis. The review briefly presents the main data of recent meta-analyses on the comparative characteristics of biotherapy and usage of Janus kinase inhibitors in this disorder.

Keywords: atopic dermatitis, IL-4, IL-13, treatment, Dupilumab, small molecule inhibitors, upadacitinib, abrocitinib

Введение

В последние десятилетия произошли революционные изменения сначала в изучении сложных патофизиологических механизмов развития атопического дерматита (АтД), а в последующем – и в разработке инновационных препаратов для его лечения. Исследования подтверждают вовлечение в иммунопатогенез АтД не менее пяти основных факторов: генетической предрасположенности; влияние множества различных факторов окружающей среды; нарушений эпителиального барьера кожи и иммунного ответа; дисбиоза микробиоты кожи [1, 2, 3, 4]. По последним представлениям АтД рассматривают в основном как воспалительное заболевание 2-го типа, опосредуемое Th2-клетками, однако все больше данных указывает на участие также других цитокиновых путей: Th1, Th17, Th22 и Th1 [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7]. Кроме того, молекулярные исследования кожи и крови продемонстрировали различия по возра-

сту, этнической принадлежности/расе, степени тяжести заболевания, статусу мутации филаггрина, уровню IgE и т. п. [4, 5]. В связи с этим недавно появилось даже новое понятие – эндофенотипы АтД [1].

Иммунопатогенез атопического дерматита

Иммунопатология АтД – сложный процесс, который включает в себя различные подтипы дифференцированных Т-клеток, активированные кератиноциты и множество воспалительных цитокинов [1, 2, 8].

Дисфункцию эпителиального барьера – еще одно важное звено патогенеза АтД, рассматривают как причину и следствие заболевания, которую связывают с аномалией дифференцировки кератиноцитов из-за многих причин: мутации гена филаггрина; нарушения состава и содержания липидов; дисфункции самих кератиноцитов и т. п. [3, 4, 5].

Нарушение кожного барьера способствует высвобождению из кератиноцитов тимическо-

го стромального лимфопоэтина (thymic stromal lymphopoietin, TSLP) [7, 8]. TSLP, секретируемый также фибробластами и базофилами, участвует в активации и миграции в эпидермальный слой кожи, помимо Th2-лимфоцитов, дендритных и других антигенпрезентирующих клеток (макрофаги, моноциты, Т- и В-лимфоциты) [8, 9, 10]. IL-33, IL-25 и TSLP, высвобождающиеся из эпидермальных кератиноцитов при воздействии аллергенов, различных инфекционных агентов или в результате повреждения ткани (царапин кожи), вызывают иммунные реакции Т2-типа [7, 8, 9, 10]. Развитие воспаления, подобное АтД, не зависит от IL-33 и IL-25, но тесно связано с уровнем TSLP, что было подтверждено на модели мышей еще в 2013 г. [10].

Кроме Th2-клеток, не менее важную роль в развитии Т2-воспаления при АтД играет активация врожденных лимфоидных клеток 2-й группы (group 2 innate lymphoid cells, ILC2) [8, 9]. ILC2 кожи имеют лимфоидную морфологию, но лишены антиген-специфических рецепторов и фенотипически определяются как CD45⁺Lin⁻CD3⁻CD161⁺CD127⁺ [9].

По сравнению с неповрежденными тканями, где они присутствуют только в небольшом количестве, количество ILC2 значительно увеличивается в очагах поражения кожи [9]. Оказалось, что находящиеся в ткани ILC2 являются даже более ранним источником Th2-цитокинов, особенно IL-4, IL-5, IL-13 и IL-9, чем сами Th2-клетки [8, 9, 10]. Также ILC2 обладают способностью индуцировать продукцию IgE В-клетками. Как известно, у некоторых больных АтД в результате сенсибилизации и выработки Th2-цитокинов обнаруживают высокий уровень общего IgE (аллергический тип заболевания); у других встречается неаллергический тип, характеризующийся его нормальным уровнем [3, 4, 5]. Активация Th2-клеток с гиперэкспрессией IL-4, IL-5, IL-9 и IL-13 имеет место у пациентов как с неаллергическим, так и аллергическим типом АтД [12]. Однако в целом роль атопии в развитии АтД до сих пор не ясна.

Дендритные клетки, активированные IL-4 и IL-13, продуцируют хемокины типа 2 (CCL17, CCL18, CCL22) и CCL26, экспрессия которых также повышена в очагах поражения кожи у больных АтД [13].

В свою очередь, кератиноциты, продуцирующие повышенный уровень цитокинов-аларминов (например, TSLP, IL-25, IL-33), приводят к выработке в самих Th2 и ILC2 клетках дополнительно еще и IL-5 [14]. Таким образом, получается замкнутый круг: TSLP повышает уровень IL-4,

что затем вызывает увеличение продукции самого TSLP [13, 14, 15].

Далее между дендритными клетками, ILC2, Th2 и резидентными тканевыми клетками происходят другие сложные перекрестные взаимодействия — тем самым запускается воспалительный каскад и усиливается Т2-иммунный ответ. В свою очередь, локальная поляризация Th2 еще больше нарушает эпителиальный барьер кожи, вызывает зуд и дисбиоз кожи [16].

По последним представлениям, при АтД сначала происходит активация локального врожденного ответа через ILC2, за которым следует активация адаптивного иммунитета — Th2-клеток [17, 18].

Общепринято выделять двухфазное течение Т-клеточного воспаления при АтД, при котором Th2-ответ характеризует острую стадию заболевания, а иммунная ось Th1 — хроническую [1]. В частности, при острой фазе АтД в очагах поражения кожи определяют значительно более высокое содержание Th2-клеток, экспрессирующих IL-4 и IL-13, по сравнению с не затронутой кожей [8]. Имеет место также преобладание других цитокинов: IL-5, IL-31, IL-33 и TSLP. В хронической стадии заболевания ведущую роль играют цитокины Th17 (продуцируют IL-17A, IL-17F, IL-22 и TNF- α) и Th22, особенно у детей, а также у генетически предрасположенных пациентов и больных азиатской расы [4, 8]. Также при хронической фазе отмечается повышение уровня экспрессии IL-12, IFN γ и GM-CSF, что указывает на вовлечение уже Th1-иммунного ответа [4, 8, 19].

В последующем IL-4, IL-13 и другие цитокины участвуют в активации генов-мишеней Th2-цитокинов с помощью так называемого сигнального пути JAK/STAT, о чем будет подробно сказано ниже [7, 20].

Таким образом, IL-4 и IL-13 — это цитокины, которые занимают центральное место в патогенезе АтД и опосредуют в основном Т2-воспаление в коже [5, 6, 8, 19]. Кроме того, они же играют ключевую роль в активации Th2 и ILC2, тучных клеток, базофилов, эозинофилов и макрофагов [12, 13, 14, 15, 21].

Почему именно IL-4 и IL-13?

Во-первых, уровни IL-4 и IL-13 повышены в пораженной и непораженной коже при АтД, и их экспрессия коррелирует с тяжестью заболевания [22]. В частности, степень тяжести АтД напрямую связана с повышенной экспрессией IL-13 в коже, а снижение его концентрации в крови хорошо коррелирует с улучшением клинических проявлений заболевания [6].

Кроме того, на мышиных моделях было показано, что IL-4 и IL-13 непосредственно участвуют в развитии в эпидермисе фенотипа, подобного АтД, который характеризуется зудом кожи, ксерозом, воспалением и повышенной колонизацией кожи *S. aureus* [23].

Также IL-4 и IL-13 связывает сигнальный путь JAK/STAT за счет общей α -субъединицы рецептора IL-4 – IL-4R α . Как известно, различают два подтипа IL-4R: тип I включает IL-4R α и общую гамма-цепь (γ), тогда как IL-4R типа II – тот же IL-4R α и еще дополнительно альфа-1-рецептор IL-13 – IL-13R α 1 [24].

Несмотря на то, что оба цитокина имеют общий рецептор и сигнальные пути, их экспрессия в иммунных клетках отличается. Так, IL-13 продуцируется в основном Th2-лимфоцитами, тучными клетками, ILC2 и эозинофилами. Рецепторы IL-13R α 1 экспрессируются на поверхности определенных клеток (кератиноциты, В-клетки, моноциты, тучные клетки, макрофаги, базофилы и эндотелиальные клетки), но отсутствуют в Т-клетках [25]. IL-13 может влиять на Th2-клетки независимо от IL-4, в частности на приток Т-клеток и эозинофилов в очаги поражения кожи за счет синтеза хемокинов в кератиноцитах [5, 6, 25]. IL-13 стимулирует фибробласты к выработке коллагена и способствует развитию фиброзных изменений кожи при АтД [6].

Цитокины типа 2, особенно IL-4 и IL-13, способствуют продукции IgE В-клетками и, наряду со стимуляцией эозинофилов и тучных клеток, поддерживают активацию Th2-клеток [5, 26]. В свою очередь, сами аллергены (в том числе kleщи домашней пыли), помимо разрушения эпидермального барьера кожи, за счет присущей им ферментативной активности и прямой активации ILC2 индуцируют синтез IL-4, IL-13, TSLP, IL-25 и IL-33 [27].

Эти цитокины также способствуют нарушению кожного барьера, в том числе за счет снижения в кератиноцитах экспрессии филаггрина, лорикрина и инволюкрина [28]. При нарушении эпителиального барьера цитокины-алармины (например, TSLP, IL-25, IL-33) активируют тканеспецифические иммунные клетки (тучные клетки, дендритные клетки и ILC2), одновременно способствуя притоку в ткань эозинофилов и базофилов. Известно, что снижение количества филаггрина в коже, независимо от его генотипа, приводит к развитию суперинфекции кожи *S. aureus*. В данном процессе важную роль играет способность IL-4 и IL-13 ингибировать продукцию самих antimикробных пептидов в коже [29,

30]. Все это в совокупности влияет на микробиом и эпидермальный барьер кожи.

Еще одна важная способность IL-4, IL-13 и других цитокинов (IL-31, TSLP) заключается в активации сенсорных нейронов, в связи с чем их нередко рассматривают в качестве мощных пруритогенов. Так, после присоединения IL-13 со своим рецептором IL-13R α 1 происходит активация сенсорных нейронов [30, 31, 32, 34]. Сенсорные нейроны и кератиноциты экспрессируют также IL-4R α /IL-13R α 1 и IL-13R α 2 [33]. Кроме того, периферические нервы в коже экспрессируют IL-4R α , который напрямую вызывает зуд через IL-4/IL-13 и сигнальный путь JAK1 [31]. Противозудный эффект препарата дупилумаб связан с блокированием непосредственно IL-4R α .

В свою очередь, эпителиальные клетки напрямую стимулируют сенсорные нейроны кожи через TSLP, что приводит к появлению зуда [15, 32]. Однако более сильный эффект на развитие зуда, по последним данным, оказывает IL-31, который способствует удлинению и разветвлению сенсорных нервов (его концентрация повышена у пациентов с АтД и хорошо коррелирует с тяжестью заболевания) [34].

Также IL-4/IL-13 участвуют в регуляции пропрессорных цитокинов (например, IL-1 α , IL-19, IL-20, IL-25) [22, 25, 29].

Исследования последних десятилетий убедительно подтверждают связь с IL-4/IL-13 таких клинических проявлений АтД, как инфекции кожи, а также воспаление, лихенизация и зуд кожи [13, 15, 28].

О том, что механизмы действия IL-4 и IL-13 могут различаться, стало особенно понятно после открытия полвека назад так называемого сигнального пути JAK/STAT. Установлено, что усиление Th2-иммунного ответа при АтД происходит в том числе в результате фосфорилирования цитокинами белков STAT (signal transducer and activator of transcription, белок-трансдуктор/активатор транскрипции) путем активации другими ферментами – янус-киназами (JAK) [7, 24]. Действительно, подавляющее большинство цитокинов, связанных с АтД, использует сигнальные молекулы с участием ферментов JAK/STAT. Итогом фундаментальных исследований стала разработка новейшей группы препаратов – антагонистов JAK, небольших молекул, вводимых перорально, которые ингибируют цитоплазматические рецепторы, в том числе IL-4 и IL-13.

Что такое сигнальный путь JAK/STAT?

Путь JAK/STAT состоит из лиганд-рецепторных комплексов: 4 ферментов янус-киназы JAK (JAK1, JAK2, JAK3 и тирозинкиназа 2 [Тук2]) и 7

ферментов STAT (STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B и STAT6) [36].

Когда сигнальная молекула (например, IL-4 и IL-13) связывается с рецептором на поверхности клетки, JAK (посредник, который участвует в передаче сигнала от цитокина к ядру клетки) активируется и фосфорилирует рецептор на клеточной мембране, образуя димер. В свою очередь, активированные JAK связываются с STAT-белками, которые транслоцируются в ядро и посредством специфической ДНК регулируют транскрипцию генов, влияя на воспалительный процесс.

На сегодняшний день известно более 50 цитокинов, факторов роста и гормонов, которые активируют путь JAK/STAT и запускают клеточные ответы с помощью этих молекул (табл. 1) [36].

Описано несколько иммунных фенотипов и миелопролиферативных заболеваний, вызванных мутациями в различных локусах белков JAK и STAT. В частности, когда у больного не удается идентифицировать точную причину тяжелого течения АтД, а кортикостероидная терапия не эффективна, следует заподозрить мутацию STAT3 GOF. В таких случаях кожные проявления, очень схожие с тяжелой формой АтД, часто встречаются в сочетании с ранним началом тяжелой пищевой аллергии; бронхиальной астмы; эозинофильными гастроинтестинальными заболеваниями или эпизодами тяжелой анафилаксии [37]. Фенотип включает также рецидивирующие кожные и респираторные инфекции бактериальной, грибковой и вирусной этиологии; задержку психомоторного развития, гипермобильность скелета, патологические переломы или сосудистые

аномалии, что, с другой стороны, очень напоминает аутосомно-доминантный гипер-IgE синдром [37].

Путь JAK/STAT активно участвует в дифференцировке популяций Th-лимфоцитов. Так, дифференцировка Th1-клеток контролируется сигнальными путями IFN γ /STAT1 и IL-12/STAT4, а дифференцировка Th2 модулируется передачей сигналов IL-2/STAT5 и IL-4/STAT6 [36]. В дифференцировке Th17-клеток участвуют STAT3/STAT4 и IL-6 или IL-23 [36, 37, 38].

Сигнальный путь JAK/STAT регулирует также воспалительные процессы при АтД. В частности, сигнальные цитокины, опосредуемые JAK1, включают IL-4, IL-13 и IL-31 (табл. 1) [36, 37, 38]. Наибольшую роль в этих процессах играют белки STAT3 и STAT6. Причем STAT3 выполняет те же функции, что и STAT6 в лимфоцитах и кератиноцитах (это отчасти объясняет схожесть кожных проявлений у больных с мутацией STAT6 GOF и АтД) [24].

В лимфоцитах и дендритных клетках IL-4 может активировать JAK1 через комплекс IL-4R α / γ с (т. е. тип I рецептора IL-4), что приводит к фосфорилированию STAT6 и STAT3. Напротив, образование комплекса IL-4R α /IL-13R α 1 (тип II) приводит к активации TYK2 и JAK, которые активируют белки STAT3, STAT1 и STAT6 [39]. В результате данных процессов в кератиноцитах повышается продукция цитокинов-аларминов (TSLP, IL-25 и IL-33), что приводит к торможению экспрессии филаггрина и лорикрина, дефицит которых способствует нарушению кожного барьера [38].

ТАБЛИЦА 1. ОСНОВНЫЕ ЦИТОКИНЫ И ФАКТОРЫ РОСТА, НА КОТОРЫЕ ВЛИЯЕТ СИГНАЛИЗАЦИЯ РАЗЛИЧНЫХ ПОДТИПОВ JAK

TABLE 1. MAIN CYTOKINES AND GROWTH FACTORS INFLUENCED BY THE SIGNALING OF DIFFERENT JAK SUBTYPES

JAK	Цитокины и факторы роста Cytokines and growth factors
JAK1	IFN α , IFN β , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-11, IL-13, IL-15, IL-19, IL-21, IL-22, IL-27, IL-28, IL-29, IL-31, IL-35, Цилиарный нейротрофический фактор, Онкостатин-М, Кардиотрофин IFN α , IFN β , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-11, IL-13, IL-15, IL-19, IL-21, IL-22, IL-27, IL-28, IL-29, IL-31, IL-35, Ciliary neurotrophic factor, Oncostatin-M, Cardiotrophin
JAK2	IFN γ , IL-3, IL-5, IL-6, IL-10, IL-11, IL-13, IL-12, IL-19, IL-22, IL-23, IL-27, IL-35, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), эритропоэтин, тиреоидпероксидаза, лептин, вирусный онкоген миелопролиферативного лейкоза, пролактин, гормон роста IFN γ , IL-3, IL-5, IL-6, IL-10, IL-11, IL-13, IL-12, IL-19, IL-22, IL-23, IL-27, IL-35, granulocyte-macrophage colony stimulating factor, erythropoietin, thyroid peroxidase, leptin, myeloproliferative leukemia viral oncogene, prolactin, growth hormone
JAK3	IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-13, IL-15, IL-21
TYK2	IFN α , IFN β , IL-10, IL-11, IL-12, IL-19, IL-22, IL-23, IL-27, IL-28, IL-29

В свою очередь, активированный STAT3 подавляет дифференцировку кератиноцитов, также вызывая нарушение барьера кожи. Являясь одним из факторов, ответственных за экспрессию IL-23, STAT3 имеет решающее значение для дифференцировки Th17-лимфоцитов [38, 39].

Активированный STAT6 влияет на хемоатрактантные; способствует снижению экспрессии филагрина за счет ингибирования STAT3 посредством периостина и IL-24. Кроме того, активированные белки STAT3/STAT5 влияют на окончания периферических нервов и усиливают зуд кожи у больных АтД [31, 32, 33, 34]. Эта сигнальная ось отвечает за синтез IgE В-клетками и продукцию дендритными клетками ряда хемокинов (например, CCL17 и CCL22) [34].

Белки JAK и STAT, помимо IL-4 и IL-13, связываются также с рецепторами других ключевых цитокинов (IL-31, IL-22, TSLP), иммунных клеток, кератиноцитов и периферических сенсорных нейронов [34, 38].

Основываясь на этих знаниях, исследователи рассматривают АтД как кожное воспаление, при котором нарушена передача сигналов от IL-4/IL-13 с участием JAK1 и STAT3 [38].

Таким образом, блокирование оси IL-13/IL-4-STAT3/STAT6 позволит значительно уменьшить эффект не только самих IL-4/IL-13, но и множества других ключевых провоспалительных цитокинов, участвующих в патогенезе АтД [39, 40, 41].

В свою очередь, это окажет существенное влияние на барьерную функцию кожи и активацию Th2-, Th22- и даже Th17-лимфоцитов. В экспериментальной модели лечение АтД с помощью JAK1 приводило к быстрому подавлению зуда, улучшению кожного барьера, а также уменьшению лимфоцитарного инфильтрата и уровня воспалительных цитокинов (например IL-4 и IL-13) [41].

Ингибирование JAK будет способствовать также уменьшению зуда кожи за счет блокирования клеточной сигнализации в ганглиях задних корешков сенсорных нервов, с одной стороны, и частично — за счет ингибирования высвобождения медиаторов зуда из кожи и иммунных клеток [40, 41].

Накопленные научные знания о ключевых путях воспаления и роли IL-4 и IL-13 при АтД привели к разработке новых методов лечения.

Пути ингибирования IL-4 и IL-13

В настоящее время созданы две группы таргетных иммуномодулирующих агентов — биологические препараты и ингибиторы JAK. К вариантам Т2-биологического лечения относят препараты, блокирующие следующие мишени: IgE, IL-4R α

(анти-IL-4/IL-13) и TSLP. Продолжаются исследования средств, ингибирующих другие цитокины, мембранные молекулы и внутриклеточные сигнальные пути.

Биологическая терапия: дупилумаб

Дупилумаб (Dupixent[®], Sanofi. Франция) — первый биологический препарат (монаклональное антитело IgG4), который блокирует IL-4R α и тем самым ингибирует ось IL-4/IL-13. Однако блокада рецепторов IL-4 не влияет на выработку TSLP и IL-33, которые стимулируют ILC2 и активируют Th2-клетки. По этой причине, возможно, уровни IL-4 и IL-13 в сыворотке крови не снижаются при лечении дупилумабом [42]. Дупилумаб разрешен для лечения умеренной и тяжелой рецидивирующей формы АтД у детей от 6 месяцев и взрослых. Клинически значимое улучшение кожных проявлений заболевания обычно проявляется спустя 2 недели от начала применения дупилумаба, а колонизация кожи *S. aureus* значительно снижается через 3 дня [43]. Принято считать, что при лечении дупилумабом нет необходимости в мониторинге лабораторных анализов со стороны крови, почек, печени и т.п., в том числе у детей в возрасте от 6 месяцев. Однако после 16 недель монотерапии им менее 50% пациентов достигают чистой или почти чистой кожи, т. е. не отвечают на терапию [44]. Также в процессе 8-летнего клинического опыта применения дупилумаба появляется все больше сообщений о парадоксальных эффектах препарата: дупилумаб-ассоциированных артритах, фасциальной эритеме, псориазоподобном дерматите [11, 44, 45, 46]. В связи с этим исследователи продолжают поиск более безопасных ингибиторов IL-4R α . Альтернатива дупилумабу — другой биологический препарат тралокинумаб, ингибитор IL-13, который блокирует связывание IL-13R α 1 и IL-13R α 2. Препарат (торговое наименование Adtralza[®], аналогичный препарат компании LEO Pharma A/S — Adbury[®]) разрешен в США с 2021 г. для лечения АтД средней и тяжелой степени тяжести у взрослых пациентов. Не все клинические исследования по препаратам на сегодня завершены. Инфекции верхних дыхательных путей и конъюнктивит были наиболее частыми нежелательными явлениями. Лебрикизумаб — еще одно монаклональное антитело IgG4k, которое специфически связывается с IL-13, предотвращая гетеродимеризацию IL-13R α 1/IL-4R α и последующую передачу сигналов. Более высокая эффективность дупилумаба по сравнению с тралокинумабом или лебрикизумабом заключается в ингибировании передачи сигналов как IL-4, так и IL-13. Однако увеличение частоты конъюнктиви-

вита, наблюдаемое при приеме этих трех препаратов, предположительно связано с ингибированием IL-13.

Ингибиторы янускиназ

Ингибиторы JAK (JAKi) представляют собой малые молекулы (< 500 кДа), что способствует их быстрому проникновению в кожу и всасыванию в кишечнике, несмотря на низкую липофильность ($\log P$ от 1,5 до 2) [45].

Пиковая концентрация в плазме и период полувыведения JAKi составляет < 18 часов, а фармакологический эффект не зависит от метаболизма [45]. JAKi являются конечными лекарственными средствами, поэтому их быстрая абсорбция приводит к раннему клиническому эффекту в коже (в частности уменьшению зуда) [45, 46]. В связи с рисками, связанными с иммуносупрессией или ингибированием JAK2, главным образом со стороны крови, лечение JAKi рекомендуют начинать с клинически эффективной наименьшей дозы препарата.

В настоящее время три JAKi разрешено к использованию для лечения АтД – аброцитиниб и упадацитиниб и бароцитиниб, которые на сегодняшний день зарегистрированы также в РФ.

Аброцитиниб (Сайбинкью, Cibinco®, Пфайзер, США) – селективный ингибитор JAK1, который непосредственно блокирует сигнализацию нескольких воспалительных цитокинов, участвующих в патогенезе АтД: IL-4, IL-13, IL-31, Th1 (IFN γ) и TSLP [7, 45, 46]. Аброцитиниб не противопоказан при легкой или умеренной печеночной недостаточности, однако его дозу уменьшают вдвое при умеренной/тяжелой почечной недостаточности и в случаях одновременного применения с ингибиторами CYP2C19 (флуконазол, флуоксетин, флуоксамин и тиклопидин); не следует применять аброцитиниб одновременно с мощными индукторами CYP2C9/CYP2C19 (апалутамид и рифампицин), а у больных в возрасте ≥ 65 лет рекомендуемая доза составляет 100 мг 1 раз в день. Противопоказаниями являются: повышенная чувствительность к действующему веществу или к любому из вспомогательных веществ; активные серьезные системные инфекции, включая туберкулез; тяжелая печеночная недостаточность; беременность и лактация.

Упадацитиниб (Ранвэк, Rinvoq®, AbbVie, США) преимущественно ингибирует передачу сигнала через JAK1, минимально воздействует также на JAK2 и JAK3 (что является причиной нескольких побочных эффектов, особенно в системе кроветворения). Его можно назначать без коррекции дозы больным с нарушением функции

почек или лицам с нарушением функции печени легкой или средней степени тяжести. Метаболизируется препарат в цитохроме CYP3A4 с меньшим участием CYP2D6.

Упадацитиниб внесен в Клинические Рекомендации Российского дерматологического общества (06.2021 г.) для лечения среднего и тяжелого АтД у взрослых пациентов и детей ≥ 12 лет, которым показано лечение препаратами системного действия. Упадацитиниб можно применять в качестве монотерапии или в сочетании с топическими препаратами (ингибиторы кальциневрина, топические глюкокортикоиды) у подростков с массой тела не менее 40 кг в дозе 15 мг в сутки, а у взрослых в дозе 15 мг или 30 мг в сутки в зависимости от индивидуальных особенностей течения заболевания и переносимости препарата.

Барицитиниб (Olumiant®, Олумиант, Лилли С.А., Испания) – пероральный ингибитор JAK1 и JAK2, одобрен для лечения взрослых с умеренной и тяжелой формой АтД в дозах 2 мг и 4 мг [44, 45, 46]. В Великобритании разрешено назначение барицитиниба в лечении таких пациентов еще до применения дупилумаба. В настоящее время препарат проходит клинические испытания для использования у детей и подростков в возрасте от 2 до 17 лет. Больным в возрасте старше 75 лет показана доза 2 мг.

Для всех JAKi наиболее частыми побочными эффектами были инфекции верхних дыхательных путей, головная боль, а также герпес-инфекции, которые встречались нечасто [7]. Однако недавно проведенный метаанализ не выявил повышенного риска развития нежелательных побочных эффектов со стороны сердечно-сосудистой системы у пациентов, использующих ингибиторы JAK для лечения дерматологических заболеваний [4].

Заключение

Биологические препараты и пероральные JAKi относятся к системной терапии АтД. Их назначают больным со средней и тяжелой формой АтД, имеющим упорно-рецидивирующее течение. Не существует универсального алгоритма, который помог бы сделать выбор между ними у больных АтД. В Великобритании, например, дупилумаб и барицитиниб (препараты второй линии) назначают лишь в случае неэффективности и/или выраженных побочных явлений на циклоспорин А (препарат первой линии) или неэффективности фототерапии УФ-лучами.

Для принятия индивидуального решения пациент и врач должны совместно обсудить такие

вопросы, как способ приема препарата, его эффективность, безопасность и стоимость, а также необходимость лабораторного мониторинга.

Исходя из механизмов действия, биологические препараты считаются более безопасными, чем JAKi (правда, опасения по поводу последней группы в основном касаются препаратов старого поколения). Как показывают научные дан-

ные, практически все JAKi представляют собой класс препаратов, которые действуют на четыре белка: JAK1, JAK2, JAK3 и TYK2. В то же время исследователи продолжают поиск других потенциальных мишеней: например ингибиторов активированных STAT; белков SOCS (супрессоров цитокиновой сигнализации и протеинтироизинфосфатазы и т. д.).

Список литературы / References

1. Alkon N., Bauer W.M., Krausgruber T., Goh I., Griss J., Nguyen V., Reininger B., Bangert C., Staud C., Brunner PM., Bock C., Haniffa M., Stingl G. Single-cell analysis reveals innate lymphoid cell lineage infidelity in atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2022, Vol. 149, no. 2, pp. 624-639.
2. Ari Ariëns L., van der Schaft J., Bakker D.S., Balak D., Romeijn M.L.E., Kouwenhoven T., Kamsteeg M., Giovannone B., Drylewicz J., van Amerongen C.C.A., Delemarre E.M., Knol E.F., van Wijk F., Nierkens S., Thijs J.L., Schuttelaar M.L.A., de Bruin-Weller M.S. Dupilumab is very effective in a large cohort of difficult-to-treat adult atopic dermatitis patients: First clinical and biomarker results from the BioDay registry. *Allergy*, 2020, Vol. 75, no. 1, pp. 116-126.
3. Banerjee S., Biehl A., Gadina M., Hasni S., Schwartz D.M. JAK-STAT signaling as a target for inflammatory and autoimmune diseases: current and future prospects. *Drugs*, 2017, Vol. 77, no. 5, pp. 521-546.
4. Baurecht H., Rühlemann M.C., Rodríguez E., Thielking F., Harder I., Erkens A.S., Stölzl D., Ellinghaus E., Hotze M., Lieb W., Wang S., Heinsen-Groth F.A., Franke A., Weidinger S. Epidermal lipid composition, barrier integrity, and eczematous inflammation are associated with skin microbiome configuration. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2018, Vol. 141, no. 5, pp. 1668-1676.e16.
5. Bieber T. Atopic dermatitis. *N. Engl. J. Med.*, 2008, Vol. 358, no. 14, pp. 1483-1494.
6. Bieber T. Interleukin-13: Targeting an underestimated cytokine in atopic dermatitis. *Allergy*, 2020, Vol. 75, no. 1, pp. 54-62.
7. Brandt E.B., Sivaprasad U. Th2 cytokines and atopic dermatitis. *J. Clin. Cell Immunol.*, 2011, Vol. 2, no. 3, 110. doi: 10.4172/2155-9899.1000110.
8. Brightling C.E., Saha S., Hollins F. Interleukin-13: prospects for new treatments. *Clin. Exp. Allergy*, 2010, Vol. 40, no. 1, pp. 42-49.
9. Chan L.S., Robinson N., Xu L. Expression of interleukin-4 in the epidermis of transgenic mice results in a pruritic inflammatory skin disease: an experimental animal model to study atopic dermatitis. *J. Invest. Dermatol.*, 2001, Vol. 117, no. 4, pp. 977-983.
10. Chapman S., Kwa M., Gold L.S., Lim H.W. Janus kinase inhibitors in dermatology: Part I. A comprehensive review. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 2022, Vol. 86, no. 2, pp. 406-413.
11. Darlenski R., Kozyrskyj A.L., Fluhr J.W., Caraballo L. Association between barrier impairment and skin microbiota in atopic dermatitis from a global perspective: Unmet needs and open questions. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2021, Vol. 148, no. 6, pp. 387-1393.
12. de Welsch K., Holstein J., Laurence A., Ghoreschi K. Targeting JAK/STAT signalling in inflammatory skin diseases with small molecule inhibitors. Effectiveness of dupilumab treatment in 95 patients with atopic dermatitis: daily practice data. *Br. J. Dermatol.*, 2020, Vol. 182, no. 2, pp. 418-426.
13. Domínguez-Hüttinger E., Christodoulides P., Miyauchi K., Irvine A.D., Okada-Hatakeyama M., Kubo M., Tanaka R.J. Mathematical modeling of atopic dermatitis reveals “double-switch” mechanisms underlying 4 common disease phenotypes. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2017, Vol. 139, no. 6, pp. 1861-1872.e7.
14. Dubin C., Del Duca E., Guttmann-Yassky E. The IL-4, IL-13 and IL-31 pathways in atopic dermatitis. *Expert Rev. Clin. Immunol.* 2021, Vol. 17, pp. 835-852.
15. Facheris P., Jeffery J., Del Duca E., Guttmann-Yassky E. The translational revolution in atopic dermatitis: the paradigm shift from pathogenesis to treatment. *Cell. Mol. Immunol.*, 2023, Vol. 20, no. 5, pp. 448-474.
16. Fukuyama T., Ganchingco J.R., Mishra S.K., Olivry T., Rzagalinski I., Volmer D.A., Bäumer W. Janus kinase inhibitors display broad anti-itch properties: A possible link through the TRPV1 receptor. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2017, Vol. 140, no. 1, pp. 306-309.e3.
17. Furue M., Ulzii D., Vu Y.H., Tsuji G., Kido-Nakahara M., Nakahara T. Pathogenesis of atopic dermatitis: current paradigm. *Iran J. Immunol.*, 2019, Vol. 16, no. 2, pp. 97-107.

18. Furue M. Regulation of Skin Barrier Function via Competition between AHR Axis versus IL-13/IL-4-JAK-STAT6/STAT3 Axis: Pathogenic and Therapeutic Implications in Atopic Dermatitis. *J. Clin. Med.*, 2020, Vol. 9, no. 11, 3741. doi: 10.3390/jcm9113741.
19. Guttman-Yassky E., Irvine A.D., Brunner P.M., Kim B.S., Boguniewicz M., Parmentier J., Platt A.M., Kabashima K. The role of Janus kinase signaling in the pathology of atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2023, Vol. 152, no. 6, pp. 1394-1404.
20. Hamid Q., Boguniewicz M., Leung D.Y. Differential in situ cytokine gene expression in acute versus chronic atopic dermatitis. *J. Clin. Invest.*, 1994, Vol. 94, no. 2, pp. 870-876.
21. He H., Guttman-Yassky E. JAK inhibitors for atopic dermatitis: an update. *Am. J. Clin. Dermatol.*, 2019, Vol. 20, no. 2, pp. 181-192.
22. Huang I.H., Chung W.H., Wu P.C., Chen C.B. JAK-STAT signaling pathway in the pathogenesis of atopic dermatitis: An updated review. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 1068260. doi: 10.3389/fimmu.2022.1068260.
23. Ingrassia J.P., Maqsood M.H., Gelfand J.M., Weber B.N., Bangalore S., Lo Sicco K.I., Garshick M.S. Cardiovascular and venous thromboembolic risk with JAK inhibitors in immune-mediated inflammatory skin diseases: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Dermatol.*, 2024, Vol. 160, no. 1, pp. 28-36.
24. Izuohara K., Arima K., Yasunaga S. IL-4 and IL-13: their pathological roles in allergic diseases and their potential in developing new therapies. *Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy*, 2002, Vol. 1, no. 3, pp. 263-269.
25. Kim B.S., Siracusa M.C., Saenz S.A., Noti M., Monticelli L.A., Sonnenberg G.F., Hepworth M.R., Van Voorhees A.S., Comeau M.R., Artis D. TSLP elicits IL-33-independent innate lymphoid cell responses to promote skin inflammation. *Sci. Transl. Med.*, 2013, Vol. 5, no. 170, 170ra16. doi: 10.1126/scitranslmed.3005374.
26. Kim R.W., Lam M., Abuabara K., Simpson E.L., Drucker A.M. Targeted systemic therapies for adults with atopic dermatitis: selecting from biologics and JAK inhibitors. *Am. J. Clin. Dermatol.*, 2024, Vol. 25, no. 2, pp. 179-193.
27. Lamiable O., Brewerton M., Ronchese F. IL-13 in dermal type-2 dendritic cell specialization: From function to therapeutic targeting. *Eur. J. Immunol.*, 2022, Vol. 52, no. 7, pp. 1047-1057.
28. Leyva-Castillo J.M., Geha R.S. Cutaneous type 2 innate lymphoid cells come in distinct flavors. *JID Innov.*, 2021, Vol. 1, no. 3, 100059. doi: 10.1016/j.xjidi.2021.100059.
29. Leung D.Y., Guttman-Yassky E. Deciphering the complexities of atopic dermatitis: shifting paradigms in treatment approaches. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2014, Vol. 134, no. 4, pp. 769-779.
30. Nakashima C., Yanagihara S., Otsuka A. Innovation in the treatment of atopic dermatitis: Emerging topical and oral Janus kinase inhibitors. *Allergol. Int.*, 2022, Vol. 71, no. 1, pp. 40-46.
31. Oetjen L.K., Mack M.R., Feng J., Whelan T.M., Niu H., Guo C.J., Chen S., Trier A.M., Xu A.Z., Tripathi S.V., Luo J., Gao X., Yang L., Hamilton S.L., Wang P.L., Brestoff J.R., Council M.L., Brasington R., Schaffer A., Brombacher F., Hsieh C.S., Gereau R.W., Miller M.J., Chen Z.F., Hu H., Davidson S., Liu Q., Kim B.S. Sensory Neurons Co-opt Classical Immune Signaling Pathways to Mediate Chronic Itch. *Cell.* 2017, Vol. 171, no. 1, pp. 217-228.e13.
32. Ong P.Y. Atopic dermatitis: is innate or adaptive immunity in control? A clinical perspective. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 943640. doi: 10.3389/fimmu.2022.943640.
33. Pavel P., Blunder S., Moosbrugger-Martinez V., Elias P.M., Dubrac S. Atopic dermatitis: the fate of the fat. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, Vol. 23, no. 4, p. 2121. doi: 10.3390/ijms23042121.
34. Roesner L.M., Zeitvogel J., Heratizadeh A. Common and different roles of IL-4 and IL-13 in skin allergy and clinical implications. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*, 2019, Vol. 19, no. 4, pp. 319-327.
35. Rojahn T.B., Vorstandlechner V., Krausgruber T., Bauer W.M., Alkon N., Bangert C., Thaler F.M., Sadeghyar F., Fortelny N., Gernedl V., Rindler K., Elbe-Bürger A., Bock C., Mildner M., Brunner P.M. Single-cell transcriptomics combined with interstitial fluid proteomics defines cell type-specific immune regulation in atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2020, Vol. 146, no. 5, pp. 1056-1069.
36. Sharma M., Leung D., Momenilandi M., Jones L.C.W., Pacillo L., James A.E., Murrell J.R., Delafontaine S., Maimaris J., Vaseghi-Shanjani M., Del Bel K.L., Lu H.Y., Chua G.T., Di Cesare S., Fornes O., Liu Z., Di Matteo G., Fu M.P., Amadio D., Tam I.Y.S., Chan G.S.W., Sharma A.A., Dalman J., van der Lee R., Blanchard-Rohner G., Lin S., Philippot Q., Richmond P.A., Lee J.J., Matthews A., Seear M., Turvey A.K., Philips R.L., Brown-Whitehorn T.F., Gray C.J., Izumi K., Treat J.R., Wood K.H., Lack J., Khleborodova A., Niemela J.E., Yang X., Liang R., Kui L., Wong C.S.M., Poon G.W.K., Hoischen A., van der Made C.I., Yang J., Chan K.W., Rosa Duque J.S.D., Lee P.P.W., Ho M.H.K., Chung BHY, Le H.T.M., Yang W., Rohani P., Fouladvand A., Rokni-Zadeh H., Changi-Ashtiani M., Miryounesi M., Puel A., Shahrooei M., Finocchi A., Rossi P., Rivalta B., Cifaldi C., Novelli A., Passarelli C., Arasi S., Bullens D., Sauer K., Claeys T., Biggs C.M., Morris E.C., Rosenzweig S.D., O'Shea J.J., Wasserman W.W., Bedford H.M., van Karnebeek C.D.M., Palma P., Burns S.O., Meyts I., Casanova J.L., Lyons J.J., Parvaneh N., Nguyen A.T.V., Cancrini C., Heimall J., Ahmed H., McKinnon M.L., Lau Y.L., Béziat V., Turvey S.E. Human germline heterozygous gain-of-function STAT6 variants cause severe allergic disease. *J. Exp. Med.*, 2023, Vol. 220, 20221755. doi: 10.1084/jem.20221755.

37. Simpson E.L., Schlievert P.M., Yoshida T., Lussier S., Boguniewicz M., Hata T., Fuxench Z., de Benedetto A., Ong P.Y., Ko J., Calatroni A., Rudman Spergel A.K., Plaut M., Quataert S.A., Kilgore S.H., Peterson L., Gill A.L., David G., Mosmann T., Gill S.R., Leung D.Y.M., Beck L.A. Rapid reduction in *Staphylococcus aureus* in atopic dermatitis subjects following dupilumab treatment. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2023, Vol. 152, no. 5, pp. 1179-1195.
38. Su Z., Zeng Y.P. Dupilumab-associated psoriasis and psoriasiform manifestations: a scoping review. *Dermatology*, 2023, Vol. 239, no. 4, pp. 646-657.
39. Sugaya M. The role of Th17-related cytokines in atopic dermatitis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, Vol. 21, no. 4, 1314. doi: 10.3390/ijms21041314.
40. Tatsuno K., Fujiyama T., Yamaguchi H., Waki M., Tokura Y. TSLP directly interacts with skin-homing Th2 cells highly expressing its receptor to enhance IL-4 Production in Atopic Dermatitis. *J. Invest. Dermatol.*, 2015, Vol. 135, no. 12, pp. 3017-3024.
41. Tokura Y. Extrinsic and intrinsic types of atopic dermatitis. *J. Dermatol. Sci.*, 2010, Vol. 58, no. 1, pp. 1-7.
42. Toyama S., Tominaga M., Takamori K. Connections between immune-derived mediators and sensory nerves for itch sensation. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, Vol. 22, no. 22, 12365. doi: 10.3390/ijms222212365.
43. Tsoi L.C., Rodriguez E., Degenhardt F., Baurecht H., Wehkamp U., Volks N., Szymczak S., Swindell W.R., Sarkar M.K., Raja K., Shao S., Patrick M., Gao Y., Uppala R., Perez White B.E., Getsios S., Harms P.W., Maverakis E., Elder J.T., Franke A., Gudjonsson J.E., Weidinger S. Atopic dermatitis Is an IL-13-dominant disease with greater molecular heterogeneity compared to psoriasis. *J. Invest. Dermatol.*, 2019, Vol. 139, no. 7, pp. 1480-1489.
44. Welsch K., Holstein J., Laurence A., Ghoreschi K. Targeting JAK/STAT signalling in inflammatory skin diseases with small molecule inhibitors. *Eur. J. Immunol.*, 2017, Vol. 47, no. 7, pp. 1096-1107.
45. Xiao S., Lu Z., Steinhoff M., Li Y., Buhl T., Fischer M., Chen W., Cheng W., Zhu R., Yan X., Yang H., Liu Y., Dou Y., Wang W., Wang J., Meng J. Innate immune regulates cutaneous sensory IL-13 receptor alpha 2 to promote atopic dermatitis. Innate immune regulates cutaneous sensory IL-13 receptor alpha 2 to promote atopic dermatitis. *Brain Behav. Immun.*, 2021, Vol. 98, pp. 28-39.
46. Zheng T., Oh M.H., Oh S.Y., Schroeder J.T., Glick A.B., Zhu Z. Transgenic expression of interleukin-13 in the skin induces a pruritic dermatitis and skin remodeling. *J. Invest. Dermatol.*, 2009, Vol. 129, no. 3, pp. 742-451.

Автор:

Мачарадзе Д.Ш. – д.м.н., ведущий научный сотрудник
клинического отдела ФБУН «Московский научно-
исследовательский институт эпидемиологии
и микробиологии имени Г.Н. Габричевского»
Роспотребнадзора, Москва, Россия

Author:

Macharadze D.Sh., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Clinical Department, G. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАТУРАЛЬНЫХ КИЛЛЕРОВ ПОСЛЕ ГЕНЕРАЦИИ И АКТИВАЦИИ *IN VITRO*

Абакушина Е.В.¹, Журиков Р.В.¹, Балышева К.Д.¹, Бекетова М.В.¹,
Румянцев С.А.²

¹ ООО «Текон Медицинские Приборы», Москва, Россия

² ГНЦ РФ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. За счет разработки эффективных методов активации и генерации натуральных киллеров *in vitro* современные способы адоптивной иммунотерапии онкологических больных получили новое развитие. Целью данного исследования явилось изучение экспрессии маркеров активации на натуральных киллерах после генерации и активации *in vitro* с помощью проточной цитометрии. Мононуклеарные клетки выделяли из периферической крови 10 доноров на градиенте плотности и культивировали в среде RPMI-1640 (Sigma-Aldrich, Германия) с добавлением IL-2 и клеток TMDK562-15 в течение 14 дней. Цитофлуориметрический анализ проводили на 0-й, 7-й и 14-й дни культивирования на цитометре Image Stream MkII (Luminex, США). Применяли 10-цветную панель моноклональных меченых антител к CD45, CD3, CD56, CD16 и маркерам активации CD38/HLA-DR/CD25 (BD Biosciences, США). Цитотоксическую активность натуральных киллеров, полученных от доноров, оценивали на 14-й день культивирования в отношении опухолевых мишней AsPC-1, A-549, MDA-MB-231 и PC-3, при соотношении «эффектор:мишень» 5:1 и 10:1 в течение 12 часов. Статистический анализ осуществляли с помощью MS Excel 2016, TIBCO STATISTICA 11. До начала культивирования доля натуральных киллеров в составе мононуклеарных клеток составляла в среднем 12%, из которых CD38/HLA-DR/CD25 экспрессировали 7,6%, 0,7%, 0%. Длительное культивирование мононуклеарных клеток *in vitro* привело к активации и изменению доли субпопуляций лимфоцитов. Количество натуральных киллеров на 14-й день культивирования увеличилось в 390 раз, и доля натуральных киллеров составила 86,5%. Среди них на 14-й день культивации активационные рецепторы CD38/HLA-DR/CD25 экспрессировали соответственно 34,7%, 36,5%, 5% натуральных киллеров. При изучении цитотоксичности полученных натуральных киллеров по отношению к клеткам различных опухолевых линий через 12 часов после внесения натуральных киллеров наблюдали 100% лизис клеток-мишней. Жизнеспособность клеток у всех доноров была более 98%, на 7-й день несколько снижалась и в среднем составляла 81%, к окончанию культивирования показатель достигал уровня более 95%. Предложенный способ культивирования мононуклеарных клеток позволяет значительно увеличить пролиферативную активность и экспрессию активационных маркеров натуральных киллеров при сохранении высокой жизнеспособности популяции, полученной в процессе культивирования. Функциональная активность натуральных киллеров подтверждается в цитотоксическом тесте по отношению к клеткам опухолевых линий.

Ключевые слова: адоптивная терапия, натуральные киллеры, маркеры NK-клеток, генерация NK-клеток, фенотип

Адрес для переписки:

Абакушина Елена Вячеславовна
ООО «Текон Медицинские Приборы»
123298, Россия, Москва, ул. 3-я Хорошевская,
16, корп. 2.
Тел.: 8 (495) 730-41-12.
E-mail: abakushina@tecon.ru

Address for correspondence:

Elena V. Abakushina
LLC “Tecon MP”
16, 3rd Khoroshevskaya St, Bldg 2
Moscow
123298 Russian Federation
Phone: +7 (495) 730-41-12.
E-mail: abakushina@tecon.ru

Образец цитирования:

Е.В. Абакушина, Р.В. Журиков, К.Д. Балышева, М.В. Бекетова, С.А. Румянцев «Фенотипические характеристики натуральных киллеров после генерации и активации *in vitro*» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 297-302.
doi: 10.15789/1563-0625-PCO-3068

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

For citation:

E.V. Abakushina, R.V. Zhurikov, K.D. Balysheva, M.V. Beketova, S.A. Rumyantsev “Phenotypic characteristics of natural killer cells after their generation and activation *in vitro*”, Medical Immunology (Russia)/Meditinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 297-302.
doi: 10.15789/1563-0625-PCO-3068

© Abakushina E.V. et al., 2025
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-PCO-3068

PHENOTYPIC CHARACTERISTICS OF NATURAL KILLER CELLS AFTER THEIR GENERATION AND ACTIVATION *IN VITRO*

Abakushina E.V.^a, Zhurikov R.V.^a, Balyshева K.D.^a, Beketova M.V.^a,
Rumyantsev S.A.^b

^a LLC "Tecon MP", Moscow, Russian Federation

^b National Medical Research Center of Endocrinology, Moscow, Russian Federation

Abstract. The development of new effective methods for *in vitro* activation and culturing of natural killer (NK) cells led to advances in adoptive cancer immunotherapy. Our aim was to evaluate expression of activation markers on natural killer cells after cultivation and activation *in vitro* using flow cytometry. Peripheral blood mononuclear cells were isolated from heparinized blood of 10 donors in a density gradient and were cultivated in RPMI-1640 medium (Sigma-Aldrich, Germany) supplied with IL-2 and TMDK562-15 feeder cells for 14 days. Phenotyping of the NK cells was carried out using an Image Stream MkII (Luminex) flow cytometer. We used a cytometry panel containing 10 monoclonal antibodies against CD45, CD3, CD56, CD16, and against cell activation markers, i.e., CD38/HLA-DR/CD25 (BD Biosciences). Cytotoxic activity of the donor-derived NK cells was tested towards cancer cell lines AsPC-1, A-549, MDA-MB-231 and PC-3 on 14th day of cultivation. The effector-to-target ratios were 5:1 and 10:1. The target cells were exposed to effector cells for 12 hours. Statistical analysis was performed using MS Excel 2016, TIBCO STATISTICA 13. Prior to cultivation, the percentage of natural killer cells in mononuclear cells was 12%. Of those, activation markers (CD38/HLA-DR/CD25) were expressed, accordingly, on 7.6%, 0.7%, 0% cells. Cultivation of mononuclear cells for 14 days resulted in activation and expansion of distinct lymphocyte subpopulations. NK cell counts increased 390-fold on 14th day of cultivation, with percentage of natural killers reaching 86.5%. On the 14th day of cultivation, expression levels of activation markers (CD38/HLA-DR/CD25) were 34.7%, 36.5%, 5%, accordingly. Studying the cytotoxic activity of NK cells against different cancer cell lines showed that, after 12-h incubation of activated cells with target cells, 100% of cancer cells have been lysed. The donor cells were viable by 98%. After 7 days of cultivation, the cell viability decreased to 81%; at the end of cultures, their viability was 95%. The suggested cultivation technique for mononuclear cells cause an increase of proliferative activity and expression of activation markers of NK cells, thus allowing to maintain high viability of the cell population. High functional activity of cultured NK cells was confirmed in cytotoxicity tests against cancer cells.

Keywords: adoptive therapy, natural killer cells, NK cell markers, NK cell cultivation, phenotype

Введение

Естественные клетки-киллеры (NK) были впервые обнаружены в 1970-х годах и описаны как лимфоциты периферической крови с естественной цитотоксичностью в отношении раковых клеток [6, 11]. Позже были выявлены и другие функции, такие как контроль над вирусными инфекциями или врожденная антибактериальная защита [7, 9]. NK-клетки являются частью врожденной иммунной системы. Они могут распознавать трансформированные клетки, играют роль в противоопухолевом иммунитете, поскольку способны непосредственно лизировать опухолевые клетки, чувствительные к уничтожению NK-клетками и, таким образом, помогают инициировать сопутствующий врожденный и адаптивный иммунный ответ.

В отличие от Т-клеток, NK-клетки не экспрессируют антигенспецифические рецепторы, а экспрессируют различные активирующие и ингибирующие рецепторы, которые распознают, например, индуцированные стрессом лиганды на опухолевых клетках [5]. Фенотипически NK-

клетки идентифицируются по экспрессии поверхности белка CD56, также известного как молекула адгезии нейронных клеток (NCAM), и отсутствию экспрессии CD3 [2, 4]. У людей подтипы NK-клеток классифицируются на основе поверхности плотности CD56 (CD56^{dim} или CD56^{bright}), а также наличия или отсутствия CD16 [10]. В то время как клетки CD56^{bright} в первую очередь считаются продуцентами цитокинов, а клетки CD56^{dim} – цитотоксическими, оба подтипа могут выполнять обе функции. Примечательно, что только клетки CD56^{dim} участвуют в антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC), чему способствует их высокая экспрессия CD16 [12, 13].

У онкологических больных иммунная система часто ослаблена и не в состоянии устраниć опухоль. Опухолевые клетки могут развивать механизмы уклонения от иммунной системы в процессе опухолевой прогрессии и предотвращать эффективный иммунный ответ. Иммунотерапия направлена на стимуляцию иммунного ответа для уничтожения опухолевых клеток путем восстановления или усиления иммунной реакции

пациента. Различные подходы иммунотерапии были исследованы и теперь даже являются частью стандартного лечения некоторых типов рака.

Адоптивная клеточная терапия — это альтернативный подход, при котором иммунные клетки генерируются и активируются *ex vivo* перед введением пациенту для создания иммунного ответа против опухолевых клеток. Хотя большинство методов иммунотерапии направлено на инициацию иммунного ответа Т-клеток, появляется все больше доказательств того, что именно NK-клетки необходимы для успешной иммунотерапии. Доказанная роль NK-клеток в иммунном надзоре за опухолями побудила к разработке иммунотерапии, специфически нацеленной на NK-клетки. NK-клеточная инфильтрация внутри опухоли обычно незначительна, поэтому наиболее простым подходом является использование адоптивной терапии NK-клетками. Эффект «трансплантат против рака» (без реакции «трансплантат против хозяина») способствует терапевтическому эффекту трансплантации, что побуждает исследователей к изучению возможности использования NK-клеток в качестве самостоятельной терапии или в качестве компонента комбинированной терапии для усиления противоопухолевого эффекта [3].

Для активации и генерации NK-клеток *ex vivo* в культурах используются некоторые цитокины, такие как интерлейкин-2 (IL-2), IL-12, IL-15, IL-18 и IL-21. Также для экспансии и получения большого количества NK-клеток применяют различные фидерные клетки: мононуклеары периферической крови (МНПК), клеточные линии K562 с генетической модификацией и мембранными связанными IL-15, IL-21, 4-1BBL.

Ранние клинические испытания подтвердили, что терапия NK-клетками безопасна и хорошо переносится, что привело к началу как минимум 420 клинических исследований на основе NK-клеток в течение последних лет, включая как гематологические злокачественные новообразования, так и солидные опухоли [8].

Материалы и методы

В исследовании участвовали 10 человек в возрасте от 25 до 50 лет (средний возраст 35 лет). Все доноры были проинформированы о целях исследования. Образцы периферической крови собирали в утренние часы в лаборатории «Инвивто» (Россия) в вакутейнеры с гепарином натрия.

МНПК были выделены из периферической крови здоровых доноров с помощью центрифугирования в градиенте плотности с использованием пробирок Lymphoprep™ (SPL, Корея). МНПК, полученные от доноров, культивировались в среде RPMI-1640 (НПП «ПанЭко», Россия) на протяжении 14-18 дней с добавлением 1% гентамицина (НПП «ПанЭко», Россия) и 5% сыворотки эмбрионов коров (FBS) (Thermo Fisher Scientific

Life Technologies, Дармштадт, Германия). Для стимуляции использовали 250 ЕД/мл IL-2 («Ронколейкин», ООО «НПК «БИОТЕХ», Россия) и антиген-презентирующие клетки TMDK562-15 (Текон МП, Россия) [1]. Для культивирования при 37 °C и 5% CO₂ к 20 × 10⁶ клеткам добавляли 100 мл полной питательной среды (ППС) во флаконы T75. Добавление ППС производили на 0-й, 7-й и 14-й день. Микроскопический анализ использовали для мониторинга плотности и морфологии клеток на всех этапах культивирования. Анализ количества клеток и экспрессии рецепторов на NK-клетках от разных доноров проводился сразу после выделения, а также на 7-й и 14-й день.

Для определения количества клеток использовалась камера Горяева глубиной 0,1 мм («Микмед», АО «ЛОМО», Россия). Перед подсчетом клетки окрашивали раствором трипанового синего (1:2) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Германия) для селективного окрашивания мертвых клеток. Если концентрация клеток была слишком высокой, их дополнительно разбавляли PBS (НПП «ПанЭко», Россия). Количество NK-клеток определялось как произведение общего количества клеток на долю NK-клеток, определенную с помощью проточной цитометрии.

Индекс пролиферации (ИП) определяли как отношение общего числа клеток на определенный день культивации к количеству клеток до начала культивирования.

Измерения проточной цитометрии проводились с помощью анализатора клеток Amnis ImageStream XMk II (Luminex, США). Окрашивание проводили при 25 °C в темноте в течение 15 минут. После окрашивания клетки промывали дважды в 1xPBS. Для стандартизации процессов сбора и анализа данных была подобрана оптимальная концентрация клеток в образце — 500 000. Amnis Image Stream MkII имеет следующую комплектацию лазеров: синий лазер (488 нм), красный лазер (642 нм) и фиолетовый лазер (405 нм). Лазеры были настроены на следующие мощности: 405 нм — 80 мВт, 488 нм — 200 мВт, 642 нм — 120 мВт. Изображения в светлом поле были получены в 1 и 9 каналах с автоматически установленной мощностью. Все изображения фиксировались 2 камерами с объективом 60×. Сбор данных произведен в программном обеспечении INSPIRE200 (Luminex, США). С каждого образца собирали 15 000 событий (изображений). Анализ изображений проводили с помощью программного обеспечения IDEAS v6.3 (Luminex, США). Для изучения изменений в уровнях экспрессии активирующих рецепторов на NK-клетках мы создали панель для проточной цитометрии, включающую такие маркеры, как CD45, CD3, CD56, CD16, HLA-DR, CD38, CD25, 7AAD. Гейтингование было настроено на избирательное содержание событий в стабильном потоке. Ана-

лиз клеточной популяции начинали с выделения изображений клеток в фокусе с использованием функции Gradient RMS с последующим выделением синглетов (Area/Aspect Ratio) по каналам светлого поля и определения количества живых и мертвых клеток по интенсивности окрашивания 7AAD (7-амино-актиномицин D). Полученные данные были проанализированы путем последовательного гейтинга для выявления популяций NK-клеток среди всех CD45⁺ лимфоцитов (CD3-CD56⁺CD16⁺), а также маркеров активации для NK-клеток (CD3-CD56⁺CD38⁺, CD3-CD56⁺HLA-DR⁺, CD3-CD56⁺CD25⁺) [2].

Цитотоксическую активность CD3-CD56⁺NK-клеток, полученных от доноров, оценивали на 14-й день культивирования в отношении опухолевых мишени AsPC-1, A-549, MDA-MB-231 и PC-3, при соотношении «эффектор:мишень» 5:1 и 10:1 в течение 12 часов. Опухолевые клетки сажали за 24 часа до добавления NK-клеток в количестве 10 000 клеток. Для анализа цитотоксической активности NK-клеток использовали клеточный анализатор xCELLigence RTCA (Real Time Cell Analyzer) (ACEA Biosciences, Китай).

Статистический анализ и обработку данных проводили с помощью MS Excel 2016, TIBCO STATISTICA 13. Данные представлены в виде среднего \pm SD. Для проверки межгрупповых различий использовался парный тест Стьюдента. Различия считались достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

При генерации NK-клеток из МНПК в течение 14 дней в присутствии клеток TMDK562-15

скорость экспансии культуры к 7-му дню увеличилась в 5,5 раза, а NK-клеток в 33,9 раза. К окончанию культивирования увеличилась в среднем в 48 раз, в то время как NK-клетки достигли скорости размножения, превысив 390-кратное увеличение численности популяции (рис. 1).

Было показано, что к окончанию генерации доля NK-клеток составила в среднем 86,5% (от 77% до 94% в зависимости от донора). На 7-й день культивирования доля NK-клеток варьировалась от 44% до 88%, что в среднем составило 68%. Исходно наблюдали средний уровень NK-клеток в 12% (рис. 2).

Согласно полученным результатам, оценивали уровни экспрессии рецепторов CD16, HLA-DR, CD-38 на NK-клетках (CD45⁺CD3-CD56⁺) в культуре МНПК на 14-й день экспансии NK-клеток в условиях ко-культурирования с фидерными клетками уровень маркеров активации значительно превышал значения исследуемых параметров по сравнению с исходными данными на 0-й день (рис. 3).

Исследовав уровень экспрессии рецептора CD25 в ответ на добавление IL-2 в культуральную среду, было показано, что исходно единичные NK-клетки экспрессируют этот ранний маркер активации. При культивировании на протяжении 7 дней уровень экспрессии увеличивался у всех доноров в пределах от 14,5% до 36,5%, чего не наблюдалось к концу периода инкубации. Экспрессия рецептора снижалась в 5 раз. Уровень экспрессии другого маркера ранней активации CD38 на 14-й день в среднем увеличился в

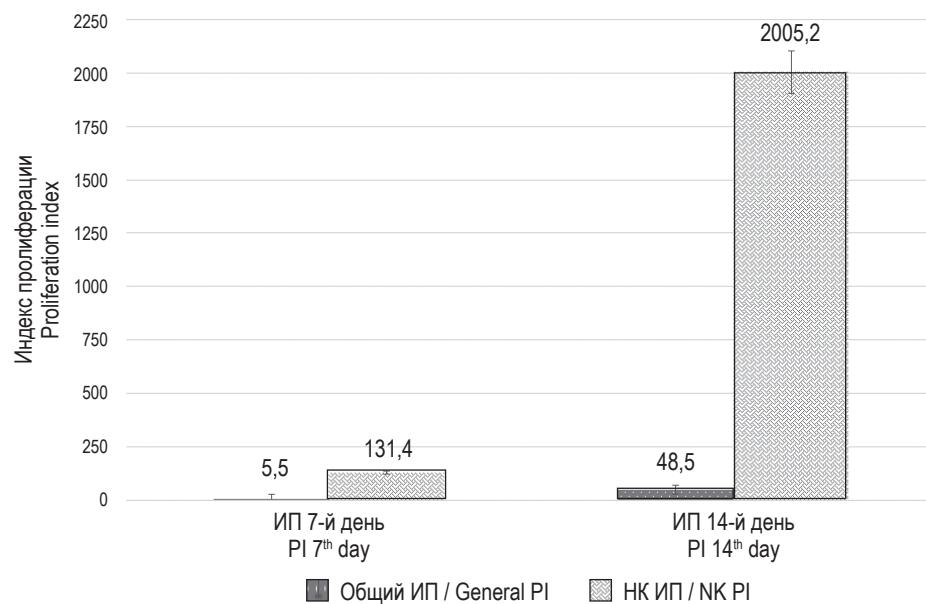


Рисунок 1. Индекс пролиферации натуральных киллеров

Figure 1. Proliferation index of natural killer cells

4,6 раза, а маркера поздней активации HLA-DR на 14-й день – в 51,8 раза.

Начальные пропорции клеток CD16⁺ среди всех доноров варьировались от 6% до 20%. К 7-му дню культивации уровень CD16 составлял от 42% до 65%. К 14-му дню культивации уровень экспрессии CD16 увеличился в 6 раз и составил 73,1% в среднем. Хотя наблюдалась значительная вариабельность доноров в уровнях экспрессии этих активирующих рецепторов, были выявлены последовательные тенденции увеличения экспрессии.

Чтобы определить, обладают ли NK-клетки способностью эффективно лизировать клетки опухоли, был проведен цитотоксический тест с использованием различных клеточных линий AsPC-1, A-549, MDA-MB-231 и PC-3 в качестве клеток-мишеней. Как и ожидалось, наблюдалось эффективное уничтожение со средними значениями удельного лизиса через 6 часов в диапазоне от 24,2% до 45,8% для 1:5 и от 51,1% до 75,2% для соотношения мишень-эффектор 1:10. Через 12 часов NK-клетки в этих соотношениях приводили к 100% лизису клеток-мишеней. Эти данные иллюстрируют, что культивирование NK-клеток в определенных условиях генерирует высокоактивированные NK-клетки, способные эффективно убивать опухолевые клетки различного происхождения.

На протяжении всего периода культивирования оценивали жизнеспособность клеточной популяции с помощью прямого подсчета в камере

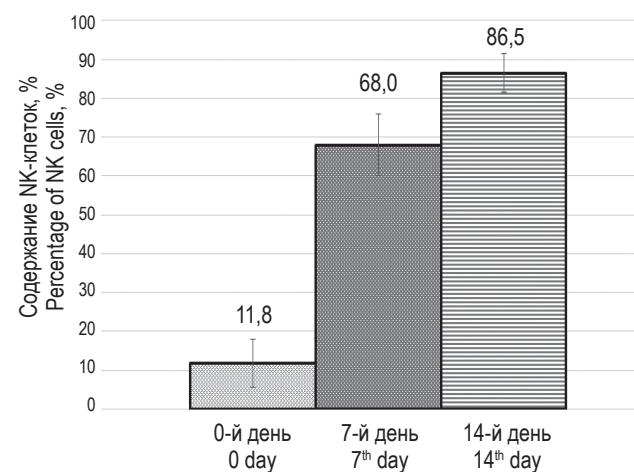


Рисунок 2. Содержание натуральных киллеров в культуре

Figure 2. Percentage of natural killer cells in culture

Горяева с использованием витального красителя. Так, после выделения МНПК жизнеспособность клеток у всех доноров была более 98%, на 7-й день несколько снижалась и в среднем составляла 81%, к окончанию культивирования показатель достигал уровня более 95%. Полученные данные подтверждали цитометрией по включению красителя 7-AAD. Отличий от прямого подсчета получено не было, что говорит в пользу сохранения жизнеспособности генерированных клеток при соответствующих условиях культивирования.

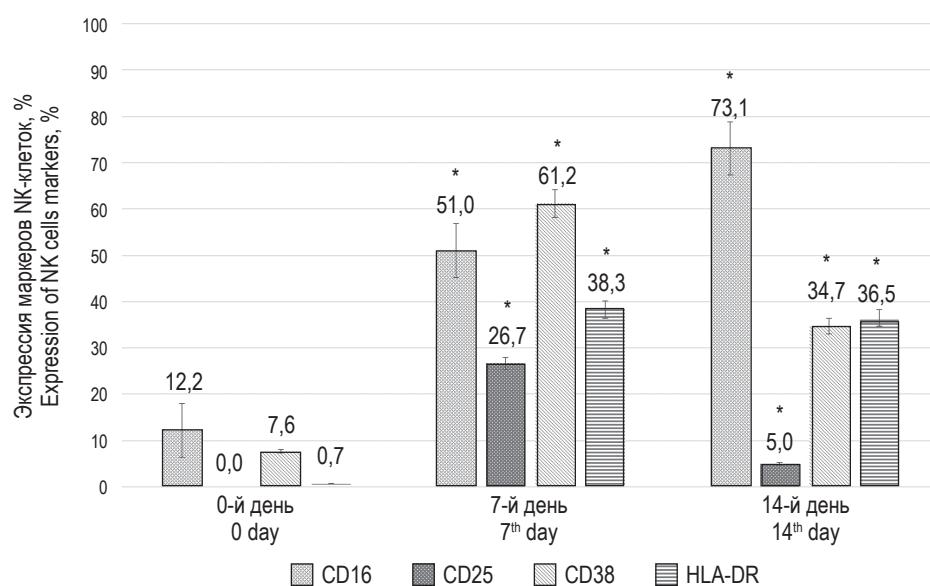


Рисунок 3. Уровень экспрессии маркеров натуральных киллеров

Примечание. * – $p \leq 0,05$ по парному t-тесту Стьюдента.

Figure 3. Expression of natural killer cells markers

Note. *, $p \leq 0.05$ paired Student's t-test.

Заключение

Используя данный метод культивирования МНПК, мы получили обогащенную популяцию NK-клеток с высокой жизнеспособностью и функциональной активностью. В работе оптими-

зировали высокопроизводительный и быстрый фенотипический анализ популяции активированных лимфоцитов, включая NK-клетки, который имеет потенциальное клиническое применение в качестве метода оценки эффективности клеточной терапии на основе NK-клеток.

Список литературы / References

1. Абакушина Е.В. Рекомбинантная клеточная линия TMDK562-15, проявляющая способность к активации и пролиферации ЕК клеток человека. Патент RU 2803178 С1, 07.09.2023. [Abakushina E.V. Recombinant cell line TMDK562-15 capable of activation and proliferation of human NK-cells. Patent RU 2803178 С1, 07.09.2023].
2. Абакушина Е.В. Метод проточной цитометрии для оценки NK-клеток и их активности // Клиническая лабораторная диагностика, 2015. Т. 60, № 11. С. 37-44. [Abakushina E.V. Flow cytometry method for evaluation of NK-cells and their activity. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2015, Vol. 60, no. 11, pp. 37-44. (In Russ.)]
3. Абакушина Е.В., Козлов И.Г. Иммунотерапия с использованием естественных киллеров в лечении онкологических заболеваний // Российский иммунологический журнал, 2016. Т. 10, № 2. С. 131-142. [Abakushina E.V., Kozlov I.G. NK-cells immunotherapy in treatment of oncological diseases. *Rossiyskiy immmunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2016, Vol. 10, no. 2, pp. 131-142. (In Russ.)]
4. Абакушина Е.В., Маризина Ю.В., Каприн А.Д. Морфо-функциональная характеристика лимфоцитов человека после активации *in vitro* // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2016. Т. 161, № 5. С. 678-683. [Abakushina E.V., Marizina U.V., Kaprin A.D. Morphofunctional Characteristics of human lymphocytes after *in vitro*. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2016, Vol. 161, no. 5, pp. 731-735. (In Russ.)]
5. Bald T., Krummel M.F., Smyth M.J., Barry K.C. The NK cell–cancer cycle: advances and new challenges in NK cell-based immunotherapies. *Nat. Immunol.*, 2020, Vol. 21, no. 8, pp. 835-847.
6. Kiessling R., Klein E., Wigzell H. “Natural” killer cells in the mouse. I. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Specificity and distribution according to genotype. *Eur. J. Immunol.*, 1975, vol. 5, no. 2, pp. 112-117.
7. Klimpel G.R., Niesel D.W., Klimpel K.D. Natural cytotoxic effector cell activity against *Shigella flexneri*-infected HeLa cells. *J. Immunol.*, 1986, Vol. 136, no. 3, pp. 1081-1086.
8. Lamers-Kok N., Panella D., Georgoudaki A.M., Liu H., Özkan D., Kučerová L., Duru A.D., Spanholtz J., Raimo M. Natural killer cells in clinical development as non-engineered, engineered, and combination therapies. *J. Hematol. Oncol.*, 2022, Vol. 15, no. 1, 164. doi: 10.1186/s13045-022-01382-5.
9. Macfarlan R.I., Burns W.H., White D.O. Two cytotoxic cells in peritoneal cavity of virus-infected mice: antibody-dependent macrophages and nonspecific killer cells. *J. Immunol.*, 1977, Vol. 119, no. 5, pp. 1569-1574.
10. Melaiu O., Lucarini V., Cifaldi L., Fruci D. Influence of the Tumor Microenvironment on NK Cell Function in Solid Tumors. *Front. Immunol.*, 2019, Vol. 10, 3038. doi: 10.3389/fimmu.2019.03038.
11. Ortaldo J.R., Oldham R.K., Cannon G.C., Herberman R.B. Specificity of natural cytotoxic reactivity of normal human lymphocytes against a myeloid leukemia cell line. *J. Natl Cancer Inst.*, 1977, Vol. 59, no. 1, pp. 77-82.
12. Shimasaki N., Jain A., Campana D. NK cells for cancer immunotherapy. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2020, Vol. 19, pp. 200-218.
13. Voigt J., Malone D.F.G., Dias J., Leeansyah E., Björkström N.K., Ljunggren H.-G., Gröbe L., Klawonn F., Heyner M., Sandberg J.K. Proteome analysis of human CD56^{neg} NK cells reveals a homogeneous phenotype surprisingly similar to CD56^{dim} NK cells. *Eur. J. Immunol.*, 2018, Vol. 48, pp. 1456-1469.

Авторы:

Абакушина Е.В. – д.м.н., руководитель отдела по разработке и исследованиям в области иммунологии, заместитель генерального директора ООО «Текон Медицинские Приборы», Москва, Россия

Журиков Р.В. – научный сотрудник отдела по разработке и исследованиям в области иммунологии ООО «Текон Медицинские Приборы», Москва, Россия

Балышева К.Д. – лаборант-исследователь отдела по разработке и исследованиям в области иммунологии ООО «Текон Медицинские Приборы», Москва, Россия

Бекетова М.В. – лаборант-исследователь отдела по разработке и исследованиям в области иммунологии ООО «Текон Медицинские Приборы», Москва, Россия

Румянцев С.А. – д.м.н., профессор, заведующий отделом молекулярной онкологии и иммунологии ГНЦ РФ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Abakushina E.V., PhD, MD (Medicine), Head, Department for Development and Research in the Field of Immunology, Deputy General Director, LLC “Tecon MP”, Moscow, Russian Federation

Zhurikov R.V., Research Associate, Department for Development and Research in the Field of Immunology, LLC “Tecon MP”, Moscow, Russian Federation

Balysheva K.D., Research Assistant, Department for Development and Research in the Field of Immunology, LLC “Tecon MP”, Moscow, Russian Federation

Beketova M.V., Research Assistant, Department for Development and Research in the Field of Immunology, LLC “Tecon MP”, Moscow, Russian Federation

Rumyantsev S.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Molecular Oncology and Immunology, LLC “Tecon MP”, Moscow, Russian Federation

МОНОНУКЛЕАРНЫЕ КЛЕТКИ ПУПОВИННО-ПЛАЦЕНТАРНОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА: ОЦЕНКА АЛЛЕРГЕННОСТИ И ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ИММУННЫЙ СТАТУС В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА ТЕПЛОКРОВНЫХ

Скупневский С.В.¹, Савельев Р.В.¹, Пухаева Е.Г.¹, Морозова Я.В.^{2,3},
Радаев С.М.², Смирнов В.А.², Гринь А.А.²

¹ ФГБОУ ВО «Северо-Осетинский государственный университет имени К.Л. Хетагурова», г. Владикавказ, Республика Северная Осетия – Алания, Россия

² ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

³ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. Мононуклеарные клетки пуповинно-плацентарной крови человека (МКППКЧ) применяются в качестве основной или вспомогательной терапии для лечения порядка 80 различных нозологий, что связано с их высокой пролиферативной активностью, низкой иммуногенностью и возможностью подбора редких HLA-типов трансплантатов для этнических меньшинств. В этой связи оценка безопасности клеточного материала в отношении иммунной системы является актуальной. Цель – изучить аллергенное и иммунотоксическое действие мононуклеарных клеток пуповинно-плацентарной крови человека в рамках доклинических испытаний на животных. Изучение гиперчувствительности I типа к МКППКЧ проводилось по стандартной методике оценки бронхиолоспазма на трахее самцов и самок морских свинок. Образцы участков трахеи инкубировали в растворе Рингера–Тироде с конечной концентрацией суспензии мононуклеарных клеток 2,5%, позитивный контроль – гистамина гидрохлорид. Определение антител к МКППКЧ осуществлялось на самцах мышей линии СВАхС57В2/6 по реакции связывания комплемента (индикация – отсутствие гемолиза эритроцитов барана). Мышам однократно внутривенно вводили клеточный материал в 10, 50 и 100-кратной дозировке от терапевтической для человека ($8,57 \times 10^7$ клеток/кг, $4,28 \times 10^8$ клеток/кг, $8,57 \times 10^8$ клеток/кг массы тела соответственно); кровь для анализа отбирали через 21 день после введения биоматериала. Позитивный контроль – сыворотка мышей, иммунизированных *S. aureus*. Исследование фагоцитарной активности нейтрофилов проводилось на самцах и самках крыс линии Wistar, которым однократно внутривенно вводили МКППКЧ из расчета 100-кратной терапевтической дозировки. Через

Адрес для переписки:

Скупневский Сергей Валерьевич
ФГБОУ ВО «Северо-Осетинский государственный
университет имени К.Л. Хетагурова»
362025, Россия, Республика Северная Осетия – Алания,
г. Владикавказ, ул. Ватутина, 44-46.
Тел.: 8 (988) 871-55-28.
E-mail: dreammas@yandex.ru

Address for correspondence:

Sergey V. Skupnevskiy
North Ossetian State University
44-46 Vatutin St
Vladikavkaz, Republic of North Ossetia – Alania
362025 Russian Federation
Phone: +7 (988) 871-55-28.
E-mail: dreammas@yandex.ru

Образец цитирования:

С.В. Скупневский, Р.В. Савельев, Е.Г. Пухаева,
Я.В. Морозова, С.М. Радаев, В.А. Смирнов, А.А. Гринь
«Мононуклеарные клетки пуповинно-плацентарной
крови человека: оценка аллергенности и воздействие на
иммунный статус в экспериментах на теплокровных»
// Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2.
С. 303-310. doi: 10.15789/1563-0625-MCF-3037

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

For citation:

S.V. Skupnevskiy, R.V. Saveljev, E.G. Pukhaeva,
Ya.V. Morozova, S.M. Radaev, V.A. Smirnov, A.A. Grin
“Mononuclear cells from human umbilical cord/placental
blood: Assessment of allergenicity and impact on immune status
in experimental warm-blooded animals”, Medical Immunology
(Russia)/Meditinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2,
pp. 303-310.
doi: 10.15789/1563-0625-MCF-3037

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

DOI: 10.15789/1563-0625-MCF-3037

30 дней проводили исследование фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа методом тест-туши, анализируя по 600 клеток на каждую группу. Рассчитывали медиану, верхний и нижний квартили ($Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$); сравнение гипотез проводили по U-критерию Манна–Уитни. В ответ на введение МКППКЧ анафилактогенной активности и выработки антител к клеточному материалу в экспериментах на животных не выявлено. У самок крыс статистически значимо ($p = 0,004$) возросла фагоцитарная активность нейтрофилов относительно контрольных животных (56,5 (53,8-60,8) и 44,0 (40,5-47,5) соответственно); у самцов крыс отмечена тенденция к увеличению фагоцитарной активности на 13% ($p = 0,054$). Фагоцитарный индекс во всех сравниваемых группах остался в зоне флуктуаций нормативных величин 1,8-2,0. Мононуклеары пуповинно-плацентарной крови человека не обладают анафилактогенным, а в 100-кратной от терапевтической дозировки ($8,57 \times 10^8$ кл/кг) – иммунотоксическим действием, но способствуют росту фагоцитарной активности нейтрофилов, что требует дальнейших доклинических и клинических испытаний эффективности и безопасности применения биоматериала с высоким лечебным потенциалом.

Ключевые слова: анафилактогенная активность, гиперчувствительность немедленного типа, гуморальный иммунитет, иммунотоксичность, клеточный иммунитет, мононуклеарные клетки пуповинно-плацентарной крови человека, фагоцитоз

MONONUCLEAR CELLS FROM HUMAN UMBILICAL CORD/PLACENTAL BLOOD: ASSESSMENT OF ALLERGENICITY AND IMPACT ON IMMUNE STATUS IN EXPERIMENTAL WARM-BLOODED ANIMALS

Skupnevskiy S.V.^a, Saveljev R.V.^a, Pukhaeva E.G.^a, Morozova Ya.V.^{b, c}, Radaev S.M.^b, Smirnov V.A.^b, Grin A.A.^b

^a North Ossetian State University, Vladikavkaz, Republic of North Ossetia – Alania, Russian Federation

^b N. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, Moscow Healthcare Department, Moscow, Russian Federation

^c E. Chazov National Medical Research Center of Cardiology, Moscow, Russian Federation

Abstract. Human mononuclear cells from umbilical cord blood (HUCBMCs) are used as the main or adjuvant therapy for treatment of about 80 different diseases, due to high proliferative activity of these cells, low immunogenicity and an opportunity of selecting rare HLA types for transplants. In this regard, assessment of cellular material in protocols of immunopharmacology is relevant. Our objective was to study allergenic and immunotoxic effects of mononuclear cells from human umbilical cord/placental blood as preclinical testing in laboratory animals. The study of type I hypersensitivity to HUCBMCs was carried out using a standard method for assessing bronchiolar spasm in male and female guinea pigs. The samples of tracheal sections were incubated in Ringer–Tyrode solution at the 2.5 per cent concentration of mononuclear cell suspension, with histamine hydrochloride serving a positive control. Antibody detection to HUCBMCs was carried out in the CBAXC57B2/6 male mice using by means of complement fixation test (indexed as absence of hemolysis of sheep erythrocytes). The mice were subjected to single intravenous injections of cell material exceeding the human therapeutic dose 10, 50 and 100-times (8.57×10^7 cells/kg, 4.28×10^8 cells/kg, 8.57×10^8 cells/kg body weight, respectively). Blood for analysis was taken 21 days after administration of the biomaterial. Blood serum from mice immunized with *S. aureus* was used as a positive control. A study of the phagocytic activity of neutrophils was carried out in male and female Wistar rats, which were subjected to a single intravenous injection of HUCBMCs at 10-fold therapeutic dosage. After 30 days, the phagocytic index and phagocytic number were studied using the ink test method, by analyzing 600 cells for each group. The median, upper and lower quartiles ($Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$) were calculated; the hypotheses were compared using the Mann–Whitney U test. We didn't detect anaphylactogenic activity and production of antibodies to cellular material after administration of HUCBMCs to the animals. In female rats, the phagocytic activity of neutrophils increased statistically significantly ($p = 0.004$) relative to control animals [56.5 (53.8-60.8) versus 44.0 (40.5-47.5), respectively]. In male rats, there was a tendency to increased phagocytic activity by 13% ($p = 0.054$). The phagocytic index

in all compared groups remained within deviations of standard values (1.8-2.0). Human umbilical cord blood mononuclear cells do not exhibit an anaphylactogenic, and do not show any immunotoxic effect at 100-fold at the human therapeutic dosage (8.57×10^8 cells/kg). However, they contribute to increase of phagocytic activity of neutrophils, thus requiring further preclinical and clinical trials of efficiency and safety for usage of this biomaterial with high therapeutic potential.

Keywords: *anaphylactogenic activity, immediate hypersensitivity, humoral immunity, immunotoxicity, cellular immunity, mononuclear cells, human umbilical/placental blood, phagocytosis*

Данное исследование выполнено при финансовой поддержке АНО «Московский Центр Инновационных Технологий в Здравоохранении» (грант на реализацию научно-практического проекта в сфере медицины: «Разработка методов регенеративной и клеточной терапии заболеваний и повреждений центральной нервной системы»).

Введение

Мононуклеарные клетки пуповинно-плацентарной крови человека широко вошли в современную клиническую медицину после первой успешной трансплантации, осуществленной в 1988 г. [11]. К настоящему времени они применяются в качестве основной или вспомогательной терапии для лечения порядка 80 различных нозологий, включая онкологические заболевания, анемии, наследственные болезни обмена веществ, иммунодефицитные состояния [16]. Так, один из наиболее перспективных подходов консолидирующего лечения опухолей кроветворной ткани основан на применении гемопоэтических стволовых клеток [2], что позволяет добиться не только репопуляции клеток костного мозга, но и восстановления иммунитета. Согласно результатам статистических исследований, представленных Мировым сообществом по трансплантации крови и костного мозга (The Worldwide Network for Blood and Marrow Transplantation, WBMT), только к 2019 г. осуществлено более 1,5 млн трансплантаций гемопоэтических стволовых клеток, выделенных из костного мозга, пуповинной крови и из периферической крови после ее афереза [15].

Основными преимуществами МКППКЧ по сравнению с другими источниками являются высокая пролиферативная активность, низкая иммуногенность, возможность подбора редких HLA-типов трансплантатов для этнических меньшинств, возможность увеличения количества стволовых клеток в условиях *in vitro*, наличие более длинных теломерных участков хромосом, продукция гемопоэтических ростовых факторов [1, 6]. Так, применение МКППКЧ позволяет значительно сократить период ожидания реципиентом подходящего трансплантата, а сама процедура сбора пуповинной крови является безопасной для матери и плода, технически простой, имеет стандартизованный подход к тести-

рованию и типированию по HLA-системе, консервированию и хранению клеточного материала в криобанках [22]. Однако наряду с преимуществами трансплантации стволовых клеток пуповинной крови, существуют недостатки и трудности их использования в медицинской практике. К ним относятся: потенциальный риск передачи генетических заболеваний; сниженная скорость приживления трансплантата; относительно малое количество гемопоэтических стволовых клеток в единичном заготавливаемом образце; в ряде случаев отсутствие возможности повторного отбора материала; зависимость положительного результата лечения от подбора правильной дозировки клеток [8, 18]. Дальнейшие исследования, посвященные выявлению эффектов МКППКЧ, являются актуальными, поскольку направлены на повышение безопасности клеточной терапии. Кроме того, непрерывно растущее число публикаций [3, 5, 17, 20], посвященных применению МКППКЧ для лечения негематологических заболеваний, при которых клетки применяются в больших дозах или длительными курсами, заставляет взглянуть на вопросы безопасности применения МКППКЧ с точки зрения классической фармакологии, т. е. рассмотреть их на предмет как острой, так и специфической токсичности.

Цель – изучить аллергенное и иммунотоксическое действие мононуклеарных клеток пуповинно-плацентарной крови человека в экспериментах на теплокровных животных.

Материалы и методы

Эксперименты проводились на мышах, крысах и морских свинках, приобретенных в филиале НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ – ПЛЖ «Рапполово». Животные содержались в стандартных условиях вивария с освещением 12:12, вода и корм – *ad libitum*.

Подготовка МКППКЧ к использованию. Образец крови непосредственно перед введением размораживали на водяной бане при температуре +37 °C и *ex tempore* отмывали от криосреды охлажденным до +4 °C раствором – транспортной средой (ТС): 6 мл альбумина + 19 мл физиологического раствора + 25 мл реополиглюкина («Уман альбумин» 25%, раствор для инфузий, альбумин человека; «Реополиглюкин» (декстран, ср. мол. масса 30 000-40 000), раствор для инфу-

зий. Белмедпрепараты). В стерильных условиях клеточный материал переносили в пробирку на 50 мл и доводили охлажденной ТС до верхней метки (первые 10 мл при тщательном перемешивании, остальное – струйно). Суспензию клеток перемешивали и центрифугировали при +4 °С и 600 г в течение 10 мин. Отмывку клеток от криосреды проводили дважды. Осажденную клеточную массу разводили в необходимом объеме ТС и хранили при температуре тающего льда в течение всего периода применения (не более 2 часов).

Количество МКППКЧ рассчитывалось исходя из терапевтической дозировки для человека (600 млн клеток на 70 кг массы тела (м. т.)) и составляло, соответственно, 10-, 50- и 100-кратную дозу в пересчете на массу тела животного.

Оценка развития гиперчувствительности I типа проводилась на половозрелых морских свинках (*Cavia porcellus*) абиссинской породы. Статистические группы включали по 3 самца и 3 самки с массой тела 300–350 г. Непосредственно перед экспериментом животного усыпляли в СО₂-боксе и декапитировали, *ex tempore* извлекали трахею, которую разделяли на три части по 5–8 колец в каждой. Образцы трахей инкубировали 10 мин при 37±0,2 °С в отдельных пробирках, заполненных 10 мл раствора Рингера–Тироде состава: NaCl – 0,800%, KCl – 0,020%; CaCl₂ – 0,020%; NaHCO₃ – 0,010%; MgCl₂ – 0,010%; NaH₂PO₄ – 0,005%; глюкоза – 0,100%. По окончании инкубации по 3 образца трахеи помещали в 30 мл раствора Рингера–Тироде на чашку Петри с диаметром 10 см, термостатируемую при той же температуре (всего по 18 образцов из каждой группы эксперимента), где осуществлялась экспозиция тестируемыми веществами или клеточной суспензией в течение 1 мин. Первая группа: негативный контроль (введение в область трахеи ТС); вторая – экспериментальная (суспензия МКППКЧ); третья – позитивный контроль (раствор гистамина гидрохлорида (ТОО «Бурли»)). Конечные концентрации в области трахеи составляли: транспортная среда – 5%, МКППКЧ – 2,5%, гистамина дигидрохлорид – 0,002%. Весь процесс сопровождался видеофиксацией и контролем изменения размеров трахеи на масштабно-координатной чертежной бумаге с разметкой 1 × 1 мм. Интенсивность развития реакции гиперчувствительности I типа фиксировали в виде «крестов»: резко положительная реакция «++++», положительная реакция «+++», слабоположительная реакция «++», положительный результат в пределах погрешности «+», реакция отсутствует «-».

Определение антител к МКППКЧ осуществлялось на самцах мышей линии СВАхС57В2/6 с массой тела 20–25 г. Статистические группы включали по 10 особей в каждой. Первая группа: контроль 1 (внутривенное введение физиоло-

гического раствора из расчета 0,1 мл/25 г м. т.); вторая – контроль 2 (внутривенное введение ТС из расчета 0,1 мл/25 г м. т.); третья – экспериментальная 1 (МКППКЧ в количестве 8,57 × 10⁷/кг м. т., ресуспендированных в ТС из расчета 0,1 мл/25 г м. т.); четвертая – экспериментальная-2 (МКППКЧ в количестве 4,28 × 10⁸/кг м. т., ресуспендированных в ТС из расчета 0,1 мл/25 г м. т.); пятая – экспериментальная-3 (МКППКЧ в количестве 8,57 × 10⁸/кг м. т., ресуспендированных в ТС из расчета 0,1 мл/25 г м. т.); шестая – позитивный контроль (трехкратная иммунизация *Staphylococcus aureus* путем внутрибрюшинного введения в дозировке 5 × 10⁵ КОЕ/животное каждые 72 часа, с последующим отбором крови из сердца под общим наркозом через 72 ч после последней инокуляции).

Через 21 день животных усыпляли в СО₂-боксе и из сердца отбирали кровь без антикоагулянта. Сыворотку крови инактивировали путем нагрева на водяной бане при температуре 53 °С в течение 30 мин. Реакцию связывания комплемента (РСК) осуществляли в тест-системе, включающей эритроциты барана (ЭБ), гемолизин (сыворотка иммунизированного ЭБ кролика), исследуемую сыворотку мышей и определяемый антиген (МКППКЧ или *S. aureus*) [4]. Результаты оценивали по отсутствию гемолиза ЭБ и фиксировали в виде «крестов»: резко положительная реакция «++++», положительная реакция «+++», слабоположительная реакция «++», положительный результат в пределах погрешности «+», реакция отсутствует «-».

Оценка фагоцитарной активности нейтрофилов после введения МКППКЧ проводилась на крысах линии Wistar. Статистические группы включали по 6 самцов и 6 самок с массой тела 180–200 г. Первая группа – контроль (внутривенное введение ТС из расчета 0,5 мл/200 г м. т.); вторая группа – экспериментальная (МКППКЧ в количестве 8,57 × 10⁸/кг м. т., ресуспендированных в ТС из расчета 0,5 мл/200 г м. т.).

На 30-е сутки у животных под общим наркозом (Золетил, Франция) из сердца отбирали кровь, которую стабилизировали гепарином (ООО «Диамед-фарма», Россия), конечная концентрация 50 МЕ/мл, после чего животных усыпляли в СО₂-камере.

Стабилизированную кровь в объеме 100 мкл смешивали с 10 мкл 0,05% суспензии туши, приготовленной на изотоническом растворе хлорида натрия, и инкубировали при 37 °С ± 0,2 °С в течение 25 мин. После инкубации отбирали 3 мкл клеточной взвеси и готовили мазки на аппарате Vision (Австрия). Клетки фиксировали в течение 30 мин в холодной (1–4 °С) смеси, приготовленной из 96% спирта и 40% формалина в соотношении 10:1. По окончании фиксации препараты промывали дистиллированной водой и сушили.

Окрашивали 10-12 мин красителем Романовского-Гимзы. Стекла для просветления промывали в течение 5 сек 30%-ным раствором этанола. Анализировали по 100 нейтрофилов на каждое животное при 400-кратном увеличении с помощью светового микроскопа Primo Star (Zeiss). Рассчитывали фагоцитарный индекс – число нейтрофилов, поглотивших частицы туши, и фагоцитарное число – среднее количество поглощенных частиц.

Статистический анализ осуществляли в программном пакете Excel и с помощью онлайн-калькулятора (https://www.statskingdom.com/170median_mann_whitney.html). Определяли медиану (M_e), верхний и нижний квартили ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$). Сравнение гипотез проводили по U-критерию Манна-Уитни и статистически значимыми считали результаты при $p < 0,05$.

Результаты

Оценка гиперчувствительности I типа к МКППКЧ на гладких мышцах трахеобронхиальной цепочки морских свинок

В ходе определения анафилактогенной активности концентрата мононуклеарных клеток и транспортной среды в процессе экспозиции исследуемых образцов признаков бронхоспазма выявлено не было. Результаты исследований суммированы в таблице 1.

Из таблицы 1 видно, что мононуклеарные клетки пуповинно-плацентарной крови человека в концентрации 2,5% по объему не оказывают анафилактогенной активности, оцениваемой по сокращению гладких мышц трахеобронхиальной цепочки морских свинок к предполагаемому аллергену. Половых особенностей в реактивности

к тестируемым на аллергенность клеткам не выявлено.

Оценка выработки антител к МКППКЧ у мышей

Анализ сыворотки крови мышей после введения мононуклеаров пуповинно-плацентарной крови человека показал отрицательную реакцию на антитела к тестируемому биоматериалу (табл. 2).

Из таблицы 2 следует, что слабая иммунная реакция на компоненты транспортной среды, отмечаемая в группе контроль 2, нивелируется на фоне введения мононуклеарных клеток пуповинно-плацентарной крови, в то время как у животных позитивного контроля отсутствие гемолиза в супензии эритроцитов барана выявляет резко положительную реакцию.

Оценка влияния МКППКЧ на функциональную активность нейтрофилов

Введение крысам клеточного материала способствовало усилению фагоцитарной активности гранулоцитов (табл. 3).

Из таблицы 3 видно, что у самок на фоне введения ядросодержащих клеток пуповинной крови статистически значимо ($p = 0,004$) возрастает фагоцитарная активность сегментоядерных нейтрофилов на 28%; у самцов увеличение исследуемого показателя составило 13%, а различия между контрольной и экспериментальной группами соответствуют уровню статистической тенденции ($p = 0,054$). Фагоцитарный индекс во всех экспериментальных группах оказался в зоне естественных флуктуаций нормативных величин.

Обсуждение

Результаты исследований МКППКЧ на аллергенность и иммунотоксичность, проведенных

ТАБЛИЦА 1. РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ АНАФИЛАКТОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ МКППКЧ

TABLE 1. RESULTS OF ANAPHYLACTOGENIC ACTIVITY OF HUCBMCs

Параметр Option	Группы / Groups		
	Негативный контроль (ТС) Negative control (solvent)	Суспензия МКППКЧ Suspension of HUCBMCs	Позитивный контроль (гистамин) Positive control (histamine)
Самцы / Males			
$n^* =$	3	3	3
Бронхоспазм Bronchospasm	-	-	+++
Самки / Females			
$n =$	3	3	3
Бронхоспазм Bronchospasm	-	-	+++

Примечание. * – n – количество животных.

Note. *, n, number of animals.

ТАБЛИЦА 2. РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ ПРОТИВ МКППКЧ МЕТОДОМ РСК

TABLE 2. ANTIBODY DETECTION AGAINST HUCBMCs WITH COMPLEMENT FIXATION TEST

Показатель Indicator	Контроль 1 (физ. р-р) Control 1 (saline)	Контроль 2 (TC) Control 2 (solvent)	Эксперимент, введение МКППКЧ Experiment, administration of HUCBMCs			Позитивный контроль (<i>S. aureus</i>) Positive control (<i>S. aureus</i>)
			$8,57 \times 10^7/$ кг м. т. $8.57 \times 10^7/kg$ b. w.	$4,28 \times 10^8/$ кг м. т. $4.28 \times 10^8/kg$ b. w.	$8,57 \times 10^8/$ кг м. т. $8.57 \times 10^8/kg$ b. w.	
n =	10	10	10	10	10	10
Наличие антител Antibodies	-	++	-	-	-	++++

ТАБЛИЦА 3. ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ КРЫС

TABLE 3. PHAGOCYTIC ACTIVITY OF RAT NEUTROPHILS

Группа Group	Фагоцитарный индекс, % Phagocytic index, %	Фагоцитарное число Phagocytic number
Самцы / Males		
Контроль, n = 6 / Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}) Control, n = 6 / Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})	51,5 (47,3-55,0)	2,0 (1,7-2,4)
Эксперимент, n = 6 / Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}) Experiment, n = 6 / Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})	58,0 (55,5-61,3)	1,8 (1,6-2,0)
Самки / Females		
Контроль, n = 6 / Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}) Control, n = 6 / Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})	44,0 (40,5-47,5)	1,8 (1,6-2,0)
Эксперимент, n = 6 / Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}) Experiment, n = 6 / Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})	56,5 (53,8-60,8)*	1,8 (1,6-1,9)

Примечание. * – p < 0,01.

Note. *, p < 0.01.

в рамках протоколов доклинических испытаний фармакологических веществ, свидетельствуют об отсутствии негативных воздействий мононуклеаров на иммунную систему теплокровных, что обосновывает целесообразность дальнейшего (включая клинические исследования) изучения эффективности и безопасности комплекса гемопоэтических стволовых и мезенхимальных стромальных клеток из пуповинно-плацентарной крови человека.

Оценка анафилактогенной активности МКППКЧ, осуществленная на трахеобронхиальной цепочке морских свинок, позволила выявить отсутствие аллергической реакции к клеточной супензии со стороны гладких мышц, обеспечивающих активные движения трахеи. Это не противоречит результатам, представленным в литературных источниках [10, 19], где доказано ингибиование выброса гистамина mastоцитами под воздействием стволовых клеток.

Отрицательная реакция связывания комплемента у гибридов мышей свидетельствует об отсутствии иммунореактивности со стороны В-клеточного звена организма-хозяина на клеточный трансплантат. Причиной данного со-

бытия может служить непосредственное ингибирование фракцией мезенхимальных клеток (входящих в состав МКППКЧ) пролиферации В-лимфоцитов в фазе G0/G1 посредством регуляции активности протеинкиназы p38 МАРК – ассоциируемой с индукцией апоптоза и контролем ключевых точек клеточного цикла (G2/M и G1/S) [13, 21]. В то же время известно, что клетки мезенхимального ряда способны ингибировать пролиферацию наивных Т-клеток и Т-клеток памяти даже при стимуляции поликлональными антигенами [14], что разрывает цепь в трехклеточной системе кооперации иммunoцитов в гуморальном иммунном ответе и дополнительно обеспечивает отрицательную реакцию связывания комплемента. Это также может объяснить сниженную иммунореактивность мышей по отношению к компонентам транспортной среды, в которой человеческий белок может играть ту же роль, что и бычий сывороточный альбумин, используемый в классической патофизиологической модели сывороточной болезни у грызунов [7].

Объяснением возросшей фагоцитарной активности нейтрофилов в ответ на введение животным

МКППКЧ может служить выделение вводимыми стволовыми клетками цитокинов, таких как IL-6, IL-10 и др. [12], которые согласно литературным данным у человека и животных способны стимулировать фагоцитоз гранулоцитов [9].

Заключение

Согласно результатам исследований на трех видах грызунов (морские свинки, мыши, крысы),

мононуклеарные клетки пуповинно-плацентарной крови человека не обладают анафилактогенным, а в 100-кратной от терапевтической дозировки ($8,57 \times 10^8$ кл/кг) – иммунотоксическим действием, но способствуют росту фагоцитарной активности нейтрофилов, что требует дальнейших доклинических и клинических испытаний эффективности и безопасности применения биоматериала с высоким лечебным потенциалом.

Список литературы / References

- Гришина В.В. Пуповинная кровь – источник стволовых клеток // Онкогематология, 2007. № 3. С. 56-60. [Grishina V.V. Umbilical cord blood is a source of stem cells. *Onkogematologiya = Onkogematologiya*, 2007, no. 3. pp. 56-60. (In Russ.)]
- Масчан А.А., Масчан М.А., Новичкова Г.А., Румянцев А.Г., Калинина И.И. Острые миелоидные лейкозы: клинические рекомендации. М., 2020. 55 с. Режим доступа: <https://oncology.ru/specialist/treatment/references/actual/586.pdf>. [Acute myeloid leukemia: Clinical recommendations]. Moscow, 2020. 55 p. Available at: <https://oncology.ru/specialist/treatment/references/actual/586.pdf>.
- Морозова Я.В., Смирнов В.Н., Макаров И.В., Емелина Д.А. Применение ядроодержащих клеток пуповинной крови в лечении регрессивного аутизма: клинический случай // Consortium Psychiatricum, 2023. Т. 4, № 4. С. 39-47. [Morozova Ya.V., Smirnov V.N., Makarov I.V., Emelina D.A. The use of nucleated cord blood cells in the treatment of regressive autism: a clinical case. *Consortium psychiatricum = Consortium Psychiatricum*, 2023, Vol. 4, no. 4, pp. 39-47. (In Russ.)]
- Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1 / Под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2012. С. 94-115. [Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part 1. Ed. A.N. Mironov]. Moscow: Grif i K; 2012, pp. 94-115.
- Смирнов В.Н., Незнанов Н.Г., Морозова Я.В., Макаров И.В., Емелина Д.А., Гасанов Р.Ф., Базанович С.А. Применение концентратата ядроодержащих клеток пуповинной крови у детей с аутизмом: безопасность и эффективность метода // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски, 2021. Т. 121, № 11-2. С. 31-37. [Smirnov V.N., Neznanov N.G., Morozova Ya.V., Makarov I.V., Emelina D.A., Gasanov R.F., Bazanovich S.A. The use of umbilical cord blood nucleated cell concentrate in children with autism: safety and effectiveness of the method. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova = S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*, 2021, Vol. 121, no. 11-2, pp. 31-37. (In Russ.)]
- Шаманская Т.В., Осипова Е.Ю., Румянцев С.А. Ex vivo экспансия гемопоэтических стволовых клеток пуповинной крови (обзор литературы) // Онкогематология, 2012. № 1. С. 35-45. [Shamanskaya T.V., Osipova E.Yu., Rumyantsev S.A. Ex vivo expansion of umbilical cord blood hematopoietic stem cells (literature review). *Onkogematologiya = Onkogematologiya*, 2012, no. 1, pp. 35-45. (In Russ.)]
- Arisz L., Noble B., Milgrom M., Brentjens J.R., Andres G.A. Experimental chronic serum sickness in rats. A model of immune complex glomerulonephritis and systemic immune complex deposition. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 1979, Vol. 60, no. 1, pp. 80-88.
- Barker J.N., Wagner J.E. Umbilical cord blood transplantation: current state of the art. *Curr. Opin. Oncol.*, 2002, Vol. 14, no. 2, pp. 160-164.
- Gierlikowska B., Stachura A., Gierlikowski W., Demkow U. The impact of cytokines on neutrophils' phagocytosis and NET formation during sepsis-a review. *Int J Mol Sci.*, 2022, Vol. 23, no. 9, 5076. doi: 10.3390/ijms23095076.
- Glenn J.D., Whartenby K.A. Mesenchymal stem cells: Emerging mechanisms of immunomodulation and therapy. *World J. Stem Cells*, 2014, Vol. 6, Iss. 5, pp. 526-539.
- Gluckman E., Broxmeyer H.A., Auerbach A.D., Friedman H.S., Douglas G.W., Devergie A., Esperou H., Thierry D., Socie G., Lehn P., Cooper S., English D., Kurtzberg J., Bard J., Boyse E.A. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N. Engl. J. Med.*, 1989, Vol. 321, pp. 1174-1178.
- González-González A., García-Sánchez D., Dotta M., Rodríguez-Rey J.C., Pérez-Campo F.M. Mesenchymal stem cells secretome: The cornerstone of cell-free regenerative medicine. *World J. Stem Cells.*, 2020, Vol. 12, Iss. 12, pp. 1529-1552.
- Han J., Wu J., Silke J. An overview of mammalian p38 mitogen-activated protein kinases, central regulators of cell stress and receptor signaling. *F1000Res.*, 2020, Vol. 9, F1000 Faculty Rev-653. doi: 10.12688/f1000research.22092.1.
- Jiang W., Xu J. Immune modulation by mesenchymal stem cells. *Cell Prolif.*, 2020, Vol. 53, no. 1, e12712. doi: 10.1111/cpr.12712.
- Niederwieser D., Baldomero H., Bazuaye N., Bupp C., Chaudhri N., Corbacioglu S., Elhaddad A., Frutos C., Galeano S., Hamad N., Hamidieh A.A., Hashmi S., Ho A., Horowitz M.M., Iida M., Jaimovich G., Karduss A., Kadera Y., Kröger N., Péffault de Latour R., Lee J.W., Martínez-Rolón J., Pasquini M.C., Passweg J., Paulson K., Seber A., Snowden J.A., Srivastava A., Szer J., Weisdorf D., Worel N., Koh M.B.C., Aljurf M., Greinix H., Atsuta Y., Saber W. One and a half million hematopoietic stem cell transplants: continuous and differential improvement in worldwide access with the use of non-identical family donors. *Haematologica*, 2021, Vol. 107, no. 5, pp. 1045-1053.

16. Ray S.K., Mukherjee S. Clinical practice of umbilical cord blood stem cells in transplantation and regenerative medicine – prodigious promise for imminent times. *Recent Pat. Biotechnol.*, 2022, Vol. 16, no. 1, pp. 16-34.
17. Romanov Y.A., Tarakanov O.P., Radaev S.M., Dugina T.N., Ryaskina S.S., Darevskaya A.N., Morozova Ya.V., Khachatryan W.A., Lebedev K.E., Zотова N.S., Burkova A.S., Sukhikh G.T., Smirnov V.N. Human allogeneic AB0/Rh-identical umbilical cord blood cells in the treatment of juvenile patients with cerebral palsy. *Cytotherapy*, 2015, Vol. 17, no. 7, pp. 969-978.
18. Sanz J., Veys P., Rocha V. Umbilical cord blood transplantation in children and adults. In: Carreras E., Dufour C., Mohy M., Kröger N., editors. The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies. 7th edition. Cham (CH): Springer; 2019. Chapter 64. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554021/>.
19. Sun L., Sha J., Meng C., Zhu D. Mesenchymal stem cell-based therapy for allergic rhinitis. *Stem Cells Int.*, 2020, Vol. 2020, 2367524. doi: 10.1155/2020/2367524.
20. Ternovoy S., Ustyuzhanin D., Morozova Y., Shariya M., Roldan-Valadez E., Smirnov V. Functional MRI evince the safety and efficacy of umbilical cord blood cells therapy in patients with schizophrenia. *Schizophr. Res.*, 2020, Vol. 224, pp. 175-177.
21. Thornton T.M., Rincon M. Non-classical p38 map kinase functions: cell cycle checkpoints and survival. *Int. J. Biol. Sci.*, 2009, Vol. 5, no. 1, pp. 44-51.
22. Vanegas D., Galindo C.C., Páez-Gutiérrez I.A., González-Acero L.X., Medina-Valderrama P.T., Lozano J.C., Camacho-Rodríguez B., Perdomo-Arciniegas A.M. Human Leukocyte Antigen and Red Blood Cells Impact Umbilical Cord Blood CD34+ Cell Viability after Thawing. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, Vol. 20, no. 19, 4875. doi: 10.3390/ijms20194875.

Авторы:

Скупневский С.В. – д.б.н., заведующий лабораторией системного экологического анализа ФГБОУ ВО «Северо-Осетинский государственный университет имени К.Л. Хетагурова», г. Владикавказ, Республика Северная Осетия – Алания, Россия

Савельев Р.В. – лаборант лаборатории системного экологического анализа ФГБОУ ВО «Северо-Осетинский государственный университет имени К.Л. Хетагурова», г. Владикавказ, Республика Северная Осетия – Алания, Россия

Пухаева Е.Г. – младший научный сотрудник лаборатории системного экологического анализа ФГБОУ ВО «Северо-Осетинский государственный университет имени К.Л. Хетагурова», г. Владикавказ, Республика Северная Осетия – Алания, Россия

Морозова Я.В. – к.п.н., старший научный сотрудник ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы»; старший научный сотрудник ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Радаев С.М. – к.м.н., старший научный сотрудник ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

Смирнов В.А. – к.м.н., старший научный сотрудник ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

Гринь А.А. – д.м.н., член-корр. РАН, профессор, руководитель клиники неотложной нейрохирургии ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

Authors:

Skupnevskiy S.V., PhD, MD (Biology), Head, Laboratory of Systemic Environmental Analysis, North Ossetian State University, Vladikavkaz, Republic of North Ossetia – Alania, Russian Federation

Saveljev R.V., Laboratory Assistant, Laboratory of Systemic Environmental Analysis, North Ossetian State University, Vladikavkaz, Republic of North Ossetia – Alania, Russian Federation

Pukhaeva E.G., Junior Research Associate, Laboratory of Systemic Environmental Analysis, North Ossetian State University, Vladikavkaz, Republic of North Ossetia – Alania, Russian Federation

Morozova Ya.V., PhD (Psychology), Senior Research Associate, N. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, Moscow Healthcare Department; Senior Research Associate, E. Chazov National Medical Research Center of Cardiology, Moscow, Russian Federation

Radaev S.M., PhD (Medicine), Senior Research Associate, N. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, Moscow Healthcare Department, Moscow, Russian Federation

Smirnov V.A., PhD (Medicine), Senior Research Associate, N. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, Moscow Healthcare Department, Moscow, Russian Federation

Grin A.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head, Department of Emergency Neurosurgery, N. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, Moscow Healthcare Department, Moscow, Russian Federation

ВЛИЯНИЕ МИКОБАКТЕРИИ ТУБЕРКУЛЕЗА НА ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ТУБЕРКУЛЕМЫ ЛЕГКИХ СТАБИЛЬНОГО ТЕЧЕНИЯ

Гималдинова Н.Е., Любовцева Л.А.

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

Резюме. На протяжении тысячелетий человечество пытается бороться с возбудителем туберкулеза – *Mycobacterium tuberculosis*, но показатели заболеваемости и смертности, к сожалению, остаются по-прежнему высокими во всем мире. Целью исследования данной работы было выявить изменения иммуногистохимических параметров в разных зонах легких при туберкулезе стабильного течения. Нами изучено 30 случаев туберкулемы стабильного течения у мужчин. Исследование проводили в 2 зонах: капсуле туберкулемы и прилежащих к ней областях (перифокальных зонах). Группой сравнения служили резецированные участки верхних долей правого легкого, взятые у 10 мужчин, погибших в ДТП, прижизненно не болевших туберкулезом. Эта группа была названа «условно здоровые». Для оценки местного иммунного ответа использовали иммуногистохимический метод с использованием моноклональных антител к CD8, CD4, CD79a, Fascin. При оценке локализации экспрессии изучаемых маркеров в легких в группе «условно здоровые» число CD4⁺ и CD8⁺ клеток определялось преимущественно в интерстициальном пространстве. Число CD4⁺ клеток в данной исследуемой группе преобладало над CD8⁺ клетками. CD79a⁺ и Fascin⁺ клетки в данной изучаемой группе были обнаружены в интерстициальном пространстве в единичном числе. В стабильной туберкулеме было выявлено большее число лимфоцитов в капсуле с преобладанием Т-киллеров над Т-хелперами. В перифокальной зоне стабильной туберкулемы число иммунных клеток было уменьшенным по сравнению с группой «условно здоровые», но при этом определялись зоны, где CD4-положительные лимфоциты образовывали контакты с интерстициальными макрофагами. Число CD79a положительных клеток преимущественно определялось в соединительнотканной капсуле туберкулемы, единичные – на периферии, рядом с макрофагами. Fascin положительные клетки как в капсуле, так и перифокальной зоне стабильной туберкулемы встречались редко, в основном они локализовались вокруг кровеносных сосудов. При изучении корреляционных взаимодействий в группе «условно здоровые» выявлена умеренная положительная связь между цитотоксическими лимфоцитами и Т-хелперами. В зоне капсулы стабильной туберкулемы сильные положительные связи обнаружены в парах CD4⁺/CD79a и CD79a/CD8⁺, в периферической зоне легких прослеживаются связи только между CD79a/CD8⁺. Таким образом, степень активности туберкулезного процесса в капсуле и перифокальной зоне туберкулемы легких стабильного течения связана с разными клеточными взаимодействиями, осуществляющими двойной контроль как со стороны клеточного, так и гуморального звеньев иммунной системы.

Ключевые слова: туберкулема, CD4-лимфоциты, CD8-лимфоциты, CD79a, Fascin, иммунорегулирующий индекс, микобактерии

Адрес для переписки:

Гималдинова Наталья Евгеньевна
ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет
имени И.Н. Ульянова»
428015, Россия, г. Чебоксары, Чувашская Республика,
Московский пр., 45.
Тел.: 8 (927) 852-34-16.
E-mail: ngimaldinova@yandex.ru

Address for correspondence:

Natalia E Gimaldinova.
I. Ulyanov Chuvash State University
45 Moskovsky Ave
Cheboksary, Chuvash Republic
428015 Russian Federation
Phone: +7 (927) 852-34-16.
E-mail: ngimaldinova@yandex.ru

Образец цитирования:

Н.Е. Гималдинова, Л.А. Любовцева «Влияние
микобактерии туберкулеза на иммуногистохимические
параметры туберкулемы легких стабильного течения»
// Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2.
С. 311-316. doi: [10.15789/1563-0625-EOM-3035](https://doi.org/10.15789/1563-0625-EOM-3035)

© Гималдинова Н.Е., Любовцева Л.А., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

N.E. Gimaldinova, L.A. Lyubovtseva “Effect of *Mycobacterium tuberculosis* on immunohistochemical parameters of stable pulmonary tuberculoma”, *Medical Immunology (Russia)/Meditinskaya Immunologiya*, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 311-316.

doi: [10.15789/1563-0625-EOM-3035](https://doi.org/10.15789/1563-0625-EOM-3035)

© Gimaldinova N.E., Lyubovtseva L.A., 2025

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

DOI: [10.15789/1563-0625-EOM-3035](https://doi.org/10.15789/1563-0625-EOM-3035)

EFFECT OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* ON IMMUNOHISTOCHEMICAL PARAMETERS OF STABLE PULMONARY TUBERCULOMA

Gimaldinova N.E., Lyubovtseva L.A.

I. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Chuvash Republic, Russian Federation

Abstract. For millennia, the mankind has been trying to fight the causative agent of tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, but morbidity and mortality rates, unfortunately, remain high all over the world. The purpose of our work was to specify changes of immunohistochemical parameters in different areas of the lungs in stable tuberculosis. We have studied 30 cases of stable tuberculosis in male patients. The study concerned two areas: the tuberculoma capsule and adjacent areas (perifocal zones). The comparison group consisted of resected material from upper lobes of the right lung, taken from 10 men who died in accidents and did not have tuberculosis during their lifetime. This group was called “conditionally healthy” controls. To assess the signs of local immune response, an immunohistochemical method was used using monoclonal antibodies to CD8, CD4, CD79a, Fascin. When assessing location of the markers expressed in the lung tissues of “conditionally healthy” group, the number of CD4⁺ and CD8⁺ cells was determined mainly in the interstitial space. The numbers of CD4⁺ cells in this study group prevailed over CD8⁺ cells, whereas CD79a⁺ and Fascin⁺ cells were found in small quantities within interstitial space. In stable tuberculoma, a greater number of lymphocytes were detected in the capsule with a predominance of T killers over T helpers. In perifocal area of stable tuberculoma, the number of immune cells was reduced when compared to the “conditionally healthy” group. At the same time, we determined the areas where CD4-positive lymphocytes formed contacts with interstitial macrophages. The number of CD79a positive cells was mainly determined in the connective tissue capsule of tuberculoma, with single cells on the periphery, being close to macrophages. Fascin-positive cells in both capsule and perifocal zone of stable tuberculoma were rare, being mainly localized around blood vessels. When studying correlations in the “conditionally healthy” group, a moderate positive relationship between cytotoxic lymphocytes and T helper cells was revealed. In the capsular area of stable tuberculoma, strong positive correlations were found for CD4⁺/CD79a and CD79a/CD8⁺ pairs; in the peripheral zone of the lungs, correlations were revealed only between CD79a and CD8⁺ cells. Hence, the degree of activity of the tuberculosis process in the capsule and perifocal areas of stable pulmonary tuberculosis is associated with different cellular interactions which exert double control from both cellular and humoral immunity.

Keywords: *tuberculosis, CD4 lymphocytes, CD8 lymphocytes, CD79a, Fascin, immunoregulatory index, mycobacteria*

Введение

Из литературных данных известно, что на протяжении тысячелетий человечество пытается бороться с возбудителем туберкулеза — *Mycobacterium tuberculosis*, но показатели заболеваемости и смертности, к сожалению, остаются по-прежнему высокими во всем мире [5, 6, 7]. Микобактерии, обладая специфическими факторами вирулентности и патогенности, способны модулировать иммунитет хозяина и длительно персистировать в его организме [10, 14]. Среди всех форм вторичного туберкулеза определенный интерес представляет туберкулема, которую часто приходится дифференцировать с периферическим раком легких [9]. Она состоит из очага казеозного некроза и капсулы. В зависимости от соотношения слоев в капсуле, можно говорить о разной степени активности специфического процесса и, как следствие о стабильном или прогрессирующем течении туберкулемы. Так, преобладание наружного слоя, представленного компактно

уложенными коллагеновыми волокнами с малым числом лимфоцитов, над грануляционным слоем расценивается как процесс заживления [8]. Под эту картину попадает стабильная туберкулема.

При внедрении *Mycobacterium tuberculosis* в дыхательные пути человека запускается каскад клеточных взаимодействий, от которых будет зависеть исход заболевания. Важную роль в регуляции местной иммунной системы играют как нейроаминодержащие макрофаги и тучные клетки [1, 2], так и разные популяции и субпопуляции лимфоцитов. Для понимания развития ответных тканевых реакций, морфологических и клинических проявлений туберкулеза, а также разработки индивидуальных методов подхода к его лечению, необходимы знания о взаимоотношениях между популяциями Т- и В-лимфоцитами, а также между лимфоцитами и макрофагами.

Таким образом, **целью нашей работы** явилось выявление изменений иммуногистохимических параметров в структурах легких при туберкулеме стабильного течения.

Материал и методы

Исследование проведено на базе БУ «Бюро судебно-медицинской экспертизы» Минздрава ЧР. Изучали аутопсийный материал верхних долей правого легкого, взятый у 30 мужчин в возрасте от 35 до 50 лет, прижизненно больных туберкулемой. Отбор случаев осуществлялся на основе изучения сопроводительной медицинской документации с целью определения локализации, степени выраженности и активности туберкулезного процесса, анализа заключений рентгенологического исследования органов грудной клетки, а также результатов бактериологического исследования мокроты. Исследование проводили в 2 зонах: капсуле туберкулемы и прилежащих к ней областях. Группой сравнения служили резецированные участки верхних долей правого легкого, взятые у 10 мужчин, погибших в ДТП, прижизненно не болевших туберкулезом. Это группа была названа «условно здоровые». Исследование проведено согласно нормативно-правовым документам (Федеральный закон № 323 от 21.11.2011 г. «Об основах охраны здоровья граждан в РФ») и одобрено Этическим комитетом медицинского факультета Чувашского государственного университета имени И.Н. Ульянова (протокол № 3/4 от 31.01.17).

Методы исследования

1. Общая окраска гематоксилином-эозином применялась для выявления морфологических изменений в ткани легких и дифференцировки участков пораженных и непораженных микобактериями туберкулеза.

2. Для оценки иммунного ответа использовали иммуногистохимический метод с использованием моноклональных антител к CD8, CD4, CD79a и Fascin в готовом разведении (RTU) (Leica, Германия). Срезы докрашивались железным гематоксилином. Число клеток подсчитывали с использованием светового микроскопа Carl Zeiss Primo Star в 10 полях зрения при увеличении 400.

3. Вычисление иммунорегуляторного индекса (ИРИ) применяли для оценки состояния клеточного иммунитета. ИРИ вычисляли как отношение $CD4^+/CD8^+$. Показатель ИРИ оценивали следующим образом: значение 1,5-2,1 – соответствует нормальному иммунному ответу, более 2,2 – избыточный иммунный ответ, менее 1,0 – иммунодефициту [3, 4].

4. Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Statistica 10.0, Microsoft Excel 2010. В работе приводятся следующие показатели: M – средняя арифметическая величина; m – средняя ошибка средней арифметической величины. Статистическую достоверность определяли критерием Манна–Уитни (t).

5. Корреляционный анализ применялся для определения клеточных взаимодействий в следующих парах: $CD4^+/CD8^+$; $CD4^+/CD79a$; $CD4^+/Fascin$; $CD8^+/CD4^+$; $CD8^+/CD79a$; $CD8^+/$

Fascin; $CD79a/CD4^+$; $CD79a/CD8^+$; $CD79a/Fascin$; $Fascin/CD4^+$; $Fascin/CD8^+$; $Fascin/CD79a$. Если значение коэффициента корреляции было меньше 0,5 – связь в паре была слабая или отсутствовала, 0,5-0,6 – связь умеренная, больше 0,7 – связь в паре сильная.

Результаты

При окрашивании гематоксилином-эозином препаратов группы со стабильной туберкулемой выявлялись очаги казеозного некроза, окруженные соединительнотканной капсулой и без признаков перифокального воспаления, среднего диаметра $15 \pm 1,3$ мкм (рис. 1, см. 2-ю стр. обложки).

При оценке локализации экспрессии изучаемых маркеров в легких в группе «условно здоровые» число $CD4^+$ и $CD8^+$ клеток определялось преимущественно в интерстициальном пространстве, единичные – около кровеносных сосудов и в собственной пластинке слизистой оболочки бронхов. Число $CD4$ -положительных клеток в данной исследуемой группе преобладало над $CD8$ -положительными клетками (табл. 1).

При изучении $CD4$ - и $CD8$ -положительных клеток в стабильной туберкулеме было выявлено увеличение их числа в капсуле с преобладанием Т-киллеров в 1,7 раза над Т-хеллерами (рис. 2А, В; см. 2-ю стр. обложки). При этом показатель ИРИ снижается в 1,9 раза по сравнению с нормой (табл. 1). В перифокальной зоне число $CD4$ - и $CD8$ -положительных Т-лимфоцитов уменьшалось по сравнению с группой «условно здоровые», число Т-хеллеров было в 1,7 раза больше, чем Т-киллеров (рис. 2Б, Г; см. 2-ю стр. обложки). Кроме того, следует отметить, что определялись зоны, где $CD4$ -положительные лимфоциты образовывали контакты с интерстициальными макрофагами (рис. 2Б; см. 2-ю стр. обложки). Значение ИРИ соответствовало нормальному иммунному ответу (табл. 1).

При изучении $CD79a$ положительные клетки определялись преимущественно в соединительнотканной капсule (рис. 3А; см. 2-ю стр. обложки), небольшое их число до $7,8 \pm 0,04$ было обнаружено в лимфоидных узелках. На периферии число положительных клеток было единичное, преимущественно в интерстициальном пространстве, где они располагались рядом с макрофагами (рис. 3Б; см. 2-ю стр. обложки).

Число $Fascin$ положительных клеток, являющихся маркерами дендритных клеток, относящихся к антигенпрезентирующему, в капсуле и перифокальной зоне стабильной туберкулемы встречались редко (табл. 1). Следует отметить, что в основном они локализовались вокруг кровеносных сосудов (рис. 3Г; см. 2-ю стр. обложки).

При изучении корреляционных взаимодействий в группе «условно здоровые» нами выявлена умеренная положительная связь между цитотоксическими лимфоцитами и Т-хеллерами

ТАБЛИЦА 1. ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ В РАЗНЫХ ИССЛЕДУЕМЫХ ЗОНАХ ТУБЕРКУЛЕМЫ ЛЕГКИХ СТАБИЛЬНОГО ТЕЧЕНИЯ

TABLE 1. IMMUNOHISTOCHEMICAL PARAMETERS IN DIFFERENT STUDIED AREAS OF STABLE PULMONARY TUBERCULOSIS

	Условно здоровые Conditionally healthy	Капсула Capsule	Вне капсулы Outside the capsule
CD4⁺	<i>9,15±0,45</i>	<i>21,00±0,02*</i>	<i>6,00±0,08</i>
CD8⁺	<i>5,72±0,46</i>	<i>35,00±0,06</i>	<i>3,50±0,06</i>
CD79a	<i>2,40±0,13</i>	<i>29,50±0,06</i>	<i>2,80±0,04*</i>
Fascin	<i>1,20±0,04*</i>	<i>3,70±0,04*</i>	<i>1,30±0,01*</i>
ИРИ / IRI	1,6	0,6	1,7

Примечание. Курсивом выделено понижение числа клеток по сравнению с группой «условно-здоровые», полужирным курсивом – повышение. Материал представлен как $M\pm\sigma$. Различия статистически значимы при $p < 0,05$.

Note. Italics indicate a decrease in the number of cells compared to the “conditionally healthy” group, in bold italics – an increase. The material is represented as $M\pm\sigma$. The differences are statistically significant at $p < 0.05$.

ТАБЛИЦА 2. КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ ИММУННЫМИ КЛЕТКАМИ В СТРУКТУРАХ ТУБЕРКУЛЕМЫ ЛЕГКИХ СТАБИЛЬНОГО ТЕЧЕНИЯ

TABLE 2. CORRELATION INTERACTIONS BETWEEN IMMUNE CELLS IN STRUCTURES OF STABLE PULMONARY TUBERCULOSIS

	Условно здоровые Conditionally healthy	Капсула Capsule	Вне капсулы Outside the capsule
CD4⁺/CD8⁺	-0,6	0,6	-0,6
CD4⁺/CD79a	-0,3	0,7	-0,5
CD4⁺/Fascin	-0,1	-0,2	-0,2
CD8⁺/CD4⁺	0,6	-0,6	0,6
CD8⁺/CD79a	-0,4	-0,8	-0,8
CD8⁺/Fascin	-0,2	-0,1	-0,4
CD79a/CD4⁺	0,3	-0,7	0,5
CD79a/CD8⁺	0,4	0,8	0,8
CD79a/Fascin	-0,5	-0,1	-0,5
Fascin/CD4⁺	0,1	0,2	0,2
Fascin/CD8⁺	0,2	0,1	0,4
Fascin/CD79a	0,5	0,1	0,5

Примечание. Коэффициент корреляции меньше 0,5 – связь в паре слабая или отсутствует; 0,5-0,7 – связь умеренная; больше 0,7 – связь в паре сильная.

Note. The correlation coefficient is less than 0.5, the connection in the pair is weak or absent; 0.5–0.7, the connection is moderate; more than 0.7, the connection in the pair is strong.

(табл. 2). В зоне капсулы стабильной туберкулемы сильные положительные связи обнаружены в парах CD4⁺/CD79a и CD79a/CD8⁺. При этом связи между дендритными клетками с Т- и В-лимфоцитами были слабые. В периферической зоне сильные положительные связи определялись только между CD79a/CD8⁺.

Обсуждение

Из данных литературы известно, что при инфицировании *M. tuberculosis* происходит активация клеточного и гуморального звеньев иммунной системы [13, 15]. Изменения абсолютного и относительного числа клеток и их взаимодействий может позволить сформировать персонализированные протоколы лечения и прогнозировать исход заболевания.

Важную роль в регуляции местного иммунитета и определении исхода заболевания играют две субпопуляции лимфоцитов: Т-хелперы и цитотоксические Т-лимфоциты, которые экспрессируют на поверхности рецепторы CD4⁺ и CD8⁺ соответственно. Основная роль CD8-Т-клеток при инфицировании *M. tuberculosis* связана с их способностью, с одной стороны, секретировать цитокины и цитолитические эффекторные молекулы, которые могут ограничивать репликацию бактерий; с другой стороны, синтезировать перфорин для лизиса инфицированных макрофагов, а также могут выделять гранулизин в цитотоксических гранулах, непосредственно убивая внутриклеточно расположенную микобактерию [12, 16]. В нашем исследовании изменения этих клеток носит tandemный характер. В соединительной

канной капсule туберкулемы число Т-хелперов и цитотоксических лимфоцитов увеличивалось, а на периферии отмечалось резкое их снижение. Возможно, подобное распределение клеток связано с наличием возбудителя туберкулеза в капсule и его отсутствием в перифокальной зоне.

Из литературных данных, а также по результатам нашего исследования группы «условно здоровые» выявлено, что *Fascin* практически не экспрессируется в нормальных тканях легких человека, но при этом является прогностическим индикатором у пациентов [17]. Дендритные клетки обладают способностью не только презентировать антигены микобактерии, но могут также контролировать их репликацию.

Таким образом, при истощении дендритных клеток на фоне активного специфического воспаления может происходить нарушение бактериального контроля и задерживается инициация адаптивного иммунитета. Число *Fascin*⁺ клеток в нашем исследовании во всех изучаемых зонах выявлялось в единичном количестве, что может быть связано с наступлением фазы ремиссии туберкулезного воспаления, отсутствием микобактерий в этих зонах или же задержке восстановления данных клеток.

Немаловажную роль в течение туберкулезного воспаления играет гуморальный иммунитет. CD79a, идентифицированный как альфа-цепь комплекса антиген-рецепторов В-клеток, представляет собой трансмембранный белок, синтезируемый геном CD79A, расположенным на 19-й хромосоме [11]. В капсule стабильной туберкулемы число В-положительных клеток резко увеличивается, по сравнению с перифокальной зоной. По схеме коррелятивных взаимодействий, на подавление микобактерии направлены оба звена иммунитета: клеточное и гуморальное (рис. 4). Учитывая свойства В-лимфоцитов в модулировании воспаления посредством секреции антител и цитокинов и тем самым влияя на исход инфекции, с одной стороны, можно расце-

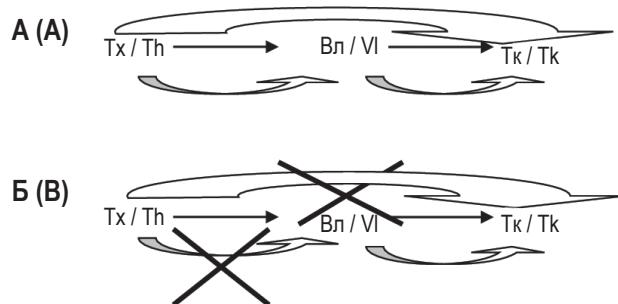


Рисунок 4. Схема корреляционных взаимодействий между Т- и В-лимфоцитами, где Tx – лимфоцит хелпер, Bl – лимфоцит, Tk – лимфоцит-киллер

Примечание. А – в капсule туберкулемы. Б – в перифокальной зоне.

Figure 4. Scheme of correlation interactions between T- and B-lymphocytes, where Th, lymphocyte helper; VI, lymphocyte; Tk, lymphocyte killer

Note. A, in the capsule of tuberculoma. B, in the perifocal zone.

нить увеличение их числа как благоприятный прогностический признак снижения активности специфического воспаления. С другой стороны, анализ корреляционных взаимодействий между Т- и В-лимфоцитами показывает, что в соединительнотканной капсule осуществляется двойной контроль стимуляции цитотоксических лимфоцитов: прямой от Т-хелперов к Т-киллера и опосредованный через В-лимфоциты (рис. 4А). В перифокальной зоне стимуляция Т-киллера связана только с сигналами, поступающими от В-лимфоцитов (рис. 4Б).

Заключение

Таким образом, степень активности туберкулезного процесса в капсule и перифокальной зоне туберкулемы легких стабильного течения связана с разными клеточными взаимодействиями, осуществляющими двойной контроль со стороны иммунной системы.

Список литературы / References

1. Гималдинова Н.Е., Любовцева Л.А. Гистаминсодержащие клетки в структурах легких при некоторых формах вторичного туберкулеза // Журнал анатомии и гистопатологии, 2022. Т. 11, № 1. С. 28-35. [Gimaldinova N.E., Lyubovtseva L.A. Histamine-containing lung cell structures in certain forms of secondary tuberculosis. *Zhurnal anatomii i gistopatologii = Journal of Anatomy and Histopathology*, 2022, Vol. 11, no. 1, pp. 28-35. (In Russ.)]
2. Гималдинова Н.Е., Любовцева Л.А., Любовцева Е.В. Уровень нейротрансмиттеров в нейроаминсодержащих структурах легких при разных формах туберкулеза // Инфекция и иммунитет, 2021. Т. 11, № 6. С. 1067-1074. [Gimaldinova N.E., Lyubovtseva L.A., Lyubovtseva E.V. Neurotransmitter level in neuroamin-containing lung structures in different forms of tuberculosis. *Infektsiya i imunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, Vol. 11, no. 6, pp. 1067-1074. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-ДОП-1632.
3. Елипашев А.А., Никольский В.О., Шпрыков А.С. Зависимость активности туберкулезного воспаления (по морфологическим данным) от различной давности заболевания у пациентов с ограниченным лекарственно устойчивым туберкулезом легких // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание, 2016. № 1. С. 54-59. Режим доступа: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2016-1/2-1.pdf>. [Elipashev A.A., Nikolsky V.O., Shprykov A.S. Dependence of the activity of tuberculous inflammation (according to morphological data) on the different duration of the disease in patients with limited drug-resistant pulmonary tuberculosis. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii = Bulletin of New Medical*

Technologies. Electronic Edition, 2016, no. 1. pp. 54-59. Available at: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2016-1/2-1.pdf>. (In Russ.)]

4. Кравцов А.Л., Кожевников В.А., Клюева С.Н., Кудрявцева О.М., Щуковская Т.Н., Микшиш Н.И., Бугоркова С.А. Характеристика показателей клеточного иммунитета у вакцинированных против чумы лиц, проживающих на территории Прикаспийского песчаного природного очага чумы // Эпидемиология и вакцинопрофилактика, 2019. Т. 18, № 4. С. 67-74. [Kravtsov A.L., Kozhevnikov V.A., Klyueva S.N., Kudryavtseva O.M., Schukovskaya T.N., Mikshis N.I., Bugorkova S.A. Cellular immune status indicators of anti-plague vaccinated persons, living on the caspian sandy natural plague focus territory. *Epidemiologiya i vaktsinoprophilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2019, Vol. 18, no. 4, pp. 67-74. (In Russ.)]

5. Нечаева О.Б. Социально значимые инфекционные заболевания, представляющие биологическую угрозу населению России // Туберкулез и болезни легких, 2019. Т. 97, № 11. С. 7-17. [Nechaeva O.B. Socially important infectious diseases posing a biological threat to the population of Russia. *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2019, Vol. 97, no. 11, pp. 7-17. (In Russ.)]

6. Фентисов В.В. Сравнительное исследование показателей заболеваемости туберкулезом взрослого населения по возрастному и половому признаку // Современные проблемы науки и образования, 2022. № 3. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=31775>. [Fentisov V.V. Comparative study of the incidence of tuberculosis in the adult population by age and gender. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*, 2022, no. 3. [Electronic resource]. Available at: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=31775>. (In Russ.)]

7. Хожиматов Х.О. Туберкулёз как глобальная медико-социальная проблема (краткий литературный обзор) // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук, 2014. № 5-2. С. 211-213. [Khozhimamatov H.O. Tuberculosis as a global medical and social problem (a brief literary review). *Aktualnye problemy gumanitarnykh i estestvennykh nauk = Actual Problems of Humanities and Natural Sciences*, 2014, no. 5-2, pp. 211-213. (In Russ.)]

8. Холодок О.А., Григоренко А.А., Черемкин М.И. Туберкулема легкого как форма туберкулезного процесса // Бюллетень физиологии и патологии дыхания, 2014. № 53. С. 126-131. [Kholodok O.A., Grigorenko A.A., Cheremkin M.I. Pulmonary tuberculosis as a form of tuberculosis process. *Byulleten fiziologii i patologii dykhaniya = Bulletin of Physiology and Pathology of Respiration*, 2014, no. 53, pp. 126-131. (In Russ.)]

9. Шаймарданова А.Ф. Возможности дифференциальной рентгенодиагностики туберкулемы и периферического рака легких // Бюллетень медицинских интернет-конференций, 2013. Т. 3, вып. 2. С. 200. [Shaimardanova A.F. Possibilities of differential X-ray diagnostics of tuberculosis and peripheral lung cancer. *Byulleten meditsinskikh internet-konferentsiy = Bulletin of Medical Internet Conferences*, 2013, Vol. 3, Iss. 2, p. 200. (In Russ.)]

10. Anes E., Pires D., Mandal M., Azevedo-Pereira J.M. ESAT-6 a major virulence factor of *Mycobacterium tuberculosis*. *Biomolecules*, 2023, Vol. 13, 968. doi: 10.3390/biom13060968.

11. Bhattacharai N., Malhotra S., Crane G.M. CD79a. Stains & CD markers CD79a. Available at: <https://www.pathologyoutlines.com/topic/cdmarkerscd79a.html>. (Accessed April 21, 2024).

12. Ernst W.A., Thoma-Uszynski S., Teitelbaum R., Ko C., Hanson D.A., Clayberger C., Krensky A.M., Leippe M., Bloom B.R., Ganz T., Modlin R.L. Granulysin, a T cell product, kills bacteria by altering membrane permeability. *J. Immunol.*, 2000, Vol. 165, Iss. 12, pp. 7102-7108.

13. Kozakiewicz L., Phuah J., Flynn J., Chan J. The role of B cells and humoral immunity in *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2013, Vol. 783, pp. 225-250.

14. Rahlwes K.C., Dias B.R.S., Campos P.C., Alvarez-Arguedas S., Shiloh M.U. Pathogenicity and virulence of *Mycobacterium tuberculosis*. *Virulence*, 2023, Vol. 14, Iss. 1, 2150449. doi: 10.1080/21505594.2022.2150449.

15. Sia J.K., Bizzell E., Madan-Lala R., Rengarajan J. Engaging the CD40-CD40L pathway augments T-helper cell responses and improves control of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *PLoS Pathog.*, 2017, Vol. 13, e1006530. doi: 10.1371/journal.ppat.1006530.

16. Stenger S., Hanson D.A., Teitelbaum R., Dewan P., Niazi K.R., Froelich C.J., Ganz T., Thoma-Uszynski S., Melian A., Bogdan C., Porcelli S.A., Bloom B.R., Krensky A.M., Modlin R.L. An antimicrobial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin. *Science*, 1998, Vol. 282, Iss. 5386, pp. 121-125.

17. Zhang N., Gao Y., Bian Q., Wang Q., Shi Y., Zhao Z., Yu H. The role of fascin-1 in the pathogenesis, diagnosis and management of respiratory related cancers. *Front. Oncol.*, 2022, Vol. 12, 948110. doi: 10.3389/fonc.2022.948110.

Авторы:

Гималдинова Н.Е. – к.м.н., доцент кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», г. Чебоксары, Чувашская Республика, Россия

Любовцева Л.А. – д.б.н., член-корр. РАЕ, профессор кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины, ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», г. Чебоксары, Чувашская Республика, Россия

Authors:

Gimaldinova N.E., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of General and Clinical Morphology and Forensic Medicine, I. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Chuvash Republic, Russian Federation

Lyubovtseva L.A., PhD, MD (Biology), Corresponding Member, Russian Academy of Natural Sciences, Professor, Department of General and Clinical Morphology and Forensic Medicine, I. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Chuvash Republic, Russian Federation

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНОВ HLA II ТИПА (DRB1, DQA1 И DQB1) ПРИ КЛЕЩЕВОМ ЭНЦЕФАЛИТЕ

Любезнова О.Н., Бондаренко А.Л.

ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
г. Киров, Россия

Резюме. Клещевой энцефалит – это природно-очаговое заболевание, распространенное практически на всей территории Российской Федерации. В последние годы растет число очаговых форм данной инфекции. Поэтому особенно актуальны исследования, которые направлены на выявление ранних предикторов тяжести заболевания и маркеров неблагоприятного прогноза данного заболевания. Целью исследования было определение клинической значимости генов HLA II класса при клещевом энцефалите. Молекулярное типирование HLA-генов DRB1, DQA1 и DQB1 было выполнено у 75 пациентов с клещевым энцефалитом, которые находились на стационарном лечении в Кировской инфекционной больнице и центральных районных больницах Кировской области в 2020-2023 гг., и проводилось методом полимеразной цепной реакции с набором отечественных сиквенс-специфических праймеров (НПФ «ДНК-Технология», Россия). Лихорадочная форма клещевого энцефалита была отмечена у 41,3% пациентов, очаговая – у 34,7%, менингеальная – 16,0%, инаппаратная – у 8%. Для HLA-генов DRB1 группа сравнения включала 1528 практически здоровых индивидов той же популяции населения, для HLA-генов DQA1 и DQB1 – 133 человека. В исследовании был выявлен ряд генов HLA II класса, которые встречаются достоверно чаще у пациентов с КЭ в сравнении с группой контроля (DRB1*1 ($\chi^2 = 12,2$; $p_c < 0,01$), DRB1*4 ($\chi^2 = 6,4$; $p_c < 0,05$), DRB1*7 ($\chi^2 = 11,7$; $p_c < 0,01$), DRB1*8 ($\chi^2 = 4,6$; $p_c < 0,05$), DRB1*13 ($\chi^2 = 7,7$; $p_c < 0,01$), DRB1*15 ($\chi^2 = 9,3$; $p_c < 0,01$), DRB1*16 ($\chi^2 = 14,3$; $p_c < 0,01$), DQA1*0102 ($\chi^2 = 7,6$; $p_c < 0,01$), DQB1*0401-2 ($\chi^2 = 3,9$; $p_c < 0,05$), DQB1*0502-4 ($\chi^2 = 8,1$; $p_c < 0,01$)). Среди гаплотипов HLA класса II склонность к развитию клещевого энцефалита предопределяли сочетания DRB1*08-DQA1*0401-DQB1*401/402 ($\chi^2 = 5,7$; $p_c < 0,05$), DRB1*09-DQA1*0301-DQB1*303 ($\chi^2 = 5,7$; $p_c < 0,05$) и DRB1*16-DQA1*0102-DQB1*502 ($\chi^2 = 7,4$; $p_c < 0,01$). Присутствие их в фенотипе человека повышает риск возникновения КЭ в 8-9 раз. Для развития лихорадочной формы клещевого энцефалита самым неблагоприятным является носительство гена DRB1*15 ($\chi^2 = 7,8$; $p_c < 0,01$; RR = 3,1), особенно

Адрес для переписки:

Любезнова Ольга Николаевна
ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ
610912, Россия, г. Киров, ул. Карла Маркса, 112.
Тел.: 8 (8332) 37-47-00.
Факс: 8 (8332) 64-07-34.
E-mail: lyubolga@mail.ru

Address for correspondence:

Olga N. Lyubeznova
Kirov State Medical University
112 K. Marx St
Kirov
610912 Russian Federation
Phone: +7 (8332) 37-47-00.
Fax: +7 (8332) 64-07-34.
E-mail: lyubolga@mail.ru

Образец цитирования:

О.Н. Любезнова, А.Л. Бондаренко «Клиническое значение определения генов HLA II типа (DRB1, DQA1 и DQB1) при клещевом энцефалите» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 317-328.
doi: 10.15789/1563-0625-SCO-3016

© Любезнова О.Н., Бондаренко А.Л., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

O.N. Lyubeznova, A.L. Bondarenko “Clinical significance of class II HLA genes (DRB1, DQA1 and DQB1) in tick-born encephalitis”, Medical Immunology (Russia)/Meditinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 317-328.
doi: 10.15789/1563-0625-SCO-3016

© Lyubeznova O.N., Bondarenko A.L., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-SCO-3016

в гомозиготном состоянии или в сочетании с DRB1*9 (DRB1*9:15 ($\chi^2 = 4,1$; $p_c < 0,01$; RR = 22,6), DRB1*15:15 ($\chi^2 = 4,1$; $p_c < 0,01$; RR = 22,6)). Встречаемость трехлокусных гаплотипов DRB1*09-DQA1*0301-DQB1*303 ($\chi^2 = 8,8$; $p_c < 0,01$) и DRB1*16-DQA1*0102-DQB1*502 ($\chi^2 = 5,0$; $p_c < 0,05$) увеличивает риск развития лихорадочной формы КЭ в 14,5 и 10,9 раза соответственно. У пациентов с менингеальной формой КЭ по сравнению со здоровыми достоверно чаще встречаются гены DRB1*08 ($\chi^2 = 12,9$; $p_c < 0,01$), DQA1*401 ($\chi^2 = 3,9$; $p_c < 0,05$), DQB1*401/402 ($\chi^2 = 9,1$; $p_c < 0,01$). Наличие трехлокусного гаплотипа DRB1*16-DQA1*0102-DQB1*502 ($\chi^2 = 10,9$; $p_c < 0,01$) увеличивает риск развития очаговой формы КЭ в 17,7 раза. Таким образом, клещевой энцефалит ассоциирован с определенными HLA-аллелями II класса, которые можно использовать как прогностический критерий для развития отдельных форм клещевого энцефалита или клещевого энцефалита в целом.

Ключевые слова: клещевой энцефалит, HLA, II класс, клинические формы, прогноз, исходы заболевания

CLINICAL SIGNIFICANCE OF CLASS II HLA GENES (DRB1, DQA1 AND DQB1) IN TICK-BORN ENCEPHALITIS

Lyubeznova O.N., Bondarenko A.L.

Kirov State Medical University, Kirov, Russian Federation

Abstract. Tick-borne encephalitis is a natural endemic disease which is widely spread in Russia. The purpose of the study was to determine clinical significance of HLA class II genes in tick-borne encephalitis. We observed 75 patients with tick-borne encephalitis admitted to the Kirov Hospital of Infectious Diseases and district hospitals over 2020-2023. Molecular typing of the HLA genes DRB1, DQA1 and DQB1 was carried out using PCR technique, with a set of commercial sequence-specific primers (“DNA-Technology”, Russian Federation). The febrile form of tick-borne encephalitis was noted in 41.3% of patients; focal, in 34.7%; meningeal, in 16.0%, inapparent, in 8% of cases. The comparison group for HLA DRB1 locus included 1528 practically healthy individuals from the same population. Comparison group for HLA DQA1 and DQB1 genes comprised 133 persons. The study has revealed a number of HLA class II genes, which are found significantly more often in TBE patients, rather than in control group (DRB1*1 ($\chi^2 = 12.2$; $p_c < 0.01$), DRB1*4 ($\chi^2 = 6.4$; $p_c < 0.05$), DRB1*7 ($\chi^2 = 11.7$; $p_c < 0.01$), DRB1*8 ($\chi^2 = 4.6$; $p_c < 0.05$), DRB1*13 ($\chi^2 = 7.7$; $p_c < 0.01$), DRB1*15 ($\chi^2 = 9.3$; $p_c < 0.01$), DRB1*16 ($\chi^2 = 14.3$; $p_c < 0.01$), DQA1*0102 ($\chi^2 = 7.6$; $p_c < 0.01$), DQB1*0401-2 ($\chi^2 = 3.9$; $p_c < 0.05$), DQB1*0502-4 ($\chi^2 = 8.1$; $p_c < 0.01$)). Among HLA class II haplotypes, the susceptibility to the development of tick-borne encephalitis was determined by the combinations DRB1*08-DQA1*0401-DQB1*401/402 ($\chi^2 = 5.7$; $p_c < 0.05$), DRB1*09-DQA1*0301-DQB1*303 ($\chi^2 = 5.7$; $p_c < 0.05$) and DRB1*16-DQA1*0102-DQB1*502 ($\chi^2 = 7.4$; $p_c < 0.01$). Carriage of the DRB1*15 gene was most risky for development of febrile form of tick-borne encephalitis, ($\chi^2 = 7.8$; $p_c < 0.01$; RR = 3.1). Occurrence of three-locus haplotypes DRB1*09-DQA1*0301-DQB1*303 ($\chi^2 = 8.8$; $p_c < 0.01$), and DRB1*16-DQA1*0102-DQB1*502 ($\chi^2 = 5.0$; $p_c < 0.05$) was associated with increased risk of developing a febrile form of TE by 14.5 and 10.9 times, respectively. In patients with meningeal form of EC, compared with healthy individuals, the gene variants DRB1*08 ($\chi^2 = 12.9$; $p_c < 0.01$), DQA1*401 ($\chi^2 = 3.9$; $p_c < 0.05$), DQB1*401/402 ($\chi^2 = 9.1$; $p_c < 0.01$) were significantly more common. The presence of a three-locus haplotype DRB1*16-DQA1*0102-DQB1*502 ($\chi^2 = 10.9$; $p_c < 0.01$) increases the risk of developing a focal TBE by 17.7 times. Thus, tick-borne encephalitis is associated with certain HLA class II alleles, which may be used as a prognostic criterion for development of different clinical forms of tick-borne encephalitis, or tick-borne encephalitis in general.

Keywords: tick-borne encephalitis, clinical forms, HLA class I genes

Исследование выполнено за счет средств грантовой программы Кировского ГМУ «Университетский научный грант» на 2023 год № 1-2023-ГРАНТ.

Введение

Клещевой энцефалит (КЭ) – это природно-очаговое заболевание, которое регистрируется на 45-48 территориях Российской Федерации. Среднемноголетние общефедеральные показатели заболеваемости КЭ (2013-2022) составляют 1,56 на 100 тысяч населения. В Кировской области в 2021-2022 годах заболеваемость клещевым энцефалитом составила 8,6 и 12,07 на 100 тыс. населения соответственно, что превышает федеральные показатели в 5-7 раз. В клинике КЭ выделяют лихорадочную, менингальную и очаговые формы. Очаговые, особенно многоуровневые формы, отличаются тяжелым течением и неблагоприятным исходом. В последние годы в Российской Федерации растет число очаговых форм. Это объясняют рядом факторов – вирусологических, экологических, климатических, социальных [7, 10]. Поэтому сейчас особенно актуальны исследования, которые направлены на выявление ранних предикторов тяжести заболевания и маркеров неблагоприятного прогноза данного заболевания. Одними из таких факторов являются иммуногенетические. Связь между развитием различных заболеваний с антигенами HLA-комплекса установлена, т. е. данные гены можно использовать в качестве иммуногенетических показателей предрасположенности к заболеваниям и их клиническим формам [2, 11, 12, 14, 18, 20, 27].

Гены, которые отвечают за выраженность иммунного ответа, связаны с генами главного комплекса гистосовместимости (МНС). Согласно современным представлениям, система HLA, регулируя иммунный ответ, осуществляет важнейшие физиологические функции, обеспечивая взаимодействие всех иммунокомпетентных клеток организма, распознавание своих и чужеродных, в том числе измененных собственных клеток, запуск и реализацию иммунного ответа. Все многообразие указанных функций обусловлено строением комплекса HLA-генов [13]. Выделяют три группы генов: класса I, класса II и класса III. Гены HLA класса I включают локусы A, B, C, E, F, G, среди которых локусы A, B, C относятся к так называемым «классическим»; их основная функция в организме – обеспечение взаимодействия всех ядросодержащих клеток. Функция генов HLA-E, HLA-F, HLA-G связана с репродукцией человека. В классе II основными локусами

HLA являются DR, DQ и DP, а также открытые в более позднее время DM, LMP и TAP. Постоянно молекулы II класса присутствуют на клетках иммунной системы, презентирующих антигены Т-хеллерам.

Клещевой энцефалит является иммуногенетически обусловленным заболеванием. Л.О. Черницыной (1990) определен ряд иммуногенетических маркеров, которые определяют риск развития заболевания, его различных форм, интенсивность гуморального иммунного ответа [17]. Данные исследования относятся к HLA генам I класса. Научные работы, посвященные изучению влияния HLA генов II класса на развитие КЭ, единичны [20].

Целью нашего исследования было определение клинической значимости генов HLA II класса (DRB1, DQA1 и DQB1) при клещевом энцефалите.

Материалы и методы

Под нашим наблюдением находились 75 пациентов (постоянно проживающих на территории Кировской области, которая расположена на северо-востоке Европейской части РФ) с клещевым энцефалитом в возрасте от 18 до 84 лет. Все больные находились на стационарном лечении в Кировской инфекционной клинической больнице и районных больницах Кировской области в 2022-2023 гг. Средний возраст пациентов исследуемой группы – $51,1 \pm 11,6$ года, женщины составили 51,1%, мужчины – 48,9%. Диагноз клещевого энцефалита был поставлен на основании данных эпидемиологического анамнеза (факт присасывания клеша, пребывание в лесах, на садово-огородных участках, клинической картины (наличие интоксикационного синдрома и/или менингальной и очаговой симптоматики), а также серологического исследования (обнаружение и нарастание в ИФА в сыворотке крови JgM и G к вирусу клещевого энцефалита). Для серологического подтверждения использовался набор реагентов для иммуноферментного выявления Jg M и G к вирусу клещевого энцефалита (ВекторВКЭ) производство АО «Вектор-Бест» (Россия). Лихорадочная форма КЭ была отмечена у 41,3% пациентов, очаговая – у 34,7% (менингоэнцефалитическая – 26,7%, менинго-энцефалополиомиелитическая – 6,7%, полимиелитическая – 1,3%), менингальная – 16,0%, инаппарантная – у 8%.

Определение HLA-антигенов II класса проводилось в лаборатории иммуногематологии КНИИГПК ФМБА России (руководитель лаборатор-

рии А.В. Йовий). Молекулярное типирование HLA-генов DRB1, DQA1 и DQB1 проводилось методом полимеразной цепной реакции с набором отечественных сиквенс-специфических праймеров (НПФ «ДНК-Технология», Россия). Используемый метод включает в себя серию амплификаций различных участков HLA-генов II класса. Набор реагентов позволяет выявлять 14 аллелей гена DRB1 (DRB1*01, 04, 07, 08, 09, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18), 8 аллелей гена DQA1 (0101, 0102, 0103, 0201, 0301, 0401, 0501, 0601) и 12 аллелей и групп аллелей гена DQB1 (DQB1*201, 301, 302, 303, 304, 305, 401-2, 501, 502/4, 503, 601, 602-8).

Для HLA-генов DRB1 группа сравнения включала 1528 практически здоровых индивидов той же популяции населения [9], для HLA-генов DQA1 и DQB1 – 133 человека.

Обработку данных с последующим статистическим анализом осуществляли в соответствии со стандартными методами вариационной статистики. Для выявления закономерностей, достоверных отличий между сравниваемыми группами нами использовались общепринятые статистические показатели: средняя арифметическая (M), среднеквадратическое отклонение (σ), относительный показатель в % (P), средние ошибки средней арифметической и относительной величины (m_M , m_P).

Статистический анализ результатов иммуногенетических исследований проводился на основании следующих показателей [2]:

1. Частота встречаемости HLA-антител, фенотипов и гаплотипов (процентное соотношение числа индивидуумов, «несущих» данный антиген, фенотип или гаплотип, к общему числу индивидуумов в выборке).

2. Достоверность различий в частоте встречаемости антигенов, фенотипов, гаплотипов оценивалась при расчете критерия χ^2 с поправкой Yates на непрерывность выборки:

3. Для определения статистической значимости фенотипических и гаплотипических сочетаний также использовался критерий χ^2 :

4. Во избежание ошибочного заключения о наличии ассоциаций, найденное при помощи критерия χ^2 значение р корректировалось (p_c) соответственно числу определяемых антигенов, т. е. числу сравнений:

5. Для определения силы ассоциации между антигеном или гаплотипом и болезнью рассчитывался показатель относительного риска RR (relative risk) по формуле Холдейна–Вулфа:

6. Атрибутивный риск или этиологическая фракция (вычислялась для $RR > 1$), превентивная фракция (вычислялась для $RR < 1$).

Результаты

Для определения роли антигенов главного комплекса гистосовместимости II класса в развитии клещевого энцефалита нами был проведен статистический анализ HLA-антителенного состава крови у 75 пациентов (табл. 1).

У больных клещевым энцефалитом по сравнению со здоровыми лицами с повышенной частотой встречаются антигены DRB1*1 ($\chi^2 = 12,2$; $p_c < 0,01$), DRB1*4 ($\chi^2 = 6,4$; $p_c < 0,05$), DRB1*7 ($\chi^2 = 11,7$; $p_c < 0,01$), DRB1*8 ($\chi^2 = 4,6$; $p_c < 0,05$), DRB1*13 ($\chi^2 = 7,7$; $p_c < 0,05$), DRB1*15 ($\chi^2 = 9,3$; $p_c < 0,01$), DRB1*16 ($\chi^2 = 14,3$; $p_c < 0,01$). При наличии этих специфичностей риск развития (RR) заболевания увеличивается в 2,2-4,5 раза.

При анализе встречаемости антигенов DQA1 и DQB1 были получены следующие результаты. При клещевом энцефалите чаще, чем у здоровых лиц, встречаются антигены DQA1*0102 ($\chi^2 = 7,6$; $p_c < 0,05$), DQB1*0401-2 ($\chi^2 = 3,9$; $p_c < 0,05$), DQB1*0502-4 ($\chi^2 = 8,1$; $p_c < 0,01$). Согласно показателю относительного риска (RR), вероятность развития заболевания для обладателей данных антигенов увеличивается в 2,4-7,1 раза.

Проанализировано распределение внутрилокусных и межлокусных сочетаний антигенов (фенотипов и гаплотипов) и оценено влияние этих комбинаций на развитие клещевого энцефалита.

Перечень фенотипов, встретившихся в общей группе пациентов с клещевым энцефалитом и имевших наиболее значимые отклонения от нормального распределения, представлен в таблице 2.

Среди гаплотипов HLA класса II склонность к развитию клещевого энцефалита предопределяли сочетания DRB1*08-DQA1*0401-DQB1*401/402 ($\chi^2 = 5,7$; $p_c < 0,05$), DRB1*09-DQA1*0301-DQB1*303 ($\chi^2 = 5,7$; $p_c < 0,05$) и DRB1*16-DQA1*0102-DQB1*502 ($\chi^2 = 7,4$; $p_c < 0,01$) (табл. 3). Присутствие их в фенотипе человека повышает риск возникновения КЭ в 8,2 и 9,7 раза соответственно.

Таким образом, в общей группе пациентов с КЭ предрасполагающими к развитию заболевания являются гены DRB1*1, DRB1*4, DRB1*7, DRB1*8, DRB1*13, DRB1*15, DRB1*16, DQA1*0102, DQB1*0401-2, DQB1*0502-4, фенотип DRB1*9/15, гаплотипы DRB1*08-DQA1*0401-DQB1*401/402, DRB1*09-DQA1*0301-DQB1*303 и DRB1*16-DQA1*0102-DQB1*502.

ТАБЛИЦА 1. ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ГЕНОВ HLA II КЛАССА (%), ОТНОСИТЕЛЬНЫЙ (RR) И АТРИБУТИВНЫЙ (EF) РИСК РАЗВИТИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ, ПРЕВЕНТИВНАЯ ФРАКЦИЯ (PF) У БОЛЬНЫХ КЛЕЩЕВЫМ ЭНЦЕФАЛИТОМ (n = 75)

TABLE 1. FREQUENCY OF OCCURRENCE OF HLA CLASS II GENES (%), RELATIVE (RR) AND ATTRIBUTABLE (EF) RISK OF DEVELOPING THE DISEASE, PREVENTIVE FRACTION (PF) IN PATIENTS WITH TICK-BORNE ENCEPHALITIS (n = 75)

Антигены HLA II класса HLA class II antigens	Здоровые Healthy n = 1528	Пациенты Patients (n = 75)	RR	EF	PF
DRB1*1	14,95	30,7***	2,548	0,164	-0,2
DRB1*3	8,4	10,6	1,372	0,022	-0,02
DRB1*4	10,16	20,0**	2,279	0,101	-0,11
DRB1*7	15,2	30,7***	2,496	0,198	-0,25
DRB1*8	2,95	8,0**	3,12	0,054	-0,06
DRB1*9	2,07	8,0***	4,306	0,031	-0,03
DRB1*10	0,81	1,3	1,559	0,007	-0,01
DRB1*11	10,52	17,3	1,842	0,009	-0,01
DRB1*12	2,7	2,7	1,219	0	0
DRB1*13	12,28	24,0***	2,288	0,169	-0,2
DRB1*14	1,37	2,7	2,385	0,012	-0,01
DRB1*15	15,41	29,3***	2,31	0,153	-0,18
DRB1*16	3,1	9,3***	4,456	0,062	-0,07
Антигены HLA II класса HLA class II antigens	Здоровые Healthy (n = 133)	Пациенты Patients (n = 75)	RR	EF	PF
DQA1*0101	24,8	34,7	1,606	0,117	-0,13
DQA1*0102	23,3	42,7***	2,431	0,147	-0,17
DQA1*0103	19,5	16,0	0,799	-0,05	0,048
DQA1*0201	30,8	29,3	0,937	-0,02	0,02
DQA1*0301	36,8	28,0	0,673	-0,16	0,142
DQA1*0401	5,3	8,0	1,577	0,029	-0,03
DQA1*0501	36,1	42,7	1,317	0,111	-0,12
DQA1*0601	1,5	0	0,348	0	0
DQB1*201	30,8	37,3	0,0162	1,133	0,035
DQB1*301	31,6	34,7	0,0011	1,094	0,026
DQB1*302	20,3	10,6	2,3028	0,42	-0,12
DQB1*303	18,8	13,3	0,3697	0,7	-0,06
DQB1*305	0,8	0	0,3253	0,971	0
DQB1*0401-2	2,3	9,3**	4,253	5,063	0,088
DQB1*501	33,8	34,7	0,0232	0,895	-0,04
DQB1*0502-4	3,0	14,7***	7,0952	5,606	0,123
DQB1*503	0,8	4,0	0,9871	5,077	0,032
DQB1*601	6,0	1,3	0,3724	0,498	-0,02
DQB1*0602-8	37,6	33,3	0,4054	1,329	0,109

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

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

ТАБЛИЦА 2. ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ВНУТРИЛОКУСНЫХ СОЧЕТАНИЙ ГЕНОВ HLA КЛАССА II У БОЛЬНЫХ КЛЕЩЕВЫМ ЭНЦЕФАЛИТОМ (n = 75)

TABLE 2. FEATURES OF THE DISTRIBUTION OF INTRALOCUS COMBINATIONS OF HLA CLASS II GENES IN PATIENTS WITH TICK-BORNE ENCEPHALITIS (n = 75)

Внутрилокусные сочетания Intralocus combinations	Частота фенотипа (%) Phenotype frequency (%)		χ^2	RR
	Здоровые Healthy (n = 133)	Пациенты Patients (n = 75)		
DRB1*				
09:15	0,0	4,0**	3,9	12,9
07:11	0,8	4,0	1,2	
DQA1*				
0102:0301	5,3	10,7	1,4	
0301:0301	6,0	1,3	1,5	
0102:0102	1,5	5,3	1,3	
DQB1*				
402:0602-8	0,0	2,6	1,3	
201:0602-8	9,0	4,0	1,2	

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

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

ТАБЛИЦА 3. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГАПЛОТИЧЕСКИХ СОЧЕТАНИЙ HLA-АНТИГЕНОВ КЛАССА II У БОЛЬНЫХ КЛЕЩЕВЫМ ЭНЦЕФАЛИТОМ (n = 75)

TABLE 3. DISTRIBUTION OF HAPLOTYPE COMBINATIONS HLA ANTIGENS CLASS II IN PATIENTS WITH TICK-BORNE ENCEPHALITIS (n = 75)

HLA-гаплотипы DRB1*-DQA1*- DQB1* HLA-haplotype DRB1*-DQA1*- DQB1*	Частота гаплотипов (%) Haplotype frequency (%)		χ^2	RR
	Здоровые Healthy (n = 133)	Пациенты Patients (n = 75)		
01-0101-501	16,5	28,0	3,2	1,9
04-0301-302	16,5	12,0		
07-0201-201	15,8	22,7		
08-401-401/402	0,8	8,0**	5,7	8,2
09-0301-303	0,8	8,0**	5,7	8,2
11-0501-301	10,5	16,0		
16-0102-502	0,8	9,3***	7,4	9,7

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

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

Нами было проанализировано наличие взаимосвязи развития клинической формы клещевого энцефалита и HLA-фенотипа. Перечень генов, фенотипических и гаплотипических ассоциаций, которые были выявлены при лихорадочной, менингеальной и очаговых формах клещевого энцефалита и имевших наиболее значимые от-

клонения от нормального распределения, представлен в таблице 4.

Как следует из результатов, представленных в таблице 4, предрасположенность к развитию лихорадочной формы КЭ выше у лиц, у которых определяются гены DRB1*9 ($\chi^2 = 11,3$; $p_c < 0,01$; RR = 7,5) и DRB1*15 ($\chi^2 = 7,8$; $p_c < 0,01$; RR = 3,1),

ТАБЛИЦА 4. ХАРАКТЕР РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИГЕНОВ HLA КЛАССА II У ПАЦИЕНТОВ С КЛЕЩЕВЫМ ЭНЦЕФАЛИТОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КЛИНИЧЕСКОЙ ФОРМЫ (n = 75)

TABLE 4. DISTRIBUTION OF HLA CLASS II ANTIGENS IN PATIENTS WITH TICK-BORNE ENCEPHALITIS DEPENDING ON THE CLINICAL FORM (n = 75)

HLA-антигены класса II HLA antigens class II	Частота встречаемости (%) Frequency of occurrence (%)									
	у здоровых in healthy people (n = 133)	у пациентов in patients								
		Лихорадочная форма Fever form (n = 31)			Менингальная форма Meningeal form (n = 12)			Очаговые формы Focal forms (n = 26)		
	%	%	χ^2	RR	%	χ^2	RR	%	χ^2	RR
DRB 1*										
01	14,9	25,8	2,0		8,3	< 1		42,3	12,7	4,2
04	10,1	16,1	< 1		16,8	< 1		30,8	9,6	4,1
07	15,2	22,5	< 1		33,3	1,8		42,3	12,3	4,1
08	2,9	6,4	< 1		25,0	12,9	12,3	3,9	< 1	
09	2,1	12,9	11,3	7,5	8,3	< 1		3,9	< 1	
13	12,3	32,3	2,5		8,3	< 1		7,7	< 1	
15	15,4	35,5	7,8	3,1	33,3	1,7		19,2	< 1	
16	3,1	6,5	< 1		0	< 1		15,4	8,6	6,3
DQA 1*										
0102	23,3	45,2	4,9	2,7	33,3	< 1		30,7	< 1	
0401	5,3	6,5	< 1		25,0	3,9	6,2	3,9	< 1	
0501	36,1	19,3	3,5	0,4	41,7	< 1		38,4	< 1	
DQB 1*										
401-2	2,3	3,2	< 1		25,0	9,1	13,7	7,7	< 1	
501	33,8	29,0	< 1		8,3	2,2		42,3	< 1	
502/4	3,0	9,7	< 1		8,3	< 1		15,4	4,6	5,8
602-8	37,6	48,3	< 1		16,7	< 1		11,5	5,5	0,2
Внутрилокусные HLA-фенотипы Intralocus HLA phenotypes										
DRB1* 7:11	0,8	9,7	5,1	10,9	0	< 1		3,9	< 1	
DRB1*9:15	0	6,5	4,1	22,6	0	< 1		3,9	< 1	
DRB1*15:15	0	6,5	4,1	22,6	0	< 1		0	< 1	
DRB1*1:7	4,5				0	< 1		1,7	2,7	
DQB1*201:501	3,8				0	< 1		19,2	6,4	5,9
DQB1*402:602-8	0	6,5	4,1	22,6	0	< 1		0	< 1	
HLA-гаплотипы DRB1*-DQA1*-DQB1* HLA-haplotype DRB1*-DQA1*-DQB1*										
08-401-401/402	0,8	6,4	1,9		25	15,9	32,5	3,9	< 1	
09-0301-303	0,8	12,9	8,8	14,5	8,3	< 1		3,9	< 1	
16-0102-502	0,8	9,7	5,0	10,9	0	< 1		15,4	10,9	17,7

DQA1*0102 ($\chi^2 = 4,9$; $p_c < 0,05$; RR = 22,6), и внутрилокусные сочетания DRB1*9:15 ($\chi^2 = 4,1$; $p < 0,01$; $p_c < 0,01$; RR = 22,6), DRB1*15:15 ($\chi^2 = 4,1$; $p_c < 0,01$; RR = 22,6). DQB1*402:602-8 ($\chi^2 = 4,1$; $p_c < 0,01$; RR = 2,7). Для развития лихорадочной формы КЭ самым неблагоприятным является носительство гена DRB1*15, особенно в сочетании с DRB1*9 или в гомозиготном состоянии. Встречаемость трехлокусных гаплотипов DRB1*09-DQA1*0301-DQB1*303 ($\chi^2 = 8,8$; $p_c < 0,01$) и DRB1*16-DQA1*0102-DQB1*502 ($\chi^2 = 5,0$; $p_c < 0,05$) увеличивает риск развития лихорадочной формы КЭ в 14,5 и 10,9 раза соответственно.

Наличие гена DQA1*0501 ($\chi^2 = 3,5$; $p_c < 0,05$; RR = 0,4) обладает превентивным эффектом для развития лихорадочной формы КЭ.

У пациентов с менингеальной формой КЭ достоверно чаще встречаются гены DRB1*08 ($\chi^2 = 12,9$; $p_c < 0,01$; RR = 12,3), DQA1*401 ($\chi^2 = 3,9$; $p_c < 0,05$; RR = 6,2), DQB1*401/402 ($\chi^2 = 9,1$; $p_c < 0,01$; RR = 13,7). Учитывая неравновесное сцепление данных генов, наличие гаплотипа DRB1*08-DQA1*0401-DQB1*401/402 можно рассматривать не как предрасполагающим фактором к развитию в целом КЭ, а именно менингеальной формы заболевания. У носителей данного гаплотипа риск развития менингеальной формы КЭ повышается в 32,5 раза.

Предрасположенность к развитию очаговой формы КЭ достоверно выше у лиц, у которых определяются гены DRB1*1 ($\chi^2 = 12,7$; $p_c < 0,01$; RR = 4,2), DRB1*4 ($\chi^2 = 9,6$; $p_c < 0,01$; RR = 4,1), DRB1*7 ($\chi^2 = 12,3$; $p_c < 0,01$; RR = 4,1) и особенно DRB1*16 ($\chi^2 = 8,6$; $p_c < 0,01$; RR = 6,3), при обнаружении которого риск развития очаговой формы КЭ повышается в 6,3 раза. Ген DQB1*602-8 обладает превентивным действием по отношению к развитию очаговой формы КЭ ($\chi^2 = 5,5$; $p_c < 0,05$; RR = 0,2). Наличие трехлокусного гаплотипа DRB1*16-DQA1*0102-DQB1*502 ($\chi^2 = 10,9$; $p_c < 0,01$) увеличивает риск развития очаговой формы КЭ в 17,7 раза. Данный гаплотип также достоверно чаще встречался и у лиц с лихорадочной формой КЭ. Однако мы рассматриваем его как фактор, предрасполагающий к развитию именно очаговой формы КЭ, так как у двух пациентов, носителей данного гаплотипа, лихорадочная форма КЭ развились на фоне полного курса вакцинации против КЭ.

Обсуждение

Гены системы HLA играют важную роль в нормальном функционировании иммунной си-

стемы, кодируя α - и β -цепи молекул МНС II класса. Функция данных молекул заключается в презентации экзогенных пептидов, прошедших процессинг, CD4 $^+$ лимфоцитам [13, 16]. Состояние иммунной системы человека и особенности вирулентных свойств возбудителя – это основа многокомпонентного процесса патогенеза клещевого энцефалита. Его углубленное изучение с учетом функции системы иммунитета началось лишь во второй половине XX века и продолжается до сих пор. С появлением новых методов исследования описывались новые механизмы противовирусного иммунитета при КЭ и его отдельных клинических формах. Л.И. Ратниковой и соавт. (2002) было описано резкое угнетение Т- и В-клеточного иммунитета у больных КЭ, особенно при очаговых формах, в то время как при неочаговых формах КЭ наблюдалось снижение CD4 $^+$ лимфоцитов при сохранении функций гуморального звена иммунитета. При менингеальной форме КЭ данное снижение было более выражено [12].

Открытие дихотомии Th1/Th2 явилось мощным толчком в изучении иммунопатогенеза инфекционных заболеваний, в том числе и КЭ [8]. Выбор лимфоцитом Th1- или Th2-пути дифференцировки зависит от многих факторов: функционального статуса иммунокомпетентных клеток, спектра цитокинов, продуцируемых CD4 $^+$ лимфоцитами, природы и способа презентации антигена, в котором участвуют молекулы МНС II класса. Многочисленными исследователями показано, что при более тяжелых формах КЭ происходит смещение баланса в сторону Th2, за счет снижения секреции IL-2, IL-18 и увеличения IL-4 и IL-10 [3, 5, 8]. С одной стороны, это объясняется свойствами белковых продуктов флавивирусов к блокаде внутриклеточной передачи сигналов от рецепторов [19] и цитокинидуцирующей активностью штаммов вируса КЭ, вызывающих тяжелые очаговые формы заболевания [8]. С другой – существенный вклад вносит генетический полиморфизм важных факторов врожденного иммунитета. К ним можно отнести гены HLA-комплекса, гены цитокинов, их рецепторов и антогонистов [8, 14].

При клещевом энцефалите Л.О. Черницыной (1990) описаны антигенные варианты, фенотипы и гаплотипы генов HLA I класса, определяющие риск возникновения различных вариантов КЭ, а также хронического течения заболевания [17]. Влияние генов HLA II класса (DRB1*; DQA1*; DQB1*) на развитие отдельных клинических форм КЭ не описано.

В нашем исследовании были выявлены достоверные отличия в частоте встречаемости генов DRB1* у пациентов с КЭ в сравнении с группой контроля (DRB1*1 ($\chi^2 = 12,2$), DRB1*4 ($\chi^2 = 6,4$), DRB1*7 ($\chi^2 = 11,7$), DRB1*8 ($\chi^2 = 4,6$), DRB1*13 ($\chi^2 = 7,7$), DRB1*15 ($\chi^2 = 9,3$), DRB1*16 ($\chi^2 = 14,3$)).

В исследовании L. Kovalchka и соавт. (2014) выявлена предрасположенность к развитию КЭ у носителей специфичностей DRB1*4 и DRB1*17 [20]. Также необходимо отметить, что отмечается влияние на частоту развития вирусных энцефалитов (герпетического, краснушного, ветряночного) наличие гена DRB1*1 [6], а также таких нейродегенеративных заболеваний нервной системы, как болезнь Паркинсона – ген DRB1*4 и рассеянного склероза – DRB1*13 и DRB1*15 [1]. Гомозиготное состояние гена DRB1*4 описано при тяжелых формах при КЭ [21] и болезни Паркинсона [1], однако в нашем исследовании данный ген встречался только в гетерозиготном состоянии. Описано, что гомозиготы менее приспособлены к формированию иммунного ответа из-за существования в условиях окружающей среды с множеством возбудителей [16].

При КЭ достоверно чаще, чем у здоровых лиц, встречаются гены DQA1*102 ($\chi^2 = 7,6$), DQB1*401/402 ($\chi^2 = 3,8$), DQB1*502-4 ($\chi^2 = 8,1$). В доступной нам литературе мы не нашли исследований, посвященных изучению частоты распределения генов DQA1* и DQB1* при клещевом энцефалите. Есть единичные исследования, в которых приводятся данные по другим «клещевым инфекциям», в частности Лайм-боррелиозу [21, 26]. Причем достоверных данных о влиянии генов DQA1* на развитие данной болезни не приводится [26]. Описано более частое выделение специфичности HLA – DQB1*401/402 при хроническом лимфолейкозе [11].

Нами обнаружены достоверные отличия в частоте встречаемости фенотипа DRB1*9:15 у пациентов с клещевым энцефалитом, в сравнении с группой контроля ($\chi^2 = 3,9$, $p_c < 0,05$). Риск возникновения КЭ у носителей данного аллеля возрастает в 12,2 раза. В проанализированных нами работах, авторы не указывают частоту

встречаемости определенных аллелей у пациентов с КЭ. Но есть данные о риске развития рассеянного склероза (RR = 8,3) у носителей аллели DRB1*1:15 [23], что объясняется более эффективной презентацией аутоантигенов [25].

Для установления ассоциаций с развитием заболевания важно проводить анализ не только с отдельными аллельными вариантами, а с HLA-ассоциированными гаплотипами. Анализ распределения частоты встречаемости трехлокусных гаплотипов в опытной группе выявил значительную вариабельность. Наиболее значимые отклонения у пациентов с КЭ, в сравнении со здоровыми лицами, были определены для гаплотипов DRB1*08-DQA1*0401-DQB1*401/402 ($\chi^2 = 5,7$; $p_c < 0,05$; RR = 8,2), DRB1*09-DQA1*0301-DQB1*303 ($\chi^2 = 5,7$; $p_c < 0,05$; RR = 8,2) и DRB1*16-DQA1*0102-DQB1*502 ($\chi^2 = 7,4$; $p_c < 0,01$; RR = 9,7). В литературе нами не обнаружено описания встречаемости трехлокусных гаплотипов у пациентов с КЭ.

Иммуногенетические маркеры определяют не только развитие заболевания, но и различных клинических форм болезни. Имеются описания влияния генов HLA II класса на развитие различных вариантов и течения вторичной формы инфекции Денге [16], COVID-19 [24], криптококкового менингита [22], туберкулеза [4] и др. Однако данный вопрос не изучен при клещевом энцефалите. Нами был выявлен трехлокусный гаплотип DRB1*16-DQA1*0102-DQB1*502, при котором риск развития очаговой формы КЭ увеличивается в 17,7 раза. Данный показатель можно использовать в качестве иммуногенетического показателя предрасположенности к развитию тяжелой очаговой формы клещевого энцефалита.

Заключение

Таким образом, клещевой энцефалит ассоциирован с определенными HLA-аллелями II класса, которые можно использовать как прогностический критерий для развития отдельных форм клещевого энцефалита или клещевого энцефалита в целом. Носителям определенных гаплотипов, проживающих на эндемичных территориях, необходимо рекомендовать вакцинацию против клещевого энцефалита.

Список литературы / References

1. Алисейчик М.П., Андреева Т.В., Рогаев Е.И. Иммуногенетические факторы нейродегенеративных заболеваний: роль HLA II класса // Биохимия, 2018. Т. 83, вып. 9. С. 1385-1398. [Aliseychik M.P., Andreeva T.V., Rogaev E.I. Immunogenetic Factors of Neurodegenerative Diseases: The Role of HLA Class II. *Biokhimiya = Biochemistry*, 2018, Vol. 83, Iss. 9, pp. 1104-1116. (In Russ.)]

2. Бондаренко А.Л. HLA и болезни. Киров, 1999. 194 с. [Bondarenko A.L. HLA and diseases]. Kirov, 1999. 194 p.
3. Бондаренко А.Л., Тихомолова Е.Г., Зыкова И.В., Контикова Е.Л., Зянчурин Г.М. Прогностическое значение иммунорегуляторных Th1- и Th2-цитокинов при клещевом энцефалите // Инфекционные болезни, 2011. № 1. С. 28-32. [Bondarenko A.L., Tikhomolova E.G., Zyкова I.V., Kontyakova E.L., Zyanchurina G.M. Prognostic significance of immunoregulatory Th1 and Th2 cytokines in tick-borne encephalitis. *Infektsionnye bolezni = Infectious Diseases*, 2011, no. 1, pp. 28-32. (In Russ.)]
4. Гергерт В.Я., Пospelov A.L., Ставицкая Н.В., Кордичева С.Ю., Сороко-Новицкая А.Н., Пospelov L.E. Сравнение распределения генов локуса HLA-DRB1 у здоровых и больных туберкулезом детей и подростков в различных популяциях // Туберкулез и болезни легких, 2010. Т. 87, № 9. С. 29-32. [Gergert V.Ya., Pospelov A.L., Stavitskaya N.V., Kordicheva S.Yu., Soroko-Novitskaya A.N., Pospelov L.E. Comparison of the distribution of HLA-DRB1 locus genes in healthy children and adolescents with tuberculosis in different populations. *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2010, Vol. 87, no. 9, pp. 29-32. (In Russ.)]
5. Зима А.П., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Жукова О.Б., Жукова Н.Г., Лепехин А.В., Радзивил Т.Т. Дисбаланс продукции и рецепции IL-2 и IL-4 при длительной антигенемии вируса клещевого энцефалита // Медицинская иммунология, 2008. Т. 10, № 4-5. С. 389-396. [Zima A.P., Ryazantseva N.V., Novitsky V.V., Zhukova O.B., Zhukova N.G., Lepechin A.V., Radzivil T.T. Imbalance in IL-2 and IL-4 production and reception during prolonged viral antigenemia in tick-born encephalitis *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2008, Vol. 10, no. 4-5, pp. 389-396. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2008-4-5-389-396.
6. Идрисова Ж.Р., Петрухин А.С., Учайкин В.Ф., Деконенко Е.П. Клиническое значение определения гена DRB1 главного комплекса гистосовместимости при вирусных энцефалитах // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского, 2000. Т. 79, № 4. С. 4. [Idrisova Zh.R., Petrukhin A.S., Uchaikin V.F., Dekonenko E.P. Clinical significance of determining the DRB1 gene of the major histocompatibility complex in viral encephalitis. *Pediatriya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo = Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky*, 2000, Vol. 79, no. 4, p. 4. (In Russ.)]
7. Колясникова Н.М., Ишмухаметов А.А., Акимкин В.Г. Современное состояние проблемы клещевого энцефалита в России и мире // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика, 2023. Т. 22, № 1. С. 104-123. [Kolyasnikova N.M., Ishmukhametov A.A., Akimkin V.G. The current state of the problem of tick-borne encephalitis in Russia and the world. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2023, Vol. 22, no. 1, pp. 104-123. (In Russ.)]
8. Крылова Н.В. История и перспективы изучения иммуногенетических аспектов патогенеза клещевого энцефалита // Дальневосточный журнал инфекционной патологии, 2007. № 11. С. 46-51. [Krylova N.V. History and prospects for studying the immunogenetic aspects of the pathogenesis of tick-borne encephalitis. *Dalnevostochnyy zhurnal infektsionnoy patologii = Far Eastern Journal of Infectious Pathology*, 2007, no. 11, pp. 46-51. (In Russ.)]
9. Логинова М.А., Трофимова Н.П., Парамонов И.В. Генетические особенности популяции, проживающей на территории Кировской области // Вестник службы крови России, 2012. № 1. С. 24-28. [Loginova M.A., Trofimova N.P., Paramonov I.V. Genetic features of the population living in the Kirov region. *Vestnik sluzhby krovi Rossii = Bulletin of the Russian Blood Service*, 2012, no. 1, pp. 24-28. (In Russ.)]
10. Любезнова О.Н., Бондаренко А.Л., Утенкова Е.О., Контикова Е.Л. Патоморфоз клещевого энцефалита в Кировской области // Инфекционные болезни, 2015. Т. 13, № 1. С. 46-52. [Lyubeznova O.N., Bondarenko A.L., Utenkova E.O., Kontyakova E.L. Pathomorphosis of tick-borne encephalitis in the Kirov region. *Infektsionnye bolezni = Infectious Diseases*, 2015, Vol. 13, no. 1, pp. 46-52. (In Russ.)]
11. Максимов О.Д., Зайцева Г.А., Бутина Е.В., Загоскина Т.П., Федоровская Н.А., Копанева Т.Г. Распределение HLA-маркеров при хроническом лимфолейкозе // Гематология и трансфузиология, 2003. Т. 43, № 1. С. 19-22. [Maksimov O.D., Zaitseva G.A., Butina E.V., Zagorskina T.P., Fedorovskaya N.A., Kopaneva T.G. Distribution of HLA markers in chronic lymphocytic leukemia. *Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and Transfusiology*. 2003, Vol. 43, no. 1, pp. 19-22. (In Russ.)]
12. Ратникова Л.И., Тер-Багдасарян Л.В., Миронов И.Л. Современные представления о патогенезе клещевого энцефалита // Эпидемиология и инфекционные болезни, 2002. № 5. С. 41-46. [Ratnikova L.I., Ter-

- Baghdasaryan L.V., Mironov I.L. Modern ideas about the pathogenesis of tick-borne encephalitis. *Epidemiologiya i infekcionnye bolezni = Epidemiology and Infectious Diseases*, 2002, no. 5, pp. 41-46. (In Russ.)]
13. Соловьева А.С. Генетический контроль иммунного ответа // Бюллетень физиологии и патологии дыхания, 2014. № 51. С. 130-136. [Solovyova A.S. Genetic control of the immune response. *Byulleten fiziologii i patologii dykhaniya = Bulletin of Physiology and Pathology of Respiration*, 2014, Vol. 51, pp. 130-136. (In Russ.)]
14. Смольникова М.В., Коненков В.И. Клиническая иммуногенетика заболеваний человека // Медицинская иммунология, 2001. Т. 3, № 3. С. 379-389. [Smolnikova M.V., Konenkov V.I. Clinical immunogenetics of human diseases. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2001, Vol. 3, no. 3, pp. 379-389. (In Russ.)]
15. Суслова Е.В., Хлебникова Н.В., Суэтина И.Г., Иллек Я.Ю. Иммуногенетические параметры при атопическом дерматите у детей разного возраста // Вятский медицинский вестник, 2020. № 4 (68). С. 8-11. [Suslova E.V., Khlebnikova N.V., Suetina I.G., Illek Y.Yu. Immunogenetic parameters for atopic dermatitis in children of different ages. *Vyatskiy meditsinskij vestnik = Vyatka Medical Bulletin*, 2020, no. 4 (68), pp. 8-11. (In Russ.)]
16. Трошина Е.А., Юкина М.Ю., Нуралиева Н.Ф., Мокрышева Н.Г. Роль генов системы HLA: от аутоиммунный заболеваний до COVID-19 // Проблемы эндокринологии, 2020. Т. 66, № 4. С. 9-15. [Troshina E.A., Yukina M.Yu., Nuralieva N.F., Mokrysheva N.G. The role of HLA genes: from autoimmune diseases to COVID-19. *Problemy endokrinologii = Problems of Endocrinology*, 2020, Vol. 66, no. 4, pp. 9-15. (In Russ.)]
17. Черницына Л.О., Прокофьев В.Ф., Коненков В.И., Иерусалимский А.П. Иммуногенетические методы в прогнозе клинического течения клещевого энцефалита // Журнал невропатологии и психиатрии им. С.С. Корсакова, 1990. Т. 90, № 11. С. 38-43. [Chernitsyna L.O., Prokofiev V.F., Konenkov V.I., Jerusalemsky A.P. Immunogenetic methods in the prognosis of the clinical course of tick-borne encephalitis. *Zhurnal nevropatologii i psichiatrii im. S.S. Korsakova = Journal of Neuropathology and Psychiatry named after. S.S. Korsakov*, 1990, Vol. 90, no. 11, pp. 38-43. (In Russ.)]
18. Anzurez A., Naka I., Miki S., Nakayama-Hosoya K., Isshiki M., Watanabe Y., Nakamura-Hoshi M., Seki S., Matsumura T., Takano T., Onodera T., Adachi Y., Moriyama S., Terahara K., Tachikawa N., Yoshimura Y., Sasaki H., Horiuchi H., Miyata N., Miyazaki K., Koga M., Ikeuchi K., Nagai H., Saito M., Adachi E., Yotsuyanagi H., Kutsuna S., Kawashima A., Miyazato Y., Kinoshita N., Kouno C., Tanaka K., Takahashi Y., Suzuki T., Matano T., Ohashi J., Kawana-Tachikawa A. Association of HLA-DRB1*09:01 with severe COVID-19. *HLA*, 2021, Vol. 98, no. 1, pp. 37-42.
19. Atrashevskaia A.V., Ignat'yev G.M., Fredeking T.M. Changes in immune parameters and their correction in human cases of tick-borne encephalitis. *Clin. Exp. Immunol.*, 2003, Vo.131, no. 1, pp. 148-154.
20. Kovalchuka L., Eglite J., Zalite M. The frequency of HLA-DR alleles in patients with tick-borne disease from Latvia. *Res. J. Infect. Dis.*, 2014, Vol. 2, 4. doi: 10.7243/2052-5958-2-4.
21. Kovalchuka L., Eglite J., Lucenko I., Zalite M. Associations of HLA DR molecules with Lyme borreliosis in Latvian patients. *BMC Res. Notes*, 2012, no. 5, 438. doi: 10.1186/1756-0500-5-438.
22. Liu J., Wei H., Liu J., Peng L., Li G., Li M., Yang L., Jiang Y., Peng F. Analysis of the association of HLA subtypes with cryptococcal meningitis in HIV-negative immunocompetent patients. *Future Microbiol.*, 2022, Vol. 17, pp. 1231-1240.
23. Moutsianas L., Jostins L., Beecham A.H., Dilthey A.T., Xifara D.K., Ban M., Shah T.S., Patsopoulos N.A., Alfredsson L., Anderson C.A., Attfield K.E., Baranzini S.E., Barrett J., Binder T.M., Booth D., Buck D., Celius E.G., Cotsapas C., D'Alfonso S., Dendrou C.A., Donnelly P., Dubois B., Fontaine B., Fugger L., Goris A., Gourraud P. A., Graetz C., Hemmer B., Hillert J., International IBD Genetics Consortium (IBDGC), Kockum I., Leslie S., Lill C.M., Martinelli-Boneschi F., Oksenberg J.R., Olsson T., Oturai A., Saarela J., Søndergaard H.B., Spurkland A., Taylor B., Winkelmann J., Zipp F., Haines J.L., Pericak-Vance M.A., Spencer C.C., Stewart G., Hafler D.A., Ivinson A.J., Harbo H.F., Hauser S.L., De Jager P.L., Compston A., McCauley J.L., Sawcer S., McVean G. Class II HLA interactions modulate genetic risk for multiple sclerosis *Nat. Genet.*, 2015, Vol. 47, no. 10, pp. 1107-1113.
24. Nguyen A., David J.K., Maden S.K. Human leukocyte antigen susceptibility map for SARS-CoV-2. *J. Virol.*, 2020, Vol. 94, no. 13, e00510-20. doi: 10.1128/JVI.00510-20.

25. Smith K.J., Pyrdol J., Gauthier L., Wiley D.C., Wucherpfennig K.W. Crystal Structure of HLA-DR2 (DRA*0101, DRB1*1501) Complexed with a Peptide from Human Myelin Basic Protein. *J. Exp. Med.*, 1998, Vol. 188, no. 8, pp. 1511-1520.
26. Steer A.C., Falk B., Drouin E.E., Baxter-Lowe L.A., Hammer J., Nepom G.T. Binding of outer surface protein A and human lymphocyte function-associated antigen 1 peptides to HLA-DR molecules associated with antibiotic treatment-resistant Lyme arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2003, Vol. 48, no. 2, pp. 534-540.
27. Werner J., Rivera N., Grunewald J., Eklund A., Iseda T., Darlington P., Kullberg S. HLA-DRB1 alleles associate with hypercalcemia in sarcoidosis. *Respir. Med.*, 2021, Vol. 187, 106537. doi: 10.1016/j.rmed.2021.106537.

Авторы:

Любезнова О.Н. – к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Киров, Россия
Бондаренко А.Л. – д.м.н., профессор, заведующая кафедрой инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Киров, Россия

Authors:

Lyubeznova O.N., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Infectious Diseases, Kirov State Medical University, Kirov, Russian Federation

Bondarenko A.L., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Infectious Diseases, Kirov State Medical University, Kirov, Russian Federation

Поступила 07.06.2024
Отправлена на доработку 27.06.2024
Принята к печати 14.09.2024

Received 07.06.2024
Revision received 27.06.2024
Accepted 14.09.2024

ОЦЕНКА ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ СПОНТАННОЙ КРАПИВНИЦЕ

Аббас Халили¹, Фатиме Азади Талаб Давудабади¹, Бамдад Садеги²

¹ Университет медицинских наук Шахида Садуги, Йезд, Иран

² Тегеранский университет медицинских наук, Тегеран, Иран

Резюме. Хроническая крапивница имеет рекуррентное течение, характеризуется зудом, эритемой, отеками слизистых оболочек в течение большей части недели на протяжении 6 недель или более. Есть предположение о том, что уровни и состав липидов крови могут вносить вклад в развитие или обострение крапивницы. Целью данной работы было исследование связи между хронической крапивницей и липидным составом крови. 50 пациентов с хронической крапивницей и 50 здоровых лиц были включены в исследование типа «случай-контроль». У пациентов с крапивницей проводилась оценка каждого параметра липидного профиля крови и тяжести крапивницы в 4 отдельных возрастных группах с учетом половых различий. Степень тяжести заболевания анализировали в связи с уровнями липопротеинов высокой плотности, липопротеинов низкой плотности, триглицеридов и холестерина. Уровни триглицеридов ($p = 0,039$), общего холестерина ($p = 0,031$) и липопротеинов низкой плотности ($p = 0,001$) были значительно выше у больных с крапивницей, нежели в контрольной группе. Не выявлено корреляций между тяжестью крапивницы (по шкале UAS7), возрастом и полом пациентов. Тяжесть крапивницы не различалась при сопоставлении с отдельными параметрами липидного профиля. Показано, что средние значения липопротеинов высокой плотности у больных с хронической крапивницей различного возраста существенно повышены у женщин по сравнению с мужчинами ($p < 0,002$). В нашем исследовании обнаружена корреляция между наличием хронической крапивницы и гиерлипидемией. На основании этих данных можно рекомендовать исследование на гиперлипидемию у пациентов с хронической крапивницей.

Ключевые слова: гиперлипидемия, хроническая крапивница, липидный профиль сыворотки крови

EVALUATION OF LIPID PROFILES IN PATIENTS WITH CHRONIC SPONTANEOUS URTICARIA: A CASE-CONTROL STUDY

Abbas Khalili^a, Fatemeh Azadi Talab Davoudabadi^a, Bamdad Sadeghi^b

^a Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

^b University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract. Chronic urticaria is referred to recurrent, pruritic, erythematous, and edematous mucocutaneous lesions on most days of the week, and persists for six weeks or more. There is a hypothesis about the levels

Адрес для переписки:

Бамдад Садеги
Тегеранский университет медицинских наук
1419733151, Иран, Йезд, Центральная администрация,
площадь Бахонар.
Тел.: +98 21 66929234.
E-mail: International[at]ssu.ac.ir

Address for correspondence:

Bamdad Sadeghi
University of Medical Sciences
Yazd Central Administration,
Bahonar Square
1419733151 Iran
Phone: +98 21 66929234.
E-mail: International[at]ssu.ac.ir

Образец цитирования:

Аббас Халили, Фатиме Азади Талаб Давудабади, Бамдад Садеги «Оценка липидного профиля при хронической спонтанной крапивнице» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 329-334.
doi: 10.15789/1563-0625-EOL-2829

© Аббас Халили и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

Abbas Khalili, Fatemeh Azadi Talab Davoudabadi, Bamdad Sadeghi “Evaluation of lipid profiles in patients with chronic spontaneous urticaria: A case-control study”, Medical Immunology (Russia)/Meditinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 329-334.
doi: 10.15789/1563-0625-EOL-2829
© Abbas Khalili et al., 2025
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-EOL-2829

of blood lipid profiles in CSU, which may have a contributing role in development or exacerbation of hives attacks. The present study was conducted to investigate the association between chronic urticaria and blood lipid profiles. Fifty patients with chronic urticaria and fifty healthy people were included in this case-control study. In chronic urticaria patients, each parameters of blood lipid profile and urticaria severity were evaluated in each of four age and two sex categories. Urticaria severity in chronic urticaria patients, was also analyzed for levels of HDL, LDL, Triglyceride and Cholesterol. Levels of triglyceride (p value = 0.039), total cholesterol (p value = 0.031), and LDL (p value = 0.001) were significantly higher in chronic urticaria patients than in control group. No correlation was found between the urticaria severity (UAS7 score) average, and the age and sex of the patients. Urticaria severity showed no significant difference within each lipid profile parameter. Average values of lipid profiles in patients with chronic urticaria in different age and sex showed that HDL has remarkably higher mean quantitation in women than men (p < 0.002). Our study found a correlation between chronic urticaria with hyperlipidemia. According to this investigation, we can advise that patients with chronic urticaria should be evaluated for hyperlipidemia.

Keywords: hyperlipidemia, chronic urticaria, serum lipid profile

Introduction

Urticaria is characterized by pruritic, erythematous, and edematous mucocutaneous lesions. One of its most important characteristics is that these lesions wax and wane rapidly. Urticaria can be classified into two groups based on its time duration. Acute urticaria lasts less than six weeks and chronic urticaria referred to recurrent lesions on most days of the week that persists for six weeks or more [1, 2, 3]. Chronic urticaria may significantly alter the patient's quality of life and causes impairment of daily life activities. Chronic urticaria is estimated to exert influence on about 1.8% of the general population [5, 6], with a higher prevalence in middle-aged women [3].

While several factors regarding the pathogenesis of idiopathic CU were known to be responsible (e.g. stress, food allergies, and autoantibody production against immunoglobulin E (IgE) receptor [4]), the exact mechanism of chronic urticaria has not been understood yet. Some immunologic cells such as mast cells and basophil cells have the central pathophysiologic role, and Autoimmune mechanisms in mast cell activation are thought to trigger spontaneous urticaria [7, 8, 13]. As we know, chronic spontaneous urticaria is an inflammatory disease described with infiltration of T cells, neutrophils, eosinophils, and cutaneous mast cell degranulation; as well as increased levels of pro-inflammatory cytokines such as interleukin (IL)-6, tumor necrosis factor, matrix metalloproteinase (MMP)-9, and C-reactive protein (CRP) [10, 11, 12].

Some data are reported about previously coexistence of hyperlipidemia and metabolic syndrome in Chronic Urticaria [9]. Metabolic syndromes are the combination of dyslipidemia, obesity, high fasting blood sugar, and hypertension. Studies in which elevated levels of inflammatory markers such as IL-1, IL-6, TNF, and CRP illustrate pro-inflammatory states, are associated with metabolic syndromes [14, 15]. There is an imbalance between pro-inflammatory and anti-inflammatory adiponectin measures in

patients with chronic urticaria [16]. Adiponectin is a biomedical mediator secreted by adipose tissue. It is important for inflammation, energy homeostasis, and cell proliferation. Any adipose tissue dysfunction may lead to adverse tissue secretion, metabolic syndrome, and skin inflammation [17]. In one study, metabolic syndrome was more prominent in refractory chronic urticaria cases than in healthy controls [10]. Several studies showed association between dyslipidemia and allergic diseases, but the results were contradictory [18, 19, 20]. It can be hypothesized that the levels of blood lipid profiles may be associated with the development or exacerbation of hive attack. So, if there is a connection between them, it may be possible to prevent the occurrence or relief the severity of the disease by proper treatment of hyperlipidemia and change in a patient's diet. Therefore, because of insufficient data on relationship between lipid profiles and chronic urticaria, current study was conducted to clarify the possible association between chronic urticaria and blood lipid profiles.

Materials and methods

In a case-control study, Patients and control groups were randomly selected. Studied population were matched for sex and age in both case and control groups, and none of the participants was smoker, or with a $BMI > 25$, with a patent food or drug induced allergy or already diagnosed autoimmune disease. Those with underlying metabolic diseases such as obesity, hypothyroidism, rheumatologic disorders, and a history of hyperlipidemia were also excluded. Fifty patients with the diagnosis of chronic urticaria were enrolled in the study as case group from 2018 till 2020. Patients were diagnosed by a subspecialist in allergy and clinical immunology based on the definition of chronic urticaria according to standard European Academy of Allergology and Clinical Immunology/ the Global Allergy and Asthma European Network (EAACI/GA2LEN) guidelines [2] at their ambulatory care visits. The diagnosis of Chronic Urticaria was considered if the wheals last for 6 weeks or longer at

least 2 times a week and with unidentified underlying cause. patients' medical information was collected using a self-made questionnaire. Also, we determined atopic patients (atopic dermatitis, allergic rhinitis, or bronchial asthma) based on history and physical examination in both groups. The control group consisted of 50 healthy people without chronic urticaria who were matched with the case group in terms of age and gender.

The blood levels of triglyceride, total cholesterol, LDL and HDL were checked after 14 hours of fasting for both case and control groups.

The information from the two groups was compared with each other. Urticaria severity was evaluated based on the Urticaria Activity Scale questionnaire (UAS7) for patients. Patients were categorized as mild, moderate, and severe urticaria based on UAS7 score (mild = 0-15 wheals/24 hour, moderate = 16-27 wheals/24 hour, severe = 28-42 wheals/24 hour). People who did not want to enter the research project and did not complete the questionnaire were excluded from the study. The obtained information was entered in the SPSS version 21 software and analyzed with suitable statistical methods, including descriptive statistics methods (frequency indices and relative percentages) and appropriate statistical tests (chi-square test, independent T-test, and paired T-test). The significance level was considered at 0.05.

Results

In this study, the variation range of age in patients with chronic urticaria was 7-76 years. The average age was 33.36 ± 13.86 . Among these patients, 33 (66%) and 17 (34%) persons were female and male, respectively. Among the people with chronic urticaria, 21 people (42%) had a history of atopic disorders (atopic

dermatitis, allergic rhinitis, or asthma) compared to 5 people (10%) with a history of atopic diseases in the control group. Twenty-five people (50%) also had a history of angioedema with urticaria in the patients group. Results of the study showed that the mean severity of urticaria based on UAS7 criteria in patients with chronic urticaria is 23.42 with a standard deviation of 12.96. The average UAS7 score was higher in females than males (24.73 vs 20.88) but the association was not considerable (p value = 0.32). Moreover, there was no significant difference between age and severity of urticaria (p value = 0.312). Although the UAS7 score was higher in the 3rd and 5th decades of life (Table 1).

Among these patients, 18 (36%), 8 (16%) and 24 (48%) persons had mild, moderate, and severe urticaria respectively. The lipid profiles were compared in both groups; and levels of triglyceride, total cholesterol and LDL were significantly higher in case than control groups. HDL level was lower in chronic urticaria group than control, but it was not indicating for a significant relationship (Table 2).

In this study, we also evaluated lipid profile levels in patients with different urticaria severity. As it is shown in (Table 3).

The different levels of triglyceride, total cholesterol, LDL and HDL in different severity groups were not significant. No significant relationship was found between total cholesterol, triglyceride and LDL levels and the gender of patients with chronic urticaria. However, serum cholesterol levels were significantly higher in female patients (p value = 0.002). No significant relationship was seen comparing serum lipid profile in patients of different age groups (Table 4). It should be noted that the standard deviation in some categories is very high; this is due to the high dispersion of triglyceride levels in this study.

TABLE 1. SEVERITY OF CHRONIC URTICARIA IN AFFECTED PEOPLE ACCORDING TO GENDER AND AGE

Gender Age	USA7 score average	Number	p value
Male	20.88	17	0.320
Female	24.73	33	
< 20 years	17.2	8	
20-29 years	26.6	12	
30-39 years	22.2	21	
≥ 40 years	27.4	9	

TABLE 2. COMPARING THE LIPID PROFILES IN CASE AND CONTROL GROUPS

Lipid profiles	Patients with chronic urticaria	Control group	p value
Total cholesterol	179.34 ± 42.50	164.00 ± 25.56	0.031
Triglyceride	119.20 ± 80.85	94.32 ± 23.65	0.039
LDL	107.5 ± 25.3	81.68 ± 8.57	0.001
HDL	47.90 ± 12.01	50.06 ± 8.86	0.309

TABLE 3. AVERAGE OF LIPID PROFILES AND URTICARIA SEVERITY

Urticaria severity	Cholesterol level Mean±SD	Triglyceride level Mean±SD	LDL Mean±SD	HDL Mean±SD
Mild	168.27±33.90	112.11±50.50	101.35±26.04	48.00±10.11
Moderate	210.8±72.1	177.2±165.2	117.37±32.07	51.50±18.01
Severe	177.80±31.08	105.17±48.10	108.80±22.01	46.60±11.25
Total	179.34±42.50	119.2±80.8	107.5±25.3	47.90±12.01
p value	0.06	0.08	0.31	0.61

TABLE 4. AVERAGE VALUES OF LIPID PROFILES IN PATIENTS WITH CHRONIC URTICARIA AND THEIR RELATIONSHIP WITH AGE AND SEX

Age (year) Gender	Total cholesterol Mean±SD	Triglyceride Mean±SD	LDL Mean±SD	HDL Mean±SD
< 20	151.50±35.27	101.63±53.49	95.00±26.70	40.50±10.48
20-29	185.00±46.18	104.17±36.00	103.08±20.04	54.25±16.28
30-39	184.24±49.90	134.38±111.80	110.95±28.30	47.33±9.90
≥ 40	185.11±25.54	119.44±57.02	116.48±2082.00	47.33±7.81
p value	0.25	0.687	0.312	0.08
Female	179.7±37.6	110.76±50.03	107.48±26.12	51.61±12.60
Male	178.65±52.08	135.59±120.76	107.35±24.40	40.71±6.37
p value	0.93	0.3	0.99	0.002

Discussion

Chronic urticaria is a debilitating condition with important effects on quality of life. It is associated with anxiety, psychosocial disorders, depression, hypertensive diseases, lipid metabolism disorders, allergic rhinitis, and insomnia [21, 22]. Serum lipids and fatty acids may correlate with chronic urticaria. Unsaturated fatty acids (ω 3, ω 6) and lipid peroxidases are possible risk factors for the onset of chronic urticaria [23]. In our study, we investigated the association between chronic urticaria and dyslipidemia. Fifty patients with chronic urticaria were included in this study and compared with 50 in healthy individuals. We showed that hyperlipidemia (delineated as high cholesterol, LDL and triglyceride) is more frequent in chronic urticaria patients than healthy people. Similar with our research in the study of Maged Amin [24], forty patients with chronic urticaria and healthy individuals were included, and their results were compatible with our findings. All lipid profiles (total cholesterol, LDL, HDL, and triglyceride) in the case group had significant differences with the control group. In Maged Amin's study, Total cholesterol, LDL, and triglyceride levels were higher in patients group, and HDL level was higher in the healthy group [24]. In another nationwide survey by Chung [25], adult patients with chronic urticaria were compared with healthy individuals in one case-control study. They investigated the significance of the differences in demographic characteristics such as geographic region, atopic disorders, autoimmune

diseases, and urbanization levels between the two groups of patients. Based on their findings, 43.8% of patients in the case group and 28.4% in the control group had a prior diagnosis of hyperlipidemia. Patients with chronic urticaria had a 1.65-fold increased risk of having a diagnosis of prior hyperlipidemia [25]. They highlighted the need to evaluation of hyperlipidemia in chronic urticaria. They did not measure blood lipid profiles, and data had been achieved by history and prior registration. In our study, we measured serum lipid profiles in both groups and then compared them with each other. In addition, we evaluated the chronic urticaria severity score by the UAS7 questionnaire and compared it with serum lipid profiles in patients with chronic urticaria. Finally, there was no significant correlation between severity and serum lipid levels. With the comparison of urticaria severity score with sex and age, we did not find any significant relationship between them, although UAS7 was higher in female gender and the age group \geq 40 yrs. Among the chronic urticaria group, 21 people (42%) had a history of atopic diseases (allergic rhinitis, eczema, and bronchial asthma). There are conflicting findings about the correlation between chronic urticaria and atopic diseases. Inflammatory processes that occur in dyslipidemia, can induce an imbalance between anti and pro-inflammatory cytokines such as IL-10, IL-17, and IL-23 respectively [26, 27, 28]. The study of Manti and colleagues was performed on 23 children with dyslipidemia disorder, 26 children with dyslipidemia – atopy, and 22 healthy children. They detected serum pro-inflammatory cytokines (IL-17, IL-23), anti-

inflammatory cytokines, serum cholesterol (total cholesterol, HDL, LDL), and triglyceride levels affected by dyslipidemia or dyslipidemia-atopic conditions. Serum IL-10 level as anti-inflammatory mediator was significantly lower in the dyslipidemia-atopic group than in children showing exclusively dyslipidemia. But pro-inflammatory cytokines such as IL-17 and IL-23 were higher in dyslipidemia-atopic patients than in children showing exclusively dyslipidemia [20]. Hsien-Yi Chiu in one study investigated the association between chronic urticaria and atopic diseases (asthma, atopic dermatitis, allergic rhinitis) and some autoimmune disorders. There was the most strong association between Chronic Urticaria with Kawasaki disease (modified OR, 2.76: 95% CI 1.15-6.63) followed by Henoch-Schönlein purpura, atopic dermatitis, systemic lupus erythematosus, allergic rhinitis, autoimmune thyroid diseases, Sjögren syndrome, inflammatory bowel disease, and asthma with lower adjusted Odds Ratio, respectively [29]. Some literature have declared the role of serum LDL concentration in asthmatic patients but more studies are needed for definitive results [30]. In a systematic review on 3458 asthmatic patients in twenty studies compared with 29,146 healthy individuals, The levels of total cholesterol and LDL were significantly higher in the case group but there was no correlation between the case and control group

for HDL levels [31]. Takashi Kusunoki et al, evaluated the relationship between serum lipid levels and allergic sensitization. They suggested that hyperlipidemia probably is a risk factor for allergic sensitization, and early intervention in dietary regimen of children with atopia and allergy may be useful to prevent flare up of allergic disorders [19].

Conclusion

Several studies showed that abnormality in serum lipid profiles can induce many pro-allergic and pro-inflammatory mechanisms. As we know, chronic urticaria is an inflammatory condition with unknown etiology, so increased levels of serum lipid profiles may induce chronic urticaria or may affect the duration and severity of the disease. Our study alongside with some other studies, found a correlation between hyperlipidemia and chronic urticaria. According to this investigation, we can advise that patients with chronic urticaria should be evaluated for hyperlipidemia and some atopic diseases. On the other hand, prescription of anti-lipid agents aimed to control the symptoms of chronic urticaria can be hypothesized to be the subject for further studies. However, because of some limitations in the present study (for example a low number of cases and no measurement of an allergic and inflammatory mediator), we suggest more accurate and expanded research in this field.

References

1. Bracken S.J., Abraham S., MacLeod A.S. Autoimmune theories of chronic spontaneous urticaria. *Front Immunol.*, 2019, Vol. 10, 627. doi: 10.3389/fimmu.2019.00627.
2. Chiu H.Y., Muo C.H., Sung F.C. Associations of chronic urticaria with atopic and autoimmune comorbidities: a nationwide population-based study. *Int. J. Dermatol.*, 2018, Vol. 57, Iss. 7, pp. 822-829.
3. Chung S.D., Wang K.H., Tsai M.C., Lin H.C., Chen C.H. Hyperlipidemia is associated with chronic urticaria: a population-based study. *PLoS One*, 2016, Vol. 11, e0150304. doi: 10.1371/journal.pone.0150304.
4. Devaraj S., Rosenson R.S., Jialal I. Metabolic syndrome: an appraisal of the pro-inflammatory and procoagulant status. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.*, 2004, Vol. 33, Iss. 2, pp. 431-453.
5. Dobrican C.T., Muntean I.A., Pintea I., Petricău C., Deleanu D.M., Filip G.A. Immunological signature of chronic spontaneous urticaria (Review). *Exp. Ther. Med.*, 2022, Vol. 23, 381. doi: 10.3892/etm.2022.11309.
6. Dos Santos J.C., Azor M.H., Nojima V.Y., Lourenço F.D., Prearo E., Maruta C.W., Rivitti E.A., da Silva Duarte A., Sato M.N. Increased circulating pro-inflammatory cytokines and imbalanced regulatory T-cell cytokines production in chronic idiopathic urticaria. *Int. Immunopharmacol.*, 2008, Vol. 8, Iss. 10, pp. 1433-1440.
7. Hon K.L., Leung A.K.C., Ng W.G.G., Loo S.K. Chronic urticaria: an overview of treatment and recent patents. *Recent Pat. Inflamm. Allergy Drug. Discov.*, 2019, Vol. 13, Iss. 1, pp. 27-37.
8. Hu Y., Zhu Y., Lian N., Chen M., Bartke A., Yuan R. Metabolic syndrome and skin diseases. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, 2019, Vol. 10, 788. doi: 10.3389/fendo.2019.00788.
9. Kasperska-Zajac A., Sztylc J., Machura E., Jop G. Plasma IL-6 concentration correlates with clinical disease activity and serum C-reactive protein concentration in chronic urticaria patients. *Clin. Exp. Allergy*, 2011, Vol. 41, Iss. 10, pp. 1386-1391.
10. Kobayashi S. Investigation of the roles of the substances in serum lipids and their constitutive fatty acids in chronic urticaria. *J. Dermatol.*, 1989, Vol. 16, Iss. 3, pp. 196-206.
11. Kolkhir P., Muñoz M., Asero R., Ferrer M., Kocatürk E., Metz M., Xiang Y.K., Maurer M. Autoimmune chronic spontaneous urticaria. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2022, Vol. 149, Iss. 6, pp. 1819-1831.
12. Kolkhir P., Altrichter S., Munoz M., Hawro T., Maurer M. New treatments for chronic urticaria. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2020, Vol. 124, Iss. 1, pp. 2-12.
13. Kusunoki T., Morimoto T., Sakuma M., Mukaida K., Yasumi T., Nishikomori R., Fujii T., Heike T. Total and low-density lipoprotein cholesterol levels are associated with atopy in schoolchildren. *J. Pediatr.*, 2011, Vol. 158, Iss. 2, pp. 334-336.
14. Maged Amin M., Rushdy M. Hyperlipidemia in association with pro-inflammatory cytokines among chronic spontaneous urticaria: case-control study. *Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol.*, 2018, Vol. 50, no. 6, pp. 254-261.
15. Manti S., Leonardi S., Panasiti I., Arrigo T., Salpietro C., Cuppari C. Serum IL-10, IL-17 and IL-23 levels as "biomarker bridges" between dyslipidemia and atopy. *Cytokine*, 2017, Vol. 99, pp. 43-49.

16. Mocellin S., Panelli M.C., Wang E., Nagorsen D., Marincola F.M. The dual role of IL-10. *Trends Immunol.*, 2003, Vol. 24, Iss. 1, pp. 36-43.
17. Ryu H., Chung Y. Regulation of IL-17 in atherosclerosis and related autoimmunity. *Cytokine*, 2015, Vol. 74, Iss. 2, pp. 219-227.
18. Sánchez-Borges M., Asero R., Ansotegui I.J., Baiardini I., Bernstein J.A., Canonica G.W., Gower R., Kahn D.A., Kaplan A.P., Katelaris C., Maurer M., Park H.S., Potter P., Saini S., Tassinari P., Tedeschi A., Ye Y.M., Zuberbier T. WAO scientific and clinical issues council. Diagnosis and treatment of urticaria and angioedema: a worldwide perspective. *World Allergy Organ J.*, 2012, Vol. 5, Iss. 11, pp. 125-147.
19. Scichilone N., Rizzo M., Benfante A., Catania R., Giglio R.V., Nikolic D., Montalto G., Bellia V. Serum low density lipoprotein subclasses in asthma. *Respir. Med.*, 2013, Vol. 107, Iss. 12, pp. 1866-1872.
20. Shalom G., Magen E., Babaev M., Tiosano S., Vardy D.A., Linder D., Horev A., Saadia A., Comaneshter D., Agmon-Levin N., Cohen A.D. Chronic urticaria and the metabolic syndrome: a cross-sectional community-based study of 11 261 patients. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2018, Vol. 32, Iss. 2, pp. 276-281.
21. Su X., Ren Y., Li M., Zhao X., Kong L., Kang J. Association between lipid profile and the prevalence of asthma: a meta-analysis and systemic review. *Curr. Med. Res. Opin.*, 2018, Vol. 34, Iss. 3, pp. 423-433.
22. Tedeschi A., Asero R., Lorini M., Marzano A.V., Cugno M. Plasma levels of matrix metalloproteinase-9 in chronic urticaria patients correlate with disease severity and C-reactive protein but not with circulating histamine-releasing factors. *Clin. Exp. Allergy*, 2010, Vol. 40, Iss. 6, pp. 875-881.
23. Trakaki A., Marsche G. High-Density Lipoprotein (HDL) in allergy and skin diseases: focus on immunomodulating functions. *Biomedicines*, 2020, Vol. 8, Iss. 12, 558. doi: 10.3390/biomedicines8120558.
24. Trinh H.K., Pham D.L., Ban G.Y., Lee H.Y., Park H.S., Ye Y.M. Altered systemic adipokines in patients with chronic urticaria. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2016, Vol. 171, Iss. 2, pp. 102-110.
25. Wang E.A., Chan S.K. Chronic urticaria in children: an update on diagnosis and treatment. *Curr. Allergy Asthma Rep.*, 2020, Vol. 20, no. 8, 31.
26. Weller K., Maurer M., Bauer A., Wedi B., Wagner N., Schliemann S., Kramps T., Baeumer D., Multmeier J., Hillmann E., Staubach P. Epidemiology, comorbidities, and healthcare utilization of patients with chronic urticaria in Germany. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2022, Vol. 36, Iss. 1, pp. 91-99.
27. Ye Y.M., Jin H.J., Hwang E.K., Nam Y.H., Kim J.H., Shin Y.S., Park H.S. Co-existence of chronic urticaria and metabolic syndrome: clinical implications. *Acta Derm. Venereol.*, 2013, Vol. 93, no. 2, pp. 156-160.
28. Zenti M.G., Stefanutti C. Effects of selective H.E.L.P. LDL-apheresis on plasma inflammatory markers concentration in severe dyslipidemia: Implication for anti-inflammatory response. *Cytokine*, 2011, Vol. 56, Iss. 3, pp. 850-854.
29. Zhong H., Song Z., Chen W., Li H., He L., Gao T., Fang H., Guo Z., Xv J., Yu B., Gao X., Xie H., Gu H., Luo D., Chen X., Lei T., Gu J., Cheng B., Duan Y., Xv A., Zhu X., Hao F. Chronic urticaria in Chinese population: a hospital-based multicenter epidemiological study. *Allergy*, 2014, Vol. 69, Iss. 3, pp. 359-364.
30. Zuberbier T., Aberer W., Asero R., Abdul Latiff A.H., Baker D., Ballmer-Weber B., Bernstein J.A., Bindslev-Jensen C., Brzoza Z., Buense Bedrikow R., Canonica G.W., Church M.K., Craig T., Danilycheva I.V., Dressler C., Ensina L.F., Giménez-Arnau A., Godse K., Gonçalo M., Grattan C., Hebert J., Hide M., Kaplan A., Kapp A., Katelaris C.H., Kocatürk E., Kulthanan K., Larenas-Linnemann D., Leslie T.A., Magerl M., Mathelier-Fusade P., Meshkova R.Y., Metz M., Nast A., Nettis E., Oude-Elberink H., Rosumeck S., Saini S.S., Sánchez-Borges M., Schmid-Grendelmeier P., Staubach P., Sussman G., Toubi E., Vena G.A., Vestergaard C., Wedi B., Werner R.N., Zhao Z., Maurer M.; Endorsed by the following societies: AAAAI, AAD, AAII TO, ACAAI, AEDV, APAAACI, ASBAI, ASCIA, BAD, BSACI, CDA, CMICA, CSACI, DDG, DDS, DGAKI, DSA, DST, EAACI, EIAC, EDF, EMBRN, ESCD, GA²LEN, IAACI, IADVL, JDA, NVVA, MSAI, ÖGDV, PSA, RAACI, SBD, SFD, SGAI, SGDV, SIAAIC, SIDEmaST, SPDV, TSD, UNBB, UNEV and WAO. The EAACI/GA²LEN/EDF/WAO guideline for the definition, classification, diagnosis and management of urticaria. *Allergy*, 2018, Vol. 73, Iss. 7, pp. 1393-1414.
31. Zuberbier T., Balke M., Worm M., Edenharter G., Maurer M. Epidemiology of urticaria: a representative cross-sectional population survey. *Clin. Exp. Dermatol.*, 2010, Vol. 35, Iss. 8, pp. 869-873.

Авторы:

Аббас Халили – д.м.н., доцент Университета медицинских наук Шахида Садузи, отделение педиатрии, Больница Шахида Садузи, Университет медицинских наук Шахида Садузи, Йезд, Иран

Фатиме Азади Талаб Давудабади – д.м.н., врач общей практики, отделение педиатрии, Больница Шахида Садузи, Университет медицинских наук Шахида Садузи, Йезд, Иран

Бамдад Садеги – д.м.н., врач общей практики Исследовательского центра иммунодефицитов Детского медицинского центра, Тегеранский университет медицинских наук, Тегеран, Иран

Authors:

Abbas Khalili, MD, Associate Professor of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Department of Pediatrics, Shahid Sadoughi Hospital, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Fatemeh Azadi Talab Davoudabadi, MD, General Physician, Department of Pediatrics, Shahid Sadoughi Hospital, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Bamdad Sadeghi, MD, General Physician, Research Center for Immunodeficiencies, Children's Medical Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

ОЦЕНКА УРОВНЯ CD163 В МОЧЕ КАК БИОМАРКЕРА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ВОЛЧАНОЧНОГО НЕФРИТА

Эйсса Самар Ахмед¹, Кешк Рабаб Алаа Элдин², Ахмед Хебаталла Абд
Эльмаксуд¹, Салех Салли Али¹

¹ Университет Кафр-эль-Шейха, Кафр-эль-Шейх, Египет

² Университет Танта, Танта, Египет

Резюме. Цель работы – оценить мочевой CD163 как возможный биомаркер, указывающий на активность волчаночного нефрита (ВН). Проведено ретроспективное срезовое исследование в группе из 68 пациентов с диагнозом «системная красная волчанка» (СКВ) в течение 1 года, с учетом различных стадий волчаночного нефрита (ВН). Среди пациентов были 38 случаев с активным ВН, 15 – с историей ВН в неактивной фазе и 15 – без поражения почек. В исследовании использовали индекс SLEDAI для классификации активности заболевания, при этом активная ВН определялась по конкретным параметрам мочи. Биопсия почек проводилась у лиц с активной болезнью, в соответствии с установленными критериями классификации. Комплексная клиническая оценка включала анализы крови, уровни белка в моче и измерение мочевого sCD163 с помощью ИФА. При статистическом анализе применяли SPSS, используя различные тесты для сравнения групп и оценки взаимосвязи между уровнями sCD163 в моче и клиническими характеристиками, устанавливая достоверное различие при $p < 0,05$. Результаты исследования способствуют пониманию почечных проявлений при СКВ и потенциальной роли биомаркеров мочи в мониторинге прогрессии и активности заболевания. Были проанализированы лабораторные данные 68 участников с установлением корреляций между активным волчаночным нефритом (ВН), неактивным ВН и СКВ без поражения почек. Значимые корреляции ($p < 0,05$) наблюдались по содержанию CD163, C3, C4, уровням гемоглобина, тромбоцитов, сывороточного креатинина, протеинурии и азота мочевины, в то время как количество лейкоцитов, сывороточный альбумин и СОЭ не показали значимой корреляции. Примечательно, что 98,5% пациентов имели антитела к ds-ДНК. Уровни sCD163 в моче были самыми высокими у пациентов с активной ВН. Линейная регрессия показала, что сывороточный альбумин и СОЭ в значительной мере предсказывали уровни sCD163 в моче. Оптимальное пороговое значение для sCD163 в моче для прогнозирования почечной активности составило $> 4,2$ с чувствительностью 60,5% и специфичностью 66,7%. Однако уровни sCD163 не коррелировали с гистопатологией почек по принятой классификации. Внедрение определения sCD163 в моче в качестве биомаркера для оценки активности ЛН вместе с точной градацией по гистопатологическим классам нуждается в дальнейшей оценке. На данном этапе исследования sCD163 может быть хорошим показателем активности волчаночного нефрита. Однако sCD163 пока не может заменить биопсию почек при дифференциации ЛН по классам, поскольку она не обеспечивает достаточного понимания, необходимого для эффективного лечения ЛН.

Ключевые слова: системная красная волчанка, нефрит, CD163, биологический маркер

Адрес для переписки:

Эйсса Самар Ахмед
Университет Кафр-эль-Шейха
31511, Египет, Тавфик Гораба Сент-Танта-Эль-Гарбия.
Тел.: 02/1005892795.
E-mail: asamar74@med.kfs.edu.eg

Address for correspondence:

Eissa Samar Ahmed
Kafrelsheikh University
Tawfeek Ghoraba St-Tanta-El Gharbia
31511 Egypt
Phone: 02/1005892795.
E-mail: asamar74@med.kfs.edu.eg

Образец цитирования:

Эйсса Самар Ахмед, Кешк Рабаб Алаа Элдин, Ахмед Хебаталла Абд Эльмаксуд, Салех Салли Али «Оценка уровня CD163 в моче как биомаркера для диагностики волчаночного нефрита» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 335-342.
doi: 10.15789/1563-0625-EOU-3022

© Эйсса Самар Ахмед и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

Eissa Samar Ahmed, Keshk Rabab Alaa Eldin, Ahmed Hebatalla Abd Elmaksoud, Saleh Sally Ali “Evaluation of urinary CD163 level as a biomarker for the diagnosis of lupus nephritis”, Medical Immunology (Russia)/Meditinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 335-342.
doi: 10.15789/1563-0625-EOU-3022

© Eissa Samar Ahmed et al., 2025
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-EOU-3022

EVALUATION OF URINARY CD163 LEVEL AS A BIOMARKER FOR THE DIAGNOSIS OF LUPUS NEPHRITIS

Eissa Samar Ahmed^a, Keshk Rabab Alaa Eldin^b,
Ahmed Hebatalla Abd Elmaksoud^a, Saleh Sally Ali^a

^a Kafrelsheikh University, Kafr El-Sheikh, Egypt

^b Tanta University, Tanta, Egypt

Abstract. Aim of the work: to evaluate urinary CD163 as a possible biomarker indicating activity of lupus nephritis (LN). This retrospective, cross-sectional study evaluated 68 patients diagnosed with systemic lupus erythematosus (SLE) over a year, focusing on different states of lupus nephritis (LN). Participants included 38 with active LN, 15 with a history of LN in a non-active phase, and 15 without kidney involvement. The study utilized the SLEDAI index to classify disease activity, with active LN identified through specific urinary parameters. Renal biopsies were performed for those with active disease, following established classification criteria. Comprehensive assessments included blood tests, urinary protein levels, and measurement of urinary sCD163 using ELISA. Statistical analyses employed SPSS, utilizing various tests to compare groups and assess relationships between urinary sCD163 levels and clinical characteristics, establishing significance at $p < 0.05$. The findings contribute to the understanding of renal manifestations in SLE and the potential role of urinary biomarkers in monitoring disease progression and activity. Laboratory data from 68 participants were analyzed, focusing on correlations among active LN, inactive LN, and SLE without renal involvement. Significant correlations ($p < 0.05$) were observed in CD163, C3, C4, hemoglobin, platelets, serum creatinine, proteinuria, and BUN, while WBC count, serum albumin, and ESR showed no significant correlation. Notably, 98.5% of patients had positive anti-ds-DNA antibodies. Urinary sCD163 levels were highest in active LN patients. Linear regression showed that serum albumin and ESR significantly predicted urinary sCD163 levels. The optimal cut-off for urinary sCD163 to predict renal activity was > 4.2 , with 60.5% sensitivity and 66.7% specificity. However, sCD163 levels did not correlate with renal histopathological classifications. Integration of urinary sCD163 as a biological marker for evaluating the activity of LN together with accurately distinguishing between histopathological classes mostly needs to be further evaluated. To this point of the study, sCD163 can be a good indicator of LN activity, sCD163 still can't substitute for renal biopsy in differentiation of LN classes as it would not provide the comprehensive understanding necessary for effective management of LN.

Keywords: lupus, nephritis, CD163, biomarker

Introduction

Systemic lupus erythematosus (SLE) Perhaps one of the most well-known ongoing autoimmune diseases, influences several organs, including the kidney, hematological system, skin, and joints [4].

Lupus nephritis (LN) is a common progression in up to 60% of SLE patients, with contrasting degrees of renal damage up to 17% percent of LN cases will eventually develop end-stage renal disease (ESRD) [7]. Since renal contribution is a significant indicator of prognosis, so early recognition of renal contribution in SLE cases is crucial to prevent the progression of ESRD [3, 20].

Although renal biopsy is currently considered the most reliable method for diagnosing and categorizing LN, it has limitations. It is an invasive procedure that cannot be repeated frequently to monitor treatment response, and the small tissue sample obtained may not fully represent the overall extent of kidney damage [4]. In contrast, urine samples are easily obtainable and offer a non-invasive approach to monitoring LN [5]. Non-invasive urinary biomarkers have the potential to serve as an alternative for evaluating LN [5]. While

active sediments and proteinuria are commonly used as urine indicators of renal involvement, they have certain limitations [1]. For example, individuals with LN may have proteinuria, but the presence of leukocytes in the urine can indicate inflammation related to interstitial cystitis or urinary tract infection [5].

CD163 is a glycosylated transmembrane protein primarily expressed on tissue macrophages and subsets of circulating monocytes, as a scavenger receptor it is involved in hemoglobin clearance after hemolysis whether occurs in physiological or pathological scenarios [21]. It's considered a marker for M2 macrophages that have a beneficial role in resolving inflammation and aiding in injury recuperation [22].

Numerous glomerular disorders in humans, including diabetic nephropathy, ANCA-related vasculitis, post-streptococcal glomerulonephritis, and LN, are associated with CD163-positive macrophages [2]. Several systemic inflammatory conditions and autoimmune diseases are associated with increased CD163 levels in tissue as well as various body fluids according to the nature of the ongoing condition [8].

Peripheral blood serum and urinary CD163 amounts reflect the severity of the illness in cases of autoimmune disorders such as idiopathic inflammatory myositis, systemic sclerosis, and rheumatoid arthritis [19]. However, several investigations found a correlation between the severity of LN and urine-soluble CD163 [18].

The research aimed to survey whether urinary CD163 levels from cases suffering from LN could serve as a potential indicator of the disease's activity and to evaluate its ability to predict activity from active disease and even SLE patients without renal affection.

Material and methods

Patient selection and enrollment

We conducted a retrospective, cross-sectional study between March 1st, 2023, and February 1st, 2024. This study was carried out on 68 patients; 38 SLE with active LN, 15 participants with SLE who had previously experienced LN but were currently in a non-active state, and another 15 participants with SLE did not have any kidney inflammation. The participants were selected from both the outpatient clinic and the inpatient department of the Internal Medicine department in Tanta University Hospital; informed consent was taken from all patients included in the study. The study received approval from the ethics committees at both the Tanta and Kafr Elsheikh faculties of medicine. Before participation, all individuals were provided with a detailed explanation of the study's objectives and procedures, and informed consent was obtained from each participant involved in the study.

The systemic lupus international collaborating clinics (SLICC) classification criteria were used to diagnose systemic lupus erythematosus (SLE) and determine its activity. Clinical nephritis was suspected if the urine analysis revealed proteinuria exceeding 0.5 grams in a 24-hour urine collection, along with the presence of hematuria or cellular casts, with or without an increase in serum creatinine levels [24].

Exclusion criteria for the study included pregnant individuals, those with active infections, and individuals with other autoimmune diseases. The research received approval from the ethics committee at the Faculty of Medicine, Tanta University in Egypt.

Baseline assessments and measures

The assessment of disease activity in the study was carried out using the Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI) [6]. Specifically, the renal SLEDAI was employed to evaluate the activity of kidney disease. This scoring system consists of four parameters associated with the kidneys: hematuria, pyuria, proteinuria, and urinary casts, with each parameter assigned a score of 4. Based on the results of the renal SLEDAI, patients were categorized as follows: those with active LN if their renal SLEDAI score was greater than 4, and patients with no renal activity in their SLE if they exhibited inactive kid-

ney disease (renal SLEDAI = 0) during their clinic visit [6].

A total of 36 patients with active LN underwent renal biopsies, while patients with non-active LN and those without LN did not receive biopsies. The renal biopsies were classified according to the 2003 classification of LN established by the International Society of Nephrology and the Renal Pathology Society (ISN/RPS) [27].

All participants in this study underwent a series of procedures including taking their medical history, conducting a comprehensive clinical examination, and performing investigations at the Clinical Pathology Department in Kafr Elsheikh University Hospital. Venous blood samples were collected from each patient using strict aseptic measures. The collected blood samples were utilized to conduct a range of tests, which encompassed a complete blood count (CBC), assessment of serum albumin, serum creatinine, blood urea nitrogen (BUN), and erythrocyte sedimentation rate. Additionally, the blood samples were analyzed for diagnostic markers of lupus, including anti-ds-DNA antibodies and serum complement levels (C3 and C4). Furthermore, a 24-hour urine sample was collected from each participant to measure 24-hour urinary protein levels.

Assessment of sCD163 levels

To measure urinary sCD163 levels, mid-stream urine samples were collected from all participants using sterile containers. For patients with active LN, urine samples were collected on the same day as the renal biopsy. The urine samples were then subjected to centrifugation at 2000-3000 rpm for 20 minutes. After centrifugation, the supernatant was carefully removed, divided into smaller portions (aliquoted), and stored at temperatures between -20 to -80 degrees Celsius for subsequent assessment of sCD163.

The quantitative determination of human sCD163 in urine was performed using an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Kit from DL Sci & Tech Development Co., Ltd., China. The specific catalog number for the ELISA Kit used was DL-CD163-Hu.

Statistical analysis

The data were analyzed using the IBM Microsoft Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 22.0 software. The normality of quantitative data was assessed using Kolmogorov's test. Qualitative variables were presented using numbers and percentages, and the Monte Carlo exact test was employed for analysis when more than 20% of expected cell values were below 5. Numerical variables were reported as means and standard deviations or as medians with interquartile ranges (IQR). One-way ANOVA, Mann-Whitney U-test, and Kruskal-Wallis test were utilized to compare variables between groups. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was performed to determine the diagnostic ability of urinary sCD163 in predicting renal disease activity

in SLE patients. Univariate linear regression analysis was conducted to evaluate the impact of various socio-demographic and clinical characteristics on urinary sCD163 levels in SLE patients. A p-value of less than 0.05 was considered statistically significant.

Results

Demographic and laboratory data of the patients

Demographic and laboratory data including (CD163, C3, C4, hemoglobin, platelets, WBCs, serum albumin, serum creatinine, proteinuria, ESR, BUN, and The levels of anti-ds-DNA antibodies were compared among three groups: active LN, inactive LN, and patients without renal activity. The study consisted of 64 female and 4 male participants, with an average age of 37.73 years.

Significant correlation (p-value > 0.05) was found in CD163, C3, C4, hemoglobin, platelets, serum creatinine, proteinuria and BUN between the three groups, no significant correlation (p-value < 0.05) was found in WBCs count, serum albumin level nor ESR level

Out of 68 patients with SLE 67 (98.5%) patients had positive anti-ds-DNA; 38 of which were active

LN patients (100.0% of active LN patients), 14 Non-active LN patients (93.3% of Non-active LN patients) and the rest 15 were SLE without nephritis patients (100.0% of SLE without nephritis patients) (Table 1).

Levels of sCD163 among the three groups showed a highly significant correlation, Active LN showed the highest levels when compared to non-active LN and SLE without nephritis (Table 1, Figure 1).

Impact of socio-demographic and clinical characteristics on urinary sCD163 levels in patients with systemic lupus erythematosus

A linear regression model was employed to examine the impact of socio-demographic and clinical characteristics on urinary sCD163 levels in patients with systemic lupus erythematosus. This analysis aimed to determine the extent to which these variables influenced the levels of urinary sCD163. Serum albumin and ESR were the main significant predictors found in this model with p values of 0.004 and < 0.0001 respectively (Table 2).

The ability of urinary sCD136 to predict renal activity

The optimum cut-off value for urinary sCD136 to predict renal activity was > 4.2 with a sensitivity of 60.5%, specificity of 66.7, the area under the curve

TABLE 1. CLINICAL CHARACTERISTICS OF SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS PATIENTS WITH AND WITHOUT ACTIVE RENAL DISEASE

Clinical characteristics variables		All SLE (n = 68)	Active LN (n = 38)	Non-active LN (n = 15)	SLE without nephritis (n = 15)	p-value
Age (years)		37.73±12.37	36.89±14.19	40.73±8.53	36.86±10.73	0.421
Sex	Male	4 (5.9%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	4 (26.7%)	0.003*
	Female	64 (94.1%)	38 (100.0%)	15 (100.0%)	11 (73.3%)	
CD163 level (ng/mL)			5.38 (1.87-10.48)	4.8 (3.5-7.7)	1.1 (0.9-1.6)	< 0.0001*
Complement C3 (mg/dL)		24.0 (12.0-110.0)	18.0 (10.0-23.25)	114.0 (110.0-148.2)	102.5 (30.0-134.2)	< 0.0001*
Complement C4 (mg/dL)		14.0 (12.00-22.25)	14.0 (12.0-17.5)	23.5 (15.0-33.0)	13.5 (8.0-18.5)	0.013*
Haemoglobin (g/dL)		3.9 (1.4-5.9)	9.0 (8.3-10.0)	10.0 (9.0-13.0)	9.5 (8.5-11.0)	0.005*
Platelets (× 103/µL)		165.0 (150.0-189.0)	186.0 (158.0-210.0)	165.0 (150.0-175.0)	156.0 (125.0-175.0)	0.040*
WBCs (× 103/µL)		4.8 (4.1-6.4)	4.2 (3.7-5.4)	6.1 (4.3-6.4)	6.9 (3.1-8.3)	0.076
Serum Albumin (gm/dL)		4.0 (3.5-5.0)	3.5 (2.4-7.5)	4.0 (4.0-4.5)	4.5 (3.5-5.0)	0.408
Serum Creatinine (mg/L)		1.5 (0.9-1.9)	1.8 (1.5-2.6)	1.2 (0.9-1.6)	0.9 (0.8-0.9)	< 0.0001*
Proteinuria (g/24 h)		1.3 (0.4-4.0)	2.9 (1.8-4.8)	0.6 (0.4-1.0)	0.2 (0.1-0.2)	< 0.0001*
ESR (mm/1 st h)		110.0 (100.0-110.0)	110.0 (107.0-110.0)	100.0 (10.0-115.0)	100.0 (90.0-110.0)	0.194
BUN (mg/dL)		65.0 (65.0-98.7)	65.0 (65.0-110.0)	65 (65)	65.0 (19.0-65.0)	< 0.0001*
+ ve anti ds-DNA		67 (98.5%)	38 (100.0%)	14 (93.3%)	15 (100.0%)	0.138

Note. *, significant. Values are presented as number (%), median (IQR) and mean±SD. SLE, systemic lupus erythematosus; ALN, active lupus nephritis; ILN, inactive lupus nephritis; NRA, no-renal activity; RBCs, red blood cells; WBCs, white blood cells; ESR, erythrocyte sedimentation rate; BUN, blood urea nitrogen; Anti-dsDNA antibody, anti-double stranded deoxyribonucleic acid antibody.

TABLE 2. COMPARISON OF URINARY sCD163 LEVELS WITH PATHOLOGICAL CLASSIFICATION OF RENAL BIOPSY IN ACTIVE LUPUS NEPHRITIS PATIENTS

Clinical characteristics variables		Univariate regression analysis	
		B (95% CI)	p-value
Age (years)		-0.11 (-0.54-0.31)	0.588
Sex	Female	8.49 (-13.92-30.90)	0.452
	Male	—	—
Complement C3 (mg/dL)		-0.07 (-0.17-0.03)	0.185
Complement C4 (mg/dL)		-0.08 (-0.23-0.07)	0.290
Haemoglobin (g/dL)		-0.09 (-3.37-3.18)	0.953
Platelets ($\times 10^3/\mu\text{L}$)		0.02 (-0.05-0.10)	0.580
WBCs ($\times 10^3/\mu\text{L}$)		-0.43 (-2.18-1.31)	0.619
Serum Albumin (gm/dL)		4.33 (1.45-7.22)	0.004*
Serum Creatinine (mg/dL)		1.34 (-4.64-7.34)	0.655
Proteinuria (g/24 h)		0.46 (-1.94-2.86)	0.703
ESR (mm/1 st h)		-0.51 (-0.69 - -0.33)	< 0.0001*
BUN (mg/dL)		0.19 (-0.01-0.38)	0.051
+ ve anti-ds-DNA		7.97 (-35.98-51.93)	0.718

Note. Values are presented as median (IQR). LN, lupus nephritis; ALN, active lupus nephritis; ILN, inactive lupus nephritis.

TABLE 3. LINEAR REGRESSION MODEL FOR SOCIODEMOGRAPHIC AND CLINICAL CHARACTERISTICS AFFECTING URINARY sCD163 LEVELS IN SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS PATIENTS

Renal biopsy LN class in ... patients	Urinary sCD163 Median (IQR)
	Active LN (n = 36)
class III (n = 19)	5.3 (1.4-5.4)
class IV (n = 28)	10.4 (1.8-11.1)
class V (n = 1)	2.7
p-value	0.211

Note. *, significant. RBCs, red blood cells; WBCs, white blood cells; ESR, erythrocyte sedimentation rate; BUN, blood urea nitrogen; Anti-dsDNA antibody, anti-double stranded deoxyribonucleic acid antibody.

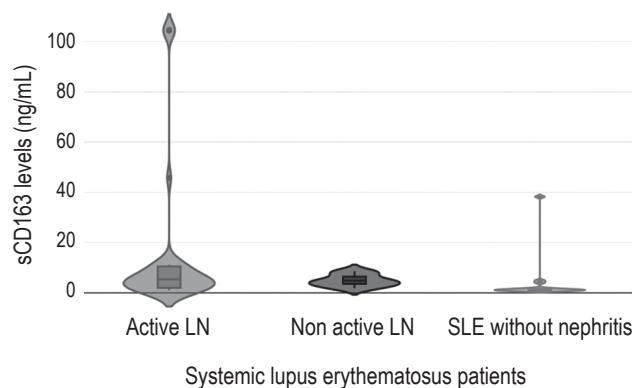


Figure 1. Violin plot for normalized urinary sCD163 levels in systemic lupus erythematosus patients

Note. LN, lupus nephritis; SLE, systemic lupus erythematosus.

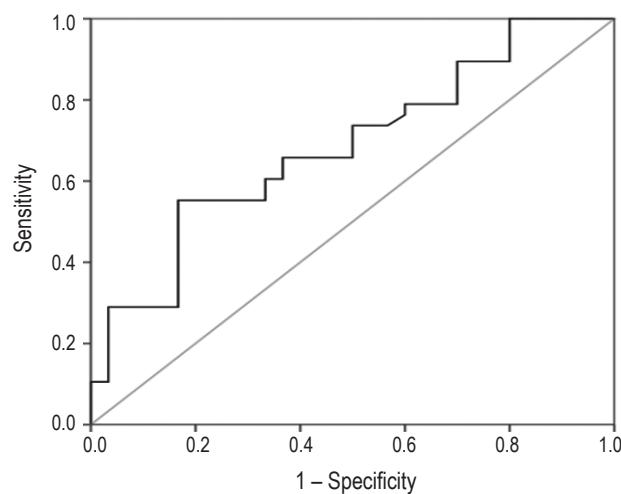


Figure 2. Receiver operating characteristic (ROC) curves for prediction active lupus nephritis by urinary sCD163 level

Note. The optimum cut-off value for urinary sCD163 to predict renal activity was > 4.2 with sensitivity 60.5%, specificity 66.7, area under the curve (AUC) 0.685, 95% confidence interval (CI) (0.558-0.811), p = 0.009.

(AUC) 0.685, 95% confidence interval (CI) (0.558-0.811), p = 0.009 (Figure 2).

sCD163 levels among different renal histopathological classes

When comparing sCD163 levels among different renal histopathological classes no significant correlation was found (p-value 0.211). Levels of sCD163 couldn't substitute renal biopsy in histopathological classification (Table 3).

Discussion

Adequately diagnosing active LN is the first step in proper control. Finding a biomarker with accepted sensitivity and specificity is a precious aim especially if this marker needs a non-invasive procedure to be evaluated and is easily estimated. Urinary biomarkers which may have more specific targeting of renal

affection compared with systemic ones are the main aim [26].

CD163 is a protein that acts as an indicator for the M2 phenotype of macrophages, being primarily found on their surfaces. It belongs to the scavenger receptor cysteine-rich (SRCR) superfamily and plays a crucial role in regulating inflammation and immune responses. The levels of urinary CD163 can be influenced by the proteolytic cleavage of these receptors, which occurs as a result of M2 macrophage activation [8, 15].

The main function of CD163 can be summarized as targeting apoptotic cells for removal and preventing the release of self-antigens that could trigger an autoimmune response. In cases of LN, the impaired clearance of apoptotic cells leads to the accumulation of self-antigens in the kidneys, which in turn stimulates the immune response [14, 17, 23]. CD163 expression is often upregulated in the presence of infection inflammation, or tissue injury, making it a useful marker for certain pathological conditions [25]. Macrophages have been implicated in the development and progression of Systemic Lupus Erythematosus (SLE).

Two main subtypes of macrophages, namely the classically activated inflammatory M1 macrophages and the alternatively activated M2 macrophages, have been identified. M2 macrophages exhibit pro-fibrotic, immune-regulatory, remodeling, and anti-inflammatory effects. G. Olmes et al. [23] conducted a study and found a higher presence of M2 macrophages and a lower presence of M1 macrophages across all classes of LN. These findings suggest that M2 macrophages may play a significant role in driving or regulating interstitial inflammation, cellular crescent formation, and fibrinoid necrosis, which are characteristic features of LN [11, 19]. Therefore, CD163⁺ M2 macrophages are believed to be the predominant type of macrophage infiltrates in cases of LN.

In this study, the levels of urinary sCD163 were found to be significantly higher in patients with active LN compared to those with non-active LN, as well as in both LN groups compared to individuals with Systemic Lupus Erythematosus (SLE) but without nephritis. These findings align with the results reported by J.M. Mejia-Vilet et al. [19] and R. Gupta et al. [11]. The elevated levels of urinary sCD163 in active LN may be attributed to the local activation of M2 macrophages within the kidneys, leading to the production and release of sCD163 into the urine through proteolysis [8].

Regarding the prediction of renal activity, this study determined that a cutoff value of > 4.2 ng/mL for urinary sCD163 had a sensitivity of 60.5% and specificity of 66.7%. In contrast, N.M. Gamal et al. [10] obtained a higher sensitivity of 90.3% and specificity of 88.89% with a cutoff value of > 0.82 (U/mL/mg/dL). J.M. Mejia-Vilet et al. [19], on the

other hand, identified a cutoff value of > 130 ng/mmol with a sensitivity of 97% and specificity of 94%. The variations in sensitivity and specificity among these studies may be attributed to differences in disease prevalence and patient populations, as these factors can influence the prevalence, sensitivity, and specificity of the diagnostic test [13].

Urinary sCD163 in this study showed a significant correlation with renal SLEDAI in predicting renal activity p value 0.009. This agrees with other studies that reported that urinary sCD163 has a significant role in predicting renal activity [11, 30].

When comparing results obtained regarding the capability of urinary CD163 levels to predict proliferative LN to other studies mentioning this point, our study disagrees with the majority in proposing a significant correlation [9, 11, 30].

In this study, a significant correlation was found between urinary sCD163 and serum albumin levels. This finding aligns with the results reported by N.M. Gamal et al. [10]. The correlation may be attributed to the fact that low levels of albumin are indicative of kidney injury. Additionally, the acute-phase response, which occurs during systemic inflammation, can affect albumin levels. Serum albumin is considered a negative acute-phase reactant, and its levels tend to decrease in response to inflammation [29]. A.A. Zeraati et al. [29] also found that lower albumin levels are significantly associated with higher disease activity in lupus. Furthermore, this study revealed a significant correlation between urinary sCD163 and erythrocyte sedimentation rate (ESR). This finding is consistent with the findings of Y.J. Huang et al. [12]. The elevation of ESR is commonly observed in inflammatory conditions, including autoimmune diseases. In patients with Systemic Lupus Erythematosus (SLE), higher ESR levels are often detected compared to C-reactive protein (CRP) levels. ESR elevations have also been strongly linked to disease exacerbations in SLE [16].

However, in contrast to the findings of Y.J. Huang et al. and J.M. Mejia-Vilet et al., this study did not find a significant relationship between urinary sCD163 and the presence of anti-ds-DNA antibodies [10, 12]. This can be explained by the fact that LN is initiated by the deposition of immune complexes containing anti-dsDNA antibodies in the kidney. However, the presence of immune complexes alone is not sufficient to induce renal injury, as additional immunological events are required to trigger kidney inflammation and damage [12].

In this study, no significant correlation was observed between urinary sCD163 and serum C4 levels. These findings are consistent with the results reported by N.M. Gamal et al. and Y.J. Huang et al., who also found no correlation between urinary sCD163 and C4 levels [19, 24]. Additionally, this study found no significant correlation between urinary sCD163 and serum C3 levels. This result

aligns with the findings of N.M. Gamal et al. [10] but differs from the observations made by T. Zhang et al. [30] and Y.J. Huang et al. [12] who reported a correlation between urinary sCD163 and C3 levels. The complex and intricate role of the complement system in the pathophysiology of LN contributes to this lack of consistent correlation. The complement system involves multiple activation pathways, numerous regulators, and genetic variations, making it challenging to establish a clear relationship. The complement system exhibits contradictory roles in LN, as it seems to play a protective role in preventing lupus initiation and disease activity through the classical pathway, while also contributing to tissue damage associated with LN [7].

The levels of urinary sCD163 showed variation across different pathological classes of active LN in patients who underwent renal biopsy, although this variation was not found to be statistically significant. This finding is consistent with the results reported by R. Gupta et al. [11] and N.M. Gamal et al. [10]. However, T. Zhang et al. observed a significant elevation of urinary sCD163 specifically in patients with proliferative LN [30]. This discrepancy in findings could be attributed to the fact that uCD163 is not specific to LN and its levels can be elevated

in several other glomerular diseases. Consequently, uCD163 may be useful in identifying the inflammatory activity in LN, but only if other glomerular diseases are excluded [19].

To conclude CD163 is a promising biomarker for the diagnosis of active LN. Studies have shown that levels of soluble CD163 (sCD163) in the blood and urine are significantly elevated in patients with active LN compared to those with inactive disease or healthy controls.

Measuring sCD163 can help distinguish active from inactive LN, which is critical for guiding treatment decisions. Elevated sCD163 has shown good sensitivity and specificity for detecting active nephritis flares. It may also correlate with other markers of disease activity and could be used to monitor response to therapy.

Conclusion

Further research is needed to fully validate the clinical utility of sCD163 testing. However, the current evidence suggests it is a useful noninvasive biomarker that can complement other tests like kidney biopsies in the diagnosis and management of LN. Incorporating sCD163 measurement into the standard workup for these patients has the potential to improve outcomes.

References

1. Alvarado A.S., Malvar A., Lococo B., Alberton V., Toniolo F., Nagaraja H.N., Rovin B.H. The value of repeat kidney biopsy in quiescent Argentinian lupus nephritis patients. *Lupus*, 2014, Vol. 23, Iss. 8, pp. 840-847.
2. Arai M., Mii A., Kashiwagi T., Shimizu A., Sakai Y. The severity of glomerular endothelial cell injury is associated with infiltrating macrophage heterogeneity in endocapillary proliferative glomerulonephritis. *Sci. Rep.*, 2017, Vol. 7, pp. 541-566.
3. Bajema I.M., Wilhelmus S., Alpers C.E., Bruijn J.A., Colvin R.B., Cook H.T., D'Agati V.D., Ferrario F., Haas M., Jennette J.C., Joh K., Nast C.C., Noël L.H., Rijnink E.C., Roberts I.S.D., Seshan S.V., Sethi S., Fogo A.B. Revision of the International Society of Nephrology/Renal Pathology Society classification for lupus nephritis: Clarification of definitions, and modified National Institutes of Health activity and chronicity indices. *Kidney Int.*, 2018, Vol. 93, Iss. 4, pp. 789-796.
4. Belendiuk K.A., Trinh H., Cascino M. D., Dragone L., Keebler D., Garg J. Lupus nephritis is associated with increased rates of hospitalization and in-hospital mortality compared with non-renal lupus and matched controls: An analysis of insurance claims data. *Ann. Rheum. Dis.*, 2017, Vol. 76, pp. 593-594.
5. Birmingham D.J., Merchant M., Waikar S.S., Nagaraja H., Klein J.B., Rovin B.H. Biomarkers of lupus nephritis histology and flare: Deciphering the relevant amidst the noise. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2017, Vol. 32, Suppl. 1, pp. i71-i79.
6. Bombardier C., Gladman D.F., Urowitz M.B., Caron D., Chang C.H. Derivation of SLEDAI: A disease activity index for lupus patients. *Arthritis Rheum.*, 1995, Vol. 35, no. 6, pp. 630-640.
7. Cameron J.S. Lupus nephritis. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 1999, Vol. 10, Iss. 2, pp. 413-424.
8. Endo N., Tsuboi N., Furuhashi K., Shi Y., Du Q., Abe T., Matsuda S., Yamada Y., Kato K., Nishihara K. Urinary soluble CD163 level reflects glomerular inflammation in human lupus nephritis. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2016, Vol. 31, Iss. 12, pp. 2023-2033.
9. Fava A., Buyon J., Mohan C., Zhang T., Belmont H.M., Izmirly P., Petri M. Integrated urine proteomics and renal single-cell genomics identify an IFN- γ response gradient in lupus nephritis. *JCI Insight*, 2020, Vol. 5, Iss. 1, e138345. doi: 10.1172/jci.insight.138345.
10. Gamal N.M., Badawy E.R., Talaat E.A., Ibrahim H.M., Abd Elsamea M.H. Clinical utility of urinary soluble CD163 in evaluation of lupus nephritis patients. *Egypt. Rheumatol.*, 2022, Vol. 44, Iss. 2, pp. 151-157.
11. Gupta R., Yadav A., Aggarwal A. Urinary soluble CD163 is a good biomarker for renal disease activity in lupus nephritis. *Clin. Rheumatol.*, 2021, Vol. 40, pp. 941-948.
12. Huang Y.J., Lin C.H., Yang H.Y., Luo S.F., Kuo C.F. Urine soluble CD163 is a promising biomarker for the diagnosis and evaluation of lupus nephritis. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 935700. doi: 10.3389/fimmu.2022.935700.
13. Leeflang M.M., Rutjes A.W., Reitsma J.B., Hooft L., Bossuyt P.M. Variation of a test's sensitivity and specificity with disease prevalence. *CMAJ*, 2013, Vol. 185, Iss. 11, pp. E537-E544.

14. Li F., Yang Y., Zhu X., Huang L., Xu J. Macrophage polarization modulates development of systemic lupus erythematosus. *Cell Physiol. Biochem.*, 2015, Vol. 37, Iss. 4, pp. 1279-1288.
15. Li J., Liu C.H., Xu D.L., Gao B. Significance of CD163-positive macrophages in proliferative glomerulonephritis. *Am. J. Med. Sci.*, 2015, Vol. 350, Iss. 4, pp. 387-392.
16. Littlejohn E., Marder W., Lewis E., Francis S., Jackish J., McCune W.J., Somers E.C. The ratio of erythrocyte sedimentation rate to C-reactive protein is useful in distinguishing infection from flare in systemic lupus erythematosus patients presenting with fever. *Lupus*, 2018, Vol. 27, Iss. 9, pp. 1123-1129.
17. Lu J., Cao Q., Zheng D., Sun Y., Wang C., Yu X. Discrete functions of M2a and M2c macrophage subsets determine their relative efficacy in treating chronic kidney disease. *Kidney Int.*, 2013, Vol. 84, Iss. 4, pp. 745-755.
18. Matsushita T., Takehara K. Soluble CD163 is a potential biomarker in systemic sclerosis. *Expert Rev. Mol. Diagn.*, 2019, Vol. 19, Iss. 3, pp. 197-199.
19. Mejia-Vilet J.M., Zhang X.L., Cruz C., Cano-Verduzco M.L., Shapiro J.P., Nagaraja H.N., Rovin B.H. Urinary soluble CD163: A novel noninvasive biomarker of activity for lupus nephritis. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2020, Vol. 31, Iss. 6, pp. 1335-1347.
20. Mojzik C.F., Kuppel J.H. End-stage renal disease and systemic lupus erythematosus. *Am. J. Med.*, 1996, Vol. 100, Iss. 1, pp. 100-107.
21. Møller H.J. Soluble CD163. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 2012, Vol. 72, Iss. 1, pp. 1-13.
22. Murray P.J. Macrophage polarization. *Annu. Rev. Physiol.*, 2017, Vol. 79, pp. 541-566.
23. Olmes G., Büttner-Herold M., Ferrazzi F., Distel L., Amann K., Daniel C. CD163 M2c-like macrophages predominate in renal biopsies from patients with lupus nephritis. *Arthritis Res. Ther.*, 2016, Vol. 18, 90. doi: 10.1186/s13075-016-0987-4.
24. Petri M., Orbai A.M., Alarcon G.S., Gordon C., Merrill J.T., Fortin P.R., Zoma A.V. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 2012, Vol. 64, no. 8, pp. 2677-2686.
25. Skytthe M.K., Graversen J.H., Moestrup S.K. Targeting of CD163⁺ macrophages in inflammatory and malignant diseases. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, Vol. 21, Iss. 15, 5497. doi: 10.3390/ijms21155497.
26. Stanley S., Mok C., Vanarsa K., Habazi D., Li J., Pedroza C.R., Gidley G. Identification of low-abundance urinary biomarkers in lupus nephritis using electrochemiluminescence immunoassays. *Arthritis Rheumatol.*, 2019, Vol. 71, Iss. 5, pp. 744-755.
27. Weening J.J., D'Agati V.D., Schwartz M.M., Seshan S.V., Alpers C.E., Appel G.B. Classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2004, Vol. 15, Iss. 1, pp. 241-250.
28. Yung S., Chan T.M. Mechanisms of kidney injury in lupus nephritis – The role of anti-dsDNA antibodies. *Front. Immunol.*, 2015, Vol. 6, 475. doi: 10.3389/fimmu.2015.00475.
29. Zeraati A. A., Shariati Z., Masinaee M., Azarfar A., Samadi K., Moradi E., Zeraati D. Correlation of systemic lupus erythematosus disease activity (SLEDAI) with serum level of albumin in lupus patients. *Immunopathol. Persa*, 2022, e24255. doi: 10.34172/ipp.2022.24255.
30. Zhang T., Li H., Vanarsa K., Gidley G., Mok C.C., Petri M., Rovin B.H. Association of urine sCD163 with proliferative lupus nephritis, fibrinoid necrosis, cellular crescents, and intrarenal M2 macrophages. *Front. Immunol.*, 2020, Vol. 11, 671. doi: 10.3389/fimmu.2020.00671.

Авторы:

Эйса Самар Ахмед – д.м.н., преподаватель медицинской микробиологии и иммунологии, кафедра медицинской микробиологии и иммунологии медицинского факультета, Университет Кафр-эль-Шейха, Кафр-эль-Шейх, Египет

Кешк Рабаб Алаа Элдин – д.м.н., преподаватель внутренней медицины, отделение нефрологии внутренних болезней медицинского факультета, Университет Танта, Танта, Египет

Ахмед Хебаталла Абд Эльмаксуд – д.м.н., преподаватель общественного здравоохранения и общественной медицины, кафедра общественного здравоохранения и общественной медицины, Университет Кафр-эль-Шейха, Кафр-эль-Шейх, Египет

Салех Салих Али – д.м.н., преподаватель медицинской микробиологии и иммунологии, кафедра медицинской микробиологии и иммунологии, Университет Кафр-эль-Шейха, Кафр-эль-Шейх, Египет

Поступила 14.06.2024
Принята к печати 14.09.2024

Authors:

Eissa Samar Ahmed, PhD, MD (Medicine), Lecturer of Medical Microbiology and Immunology, Department of Medical Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Kafrelsheikh University, Kafr El-Sheikh, Egypt

Keshk Rabab Alaa Eldin, PhD, MD (Medicine), Lecturer of Internal Medicine, Department of Internal Medicine Nephrology Unit, Faculty of Medicine, Tanta University, Tanta, Egypt

Ahmed Hebatalla Abd Elmaksoud, PhD, MD (Medicine), Lecturer of Public Health and Community Medicine, Department of Public Health and Community Medicine, Faculty of Medicine, Kafrelsheikh University, Kafr El-Sheikh, Egypt

Saleh Sally Ali, PhD, MD (Medicine), Lecturer of Medical Microbiology and Immunology, Department of Medical Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Kafrelsheikh University, Kafr El-Sheikh, Egypt

Received 14.06.2024
Accepted 14.09.2024

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ У ШКОЛЬНИКОВ С ГАСТРИТОМ ПРИ СЕМЕЙНОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ

Поливанова Т.В.^{1,2}, Вшивков В.А.¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера – обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр “Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук”, г. Красноярск, Россия

² ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого», г. Красноярск, Россия

Резюме. Во многих исследованиях показана ассоциация проявлений гастрита с уровнем содержания конкретных цитокинов. Причем нередко наблюдаются достаточно противоречивые данные. Не изученным в возрастных группах детей является вопрос о связи гастрита и содержания цитокинов крови при наличии семейной предрасположенности к язвенной болезни, которая, как известно, сопряжена с неблагоприятным течением воспалительного процесса в слизистой оболочке желудка.

Цель – оценить ассоциацию цитокинов в сыворотке крови (IL-2, IL-4, IL-8, IL-18, IL-1 β , IFN α , TNF α) с гастритом в возрастных группах школьников при семейной предрасположенности к язвенной болезни.

Проведена эзофагогастроудоноскопия с забором биопсийного материала из слизистой желудка детям с гастроэнтерологическими жалобами в возрасте 7-17 лет. Всего обследовано 143 ребенка с морфологическим подтверждением у них гастрита (Сиднейская классификация). Также определено наличие *H. pylori* морфологическим методом. Уровень цитокинов сыворотки крови установлен методом ИФА. Различия признаков оценивали с помощью критерия Манна–Уитни.

В ходе исследования установлено, что у школьников с гастритом наличие семейной предрасположенности к язвенной болезни сопряжено с увеличением содержания IFN α в крови, как в старшей возрастной группе ($p = 0,001$), так и в младшей ($p = 0,023$). При этом между детьми с семейным отягощением в возрастных группах школьников различий содержания IFN α не было. Кроме того, у старших школьников с отягощением, в отличие от младших, отмечено увеличение уровня IL-2 ($p = 0,001$) и IL-4 ($p = 0,015$). У детей с семейной предрасположенностью к язвенной болезни при инфицировании *H. pylori* различия содержания цитокинов в зависимости от возраста отсутствовали. Отмечено, что при высокой степени активности (2-3-я степень) гастрита различий содержания цитокинов у школьников младшей и старшей возрастных групп не было. Исключение составило содержание IL-4, который был выше у старших школьников при гастрите 1-й степени ($p = 0,049$).

Таким образом, у детей в зависимости от наличия семейного отягощения по язвенной болезни имеются отличия цитокинового профиля с особенностями их содержания в возрастных группах, в частности это касается уровня IFN α и IL-4.

Ключевые слова: цитокины, дети, возраст, гастрит, язвенная болезнь, семейная предрасположенность

Адрес для переписки:

Вшивков Виталий Алексеевич
Научно-исследовательский институт медицинских
проблем Севера
660022, Россия, г. Красноярск,
ул. Партизана Железняка, 3г.
Тел.: 8 (923) 280-06-98.
E-mail: vitali1983@mail.ru

Address for correspondence:

Vitaliy A. Vshivkov
Research Institute of Medical Problems of the North
3g Partizan Zheleznyak St
Krasnoyarsk
660022 Russian Federation
Phone: +7 (923) 280-06-98.
E-mail: vitali1983@mail.ru

Образец цитирования:

Т.В. Поливанова, В.А. Вшивков «Возрастные особенности содержания цитокинов в крови у школьников с гастритом при семейной предрасположенности к язвенной болезни» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 343-350. doi: 10.15789/1563-0625-ARF-3002

© Поливанова Т.В., Вшивков В.А., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

T.V. Polivanova, V.A. Vshivkov “Age-related features of blood cytokine contents in schoolchildren with gastritis and family predisposition to peptic ulcer disease”, Medical Immunology (Russia)/Meditinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 343-350.
doi: 10.15789/1563-0625-ARF-3002

© Polivanova T.V., Vshivkov V.A., 2025
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-ARF-3002

AGE-RELATED FEATURES OF BLOOD CYTOKINE CONTENTS IN SCHOOLCHILDREN WITH GASTRITIS AND FAMILY PREDISPOSAL TO PEPTIC ULCER DISEASE

Polivanova T.V.^{a, b}, Vshivkov V.A.^a

^a Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

^b V. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation

Abstract. A number of studies have shown an association of gastritis symptoms with the levels of specific cytokines. However, some data observed are quite contradictory. Meanwhile, the peptic ulcer disease is known to be associated with unfavorable course of inflammatory processes in gastric mucosa. Moreover, the potential relationships between gastritis and blood cytokine levels in cases of familial predisposal to gastric ulcer have not been studied in children's age. The aim of our study was to evaluate associations of cytokines in blood serum (IL-2, IL-4, IL-8, IL-18, IL-1 β , IFN α , TNF α) with gastritis in the age groups of schoolchildren with a family predisposal to peptic ulcer disease. To this purpose, sophagogastrroduodenoscopy with biopsies of gastric mucosa was performed in the children and adolescents (7 to 17 years old) with gastroenterological complaints. A total of 143 children, who had morphologically confirmed gastritis (Sydney classification), were under study. The presence of *H. pylori* was also determined by morphological technique. The levels of serum cytokines were measured by ELISA technique. The inter-group differences in laboratory parameters were assessed using the Mann-Whitney test. The study has shown that in schoolchildren with gastritis and reported family predisposal for peptic ulcer, the disease is associated with increased content of IFN α in blood, both in the older age group ($p = 0.001$) and among younger children ($p = 0.023$). Meanwhile, there were no differences in IFN α content between children with hereditary burden in different age groups. In addition, in older patients with familial burden, in contrast to younger children, an increased level of IL-2 ($p = 0.001$) and IL-4 ($p = 0.015$) was noted. Among children with family predisposal to peptic ulcer and *H. pylori* infection, no age-dependent differences in cytokine levels were found. No differences in the cytokine contents were revealed between schoolchildren of younger and older age with highly active gastritis (grade 2-3). IL-4 contents was the only exception which was higher in older schoolchildren with grade 1 gastritis ($p = 0.049$). The differences in blood cytokine profile in the schoolchildren may depend on family history of peptic ulcer disease, with some age-dependent characteristics, in particular, concerning IFN α and IL-4 levels.

Keywords: cytokines, children, age, gastritis, peptic ulcer, family predisposal

Введение

Ассоциация клинико-морфологических проявлений гастрита с уровнем концентрации конкретных цитокинов показана в многочисленных исследованиях. Причем нередко наблюдаются достаточно противоречивые данные по одному и тому же вопросу, что во многом можно объяснить характеристикой самой обследованной группой пациентов (пол, этнос, инфицирование *H. pylori* (*Helicobacter pylori*), специфика условий проведения эксперимента и т. д.) [3, 4, 6, 11, 19]. В исследованиях показана специфика цитокинового профиля у школьников в зависимости от семейной предрасположенности к заболеваниям желудка, в частности к язвенной болезни (ЯБ) и раку желудка [1, 2]. Наследственная предрасположенность к ЯБ в первую очередь влияет на баланс защитных и агрессивных факторов слизистой оболочки желудка в сторону усиления агрессии, что сопряжено с усилением воспалительного процесса и его прогрессирующим течением [1]. Это сопряжено с изменением гормональной ре-

гуляции функциональной активности желудка, в частности с увеличением выработки гастрин, ацетилхолина, а также активатора кислотообразования гистамина [8], имеющей особенности в детском возрасте. Она связана с тем, что существует существенная динамика морфо-функциональных параметров физиологических систем организма, затрагивающая иммунные, гормональные, морфологические процессы в организме и т. д., обусловленная формированием зрелости функциональных систем [9, 10]. Это несомненно находит отражение в закономерностях течения воспалительных процессов в возрастных группах. Очевидно, что немаловажным является состояние регуляторных механизмов, обеспечиваемых цитокинами при гастрите у детей различного возраста, в том числе при ассоциации с инфекцией *H. pylori*, которой присуще крайне негативное влияние на течение гастрита [5, 15, 16]. Не изученным в возрастных группах школьников является вопрос о ассоциации гастрита и содержания цитокинов крови при наличии семейной предрасположенности к ЯБ, которая также, как

известно, сопряжена с неблагоприятным течением воспалительного процесса в слизистой оболочке желудка [1].

Цель – оценить ассоциацию цитокинов в сыворотке крови (IL-2, IL-4, IL-8, IL-18, IL-1 β , IFN α , TNF α) с гастритом в возрастных группах школьников при семейной предрасположенности к язвенной болезни.

Материалы и методы

Оценено содержание цитокинов IL-2, IL-4, IL-8, IL-18, IL-1 β , IFN α , TNF α в сыворотке крови у школьников в возрасте 7-17 лет с морфологически подтвержденным гастритом.

Скрининговым методом осуществлен подбор детей для исследования. Для этого использовались стандартные анкеты, которые содержали комплекс вопросов о наличии у ребенка гастроэнтерологических жалоб и заболеваний желудочно-кишечного тракта у родственников (1-2-й степени родства). Детям с гастроэнтерологическими жалобами проведена эзофагогастроуденоскопия с забором биопсийного материала из слизистой оболочки антравального отдела желудка.

Морфологически определялись наличие и активность воспалительного процесса в слизистой оболочке желудка с использованием световой микроскопии биопсийных срезов после окраски гематоксилином-эозином согласно Сиднейской классификации, базирующейся на оценке интенсивности нейтрофильной инфильтрации эпителия и/или собственной пластинки. Подтверждение бактериальной инвазии *H. pylori* осуществлялось морфологическим методом – в биопсийных срезах после их окраски по Гимзе [7, 18].

Определение содержания цитокинов в сыворотке крови проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с применением тест систем фирмы АО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск, Россия). Для этого производился забор крови у обследуемых объемом 5 мл, которую центрифугировали, отделяли сыворотку и хранили при температуре -20 °C до проведения методики в соответствии с инструкцией производителя.

Критериями исключения детей из исследования являлись: 1) возраст ребенка младше 7 и старше 17 лет; 2) наличие острых воспалительных заболеваний в течение последнего месяца; 3) наличие хронических заболеваний других органов в стадии обострения; 4) функциональная недостаточность органов и систем организма; 5) наличие аллергических заболеваний; 6) отсутствие морфологических признаков гастрита; 7) наличие органической патологии желудка (язвенная болезнь, эрозивный гастрит); 8) наличие сведений о эрадикационной терапии *H. pylori* в течение последних 2 месяцев. Всего обследовано 143 ребенка с гастритом: 38 младших школьников 7-11 лет и 105 старших школьников 12-17 лет. При анали-

зе материала мы разделяли обследованных детей на группы: с семейной предрасположенностью к ЯБ и без нее.

Протокол исследования соответствует этическим принципам статьи 24 Конституции РФ и Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Исследование выполнено в рамках научной темы и одобрено комитетом по этике ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера», г. Красноярск (протокол № 9 от 12 сентября 2016 г.). От всех участников исследования предварительно были получены письменные информированные согласия. В работе использовалось эндоскопическое оборудование Красноярского регионального центра коллективного пользования ФИЦ КНЦ СО РАН.

Анализ статистической значимости различий признаков проводили с помощью программы SPSS version 23.0 (IBM, Inc., США). Значимость различий количественных признаков оценивалась с помощью критерия Манна–Уитни. Результаты исследования представлены для выборок, не подчиняющихся нормальному закону распределения, медианой (Me) и интерквартильным интервалом (Q_{0,25}-Q_{0,75}). Уровень статистической значимости различий признаков равен 0,05.

Результаты

Установлено, что в возрастных группах школьников с гастритом при наличии семейной предрасположенности к язвенной болезни имелось своеобразие цитокинового профиля в сравнении с детьми без предрасположенности. При этом имелись особенности в возрастных группах. Так, среди старших школьников при наличии семейного отягощения по ЯБ был выше IL-2 (p = 0,001) и IL-4 (p = 0,015), чем без семейного отягощения (табл. 1). Кроме того, у детей с предрасположенностью к ЯБ наблюдалось увеличение содержания IFN α , причем это наблюдалось, как в старшей возрастной группе (p = 0,001), так и в младшей (p = 0,023). Особо обращало на себя внимание то, что содержание цитокинов в крови у детей с семейной предрасположенностью к ЯБ в старшей и младшей возрастных группах различий не имело. Очевидно, это является свидетельством выраженного специфического влияния цитокинового регуляторного звена на течение гастрита у школьников с семейной предрасположенностью к ЯБ.

Проанализировано состояние цитокинового профиля при гастрите, ассоциированном с *H. pylori* у обследуемых в возрастных группах при семейном отягощении по ЯБ, учитывая особую его негативную роль в развитии язвенной болезни. Мы сделали предположение о наличии у школьников с предрасположенностью к ЯБ возрастных физиологических особенностей цито-

киновой регуляции гастрита, ассоциированного с инфекцией (табл. 2). Установлено, что у детей, имеющих семейную предрасположенность к ЯБ, при инфицировании *H. pylori*, различия содержания цитокинов в зависимости от возраста отсутствовали, что еще раз подчеркивает генетические аспекты специфики регуляторного цитокинового звена при гастрите у лиц с семейной предрасположенностью к ЯБ.

Однако инфицирование *H. pylori* отражалось на содержании цитокинов в сыворотке крови при гастрите у школьников с семейным отягощением по ЯБ, что наблюдалось при сравнении с профилем цитокинов у детей аналогичного возраста без семейного отягощения по ЯБ. Причем это касалось только старших школьников, у которых при наличии семейной предрасположенности к ЯБ, как у инфицированных, так и неинфицированных, отмечено увеличение содержания в крови IFN α ($p = 0,015$ и $p = 0,008$ соответственно) в сравнении с показателями у детей без семейного отягощения по ЯБ. Кроме того, в группе неинфицированных старших школьников с отягощением по ЯБ отмечено увеличение содержания IL-4 в сравнении с детьми без отягощения ($p = 0,032$).

Наличие инфекции *H. pylori*, как известно, сопряжено с увеличением активности воспали-

тельного процесса. При этом исследователи единодушны в том, что наличие или даже ее длительная персистенция, не всегда ассоциирована с высокой активностью гастрита. Учитывая, что предрасположенность к ЯБ также имеет выраженное негативное влияние на прогрессирование гастрита, мы проанализировали содержание цитокинов в крови при различной активности гастрита у школьников младшей и старшей возрастных групп с семейным отягощением по ЯБ (табл. 3). Было отмечено, что при высокой степени активности (2-3-я степень) различий содержания цитокинов у школьников младшей и старшей возрастных групп не отмечено. Исключение составило содержание IL-4, который был выше у старших детей при гастрите 1-й степени. Все остальные различия между группами преимущественно касались сравнения содержания цитокинов у школьников с отягощением и без отягощения по ЯБ. Важно, что и у младших, и у старших школьников с семейной отягощенностью по ЯБ наблюдалось увеличение IL-4 ($p = 0,039$; $p = 0,043$ соответственно). При этом у старших оно выше уже при 1-й степени активности, чем у младших, как уже было отмечено.

Другой цитокин, который имел особенности содержания в сыворотке крови у детей с семей-

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ У ДЕТЕЙ С ГАСТРИТОМ ПРИ СЕМЕЙНОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ

TABLE 1. CONTENT OF CYTOKINES IN THE BLOOD IN CHILDREN WITH GASTRITIS WITH A FAMILY PREDISPOSITION TO PEPTIC ULCER DISEASE

Возрастная группа Age group	Семейная предрасположенность к язвенной болезни Family predisposition to peptic ulcer disease	Цитокины Cytokines						
		IL-2	IL-4	IL-8	IL-18	IL-1 β	IFN α	TNF α
7-11 лет 7-11 years	Есть (n = 10) Yes (n = 10)	Ме	0,1	1,5	13,8	161,4	0,1	1,2
		Q _{0,25}	0,1	0,6	1,4	98,6	0,1	0,1
		Q _{0,75}	0,3	1,9	89,6	196,6	0,1	1,7
	Нет (n = 28) No (n = 28)	Ме	0,1	1,2	13,5	128,7	0,1	0,1
		Q _{0,25}	0,1	0,3	0,1	52,7	0,1	0,1
		Q _{0,75}	0,1	2,0	95,1	327,1	1,8	1,2
12-17 лет 12-17 years old	Есть (n = 44) Yes (n = 44)	Ме	0,1	1,7	19,7	117,9	0,1	0,6
		Q _{0,25}	0,1	0,9	0,1	71,5	0,1	0,1
		Q _{0,75}	0,5	2,0	73,1	183,4	0,1	2,0
	Нет (n = 61) No (n = 61)	Ме	0,1	1,1	14,4	121,9	0,1	0,1
		Q _{0,25}	0,1	0,5	0,1	44,2	0,1	0,1
		Q _{0,75}	0,1	1,8	70,9	184,1	0,1	1,0
p	1-2	0,205	0,739	1,0	0,946	0,074	0,023	0,229
	3-4	0,001	0,015	0,486	0,784	0,245	0,001	0,441
	1-3	0,854	0,489	0,933	0,337	0,764	0,736	0,206
	2-4	0,395	0,603	0,363	0,546	0,028	0,611	0,636

Примечание. n – число детей; p – уровень значимости.

Note. n, number of children; p, level of significance.

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ СЕМЕЙНОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ У ДЕТЕЙ С *H. PYLORI*-АССОЦИИРОВАННЫМ ГАСТРИТОМ

TABLE 2. CONTENT OF CYTOKINES IN BLOOD SERUM WITH A FAMILY PREDISPOSITION TO PEPTIC ULCER DISEASE IN CHILDREN WITH *H. PYLORI*-ASSOCIATED GASTRITIS

Возрастная группа Age group	<i>H. pylori</i>	Семейная предрасположенность к язвенной болезни Family predisposition to peptic ulcer disease	Цитокины Cytokines							
			IL-2	IL-4	IL-8	IL-18	IL-1 β	IFN α	TNF α	
7-11 лет 7-11 years	<i>H. pylori</i> +	Есть (n = 4) Yes (n = 4)	Me	0,1	1,0	13,8	182,2	0,1	0,3	0,1
			Q _{0,25}	0,1	0,1	3,4	91,7	0,1	0,1	0,1
			Q _{0,75}	0,4	1,2	68,3	262,3	0,1	1,0	1,7
		Нет (n = 13) No (n = 13)	Me	0,1	1,1	24,8	168,9	0,1	0,1	0,1
			Q _{0,25}	0,1	0,1	0,8	97,5	0,1	0,1	0,1
			Q _{0,75}	0,1	1,8	95,1	355,0	0,1	1,2	0,1
	<i>H. pylori</i> -	Есть (n = 6) Yes (n = 6)	Me	0,1	1,5	7,3	145,3	0,1	1,3	0,1
			Q _{0,25}	0,1	0,6	0,5	57,0	0,1	0,1	0,1
			Q _{0,75}	0,4	2,0	81,7	174,0	0,1	1,7	0,1
		Нет (n = 15) No (n = 15)	Me	0,1	1,2	7,3	129,0	0,1	0,1	0,1
			Q _{0,25}	0,1	0,4	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
			Q _{0,75}	0,4	2,0	103,0	318,3	5,9	1,3	0,1
12-17 лет 12-17 years old	<i>H. pylori</i> +	Есть (n = 24) Yes (n = 24)	Me	0,1	1,5	24,3	117,9	0,1	0,6	0,1
			Q _{0,25}	0,1	0,6	1,4	33,9	0,1	0,1	0,1
			Q _{0,75}	0,5	2,1	93,4	206,7	0,1	1,8	0,1
		Нет (n = 42) No (n = 42)	Me	0,1	1,0	16,4	138,1	0,1	0,1	0,1
			Q _{0,25}	0,1	0,5	0,1	70,6	0,1	0,1	0,1
			Q _{0,75}	0,4	1,8	80,8	219,7	0,1	0,9	0,1
	<i>H. pylori</i> -	Есть (n = 20) Yes (n = 20)	Me	0,1	1,7	14,0	109,5	0,1	0,5	0,1
			Q _{0,25}	0,1	1,0	0,2	80,5	0,1	0,1	0,1
			Q _{0,75}	0,5	2,4	74,3	179,1	0,1	1,9	0,1
		Нет (n = 19) No (n = 19)	Me	0,1	1,1	7,8	88,1	0,1	0,1	0,1
			Q _{0,25}	0,1	0,3	0,1	24,7	0,1	0,1	0,1
			Q _{0,75}	0,1	1,7	76,8	117,7	0,1	0,1	0,1
p		1-2	0,152	1,0	0,665	0,714	0,736	0,736	0,469	
		3-4	0,897	0,923	0,857	1,0	0,177	0,076	0,833	
		1-3	0,862	0,864	1,0	0,482	0,862	0,212	0,521	
		2-4	0,150	0,632	0,584	0,836	0,215	0,521	0,805	
		5-6	0,828	0,201	0,285	0,597	0,077	0,015	0,197	
		7-8	0,108	0,032	0,567	0,179	0,658	0,008	1,0	
		5-7	0,954	0,332	0,425	0,763	0,137	0,968	0,346	
		6-8	0,138	0,761	0,716	0,186	0,410	0,600	1,0	
		1-5	0,874	0,844	0,427	0,509	1,0	0,718	0,505	
		3-7	0,882	0,129	0,929	0,536	0,744	0,836	1,0	

Примечание. n – число детей; p – уровень значимости.

Note. n, number of children; p, level of significance.

ТАБЛИЦА 3. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ У ДЕТЕЙ С РАЗЛИЧНОЙ АКТИВНОСТЬЮ АНТРАЛЬНОГО ГАСТРИТА ПРИ СЕМЕЙНОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ

TABLE 3. CONTENT OF CYTOKINES IN THE BLOOD IN CHILDREN WITH DIFFERENT ACTIVITY OF ANTRAL GASTRITIS WITH A FAMILY PREDISPOSITION TO PEPTIC ULCER DISEASE

Возрастная группа Age group	Активность гастрита Gastritis activity	Семейная предрасположенность к язвенной болезни Family predisposition to peptic ulcer disease	Цитокины Cytokines						
			IL-2	IL-4	IL-8	IL-18	IL-1 β	IFN α	TNF α
7-11 лет 7-11 years	1-я степень 1 st degree	Есть (n = 6) Yes (n = 6)	Me	0,1	0,5	4,8	126,0	0,1	0,1
			Q _{0,25}	0,1	0,1	0,1	100,9	0,1	0,1
			Q _{0,75}	2,0	1,0	39,2	156,2	0,1	1,4
		Нет (n = 12) No (n = 12)	Me	0,1	0,9	0,9	213,3	0,1	0,1
			Q _{0,25}	0,1	0,1	0,1	108,3	0,1	0,1
			Q _{0,75}	0,1	1,8	98,9	265,9	3,7	0,1
	2-3-я степень 2 nd -3 rd degree	Есть (n = 4) Yes (n = 4)	Me	0,3	2,0	21,5	137,0	0,1	0,8
			Q _{0,25}	0,1	1,0	13,6	22,9	0,1	0,2
			Q _{0,75}	0,5	2,2	72,1	194,9	0,1	1,2
		Нет (n = 16) No (n = 16)	Me	0,1	1,1	13,4	240,6	0,1	0,1
			Q _{0,25}	0,1	0,3	0,1	32,0	0,1	0,1
			Q _{0,75}	0,1	1,7	89,6	357,9	3,2	0,1
12-17 лет 12-17 years old	1-я степень 1 st degree	Есть (n = 21) Yes (n = 10)	Me	0,1	1,2	16,7	111,0	0,1	0,2
			Q _{0,25}	0,1	0,7	0,7	103,9	0,1	0,1
			Q _{0,75}	0,6	1,7	66,7	231,2	0,1	2,0
		Нет (n = 28) No (n = 28)	Me	0,1	1,1	16,4	129,6	0,1	0,1
			Q _{0,25}	0,1	0,3	0,1	23,6	0,1	0,1
			Q _{0,75}	0,1	1,8	69,8	189,3	0,1	0,1
	2-3-я степень 2 nd -3 rd degree	Есть (n = 23) Yes (n = 23)	Me	0,1	1,7	22,6	113,7	0,1	0,5
			Q _{0,25}	0,1	1,0	0,8	35,3	0,1	0,1
			Q _{0,75}	0,5	2,3	74,7	132,1	0,1	1,5
		Нет (n = 33) No (n = 33)	Me	0,1	1,0	6,4	123,2	0,1	0,1
			Q _{0,25}	0,1	0,5	0,1	50,2	0,1	0,1
			Q _{0,75}	0,5	1,7	94,8	208,0	0,1	1,6
p		1-2	1,0	0,328	0,892	0,667	0,291	0,616	1,0
		3-4	0,039	0,211	0,596	0,486	0,494	0,029	0,494
		1-3	0,257	0,071	0,257	1,0	1,0	0,476	0,610
		2-4	0,631	0,631	0,614	1,0	0,837	0,909	1,0
		5-6	0,251	0,516	0,605	1,0	0,264	0,001	1,0
		7-8	0,751	0,043	0,450	0,373	0,756	0,124	0,231
		5-7	0,909	0,151	0,587	0,180	0,947	0,695	0,339
		6-8	0,284	0,778	0,812	0,840	0,283	0,012	1,0
		1-5	0,798	0,049	0,376	0,641	0,887	0,476	1,0
		3-7	0,448	0,680	0,869	0,596	0,918	0,918	0,531
		2-6	0,965	0,738	0,822	0,800	0,443	0,652	1,0
		4-8	0,069	0,930	0,775	0,446	0,074	0,392	1,0

Примечание. n – число детей; p – уровень значимости.

Note. n – number of children; p – level of significance.

ной отягощенностью по ЯБ, был IFN α . У младших школьников с предрасположенностью к ЯБ он был выше при высокоактивном гастрите в сравнении с детьми без отягощения по заболеванию ($p = 0,029$). У старших школьников с семейным отягощением по ЯБ также имелось увеличение IFN α , но при гастрите с низкой активностью ($p = 0,001$).

Обсуждение

Исследование цитокинового профиля в сыворотке крови, включающего в себя IL-2, IL-4, IL-8, IL-18, IL-1 β , IFN α , TNF α , показало, что у школьников с гастритом наличие семейной предрасположенности к ЯБ, независимо от возраста, сопряжено с увеличением содержания IFN α в крови. Экспериментальными работами показано, что введение IFN α [13] в организм мышей сопровождается снижением нейтрофильной инфильтрации слизистой желудка (основной признак активности гастрита), индуцированной инфекцией *H. pylori*. При этом данная реакция реализуется через Toll-подобные рецепторы (TLR), которые играют важную роль во врожденном иммунитете по защите слизистой оболочки от микробов посредством распознавания бактериальных молекул, грибов и вирусов, зависящей от генетических особенностей макроорганизма (хозяина) [12, 13]. Исходя из имеющихся сведений в научной литературе, можно предположить, что изменение содержания IFN α у детей с семейным отягощением по ЯБ обусловлено особенностями врожденного иммунитета, который особенно важен для детей младшего возраста. Увеличение IFN α в сыворотке крови свидетельствует о переходе на системный уровень регуляции, что дает основание предполагать дефицит реакций врожденного иммунного ответа на местном уровне. При этом особенности содержания IFN α при семейном отягощении по ЯБ у младших и старших школьников: связь с усилением активности, инфицированием *H. pylori* относительно детей без отягощения, очевидно, обусловлены

возрастными физиологическими особенностями ребенка. При этом между детьми с семейным отягощением в возрастных группах школьников различий содержания IFN α не было. Наряду с этим у старших школьников с отягощением по ЯБ в отличии от младших, помимо увеличения содержания IFN α , отмечено увеличение уровня IL-2 и IL-4. При этом данные цитокины имеют разнонаправленность своего воздействия: IL-4 противоспалительное и IL-2 провоспалительное. Последний (IL-2) обеспечивает естественную иммунную реакцию на микробную инвазию в организм и способствует ее вычленению [17]. Системный уровень увеличения IL-2 у детей с семейным отягощением по ЯБ также может свидетельствовать о недостаточности иммунного ответа слизистой оболочки желудка. При этом существует множество исследований, связанных с вовлечением полиморфизмов генов цитокинов в риск развития рака желудка, которые активно изучаются, в частности это касается IL-4 [14].

Интересен тот факт, что представлены новые научные данные о цитокинах, различия содержания которых нами установлены в исследовании. Это IFN α и IL-4. Так, показаны отрицательные корреляции между концентрациями TNF α и прогнозом хронического атрофического гастрита. Тогда как между содержанием IL-4 и прогнозом хронического атрофического гастрита исследователи фиксировали положительные корреляции [20].

Заключение

Таким образом, у школьников с гастритом наличие семейной предрасположенности к ЯБ является фактором, значимо ассоциирующим с показателями цитокинового профиля, независимо от возраста школьников. При этом у детей в зависимости от наличия семейного отягощения по ЯБ имеются отличия цитокинового профиля, с особенностями содержания ряда цитокинов в возрастных группах школьников, в частности это касается уровня IFN α и IL-4.

Список литературы / References

1. Поливанова Т.В., Вшивков В.А. Особенности клинических проявлений и цитокиновой регуляции при гастрите у школьников с семейной предрасположенностью к язвенной болезни // Якутский медицинский журнал, 2021. Т. 74, № 2. С. 129-133. [Polivanova T.V., Vshivkov V.A. Features of clinical manifestations and cytokine regulation in gastritis in schoolchildren with familial predisposition to the peptic ulcer disease. *Yakutskiy meditsinskiy zhurnal = Yakut Medical Journal*, 2021, Vol. 74, no. 2, pp. 129-133. (In Russ.)]
2. Поливанова Т.В., Каспаров Э.В., Вшивков В.А. Клинико-морфологические проявления гастрита и цитокины сыворотки крови у школьников с семейной предрасположенностью к раку желудка // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии, 2021. Т. 31, № 3. С. 36-42. [Polivanova T.V., Kasparov E.V., Vshivkov V.A. Clinical and Morphological Manifestations of Gastritis and Serum Cytokine Levels in Schoolchildren with Familial History of Gastric Cancer. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, hepatologii, koloproktologii = Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*, 2021, Vol. 31, no. 3, pp. 36-42. (In Russ.)]
3. Algood H.M.S. T cell cytokines impact epithelial cell responses during *Helicobacter pylori* infection. *J. Immunol.*, 2020, Vol. 204, no. 6, pp. 1421-1428.
4. Azadegan-Dehkordi F., Abbasi A., Abadi A.T.B., Minooie K., Aslani P., Hosseini R.S., Zandi F. From genes polymorphisms to mucosal expression of cytokines: evaluating IL-23/IL-17 axis in adult patients with gastritis. *Afr. Health. Sci.*, 2020, Vol. 20, no. 3, pp. 1452-1462.

5. Bagheri N., Azadegan-Dehkordi F., Shirzad H., Rafieian-Kopaei M., Rahimian G., Razavi A. The biological functions of IL-17 in different clinical expressions of *Helicobacter pylori*-infection. *Microb. Pathog.*, 2015, no. 81, pp. 33-38.
6. Dewayani A., Fauzia K.A., Alfaray R.I., Waskito L.A., Doohan D., Rezkitha Y.A.A., Abdurachman A., Kobayashi T., Itishom R., Yamaoka Y., Miftahussurur M. The roles of IL-17, IL-21, and IL-23 in the *Helicobacter pylori* infection and gastrointestinal inflammation: a review. *Toxins (Basel)*, 2021, Vol. 13, no. 5, 315. doi: 10.3390/toxins13050315.
7. Dixon M.F., Genta R.M., Yardley J.H., Correa P. Histological classification of gastritis and *Helicobacter pylori* infection: an agreement at last? The International Workshop on the Histopathology of Gastritis. *Helicobacter*, 1997, Vol. 2, no. 1, pp. 17-24.
8. Engevik A.C., Kaji I., Goldenring J.R. The Physiology of the Gastric Parietal Cell. *Physiol Rev.*, 2020, Vol. 100, no. 2, pp. 573-602.
9. Harteveld L.M., Nederend I., Ten Harkel A.D.J., Schutte N.M., de Rooij S.R., Vrijkotte T.G.M., Oldenhof H., Popma A., Jansen L.M.C., Suurland J., Swaab H., de Geus E.J.C.; FemNAT-CD collaborators. Maturation of the cardiac autonomic nervous system activity in children and adolescents. *J. Am. Heart. Assoc.*, 2021, Vol. 10, no. 4, e017405. doi: 10.1161/JAHA.120.017405.
10. Jones N.A., Sloan A. Neurohormones and temperament interact during infant development. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 2018, Vol. 373, 20170159. doi: 10.1098/rstb.2017.0159.
11. Nguyen P.M., Putoczki T.L. Could the inhibition of IL-17 or IL-18 be a potential therapeutic opportunity for gastric cancer? *Cytokine*, 2019, no. 118, pp. 8-18.
12. Obonyo M., Sabet M., Cole S.P., Ebmeyer J., Uematsu S., Akira S., Guiney D.G. Deficiencies of myeloid differentiation factor 88, Toll-like receptor 2 (TLR2), or TLR4 produce specific defects in macrophage cytokine secretion induced by *Helicobacter pylori*. *Infect Immun.*, 2007, Vol. 75, no. 5, pp. 2408-2414.
13. Otani K., Tanigawa T., Watanabe T., Nadatani Y., Sogawa M., Yamagami H., Shiba M., Watanabe K., Tominaga K., Fujiwara Y., Arakawa T. Toll-like receptor 9 signaling has anti-inflammatory effects on the early phase of *Helicobacter pylori*-induced gastritis. *Biochem Biophys Res. Commun.*, 2012, Vol. 426, no. 3, pp. 342-349.
14. Sampaio A.M., Balseiro S.C., Silva M.R., Alarcão A., d'Aguiar M.J., Ferreira T., Carvalho L. Association between IL-4 and IL-6 expression variants and gastric cancer among portuguese population. *G.E. Port. J. Gastroenterol.*, 2015, Vol. 22, no. 4, pp. 143-152.
15. Shahinyan T., Amaryan G., Tadevosyan A., Braegger C. Clinical, endoscopic, and histological characteristics of *Helicobacter pylori* positive and negative armenian children with recurrent abdominal pain and/or dyspepsia. *Georgian Med. News*, 2022, no. 324, pp. 71-78.
16. Shamsdin S.A., Alborzi A., Ghaderi A., Lankrani K.B., Pouladfar G.R. Significance of TC9 and TH9 in *Helicobacter pylori*-induced gastritis. *Helicobacter*, 2020, Vol. 25, no. 1, e12672. doi: 10.1111/hel.12672.
17. Su R., Zhang T., Wang H., Yan G., Wu R., Zhang X., Gao C., Li X., Wang C. New sights of low dose IL-2: Restoration of immune homeostasis for viral infection. *Immunology*, 2024, Vol. 171, no. 3, pp. 324-338.
18. Sugano K., Tack J., Kuipers E.J., Graham D.Y., El-Omar E.M., Miura S., Haruma K., Asaka M., Uemura N., Malfertheiner P. Kyoto global consensus report on *Helicobacter pylori* gastritis. *Gut*, 2015, Vol. 64, no. 9, pp. 1353-1367.
19. Zhang Z., Zhu T., Zhang L., Xing Y., Yan Z., Li Q. Critical influence of cytokines and immune cells in autoimmune gastritis. *Autoimmunity*, 2023, Vol. 56, no. 1, 2174531. doi: 10.1080/08916934.2023.2174531.
20. Zhao C.N., Xiao L.L., Zhang Y. Effects of *Helicobacter pylori* Infection on the Prognosis of Chronic Atrophic Gastritis by Inducing the Macrophage Polarization. *Gastroenterology Res.*, 2023, Vol. 16, no. 4, pp. 226-233.

Авторы:

Поливанова Т.В. – д.м.н., главный научный сотрудник клинического отделения патологии пищеварительной системы у взрослых и детей, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера – обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр “Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук”»; доцент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого», г. Красноярск, Россия

Вшивков В.А. – к.м.н., старший научный сотрудник клинического отделения патологии пищеварительной системы у взрослых и детей, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера – обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр “Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук”», г. Красноярск, Россия

Поступила 06.05.2024
Принята к печати 14.09.2024

Authors:

Polivanova T.V., PhD, MD (Medicine), Chief Research Associate, Clinical Department of Pathology of the Digestive System in Adults and Children, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; Associate Professor, Department of Pathological Physiology, V. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation

Vshivkov V.A., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Clinical Department of Pathology of the Digestive System in Adults and Children, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

Received 06.05.2024
Accepted 14.09.2024

СОДЕРЖАНИЕ Th17-СВЯЗАННЫХ И Th2-ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ С ХОЛОДОВОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТЬЮ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Пирогова Н.А., Наумов Д.Е.,
Гассан Д.А., Перельман Ю.М.

ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Благовещенск, Россия

Резюме. Феномен холодовой гиперреактивности дыхательных путей весьма распространен среди больных бронхиальной астмой. Возможное участие иммунных механизмов в ее формировании недостаточно изучено. В частности, отсутствует информация о взаимодействии Th17-связанных цитокинов с цитокинами Th2 иммунного ответа, сопровождающими воспаление у больных бронхиальной астмой при холод-индуцированном бронхоспазме. Цель – оценить содержание интерлейкинов IL-17A, IL-6, IL-22, IL-4 и IL-13 у больных бронхиальной астмой и их роль в формировании холодовой гиперреактивности дыхательных путей. У 43 больных бронхиальной астмой проводили измерение спирометрических показателей форсированного выдоха, оценивали содержание интерлейкинов в сыворотке крови до и после проведения бронхопровокационной пробы с 3-минутной изокапнической гипервентиляцией холодным (-20 °C) воздухом. Сформированы 2 группы пациентов с наличием (1-я группа, $n = 14$) и отсутствием (2-я группа, $n = 29$) холодовой гиперреактивности дыхательных путей, верифицируемой по степени падения объема форсированного выдоха за 1 сек ($\Delta\text{ОФВ}_{1\text{игхв}}$) после холодовой пробы (-16,5 (-20,0 – -12,0)% и -2,3 (-3,5 – -0,8)% соответственно; $p < 0,0001$). У больных 1-й группы по отношению ко 2-й группе регистрировались более низкие исходные значения ОФВ₁ (88,1±3,1% и 96,6±2,2%, $p = 0,044$) и средней объемной скорости выдоха на уровне 25-75 % жизненной емкости легких (СОС₂₅₋₇₅ 62,4±3,87% и 75,6±3,7%, $p = 0,013$). Кроме того, исходное содержание IL-17A, IL-6, IL-4 у лиц с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей было значимо выше, чем у больных, не реагировавших на холодный воздух. Прослеживалась корреляционная связь между содержанием IL-17A в крови и выраженностью реакции бронхов ($\Delta\text{ОФВ}_{1\text{игхв}}$) на холодовую пробу ($Rs = -0,33$; $p = 0,049$). У больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей высокое содержание IL-17A, IL-6 и IL-4 свидетельствует об участии в регуляции холод-индуцированного бронхоспазма и иммунного ответа как Th2, так и Th1/Th17-цитокинов с формированием иммунного воспаления «Th2-низкого» подтипа.

Ключевые слова: бронхиальная астма, холодовая гиперреактивность дыхательных путей, холод-индуцированный бронхоспазм, Th1/Th17-цитокины, Th2-цитокины, неаллергический фенотип астмы

Адрес для переписки:

Перельман Юлий Михайлович
ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»
675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22.
Тел.: 8 (4162) 77-28-01.
E-mail: jperelman@mail.ru

Address for correspondence:

Julij M. Perelman
Far Eastern Research Center of Respiratory Physiology
and Pathology
22 Kalinin St
Blagoveshchensk
675000 Russian Federation
Phone: +7 (4162) 77-28-01.
E-mail: jperelman@mail.ru

Образец цитирования:

А.Б. Пирогов, А.Г. Приходько, Н.А. Пирогова, Д.Е. Наумов, Д.А. Гассан, Ю.М. Перельман «Содержание Th17-связанных и Th2-цитокинов у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 351-360. doi: 10.15789/1563-0625-COT-3020

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

For citation:

A.B. Pirogov, A.G. Prihodko, N.A. Pirogova, D.E. Naumov, D.A. Gassan, J.M. Perelman “Content of Th17 related and Th2 cytokines in asthma patients with cold airway hyperresponsiveness”, Medical Immunology (Russia)/ Meditsinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 351-360.
doi: 10.15789/1563-0625-COT-3020

© Pirogov A.B. et al., 2025
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-COT-3020

CONTENT OF Th17 RELATED AND Th2 CYTOKINES IN ASTHMA PATIENTS WITH COLD AIRWAY HYPERRESPONSIVENESS

Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Pirogova N.A., Naumov D.E.,
Gassan D.A., Perelman J.M.

Far Eastern Research Center of Respiratory Physiology and Pathology, Blagoveshchensk, Russian Federation

Abstract. The phenomenon of cold airway hyperresponsiveness is rather common among patients with bronchial asthma. Possible participation of immune mechanisms in its occurrence is scarcely studied. In particular, there is no information about interaction between Th17-related cytokines, and cytokines of Th2 immune response related to inflammation in asthma patients with cold-induced bronchospasm. Our objective was to evaluate the contents of IL-17A, IL-6, IL-22, IL-4 and IL-13 interleukins in asthma patients, and to specify their role in the formation of cold airway hyperresponsiveness. Spirometric indices of forced expiratory flow were measured in 43 patients with bronchial asthma. The content of interleukins in blood serum was estimated before and after bronchoprovocation test with 3-min. isocapnic hyperventilation with cold (-20 °C) air. Two groups of patients were formed with presence (group 1, n = 14) and absence (group 2, n = 29) of cold airway hyperresponsiveness, verified by the degree of forced expiratory volume reduction *per* 1 sec. (ΔFFV_{1hca}) after the cold test (-16.5 (-20.0 – -12.0)% and -2.3 (-3.5 – -0.8)%, respectively; $p < 0.0001$). In group 1, when compared with group 2, lower baseline values of FEV_1 (88.1±3.1% and 96.6±2.2%, $p = 0.044$), and forced midexpiratory flow (MEF_{25-75} 62.4±3.87% and 75.6±3.7%, $p = 0.013$) were registered. Moreover, the baseline contents of IL-17A, IL-6, IL-4 in subjects with cold airway hyperresponsiveness were significantly higher than in patients who did not respond to cold air. There was a correlation between IL-17A content in blood and severity of bronchial reaction (ΔFEV_{1hca}) to cold test ($Rs = -0.33$; $p = 0.049$). In asthma patients with cold airway hyperresponsiveness, high contents of IL-17A, IL-6 and IL-4 suggest a participation of both Th2 and Th1/Th17 cytokines in regulation of cold-induced bronchospasm and immune response with development of immune inflammation of “Th2 low” subtype.

Keywords: bronchial asthma, cold airway hyperresponsiveness, bronchospasm, cold-induced, Th1/Th17 and Th2 cytokines, non-allergic asthma

Введение

Бронхиальная астма (БА) рассматривается преимущественно как Th2-опосредованный иммунопатологический процесс, связанный с атопией, эозинофильным воспалением дыхательных путей, повышенным содержанием эозинофилов в мокроте, жидкости бронхоальвеолярного лаважа, сыворотке крови. Аллергическая форма болезни является наиболее изученным фенотипом, присущим около 50% астматиков [7] и обусловленным центральной ролью IL-4 и IL-13 в активации экспрессии фактора транскрипции Th2 GATA-3, регулирующего секрецию Th2-цитокинов [14, 25]. Неатопическую, плохо поддающуюся лечению кортикоステроидами, тяжелую астму ассоциируют с аллергическим воспалением «Th2-низкого» подтипа, отличающимся от аллергического воспаления «Th2-высокого» подтипа профилем медиаторов, контролирующих воспалительный паттерн бронхов [10], или с

не Th2-опосредованным нейтрофильным воспалением, характеризующимся активацией нейтрофильного компонента при снижении активности его атопического компонента [7, 19].

Приоритетная роль в рекрутировании и активации нейтрофилов при БА принадлежит гиперпродукции Th17-цитокинов – IL-17A и IL-17F [5, 16, 20, 25, 26]. Прогрессирование обструкции и гиперреактивности бронхов, тяжелое течение астмы отмечаются при увеличении содержания в дыхательных путях двойных положительных клеток Th2/Th17, более устойчивых к индуцированной дексаметазоном клеточной гибели, по сравнению с клетками Th2. Это обусловлено экспрессией высокого уровня MAP3K1, способствующей невосприимчивости к глюкокортикоидам [24]. Резистентность к противовоспалительной терапии ингаляционными глюкокортикоидами представляет собой одну из главных клинических особенностей эндотипа нейтрофильной БА [7, 25].

Дифференцировка Th17-клеток проходит при стимуляции IL-6, индуцирующего в Т-хелперах экспрессию ключевого для Th17 фактора транскрипции ROR γ t (retinoid orphan nuclear receptor) и родственного ему ROR α , содержание которых зависит от активности STAT3 [5, 6, 26]. Th17 способны продуцировать, помимо IL-17A и IL-17F, и другие провоспалительные цитокины: IL-21, IL-22, IL-23 из семейства IL-17, а также TNF α , потенцирующий активность макрофагов. IL-17A, в свою очередь, индуцирует синтез TNF α и IL-6 [16, 17, 20, 26].

Отсутствие достаточной информации о взаимодействии Th17-связанных цитокинов с цитокинами Th2 иммунного ответа, сопровождающих воспаление у больных БА с гиперреактивностью дыхательных путей на холодовой стимул, послужило основанием для настоящей работы.

Цель исследования предполагала определение содержания IL-17A, IL-6, IL-22, IL-4 и IL-13 у больных БА и доли их участия в формировании холодовой гиперреактивности дыхательных путей (ХГДП).

Материалы и методы

Пациенты

В исследовании приняли участие пациенты (n = 43) с диагнозом «персистирующая БА легкой степени тяжести» [12], ранее не получавшие систематическую противовоспалительную терапию ингаляционными глюкокортикоидами.

Критерии включения: лица обоего пола; возраст 18-60 лет; объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁) > 75% должной величины по данным спирометрии; отсутствие в анамнезе аллергической реакции на холод, документально подтвержденной аллергологом (метод Дугласа); добровольное информированное письменное согласие больного на соблюдение требований исследовательского протокола после разъяснения цели, процедуры сбора данных и гарантии сохранения тайны информации о больном. Критерии невключения: нарушение вентиляционной функции легких по обструктивному типу с уменьшением ОФВ₁ ниже 75% должностной величины, сопутствующие заболевания органов дыхания (острые бактериальные или вирусные инфекции на момент тестирования, ХОБЛ и др.); клинически значимая коморбидность со стороны других органов и систем; злоупотребление наркотиками, алкоголем; прием лекарственных препаратов, которые могли повлиять на дальнейшую интерпретацию результатов исследования.

Пациенты проходили инструментальное тестирование в условиях лаборатории функциональных методов исследования дыхательной системы Федерального государственного бюд-

жетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания». На этапе отбора всем больным проводился клинический осмотр, сдавались рутинные лабораторные анализы, выполнялось стандартное спирометрическое исследование и проба с β_2 -агонистом, в соответствии с требованиями федеральных клинических рекомендаций обследования больных БА.

На следующий день после включения пациента в исследование осуществлялся забор крови из вены, выполнялась бронхопровокационная проба ИГХВ.

Методы исследования

Все спирометрические тесты выполнялись на аппарате Easy on-PC (ndd Medizintechnik AG, Швейцария), оснащенном ультразвуковым датчиком для регистрации потока по технологии ndd True FlowTM. Измеряли объемные и скоростные параметры (ЖЕЛ, ОФВ₁, ОФВ₁/ЖЕЛ, МОС₅₀, МОС₇₅, СОС₂₅₋₇₅), выражая их в процентах от должного значения (% долж.). Для оценки выявленных вентиляционных нарушений у больного использовались должные значения ECSC для лиц европеоидной расы старше 18 лет. Бронходилатационная проба с β_2 -адреномиметиком короткого действия (сальбутамол, 400 мкг) выполнялась по стандартной методике с использованием дозированной формы аэрозольного ингалятора.

Бронхопровокационная проба изокапнической гипервентиляции холодным (-20 °C) воздухом (ИГХВ) проводилась в режиме субмаксимальной гипервентиляции (60% должностной максимальной вентиляции легких) воздушной смесью, содержащей 5% CO₂, в течение 3 минут. Глубина и частота дыхания во время вентиляционной нагрузки подбирались индивидуально каждому пациенту, исходя из полученных значений. Перед ИГХВ и после нее на 1-й и 5-й минутах выполнялись спирометрические тесты с регистрацией ОФВ₁ (в литрах). Анализировались изменения данного параметра после пробы ИГХВ относительно исходного, разность полученных фактических величин выражалась в процентах от исходного (Δ ОФВ₁ихв, %). Снижение ОФВ₁ на 10% и более от базового фактического значения показателя свидетельствовало о наличии у больного синдрома ХГДП [3].

Процедура забора биологического материала была стандартизирована. Забор периферической крови из средней локтевой вены осуществлялся в утренние часы (9:00), натощак, в вакутейнер (5 мл). Образцы периферической крови собирались и хранились в замороженном виде (-80 °C) до момента проведения анализа биологических проб. Цитокиновый профиль (IL-17A, IL-6, IL-22, IL-4 и IL-13, в пг/мл) исследовался на

проточном цитофлуориметре (BD FACSCanto II, BD, США) наборами LEGENDplex HU Essential Immune Response Panel (BioLegend, США) со строгим соблюдением протоколов, представленных производителем.

Статистические методы

Для статистического анализа полученных результатов использовали программу «Автоматизированная система диспансеризации» [4]. Проверка количественных параметров на нормальность распределения проводилась по критериям Колмогорова–Смирнова, Пирсона–Мизеса. При нормальном (гауссовом) распределении параметров, сравнение рядов осуществляли при помощи непарного и парного критерия t (Стюдента) (при условии гомогенности дисперсий групп сравнения по критерию Фишера). При распределении параметров, отличном от нормального (негауссовом), использовали критерии Манна–Уитни и Вилкоксона. Количественные параметры представлены как $M \pm m$ (M – среднее

арифметическое, m – стандартная ошибка) или как Me ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$) (медиана и межквартильный размах). Анализ распространенности признака в сравниваемых группах (частот альтернативного распределения) проводили по критерию χ^2 (К. Пирсона) для четырехпольной таблицы. С целью определения степени связи между двумя случайными величинами проводили корреляционный анализ по Спирмену (Rs). Критический уровень значимости (p) менее 0,05.

Результаты

Больные были распределены на 2 группы. В 1-ю группу включены 14 пациентов с ХГДП ($\Delta\text{ОФВ}_{1\text{ихв}}$ (-16,5 (-20,0 – -12,0)%), во 2-ю – 29 пациентов с отсутствием бронхоконстрикции в ответ на гипервентиляцию холодным воздухом ($\Delta\text{ОФВ}_{1\text{ихв}}$ -2,3 (-3,5 – -0,8)%; $p < 0,0001$).

Зарегистрированные базовые параметры вентиляционной функции легких у пациентов 1-й группы, по сравнению со 2-й группой, характе-

ТАБЛИЦА 1. ВЕНТИЛЯЦИОННАЯ ФУНКЦИЯ ЛЕГКИХ И ВОЗРАСТНО-АНТРОПОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ($M \pm m$)

TABLE 1. LUNG FUNCTION AND AGE-ANTHROPOMETRIC INDICES ($M \pm m$)

Показатели Indicators	1-я группа Group 1	2-я группа Group 2	Значимость Value (p)
Возраст, лет Age, years	$38,5 \pm 3,6$	$43,2 \pm 2,9$	$p = 0,343$
Рост, см Height, cm	$173,6 \pm 2,7$	$170,1 \pm 1,5$	$p = 0,232$
Вес, кг Weight, kg	$76,9 \pm 2,7$	$80,3 \pm 3,7$	$p = 0,552$
ИМТ, кг/м² BMI, kg/m ²	$25,9 \pm 1,5$	$27,6 \pm 1,2$	$p = 0,423$
ЖЕЛ, % долж. VC, % pred.	$98,1 \pm 4,2$	$102,3 \pm 2,3$	$p = 0,361$
ОФВ₁, % долж. FEV ₁ , % pred.	$88,1 \pm 3,1$	$96,6 \pm 2,2$	$p = 0,044$
ОФВ₁/ЖЕЛ, % FEV ₁ /VC, %	$74,4 \pm 3,4$	$79,2 \pm 1,5$	$p = 0,220$
МОС₅₀, % долж. FEF ₅₀ , % pred.	$65,8 \pm 3,0$	$78,3 \pm 3,8$	$p = 0,012$
СОС₂₅₋₇₅, % долж. MMEF ₂₅₋₇₅ , % pred.	$62,40 \pm 3,87$	$75,6 \pm 3,7$	$p = 0,013$
ΔОФВ₁β, % ΔFEV ₁ β, %	$4,5 (-3,0-14,0)$	$4,0 (1,5-8,5)$	$p = 0,491$

Примечание. p – значимость различий показателей между 1-й и 2-й группами; ИМТ – индекс массы тела; ЖЕЛ – жизненная емкость легких; ОФВ₁ – объем форсированного выдоха за 1 сек; МОС₅₀ – максимальная объемная скорость выдоха на уровне 50%-ной форсированной ЖЕЛ; СОС₂₅₋₇₅ – средняя скорость выдоха на уровне 25-75%-ной форсированной ЖЕЛ; $\Delta\text{ОФВ}_1\beta$ – изменение ОФВ₁ после бронходилатационной пробы с β_2 -адреномиметиком короткого действия.

Note. p , significance of differences between groups 1 and 2; BMI, body mass index; VC, vital capacity; FEV₁, forced expiratory volume in 1 sec.; FEF₅₀, forced expiratory flow in the level of 50% forced VC; MMEF₂₅₋₇₅, maximal midexpiratory flow; $\Delta\text{FEV}_1\beta$, change of FEV₁ after bronchodilation test with short-acting β_2 -adrenomimetic.

ТАБЛИЦА 2. КОНЦЕНТРАЦИЯ IL-17A, IL-6, IL-22, IL-4 И IL-13 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ, МЕ (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 2. CONCENTRATIONS OF IL-17A, IL-6, IL-22, IL-4 AND IL-13 IN BLOOD SERUM, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели Indicators	1-я группа Group 1	2-я группа Group 2	Значимость Value (p)
IL-17A, пг/мл IL-17A, pg/mL	0,76 (0,22-3,44)	0,10 (0,06-0,38)	p = 0,031
IL-6, пг/мл IL-6, pg/mL	10,94 (6,59-16,88)	6,7 (2,64-10,80)	p = 0,049
IL-22, пг/мл IL-22, pg/mL	5,66 (3,54-30,74)	5,55 (3,73-10,30)	p = 0,780
IL-4, пг/мл IL-4, pg/mL	11,48 (10,82-22,48)	1,88 (0,66-5,96)	p = 0,021
IL-13, пг/мл IL-13, pg/mL	4,23 (1,72-9,47)	4,57 (2,31-8,59)	p = 0,690

Примечание. p – значимость различий показателей между 1-й и 2-й группами.

Note. p, significance of differences in indicators between groups 1 and 2.

ризовались более низкими значениями основных скоростных показателей форсированного выдоха (табл. 1) при отсутствии возрастных и антропометрических различий. В обеих группах средние значения индекса массы тела (ИМТ) превышали область диапазона нормы по критериям ВОЗ, рекомендованного для лиц старше 18 лет. 43% больных 1-й группы и 24% больных 2-й группы курили ($\chi^2 = 0,80$; p > 0,05).

Оценивая базовый уровень цитокинов в сыворотке крови больных с различной реакцией бронхов на пробу ИГХВ, мы обратили внимание на существенные различия в их содержании (табл. 2). Так, медианные значения IL-17A, IL-6, IL-4 у лиц с ХГДП были значимо выше, чем у лиц с отсутствием бронхоконстрикции в ответ на пробу ИГХВ. В общей группе больных прослеживалась корреляционная связь между содержанием IL-17A в крови и выраженностью реакции бронхов ($\Delta\text{ОФВ}_{1\text{игхв}}$) на пробу ИГХВ ($Rs = -0,33$; p = 0,049).

Обсуждение

Развившийся в результате ингаляции холодного воздуха бронхоспазм у больных 1-й группы подтверждал клинический синдром ХГДП, обусловленный комплексом генетически детерминированных реакций дыхательных путей в ответ на воздействие низкой температуры и влажности воздуха – условий внешней среды, которые присущи резко континентальному климату [3]. Согласно нашим данным, чрезмерная реакция бронхов на холодовой стимул выявляется у большинства (60-80%) не получавших лечения больных БА, проживающих на северо-восточных территориях России, зачастую ассоциируется с

неаллергическим фенотипом астмы, смешанным клеточным паттерном бронхиального воспаления и проблемой достижения контроля над заболеванием [2, 3].

Наблюдаемые в 1-й группе более низкие значения параметров бронхиальной проходимости (табл. 1), по всей видимости, были обусловлены длительно текущим активным хроническим воспалением, имеющим ключевое значение для механизмов формирования ХГДП. Персистенция воспаления в малых дыхательных путях является фактором, стимулирующим гиперреактивность бронхов, влекущим за собой формирование легочной дисфункции уже при легкой форме БА, утяжеляя течение и увеличивая частоту обострений болезни [2]. Воспалительные клетки в стенках мелких бронхов обладают более высокой плотностью распределения и глубиной распространения по сравнению с плотностью клеточного инфильтрата, пронизывающего слизистую оболочку бронхов среднего и крупного калибров, и отличаются высоким уровнем экспрессии цитокинов [2].

Принимая во внимание исследуемые цитокины, предполагалось, что индукция ХГДП в первую очередь должна быть обусловлена активностью IL-13, который способствует реализации гиперергического ответа гладкой мускулатуры бронхов на действие бронхоконстрикторов [14]. В гладкомышечных клетках, снабженных рецепторами к IL-13, данный цитокин регулирует экспрессию плейотропного белка CD38. Последний экспрессируется лейомиоцитами и иммунокомпетентными клетками бронхов, являясь маркером иммунопатологических процессов, характерных для БА, совмещая ферментативную

и рецепторную функции и контролируя кальций-зависимые процессы сокращения гладких мышц [14]. Однако анализ цитокинового статуса показал, что базовый уровень IL-13 в сыворотке крови больных с ХГДП достоверно не отличался от лиц, не реагировавших на холодовой триггер (табл. 2). Передача сигналов IL-13 в большей степени сопряжена с IgE-инициированным эозинофильным воспалением, мобилизацией эозинофилопоэза, пролонгированием выживания, активацией и транспортировкой эозинофилов в дыхательные пути [8, 14] и в меньшей степени имеет отношение к формированию бронхиального ответа на холодовой стимул.

Зарегистрированное более высокое базовое содержание IL-4 в 1-й группе (табл. 2) указывало на первостепенную роль Th2 иммунного ответа, вызванного усиленным синтезом данного цитокина, активацией воспаления аллергического типа и сопряженных с ним гиперактивностью и ремоделированием дыхательных путей. Секреция Th2-цитокинов, обусловливающих развитие такого воспаления, реализуется в результате каскадов сигнальных реакций, ассоциированных с IL-4 (и/или IL-13). Даные реакции индуцируют STAT6-опосредованную экспрессию фактора транскрипции Th2 GATA-3, ингибирующего специфичные факторы транскрипции Th1-типа (сигнального пути IFN γ /STAT1, пути T-bet) [15, 18].

О заинтересованности Th1/Th17-иммунного ответа в формировании реакции дыхательных путей на холодовой стимул свидетельствовало более высокое содержание IL-17A в сыворотке крови больных 1-й группы. Как известно, IL-17A в результате активации эффекторных функций макрофагов и нейтрофилов стимулирует синтез TNF α [16]. В свою очередь TNF α следует рассматривать как фактор индукции холодового бронхоспазма ввиду его возможности, наряду с IL-13, регулировать экспрессию CD38 в лейомиоцитах. Способность TNF α влиять на сопротивление воздушному потоку, прогрессирование обструкции дыхательных путей, увеличение сократимости мускулатуры бронхов связывают с активацией сигнального пути NF-кВ, стимулирующего транскрипцию CD38 в лейомиоцитах [18].

К высокому содержанию IL-17A в профиле цитокинов в 1-й группе, по всей вероятности, причастен и IL-6, продукция которого в крови была более высокой у этих больных. Кроме того, известно прямое влияние IL-6 на экспрессию генов IL-17A. Продукция IL-6 при БА также сопряжена с активацией бифункционального CD38, участвующего в поддержании персистенции хронического воспаления дыхательных путей, контролирующего пролиферацию, хемотаксис

и трансэндотелиальную миграцию лейкоцитов. Ранее показано, что экспрессия CD38 на лимфоцитах периферической крови пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением БА достоверно превышает контрольные значения и коррелирует с содержанием IL-6 в плазме [18].

В Th17-клетках IL-6 действует через тирозиновые остатки сигнального преобразователя (субъединицы рецептора IL-6R) gp130, что необходимо для активации STAT3, регулирующего дифференцировку Th17-клеток. Стимулированные Th17-клетки характеризуются повышенной экспрессией генов IL-17A и STAT3 [1, 21, 26]. По мнению ряда авторов, активация сигнального пути IL-6-gp130/STAT3 выступает в качестве IL-6/STAT3-зависимого механизма нейтрофильного воспаления в легких, делающего его компоненты перспективными терапевтическими мишениями при кортикорезистентной нейтрофильной БА [1]. Также IL-6 считается тем критическим фактором, в присутствии которого TGF- β поляризует обладающие регуляторной функцией CD4 $^+$ CD25 $^+$ FoxP3 $^+$ Treg в контролирующие воспаление клетки Th17 [6, 22, 26]. Индуцируемую IL-17A экспрессию IL-6, как и экспрессию TNF α , связывают со стимуляцией макрофагов и активацией транскрипции многочисленных IL-17A-целевых генов-мишеней, играющих ведущие роли при воспалении [27].

Усиление транскрипции IL-17A-зависимых генов, участвующих в кодировании экспрессии провоспалительных цитокинов и хемокинов (TNF α , IL-6, IL-1 β , IL-8, IL-12, GM-CSF, MIP1 α , RANTES, эзотоксина), белков острой фазы, молекул межклеточной адгезии ICAM-1, ICAM-3, ICAM-4, ICAM-5, ICAM-6, индуцируемых эффекторов ферментов (iNOS, COX-2), ассоциируют с каноническим путем активации транскрипционного фактора NF-кВ [20, 22, 27]. Последний контролирует экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточной пролиферации, способствующих формированию хронического воспалительного процесса в дыхательных путях [22, 27]. Особенностью сигнального пути IL-17A, приводящего к активации NF-кВ после взаимодействия с трансмембранным рецептором IL-17ra (вторая молекула, определяющая лиганд, который связывается с рецептором – IL-17RC), является привлечение к передаче сигнала фактора 6, ассоциированного с рецептором фактора некроза опухоли (TNF receptor-associated factor 6, TRAF6). Регулятор TRAF6 указывается как ключевой компонент сигналинга IL-17A, требуемый для реализации регуляторной провоспалительной функции цитокина [17].

Широкий спектр воспалительных эффектов IL-17A в дыхательных путях больных БА не

ограничивается индукцией транскрипции генов провоспалительных цитокинов и хемокинов, рекрутирующих в воспалительный инфильтрат нейтрофилы. IL-17A активирует продукцию цитокинов, которые мобилизуют, помимо нейтрофилов, макрофаги и эозинофилы. Он вызывает накопление в дыхательных путях бронхоконстрикторных лейкотриенов, протеолитических ферментов (нейтрофильной эластазы, матриксной металло-протеиназы-9), миелопероксидазы, способствует гиперсекреции бокаловидного эпителия путем стимуляции экспрессии гена муцина MUC5B, приводит к ремоделированию бронхов вследствие активации пролиферации и гипертрофии лейомиоцитов [11, 13, 23].

При астме IL-17A выступает первичным эффекторным цитокином линии Th17 [6], очевидно более значимым, чем IL-22, который тем не менее вместе с IL-17A стимулирует гиперпластические-гипертрофические процессы в гладкомышечных клетках бронхов [23]. В нашем исследовании содержание IL-22 в группах значимо не различалось (табл. 2), что расценивалось как свидетельство лишь косвенного участия этого цитокина в генезе холодового бронхоспазма и отсутствия его непосредственной причастности к формированию воспалительного фенотипа, сопряженного с этим видом гиперреактивности бронхов.

Высокое содержание IL-17A у лиц 1-й группы и полученные корреляции позволяют рассуждать о причастности данного цитокина к формированию ХГДП и его роли как движущей силы эскалации смешанного паттерна бронхиального воспаления, наиболее часто встречающегося у данных больных [2]. Опубликованы свидетельства, подтверждающие связь между нейтрофилией бронхиального инфильтрата и высоким содержанием IL-17A в мокроте, БАЛ жидкости, бронхобиоптатах (в эпителиоцитах, субэпителиальном слое слизистой оболочки, лейомиоцитах) у пациентов со среднетяжелой и тяжелой неатопической стероидорезистентной БА [5, 9, 13, 14]. Доказано, что тяжелое неконтролируемое течение астмы неаллергического фенотипа ассоциируется с развитием Th1/Th17-иммунного ответа, увеличением в дыхательных путях провоспалительных

цитокинов, модифицирующих структуру респираторного тракта и индуцирующих обструкцию бронхов с их дальнейшим ремоделированием [9, 13]. Количество Th17-клеток в периферической крови, мокроте и бронхоальвеолярной лаважной жидкости у больных БА имеет прямую корреляционную связь с тяжестью ремоделирования дыхательных путей [26]. Судя по более низким параметрам бронхиальной проходимости у лиц с ХГДП, можно предположить, что развивающаяся морфофункциональная перестройка мелких бронхов была стимулирована высокими значениями IL-17A.

Заключение

Представленные результаты цитокинового профиля больных БА с ХГДП позволяют прийти к выводу об участии в регуляции холод-индуцированного бронхоспазма и иммунного ответа бронхов как Th2-, так и Th1/Th17-цитокинов, обладающих многообразными воспалительными эффектами. Высокие концентрации IL-17A, IL-6 и IL-4 и смещение баланса в сторону провоспалительного спектра Th1/Th17 создают фон для развития в дыхательных путях таких пациентов иммунного воспаления «Th2-низкого» подтипа и формирования неатопического фенотипа астмы. В случае утяжеления клинико-функциональных проявлений болезни эскалации содержания IL-17A в периферической крови или в дыхательных путях может быть отведена роль предиктора Th1/Th17-эндотипа неаллергической БА, а сигнальный путь IL-17A стать целью антицитокиновой терапии в дополнение к традиционно используемым в повседневной клинической практике комбинированным препаратам ингаляционных кортикостероидов и длительно действующих β_2 -адреномиметиков для достижения максимального противовоспалительного эффекта. Необходимы дальнейшие исследования для изучения механизмов, лежащих в основе этих взаимодействий, и их значения при ХГДП у больных БА.

Список литературы / References

1. Никольский А.А., Шиловский И.П., Юмашев К.В., Вишнякова Л.И., Барвинская Е.Д., Ковчина В.И., Корнеев А.В., Туренко В.Н., Каганова М.М., Брылина В.Е., Никонова А.А., Козлов И.Б., Кофиади И.А., Сергеев И.В., Маерле А.В., Петухова О.А., Кудлай Д.А., Хаитов М.Р. Влияние локального подавления экспрессии гена Stat3 на нейтрофильное воспаление легких в экспериментальной модели на мышах // Иммунология, 2021. Т. 42, № 6. С. 600-614. [Nikolskii A.A., Shilovskiy I.P., Yumashev K.V., Vishniakova L.I., Barvinskaia E.D.,

Kovchina V.I., Korneev A.V., Turenko V.N., Kaganova M.M., Brylina V.E., Nikonova A.A., Kozlov I.B., Kofiadi I.A., Sergeev I.V., Maerle A.V., Petukhova O.A., Kudlay D.A., Khaitov M.R. Effect of local suppression of Stat3 gene expression in a mouse model of pulmonary neutrophilic inflammation. *Immunologiya = Immunologiya*, 2021, Vol. 42, no. 6, pp. 600-614. (In Russ.)]

2. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Н.Л., Афанасьева Е.Ю., Кочегарова Е.Ю., Ошур Л.Ю., Перельман Ю.М. Возможности достижения контроля бронхиальной астмы при базисной терапии экстрамелкодисперсным беклометазоном/формотеролом: открытое наблюдательное проспективное исследование // Фарматека, 2020. Т. 27, № 10. С. 80-87. [Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Perelman N.L., Afanasyeva E.Yu., Kochegarova E.Yu., Oshur L.Yu., Perelman J.M. Possibilities of achieving of bronchial asthma control against the background of baseline therapy with beclomethasone/formoterol extrafine fixed combination: an open observational prospective study. *Farmateka = Farmateka*, 2020, Vol. 27, no. 10, pp. 80-87. (In Russ.)]

3. Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Колосов В.П. Гиперреактивность дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука, 2011. 204 с. [Prikhodko A.G., Perelman J.M., Kolosov V.P. Airway hyperresponsiveness.] Vladivostok: Dalnauka, 2011. 204 p.

4. Ульяновичев Н.В. Системность научных исследований в медицине. Саарбрюккен: LAP LAMBERT, 2014. 140 с. [Ulyanychev N.V. Systematic research in medicine. Saarbrücken: LAP LAMBERT, 2014. 140 p.]

5. Bedoya S.K., Lam B., Lau K., Larkin J. 3rd. Th17 cells in immunity and autoimmunity. *Clin. Dev. Immunol.*, 2013, Vol. 2013, 986789. doi: 10.1155/2013/986789.

6. Chen W., Cao Y., Zhong Y., Jing Sun, Dong J. The mechanisms of effector Th cell responses contribute to Treg cell function: New insights into pathogenesis and therapy of asthma. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 11, no. 13, 862866. doi: 10.3389/fimmu.2022.862866.

7. Desai M., Oppenheimer J. Elucidating asthma phenotypes and endotypes: progress towards personalized medicine. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2016, Vol. 116, no. 5, pp. 394-401.

8. Doran E., Cai F., Holweg C.T.J., Wong K., Brumm J., Arron J.R. Interleukin-13 in asthma and other eosinophilic disorders. *Front. Med.*, 2017, Vol. 4, 139. doi: 10.3389/fmed.2017.00139.

9. Duvall M.G., Krishnamoorthy N., Levy B.D. Non-type 2 inflammation in severe asthma is propelled by neutrophil cytoplasm and maintained by defective resolution. *Allergol. Int.*, 2019, Vol. 68, no. 2, pp. 143-149.

10. Frey A., Lundin L.P., Ehlers J.C., Weckmann M., Zissler U.M., Wegmann M. More than just a barrier: The immune functions of the airway epithelium in asthma pathogenesis. *Front. Immunol.*, 2020, Vol. 11, 761. doi: 10.3389/fimmu.2020.00761.

11. Fujisawa T., Chang M.M., Velichko S., Thai P., Hung L.Y., Huang F., Phuong N., Chen Y., Wu R. NF-κB mediates IL-1β- and IL-17A-induced MUC5B expression in airway epithelial cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2011, Vol. 45, no. 2, pp. 246-252.

12. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (2023 update). Available at: https://ginasthma.org/wp-content/uploads/2023/07/GINA-2023-Full-report-23_07_06-WMS.pdf.

13. Habib N., Pasha M.A., Tang D.D. Current understanding of asthma pathogenesis and biomarkers. *Cells*, 2022, Vol. 11, no. 17, 2764. doi: 10.3390/cells11172764.

14. Howell I., Howell A., Pavord I.D. Type 2 inflammation and biological therapies in asthma: Targeted medicine taking flight. *J. Exp. Med.*, 2023, Vol. 220, no. 7, e20221212. doi: 10.1084/jem.20221212.

15. Junntila I.S. Tuning the cytokine responses: An update on interleukin (IL)-4 and IL-13 receptor complexes. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, 888. doi: 10.3389/fimmu.2018.00888.

16. Kingston H., Mills G. IL-17 and IL-17-producing cells in protection versus pathology. *Nat. Rev. Immunol.*, 2023, Vol. 23, pp. 38-54.

17. Koh C.-H., Kim B.-S., Kang C.-Y., Chung Y., Seo H. IL-17 and IL-21: Their immunobiology and therapeutic potentials. *Immune Netw.*, 2024, Vol. 24, no. 1, e2. doi: 10.4110/in.2024.24.e2.

18. McFarlane A., Pohler E., Moraga I. Molecular and cellular factors determining the functional pleiotropy of cytokines. *FEBS J.*, 2023, Vol. 290, no. 10, pp. 2525-2552.

19. McIntyre A.P., Viswanathan R.K. Phenotypes and endotypes in asthma. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2023, Vol. 1426, pp. 119-142.

20. Mills K.H.G. IL-17 and IL-17-producing cells in protection versus pathology. *Nat. Rev. Immunol.*, 2023, Vol. 23, no. 1, pp. 38-54.

21. Nishihara M., Ogura H., Ueda N., Tsuruoka M., Kitabayashi C., Tsuji F., Aono H., Ishihara K., Huseby E., Betz U.A., Murakami M., Hirano T. IL-6-gp130-STAT3 in T cells directs the development of IL-17+ Th with a minimum effect on that of Treg in the steady state. *Int. Immunol.*, 2007, Vol. 19, no. 6, pp. 695-702.

22. Ono M. Control of regulatory T-cell differentiation and function by T-cell receptor signalling and Foxp3 transcription factor complexes. *Immunology*, 2020, Vol. 160, no. 1, pp. 24-37.

23. Varricchi G., Brightling C.E., Grainge C., Lambrecht B.N., Chanez P. Airway remodelling in asthma and the epithelium: on the edge of a new era. *Eur. Respir. J.*, 2024, Vol. 63, no. 4, 2301619. doi: 10.1183/13993003.01619-2023.

24. Xie Y., Abel P.W., Casale T.B., Tu Y. TH17 cells and corticosteroid insensitivity in severe asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2022, Vol. 1, no. 49, pp. 467-479.
25. Yu X., Li L., Cai B., Zhang W., Liu Q., Li N., Shi X., Yu L., Chen R., Qiu C. Single-cell analysis reveals alterations in cellular composition and cell-cell communication associated with airway inflammation and remodeling in asthma. *Respir. Res.*, 2024, Vol. 25, 76. doi: 10.1186/s12931-024-02706-4.
26. Zeng J., Li M., Zhao Q., Chen M., Zhao L., Wei S., Yang H., Zhao Y., Wang A., Shen J., Du F., Chen Y., Deng S., Wang F., Zhang Z., Li Z., Wang T., Wang S., Xiao Z., Wu X. Small molecule inhibitors of ROR γ t for Th17 regulation in inflammatory and autoimmune diseases. *J. Pharm. Anal.*, 2023, Vol. 13, no. 6, pp. 545-562.
27. Zhang X., Xu Z., Wen X., Huang G., Nian S., Li L., Guo X., Ye Y., Yuan Q. The onset, development and pathogenesis of severe neutrophilic asthma. *Immunol. Cell Biol.*, 2022, Vol. 100, no. 3, pp. 144-159.

Авторы:

Пирогов А.Б. – к.м.н., доцент, старший научный сотрудник лаборатории функциональных методов исследования дыхательной системы ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Благовещенск, Россия

Приходько А.Г. – д.м.н., главный научный сотрудник лаборатории функциональных методов исследования дыхательной системы ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Благовещенск, Россия

Пирогова Н.А. – к.м.н., научный сотрудник лаборатории функциональных методов исследования дыхательной системы ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Благовещенск, Россия

Authors:

Pirogov A.B., PhD (Medicine), Associate Professor, Senior Research Associate, Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Research Center of Respiratory Physiology and Pathology, Blagoveshchensk, Russian Federation

Prikhodko A.G., PhD, MD (Medicine), Chief Research Associate, Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Research Center of Respiratory Physiology and Pathology, Blagoveshchensk, Russian Federation

Pirogova N.A., PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Research Center of Respiratory Physiology and Pathology, Blagoveshchensk, Russian Federation

Наумов Д.Е. – к.м.н., заведующий лабораторией молекулярных и трансляционных исследований ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Благовещенск, Россия

Гассан Д.А. – к.м.н., научный сотрудник лаборатории молекулярных и трансляционных исследований ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Благовещенск, Россия

Перельман Ю.М. – д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заведующий лабораторией функциональных методов исследования дыхательной системы ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Благовещенск, Россия

Поступила 13.06.2024

Принята к печати 14.09.2024

Naumov D.E., PhD (Medicine), Head, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Research Center of Respiratory Physiology and Pathology, Blagoveshchensk, Russian Federation

Gassan D.A., PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Research Center of Respiratory Physiology and Pathology, Blagoveshchensk, Russian Federation

Perelman J.M., PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Research Center of Respiratory Physiology and Pathology, Blagoveshchensk, Russian Federation

Received 13.06.2024

Accepted 14.09.2024

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ У ПАЦИЕНТОВ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ РАЗНЫХ ЭНДОТИПОВ ПРИ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ПНЕВМОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ

Костинов А.М.¹, Конищева А.Ю.¹, Протасов А.Д.², Костинов М.П.^{1,3}

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

² ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Самара, Россия

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

Резюме. В ходе многочисленных наблюдений за пациентами с бронхиальной астмой (БА), вакцинированными от пневмококковой инфекции, было показано существенное снижение частоты обострений и госпитализаций в краткосрочном и среднесрочном периодах после иммунизации. В ряде работ пневмококковые вакцины рассматриваются как потенциальные иммунорегуляторы, улучшающие клиническое течение БА через модуляцию иммунного ответа. Однако из-за гетерогенности самой болезни и применения различных вакцинальных препаратов интерпретация результатов исследований несет серьезные ограничения. Цель работы заключалась в проведении сравнительного анализа уровней ключевых цитокинов, характеризующих формирование эндотипа БА у пациентов, после введения коньюгированной пневмококковой вакцины. Материалами исследования являлись сыворотки крови ($n = 31$) пациентов с БА, а также индивидуальные клинические карты испытуемых, иммунизированных 13-валентной коньюгированной пневмококковой вакциной (ПКВ13, Превенар 13). Сыворотки крови посредством метода ИФА исследовали для определения содержания Th1/Th2/Treg цитокинов (IFN γ , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, TNF α и MCP-1), характеризующих наличие различных эндотипов БА, и уровня общего IgE. Временные точки сбора данных в исследовании составляли исходно, через 6 недель, 6 и 12 месяцев после проведенной вакцинации.

Результаты исследования показали, что вакцинация против пневмококковой инфекции с применением ПКВ13 у пациентов с БА сопровождалась высокой клинической эффективностью независимо от эндотипа заболевания, которая соответствует уменьшению числа пациентов с обострениями

Адрес для переписки:

Костинов Антон Михайлович
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»
105064, Россия, Москва, Малый Казенный пер., 5а.
Тел.: 8 (495) 917-86-51.
E-mail: amkostinov@gmail.com

Address for correspondence:

Anton M. Kostinov
I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera
5a Maly Kazenny Lane
Moscow
105064 Russian Federation
Phone: +7 (495) 917-86-51.
E-mail: amkostinov@gmail.com

Образец цитирования:

А.М. Костинов, А.Ю. Конищева, А.Д. Протасов, М.П. Костинов «Цитокиновый профиль у пациентов с бронхиальной астмой разных эндотипов при вакцинации против пневмококковой инфекции» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 361-368. doi: 10.15789/1563-0625-CPI-3004

© Костинов А.М. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.M. Kostinov, F.Yu. Konishcheva, A.D. Protasov, M.P. Kostinov "Cytokine profile in the patients with bronchial asthma of different endotypes after vaccination against pneumococcus", Medical Immunology (Russia)/Meditinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 361-368. doi: 10.15789/1563-0625-CPI-3004

© Kostinov A.M. et al., 2025

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

DOI: 10.15789/1563-0625-CPI-3004

БА и увеличению количества больных без госпитализаций в течение года наблюдений. Кластеризация пациентов по профилю воспаления позволила выявить специфические паттерны изменений цитокинового профиля, включая статистически значимое повышение концентрации IFN γ в сыворотке крови спустя 6 недель после проведенной иммунизации у пациентов с эндотипом высокого T2-воспаления. Статистически значимые изменения наблюдали у пациентов с атопией и повышенным уровнем общего IgE в сыворотке крови, у которых отмечали пик нарастания концентрации IFN γ также спустя 6 недель после вакцинации. В то же время у пациентов с эндотипом низкого T2-воспаления не было обнаружено значимых изменений уровней цитокинов в течение года после вакцинации.

Результаты исследования продемонстрировали значимую роль IFN γ в части возможной корректировки иммунного статуса больных с эндотипом высокого T2-воспаления после иммунизации пневмококковой конъюгированной вакциной.

Ключевые слова: астма, пневмококковая вакцина, IFN γ , цитокины, эндотипы астмы, атопия, IgE

CYTOKINE PROFILE IN THE PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA OF DIFFERENT ENDOTYPES AFTER VACCINATION AGAINST PNEUMOCOCCUS

Kostinov A.M.^a, Konishcheva F.Yu.^a, Protasov A.D.^b, Kostinov M.P.^{a, c}

^a I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

^b Samara State Medical University, Samara, Russian Federation

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

Abstract. Numerous observations of patients with bronchial asthma (BA) vaccinated against pneumococcal infection have revealed a significantly reduced frequency of exacerbations and hospitalisations after immunisation. Several studies have considered pneumococcal vaccines potential immunoregulators that may improve the clinical course of BA via modulation of the immune response. However, interpretation of these results has serious limitations due to heterogeneity of primary disease and differences in vaccine preparations. The aim of the present study was to perform a comparative analysis of the key cytokines levels which characterize development of distinct BA endotypes in patients following administration of conjugated pneumococcal vaccine. We have analyzed serum samples (n = 31) from patients with BA immunized by PCV13 (Prevenar 13), using ELISA technique, for Th1/Th2/Treg cytokines (IFN γ , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, TNF α , and MCP-1), and total IgE level. The time points of sampling were as follows: initial terms, 6 weeks, 6 and 12 months after vaccination.

The results of the study indicate that vaccination against pneumococcal infection using a PCV13 in patients with BA was accompanied by high clinical efficacy, regardless of the disease endotype. This finding was evidenced by a decreased number of BA exacerbations in the patients, and an increased number of non-hospitalized BA patients during 1 year of observation. The clustering of patients according to their inflammatory profile enabled us to detect specific patterns of the cytokine profile. These changes included a statistically significant increase in the concentration of IFN γ in blood serum at 6 weeks after immunisation in the patients with the T2-“high” asthma endotype. Statistically significant changes were observed in patients with atopy and elevated total IgE levels in serum, who exhibited a peak increase in IFN γ concentration, also 6 weeks after vaccination. Conversely, no significant changes in cytokine levels were observed in patients with T2-“low” asthma endotype within a year after vaccination. The results of the study demonstrate that IFN γ plays a significant role in the potential adjustment of immunity in the patients with T2-“high” asthma endotype following immunisation with a pneumococcal conjugate vaccine.

Keywords: bronchial asthma, endotypes, pneumococcal vaccine, IFN γ , cytokines, atopy, IgE

Введение

Бронхиальная астма (БА) представляет собой гетерогенное заболевание, проявляющееся в виде вариабельной обструкции дыхательных путей, бронхиальной гиперреактивности и воспаления, вызванных различными раздражителями [6]. Нарушения регуляции иммунного ответа при БА обусловлены дисбалансом между субпопуляциями лимфоцитов – Th1, Th2, Th17, Treg и NKT-клетками, а также компонентами врожденной иммунной системы, включая тучные клетки, базофилы, нейтрофилы, эозинофилы и врожденные лимфоидные клетки [11, 13]. Данные факторы обуславливают иммунологические различия на молекулярном уровне у пациентов с некоторой однородной клинической картиной, демонстрируя преобладание той или иной специфической активности [17]. Воспалительный профиль дыхательных путей является ключевым фактором при так называемом эндотипировании БА: эозинофильный характер присущ эндотипу высокого Т2-воспаления [2, 10], в то время как «не-эозинофильный» профиль связан с эндотипом низкого Т2-воспаления [5]. Эндотип высокого Т2-воспаления из-за его преобладания у пациентов принято считать наиболее понятным и изученным. С другой стороны, на данный момент нет четкого определения и полного понимания механизма возникновения эндотипа низкого Т2-воспаления.

В ряде работ, посвященных долгосрочных наблюдениям за пациентами, иммунизированными против пневмококковой инфекции, было отмечено, что применение данных вакцин значительно снижает частоту обострений БА и госпитализаций в коротком и среднесрочном периодах [1, 12, 14]. Пневмококковые конъюгированные и полисахаридные вакцины также изучали в качестве иммунорегуляторного терапевтического агента, который за счет формирования адаптивного иммунитета к *S. pneumoniae* через модуляцию Th1, Th2, Th17, Treg иммунного ответа приводил к улучшению клинической картины БА [9, 19, 20]. Однако интерпретация результатов данных работ связана с определенной сложностью по причине гетерогенности самой БА, что отражается в неоднородности групп пациентов, а также вследствие применения разных препаратов – нескольких вариантов полисахаридной и конъюгированных вакцин.

По этой причине на данный момент согласительный документ GINA не включают плановую вакцинацию против пневмококковой инфекции для пациентов с БА, аргументируя это недостат-

ком масштабных качественных исследований по данному вопросу [6].

Учитывая вышеизложенное, целью исследования являлось проведение сравнительного анализа уровней ключевых цитокинов, характеризующих формирование того или иного эндотипа БА у пациентов, после введения конъюгированной пневмококковой вакцины.

Материалы и методы

В период с февраля 2019 года по октябрь 2020 года было проведено одноцентровое, открытое, нерандомизированное, проспективное, когортное, контролируемое исследование. Для этого использовали сыворотки крови (n = 31) пациентов с БА, отобранных в отделении пульмонологии и аллергологии клиник ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, а также индивидуальные клинические карты испытуемых.

В исследование включали пациентов в возрасте от 18 до 80 лет, имеющих установленный диагноз «БА» в соответствии с GINA. Применяемые критерии исключения: вакцинация против пневмококковой инфекции в анамнезе; вакцинация против гриппа и других инфекций на период исследования; применение препаратов иммуноглобулина или переливание крови в течение трех последних месяцев до начала исследования.

На базе лаборатории аллергodiагностики ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» (Москва, Российская Федерация) с использованием сертифицированного оборудования Центра коллективного пользования ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» сыворотки крови исследовали для определения содержания Th1/Th2/Treg цитокинов (IFN γ , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, TNF α и MCP-1) посредством трехстадийного «сэндвич»-варианта твердофазного ИФА с применением соответствующих коммерческих наборов АО «Вектор-Бест» (Россия), согласно инструкции.

Уровни общего IgE были определены методом ИФА с использованием коммерческих наборов АО «Вектор-Бест» (Россия), согласно инструкции. Уровни считались повышенными в случае детекции концентрации общего IgE в пробе 130 МЕ/мл и выше.

Образцы сывороток крови и данные индивидуальных карт испытуемых были оценены в соответствии с временными точками сбора данных – исходно, через 6 недель, 6 и 12 месяцев после проведения иммунизации 13-валентной конъюгированной пневмококковой вакциной Превенар 13 (ПКВ13).

Исследование было одобрено комитетом по биоэтике при ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 5 сентября 2012 года (протокол № 122) и локальным советом по этике ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова 18 мая 2023 года (протокол № 8).

Обработку полученных данных проводили с использованием пакета статистической программы Statistica (StatSoft Inc., США). При анализе количественных данных проверяли гипотезу о нормальности распределения с использованием критерия Шапиро–Уилка. В случае соблюдения условия нормальности при рассмотрении независимых выборок применяли t-критерий Стьюдента при проведении дополнительного анализа сравнения равенства дисперсий (критерий Левина), а также дисперсионный анализ ANOVA. При парном сравнении ненормально распределенных выборок применяли критерий Манна–Уитни, а при сравнении трех и более выборок – критерий Краскела–Уоллиса. В случае анализа зависимых выборок применяли парный t-критерий Стьюдента или критерий Уилкоксона. При множе-

ственном анализе в случае зависимых выборок использовали критерий Фридмана.

Результаты

При рассмотрении изменений клинических характеристик течения БА отмечали положительный эффект от вакцинации ПКВ13, который соответствует уменьшению числа пациентов с обострениями БА и увеличению количества пациентов без госпитализаций в течение года наблюдения по сравнению с аналогичным периодом до иммунизации (табл. 1). При этом положительную динамику перечисленных показателей демонстрировали пациенты как с эндотипом высокого, так и низкого Т2-воспаления. Примечательно, что у последних за рассматриваемый временной период вовсе не было отмечено госпитализаций по причине БА.

При анализе случаев обострений БА число таких больных с эндотипом высокого Т2-воспаления уменьшилось на 75,0% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным периодом до вакцинации, а с эндотипом низкого Т2-воспаления – на 86,7% ($p < 0,001$). Статистически значимой разницы по изучаемым показателям клинической

ТАБЛИЦА 1. ИЗМЕНЕНИЯ КЛИНИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ТЕЧЕНИЯ БА У ПАЦИЕНТОВ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПКВ13 (n = 31)

TABLE 1. CHANGE IN CLINICAL FEATURES OF ASTHMA IN PATIENTS VACCINATED WITH PCV13 (n = 31)

Параметр Parameter	Временной период Time period		Изменения Changes
	12 месяцев до вакцинации 12 months before vaccination	12 месяцев после вакцинации 12 months after vaccination	
Кол-во пациентов с обострениями, абс. (%) Number of patients with exacerbations, absolute (%)	высокое T2-воспаление T2-“high” asthma	12 (85,7)	3 (21,4) \downarrow (75,0) $p < 0,001$
	низкое T2-воспаление T2-“low” asthma	15 (88,2)	2 (11,8) \downarrow (86,7) $p < 0,001$
	Всего Total	27 (87,1)	5 (16,1) \downarrow 22 \downarrow (81,5) $p < 0,001$
Кол-во пациентов без госпитализаций, абс. (%) Number of patients without hospitalization, absolute (%)	высокое T2-воспаление T2-“high” asthma	9 (64,3)	14 (100,0) \uparrow (55,6) $p < 0,001$
	низкое T2-воспаление T2-“low” asthma	8 (47,1)	16 (94,1) \uparrow (100,0) $p < 0,001$
	Всего Total	17 (54,8)	30 (96,8) \uparrow 13 \uparrow (76,5) $p < 0,001$

ТАБЛИЦА 2. КОНЦЕНТРАЦИЯ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С БА, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПКВ13, пг/мл (n = 31)

TABLE 2. CONCENTRATION OF CYTOKINES IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH ASTMA VACCINATED WITH PCV13, pg/mL (n = 31)

Цитокин Cytokine	Временные точки Time points			
	исходно initially	6 недель 6 weeks	6 месяцев 6 months	12 месяцев 12 months
IL-4	1,33 (0,00-2,87)	1,18 (0,50-2,26)	1,56 (0,09-2,53)	0,78 (0,00-1,87)
IL-6	1,44 (0,82-2,62)	2,05 (0,88-3,52)	1,52 (0,80-2,82)	1,33 (0,47-2,25)
IL-8	5,93 (4,84-8,67)	6,63 (5,19-9,20)	6,87 (4,90-8,37)	6,01 (2,69-7,94)
IL-10	1,46 (0,51-2,68)	1,08 (0,16-3,38)	1,70 (0,09-3,54)	0,57 (0,00-2,57)
IL-18	155,50 (99,30-248,00)	210,72 (124,35) (0,00-178,50-525,00)	182,06 (108,63) (4,63-167,00-461,00)	135,00 (87,40-216,00)
IFN γ	0,00 (0,00-1,24)	0,15* (0,00-2,62)	0,00 (0,00-1,15)	0,00 (0,00-0,97)
TNF α	5,23 (3,61-6,94)	5,50 (3,09-7,11)	5,48 (5,04-6,91)	6,02 (5,04-7,48)
MCP-1	144,00 (84,10-185,00)	167,39 (89,52) (4,40-180,00-361,00)	161,50 (71,40-193,00)	162,62 (132,87) (0,00-160,00-519,00)

Примечание. Данные, соответствующие нормальному распределению, представлены как среднее (СО) (min-медианам), не соответствующие – в виде медианы ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$). * – $p < 0,05$ – достоверное отличие значения временной точки от значений других временных точек.

Note. The data that conforms to a normal distribution is presented as mean (SD) (min-median-max), while the data that does not conform is presented as median ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$). *, $p < 0.05$ is a significant difference between the value of a time point and the values of other time points.

эффективности вакцинации между группами с разными эндотипами БА обнаружено не было, что говорит о схожем положительном эффекте для всех пациентов.

При проведении оценки динамики цитокинового профиля статистически значимые изменения отмечали только в случае противовоспалительного Th1 цитокина IFN γ (табл. 2). Так, при рассмотрении всей группы пациентов наблюдали повышение концентрации данного цитокина в сыворотке крови до 0,15 (0,00-2,62) пг/мл спустя 6 недель после проведения иммунизации, однако уже через полгода статистически значимой разницы с довакцинальными значениями обнаружено не было.

В то же время в ходе анализа изменений концентрации IFN γ в сыворотке крови при кластеризации пациентов по подгруппам в зависимости от эндотипов БА были выявлены определенные закономерности (табл. 3). Так, у пациентов с эндотипом высокого Т2-воспаления спустя 6 недель после проведенной вакцинации наблюдали по-

вышение уровня IFN γ в сыворотке крови до 1,42 (0,00-2,87) пг/мл, а затем в течение года значение опускалось до показателей, схожих с исходными уровнями до вакцинации.

Поскольку в ходе многих работ была показана ассоциация данного эндотипа БА с рядом клинических параметров у пациентов, в частности наличием высоких уровней общего IgE в сыворотке крови, сенсибилизации к аэроаллергенам, повышенных уровней эозинофилов в крови и мокроте, а также сопутствующих заболеваний, включая атопический дерматит и аллергический ринит, была проведена оценка ряда указанных факторов в данной группе пациентов [3]. Были получены статистически значимые результаты, демонстрирующие аналогичную эндотипу высокого Т2-воспаления динамику IFN γ при кластеризации пациентов в зависимости от таких факторов, как наличие атопии в анамнезе и уровень общего IgE в сыворотке крови. У пациентов с атопией, а также с повышенным уровнем общего IgE наблюдали пик концентрации IFN γ в сыво-

ТАБЛИЦА 3. ИЗМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ IFN γ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С БА, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПКВ13, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭНДОТИПА ЗАБОЛЕВАНИЯ И СОПУТСТВУЮЩИХ ЕМУ ПАРАМЕТРОВ, пг/мл (n = 31)

TABLE 3. CHANGES IN SERUM IFN γ CONCENTRATION IN PATIENTS WITH ASTHMA AFTER PCV13 VACCINATION DEPENDING ON THE ENDOTYPE OF THE DISEASE AND ITS ACCOMPANYING PARAMETERS, pg/mL (n = 31)

Параметр Parameter	Временные точки Time points				
	исходно initially	6 недель 6 weeks	6 месяцев 6 months	12 месяцев 12 months	p
Эндотип БА Asthma endotype					
высокое T2-воспаление T2-“high” asthma					
0,00 (0,00-0,51)	1,42 (0,00-2,87)	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-0,51)	0,00 (0,00-0,51)	0,003
низкое T2-воспаление T2-“low” asthma	0,00 (0,00-2,66)	0,00 (0,00-0,75)	0,00 (0,00-2,41)	0,00 (0,00-2,33)	0,480
Атопия в анамнезе Atopy in the anamnesis					
отсутствует does not contain	0,00 (0,00-1,60)	0,00 (0,00-1,15)	0,00 (0,00-2,41)	0,00 (0,00-1,20)	0,589
присутствует contains	0,00 (0,00-1,22)	2,52 (2,40) (0,00-2,51-6,64)	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-0,69)	0,002
Уровень общего IgE-АТ при первом визите (исходно) The level of total IgE at the first visit (initially)					
в норме normal	0,00 (0,00-1,24)	0,24 (0,00-2,51)	0,00 (0,00-2,30)	0,00 (0,00-1,26)	0,154
повышенный increase	0,00 (0,00-1,42)	0,00 (0,00-4,15)	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-0,51)	0,025

Примечание. Данные, соответствующие нормальному распределению, представлены как среднее (CO) (min-медианамакс), не соответствующие – в виде медианы (Q_{0,25}-Q_{0,75}).

Note. The data that conforms to a normal distribution is presented as mean (SD) (min-median-max), while the data that does not conform is presented as median (Q_{0,25}-Q_{0,75}).

ротке крови спустя 6 недель после вакцинации. Статистически значимых изменений в течение года после вакцинации у пациентов с низким T2-воспалением, напротив, обнаружено не было.

Обсуждение

В ходе проведенного исследования были подтверждены данные других авторов, что иммунизация пациентов с БА ПКВ13 значимо понижала риски возникновения обострения БА и госпитализации по ее поводу [1, 12, 14]. При этом статистически значимой разницы по клиническому течению заболевания между подгруппами пациентов с эндотипами высокого и низкого T2-воспаления БА обнаружено не было, что демонстрирует универсальность применения коньюгированной вакцины.

Однако наблюдающаяся у пациентов с БА дисрегулируемость иммунного ответа на клеточном и молекулярном уровне по причине

возникновения дисбаланса в популяциях эф-фекторных Т-клеток может способствовать субоптимальному гуморальному ответу, особенно Т-независимому иммунному ответу против пневмококковых полисахаридов [21]. Это приводит к тому, что у пациентов с БА и атопическими заболеваниями могут наблюдаться более низкие концентрации IgG-антител к полисахаридам серотипов пневмококка, входящим в состав вакцинных препаратов, по сравнению со здоровыми людьми [7]. Кроме того, впоследствии было показано, что определенный профиль воспаления, наблюдающийся у пациентов с БА, может так или иначе сказываться на характере иммунного ответа к пневмококку. Так, преобладающий Th2-профиль, характерный для пациентов с эндотипом высокого T2-воспаления, негативно воздействует на гуморальный ответ против полисахаридных антигенов пневмококка в отличие от положительной

корреляции данного уровня с нормализованной продукцией Th1-цитокинов [8].

Тем не менее улучшение клинической картины заболевания у таких пациентов может быть связано как с прямым клиническим эффектом от проводимой вакцинации, который выражается в профилактике и элиминации *S. pneumoniae* из верхних дыхательных путей, так и с тем, что данная иммунизация, а конкретно комплекс специфических антигенов *S. pneumoniae*, способны оказывать модулирующий эффект на Th1/Th2/Treg иммунный ответ за счет индукции Treg клеток и супрессии Th2 иммунного ответа [15, 16, 18, 19].

По этой причине возможная корректировка иммунного статуса больных БА, опосредуемая изменениями в регуляции иммунного ответа из-за возникновения дисбаланса в популяциях эффекторных Т-клеток, включая Th1, Th2, Th17 и NKT-клетки, и в их секрецируемых молекулах, в ходе иммунизации против *S. pneumoniae* может являться одной из причин улучшения состояния пациентов. Поэтому полученные нами данные по изменению содержания IFN γ в сыворотке крови, особенно у пациентов с эндотипом высокого Т2-воспаления, могут быть отражением данного явления. Действительно, ряд авторов предполагают, что низкие уровни IFN γ способствуют аллергической реакции дыхательных путей за счет

усиления презентации АГ и рекрутирования воспалительных клеток, тогда как высокие уровни IFN γ подавляют ответы Th2 и действия соответствующих цитокинов [4]. Однако эффект IFN γ на аллергические реакции в легких с учетом плейотропности цитокинов еще предстоит изучить. С другой стороны, повышенные значения IFN γ могут способствовать снижению частоты вирусных инфекций и инфекций, обусловленных внутриклеточными патогенами, что также снижает вероятность обострений БА и госпитализаций по данной причине.

Заключение

Вакцинация против пневмококковой инфекции с применением коньюгированной вакцины у пациентов с БА сопровождается высокой клинической эффективностью вне зависимости от эндотипа заболевания. При этом кластеризация пациентов по профилю воспаления позволяет выявить у них специфические паттерны изменений цитокинового профиля. Прежде всего значимое увеличение концентрации IFN γ в сыворотке крови спустя 6 недель после вакцинации ПКВ13 было характерно для пациентов с эндотипом высокого Т2-воспаления, что может демонстрировать значимую роль данного цитокина в части возможной корректировки иммунного статуса таких пациентов.

Список литературы / References

1. Андреева Н.П., Протасов А.Д., Костинова Т.А., Леженина С.В. Влияние вакцинации против пневмококковой инфекции и гриппа на клиническое течение бронхиальной астмы // Эпидемиология и вакцинопрофилактика, 2019. Т. 18, № 4. С. 93-100. [Andreeva N.P., Protasov A.V., Kostinova T.A., Lezhenina S.V. Effect of Vaccination against Pneumococcal Infection and Influenza on the Clinical Course of Bronchial Asthma. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2019, Vol. 18, no. 4, pp. 93-100. (In Russ.)]
2. Крапошина А.Ю., Собко Е.А., Демко И.В., Кацер А.Б., Казмерчук О.В., Абрамов Ю.И. Современное представление о тяжелой бронхиальной астме // Архив внутренней медицины, 2022. Т. 12, № 2. С. 113-122. [Kraposhina A.Yu., Sobko E.A., Demko I.V., Katser A.B., Kazmerchuk O.V., Abramov Yu.I. Modern Understanding of Severe Bronchial Asthma. *Arkhiv vnutrenney meditsiny = Russian Archive of Internal Medicine*, 2022, Vol. 12, no. 2, pp. 113-122. (In Russ.)]
3. Akar-Ghribil N., Casale T., Custovic A., Phipatanakul W. Allergic endotypes and phenotypes of asthma. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.*, 2020, Vol. 8, no. 2, pp. 429-440.
4. Finkelstein F.D., Hogan S.P., Hershey G.K.K., Rothenberg M.E., Wills-Karp M. Importance of cytokines in murine allergic airway disease and human asthma. *J. Immunol.*, 2010, Vol. 184, no. 4, pp. 1663-1674.
5. Fitzpatrick A.M., Chipp B.E., Holguin F., Woodruff P.G. T2-“low” asthma: overview and management strategies. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.*, 2020, Vol. 8, no. 2, pp. 452-463.
6. GINA. Global Initiative for Asthma. Global strategy for asthma management and prevention, 2023. Available at: <https://ginasthma.org/2023-gina-main-report/>. (Access date: March 26, 2024).
7. Jung J.A., Kita H., Dhillon R., Jacobson R.M., Nahm M.H., Park M., Tsigrelis C., Juhn Y.J. Influence of asthma status on serotype-specific pneumococcal antibody levels. *Postgrad. Med.*, 2010, Vol. 122, pp. 116-124.
8. Khan A.Q., Shen Y., Wu Z.Q., Wynn T.A., Snapper C.M. Endogenous pro- and anti-inflammatory cytokines differentially regulate an in vivo humoral response to *Streptococcus pneumoniae*. *Infect. Immun.*, 2002, Vol. 70, pp. 749-761.

9. Kim B.G., Ghosh P., Ahn S., Rhee D.K. Pneumococcal pep27 mutant immunization suppresses allergic asthma in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2019, Vol. 514, no. 1, pp. 210-216.
10. Kuruvilla M.E., Lee F.E.H., Lee G.B. Understanding asthma phenotypes, endotypes, and mechanisms of disease. *Clinic. Rev. Allerg. Immunol.*, 2019, Vol. 56, no. 2, pp. 219-233.
11. Lambrecht B.N., Hammad H. Asthma: The importance of dysregulated barrier immunity. *Eur. J. Immunol.*, 2013, Vol. 43, pp. 3125-3137.
12. Lee T.A., Weaver F.M., Weiss K.B. Impact of pneumococcal vaccination on pneumonia rates in patients with COPD and asthma. *J. Gen. Intern. Med.*, 2007, Vol. 22, no. 1, pp. 62-67.
13. Murdoch J.R., Lloyd C.M. Chronic inflammation and asthma. *Mutat. Res.*, 2010, Vol. 690, no. 1-2, pp. 24-39.
14. Pesek R., Lockey R. Vaccination of adults with asthma and COPD. *Allergy*, 2011, Vol. 66, no. 1, pp. 25-31.
15. Preston J.A., Essilfie A.-T., Horvat J.C., Wade M.A., Beagley K.W., Gibson P.G., Foster P.S., Hansbro P.M. Inhibition of allergic airways disease by immunomodulatory therapy with whole killed *Streptococcus pneumoniae*. *Vaccine*, 2007, Vol. 25, no. 48, pp. 8154-8162.
16. Protasov A.D., Kostinov M.P., Zhestkov A.V., Gorbachev D.O., Kostinov A.M., Elner M.E., Kozina T.A. Changes in sputum microbiocenosis and clinical pattern under different vaccination protocols for pneumococcal infection in patients with bronchial asthma. *Global J. Respir. Care*, 2022, Vol. 8, pp. 18-27.
17. Samitas K., Zervas E., Gaga M. T2-low asthma: current approach to diagnosis and therapy. *Curr. Opin. Pulm. Med.*, 2017, Vol. 23, no. 1, pp. 48-55.
18. Thorburn A.N., Foster P.S., Gibson P.G., Hansbro P.M. Components of *Streptococcus pneumoniae* suppress allergic airways disease and NKT cells by inducing regulatory T cells. *J. Immunol.*, 2012, Vol. 188, no. 9, pp. 4611-4620.
19. Thorburn A.N., O'Sullivan B.J., Thomas R., Kumar R.K., Foster P.S., Gibson P.G., Hansbro P.M. Pneumococcal conjugate vaccine-induced regulatory T cells suppress the development of allergic airways disease. *Thorax*, 2010, Vol. 65, no. 12, pp. 1053-1060.
20. Zhang L., Gao H., Yang T., Yang B., Jiang X., Wang L., Fu Z. Infant 7-valent pneumococcal conjugate vaccine immunization alters young adulthood CD4⁺ T cell subsets in allergic airway disease mouse model. *Vaccine*, 2014, Vol. 32, no. 18, pp. 2079-2085.
21. Zhao H., Jung J.A., Briles D.E., Kita H., Tsigrelis C., Juhn Y.J. Asthma and antibodies to pneumococcal virulence proteins. *Infection*, 2013, Vol. 41, no. 5, pp. 927-934.

Авторы:

Костинов А.М. – аспирант лаборатории аллергodiагностики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Конищева А.Ю. – к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории аллергodiагностики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Протасов А.Д. – д.м.н., профессор кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии, доцент, заведующий отделом международного сотрудничества и образования управления международных отношений ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Самара, Россия

Костинов М.П. – д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заведующий лабораторией вакцинопрофилактики и иммунотерапии аллергических заболеваний ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», заведующий кафедрой эпидемиологии и современных технологий вакцинации ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Authors:

Kostinov A.M., Postgraduate Student, Laboratory of Allergy Diagnostics, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Konishcheva A.Yu., PhD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Allergy Diagnostics, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Protasov A.D., PhD, MD (Medicine), Professor of the Department of General and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology, Associate Professor, Head of the Department of International Cooperation and Education of the International Relations Department, Samara State Medical University, Samara, Russian Federation

Kostinov M.P., PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Vaccine Prevention and Immunotherapy of Allergic Diseases, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera; Head, Department of Epidemiology and Modern Vaccination Technologies, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

УРОВЕНЬ АНТИТЕЛ И ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ СЫВОРОТКИ КРОВИ У МОЛОДЫХ ЛЮДЕЙ В ПЕРИОД ПАНДЕМИИ COVID-19

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

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

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

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

Резюме. В период пандемии COVID-19 множество вопросов, связанных с особенностями иммунного ответа на перенесенное заболевание, вакцинацию, развитие постковидного синдрома или его атипичных форм, остались не вполне разрешенными. Также не определены оптимальные и эффективные стратегии вакцинации против респираторных вирусных инфекций в «эру постковида». Разнообразие вакцин, прививочный анамнез, факторы риска, а также присоединение COVID-19 к спектру сезонных инфекций в значительной степени влияют на исходный иммунологический профиль различных групп населения. Исследуемая группа – 80 юношей в возрасте 19 лет, проживающих в закрытых коллективах. Забор крови производился в 2022 г., через 9 месяцев после курса вакцинации препаратом «Спутник V». В сыворотках венозной крови проводились исследования уровня про- и противовоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IFN γ , TNF α), а также антител IgM и IgG к SARS-CoV-2. Результаты обрабатывались при помощи Microsoft Excel, R-Statistics, SPSS 22. Нормальность распределения количественных данных оценивалась по критерию Колмогорова–Смирнова. Количественные данные представлены в виде Me (Q_{0,25}–Q_{0,75}), качественные – в виде n (%). Для определения статистической значимости использовался коэффициент корреляции Спиримена. Средний уровень IgG к SARS-CoV-2 через 9 месяцев после вакцинации превышал заявленный защитный уровень более чем в 3 раза. При сравнении уровней цитокинов в зависимости от уровня антител IgG к SARS-CoV-2 были получены разноплановые данные. В группе 1 с IgG к SARS-CoV-2, не достигавшими рекомендованного защитного уровня (< 150 BAU/мл), уровни исследованных провоспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-8) были в 2 и более раз выше, чем в группе 2 с IgG к SARS-CoV-2 от 150 до 500 BAU/мл. При этом уровень противовоспалительного цитокина IL-10 был в

Адрес для переписки:

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

Address for correspondence:

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

Образец цитирования:

Ю.А. Ли, М.Н. Дмитраченко, Е.В. Маркелова, М.П. Костинов, И.Б. Королев, К.К. Немцев «Уровень антител и особенности цитокинового профиля сыворотки крови у молодых людей в период пандемии COVID-19» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 369-378. doi: 10.15789/1563-0625-TLO-3013

© Ли Ю.А. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

Yu.A. Li, M.N. Dmitrachenko, E.V. Markelova, M.P. Kostinov, I.B. Korolev, K.K. Nemtsev “The levels of SARS-CoV-2 IgG antibody and cytokine profile in blood serum of young people during the COVID-19 pandemic”, Medical Immunology (Russia)/Meditinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 369-378. doi: 10.15789/1563-0625-TLO-3013

© Li Yu.A. et al., 2025

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

DOI: 10.15789/1563-0625-TLO-3013

5 раз выше в 1-й группе по сравнению со 2-й группой. Значительно выше (в 4 раза) уровень IL-10 был и в группе 3 с IgG к SARS-CoV-2 от 500 и более BAU/мл. По нашему мнению, существует множество факторов, влияющих на иммунный ответ, что требует персонализированного подхода к вакцинации с учетом исходного иммунного состояния. Для оптимизации повторной вакцинации необходимо учитывать предыдущие уровни антител, а также использовать иммунологические показатели для оценки необходимости дополнительных доз.

Ключевые слова: антитела, цитокины, вакцинация, юноши, пандемия, COVID-19

THE LEVELS OF SARS-CoV-2 IgG ANTIBODY AND CYTOKINE PROFILE IN BLOOD SERUM OF YOUNG PEOPLE DURING THE COVID-19 PANDEMIC

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

^a Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

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

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

Abstract. During the COVID-19 pandemic, many issues remained unclear, i.e., those related to features of immune response in the disease, vaccination, and development of post-COVID syndrome, or its atypical forms. Optimal and effective vaccination strategies against respiratory viral infections in the “post-COVID era” have not been determined so far. The variety of vaccines, vaccination history, risk factors, as well as joining of COVID-19 to the spectrum of seasonal infections significantly influence the initial immunological profile of various population groups. The study group included 80 young men aged 19 years living in closed communities. Blood sampling was carried out in 2022, 9 months after the course of vaccination with the Sputnik V vaccine. The levels of pro- and anti-inflammatory cytokines (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IFN γ , TNF α), as well as IgM and IgG antibodies to SARS-CoV-2 were measured in venous blood sera. The results were processed by Microsoft Excel, R-Statistics, SPSS 22. The normality of distribution for quantitative data was assessed by the Kolmogorov–Smirnov test. Quantitative data are presented as Me (Q_{0.25}–Q_{0.75}); qualitative, in the form of n (%). Spearman’s correlation coefficient was used to determine statistical significance. The average level of SARS-CoV-2 IgG antibodies 9 months after vaccination exceeded the protective level by more than 3 times. Comparisons of cytokine levels and SARS-CoV-2 IgG antibodies have yielded various findings. In group 1 with SARS-CoV-2 IgG antibodies < 150 BAU/mL, the levels of pro-inflammatory cytokines (IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-8) were > 2-fold higher than in group 2 with SARS-CoV-2 IgG antibodies ranging from 150 to 500 BAU/mL. Moreover, IL-10 level was 5 times higher in group 1 compared to group 2. The level of IL-10 was significantly higher (4 times) in group 3 with SARS-CoV-2 IgG antibody levels of > 500 BAU/mL. In our opinion, there are many factors influencing the immune response, thus requiring a personalized approach to vaccination by taking into account the initial immune state. To optimize booster vaccination, the initial antibody levels should be checked, and immunological indices may be used in order to assess the necessity of re-vaccination.

Keywords: antibodies, cytokines, vaccination, young adults, pandemic, COVID-19

Введение

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), с января 2020 г. по октябрь 2023 г. в Российской Федерации зарегистрировано 23 045 833 подтвержденных случаев заболевания COVID-19 и 400 077 случаев смерти [19]. Наиболее эффективным методом борьбы с SARS-CoV-2 на сегодняшний день считается вакцинация. Всего в России за период пандемии введено бо-

лее 180 млн доз вакцины против COVID-19 [20]. И несмотря на тот факт, что 5 мая 2023 г. ВОЗ официально объявила о завершении режима чрезвычайной ситуации в мире [21] и переходе COVID-19 в разряд сезонных респираторных инфекций, множество вопросов, связанных с особенностями иммунного ответа на перенесенное заболевание, вакцинацию, развитие постковидного синдрома [18] или его атипичных форм,

таких как «медленный ковид» (long COVID) [22], остались не вполне разрешенными.

Еще один немаловажный вопрос – это определение оптимальной и эффективной стратегии вакцинации против респираторных вирусных инфекций в «эру постковида» [2]. Разнообразие вакцин, прививочный анамнез, факторы риска, а также присоединение COVID-19 к спектру сезонных инфекций в значительной степени влияют на исходный иммунологический профиль различных групп населения [1].

Активно проводятся исследования в данных направлениях, но где же теперь та «точка отсчета» – общепопуляционные показатели иммунитета на фоне пандемии COVID-19, на которые можно было бы опираться в дальнейших изысканиях. В нашем исследовании мы попытались определить некоторые из таких показателей и, возможно, выявить их региональные особенности.

Материалы и методы

Исследуемая группа включала 80 юношей в возрасте 19 лет, проживающих в закрытых коллективах на территории Приморского края. Забор крови для анализа производился в 2022 г., через 9 месяцев после курса вакцинации (2 дозы) препаратом «Спутник V» (Гам-Ковид-Вак). В связи с однородностью выборки по полу, возрасту, условиями проживания и т. п., с учетом первой группы здоровья, которая была выставлена после прохождения медосмотра, критериями исключения являлись только лихорадка и симптомы острых респираторных заболеваний.

В сыворотках венозной крови проводились исследования уровня про- и противовоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IFN γ , TNF α), а также антитела IgM и IgG к SARS-CoV-2 методом иммуноферментного анализа с использованием тест-систем АО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск), «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа согласно прилагаемой инструкции. Учет результатов проводили с помощью автоматического иммуноферментного анализатора Multiscan (Китай). Расчет количественных параметров проводили путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной про-

грамммы. Концентрацию цитокинов выражали в пикограммах на миллилитр (пг/мл), IgM и IgG к SARS-CoV-2 в единицах связывающих антител (BAU/мл). Сравнение результатов до вакцинации происходило с референсными значениями, взятыми из литературных источников [3].

Коэффициенты воспаления рассчитывались следующим образом: К = сумма провоспалительных цитокинов / сумма противовоспалительных цитокинов, в различных комбинациях.

Результаты обрабатывались при помощи Microsoft Excel, R-Statistics, SPSS 22. Нормальность распределения совокупностей количественных данных оценивалась по критерию Колмогорова–Смирнова. Количественные данные представлены в виде медиан и интерквантильного размаха ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$ – 25-й и 75-й перцентили), качественные – в виде абсолютных и относительных частот (n (%)). Корреляционный анализ признаков выполнялся с использованием непараметрического метода Спирмена (коэффициент корреляции – r_s). Для определения статистической значимости при сравнении двух попарно не связанных между собой вариационных рядов при ненормальном распределении количественных признаков использовался непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Уровень доверительной вероятности был задан равным 95%.

Клиническое исследование основано на этических принципах, предъявляемых Хельсинской декларацией всемирной медицинской ассоциации, и одобрено локальным Междисциплинарным комитетом по этике ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России.

Результаты

После вакцинации антитела IgG к SARS-CoV-2 были обнаружены у всех субъектов, включенных в исследование. Средний уровень антител IgG к SARS-CoV-2 в исследуемой группе через 9 месяцев после вакцинации составил 540,0 (414,7–789,5) BAU/мл и превышал заявленный защитный уровень [4] более чем в 3 раза (≥ 150 BAU/мл). Антитела IgM к SARS-CoV-2 не были обнаружены.

Уровни про- и противовоспалительных цитокинов представлены в таблице 1.

ТАБЛИЦА 1. ЗНАЧЕНИЯ УРОВНЕЙ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ИССЛЕДУЕМОЙ ГРУППЫ (пг/мл)

TABLE 1. CYTOKINE LEVELS IN BLOOD SERUM OF THE STUDY GROUP (pg/mL)

	IL-10	IL-17	IL-6	IL-1 β	IFN γ	IL-8	TNF α	IL-4
Ме	4,47	7,33	27,80	5,60	0,70	295,50	3,90	1,02
$Q_{0,25}$	1,84	6,82	7,10	3,10	0,40	193,90	2,20	0,75
$Q_{0,75}$	14,75	8,58	59,90	14,20	0,90	317,50	6,40	1,28

Для сравнительной характеристики преобладания уровня про- или противовоспалительной активности иммунитета были подсчитаны коэффициенты, представленные в таблице 2.

Несмотря на высокие показатели среднего уровня антител IgG к SARS-CoV-2 в общей выборке встречались показатели как < 150 BAU/мл, так и > 500 BAU/мл. Таким образом, согласно

ТАБЛИЦА 2. КОЭФФИЦИЕНТЫ ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ИММУНИТЕТА (ЕД.)

TABLE 2. PRO- AND ANTI-INFLAMMATORY IMMUNE ACTIVITY COEFFICIENTS (UNITS)

	K1 IFN γ /IL-4	K2 IFN γ /IL-4 + IL-10	K3 IL-1 β + IL-6 + IFN γ /IL-4 + IL-10	K4 (IFN γ + IL-1 β + TNF α + IL-6 + IL-8)/IL-4 + IL-10
Ме	0,48	0,09	4,07	74,64
Q _{0,25}	0,20	0,05	1,33	22,85
Q _{0,75}	0,70	0,30	32,46	106,70

ТАБЛИЦА 3. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ СРЕДНИХ УРОВНЕЙ IgG К SARS-CoV-2 ПО ГРУППАМ, Ме (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 3. GROUPS DISTRIBUTION ACCORDING TO AN AVERAGE SARS-CoV-2 IgG ANTIBODIES LEVELS, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Группа 1 Group 1 (n = 5)	Группа 2 Group 2 (n = 27)	Группа 3 Group 3 (n = 38)
< 150 BAU/мл < 150 BAU/mL	150-500 BAU/мл 150-500 BAU/mL	> 500 BAU/мл > 500 BAU/mL
67,30 (57,50-80,90)	417,70 (366,0-440,1)	789,0 (591,0-840,0)

ТАБЛИЦА 4. ПОКАЗАТЕЛИ ЦИТОКИНОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ IgG К SARS-CoV-2, Ме (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 4. CYTOKINE INDICIES AND SARS-CoV-2 IgG ANTIBODIES LEVELS, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели, пг/мл Indicators, pg/mL	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3
	< 150 BAU/мл < 150 BAU/mL	150-500 BAU/мл 150-500 BAU/mL	> 500 BAU/мл > 500 BAU/mL
IL-17	6,69 (6,57-6,81)	7,42 (7,25-8,58)	7,40*** (6,88-8,60)
IL-6	76,30 (75,40-77,20)	15,50* (7,10-30,60)	28,80** (3,50-73,70)
IL-1 β	9,40 (8,20-10,60)	4,60* (3,60-7,80)	5,60*** (2,80-9,00)
IFN γ	0,10 (0,10-1,40)	0,60* (0,40-0,80)	0,80** (0,40-0,90)
IL-8	317,50 (195,10-367,50)	295,50* (257,20-321,40)	236,30** (137,00-314,90)
TNF α	9,20 (4,20-14,20)	3,90* (3,70-7,90)*	3,00*** (2,20-4,70)
IL-4	0,71 (0,54-0,88)	1,07 (0,95-1,13)	0,83 (0,75-1,42)
IL-10	17,34*** (11,94-22,74)	3,14* (2,53-5,66)	13,25** (1,52-69,04)

Примечание. * – p ≤ 0,05, при сравнении 1-й и 2-й группы; ** – p ≤ 0,05, при сравнении 2-й и 3-й группы; *** – p ≤ 0,05, при сравнении 1-й и 3-й группы.

Note. *, p ≤ 0,05, between groups 1 and 2; **, p ≤ 0,05, between groups 2 and 3; ***, p ≤ 0,05, between groups 1 and 3.

ТАБЛИЦА 5. КОЭФФИЦИЕНТЫ ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ИММУНИТЕТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ IgG К SARS-CoV-2, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 5. PRO- AND ANTI-INFLAMMATORY IMMUNE COEFFICIENTS AND LEVELS OF SARS-CoV-2 IgG ANTIBODIES, ME (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели Indicators	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3
	< 150 BAU/мл < 150 BAU/mL	150-500 BAU/мл 150-500 BAU/mL	> 500 BAU/мл > 500 BAU/mL
K1 IFN γ /IL-4	0,14 (0,14-1,59)	0,60* (0,19-0,63)	0,48*** (0,29-1,01)
K2 IFN γ /IL-4 + IL-10	0,01*** (0,01-0,50)	0,05* (0,05-0,16)	0,09** (0,05-0,36)
K3 IL-1 β + IL-6 + IFN γ /IL-4 + IL-10	4,75*** (3,47-6,03)	3,23* (1,40-4,07)	1,33** (0,70-54,29)
K4 (IFN γ + IL-1 β + TNF α + IL-6 + IL8)/IL-4 + IL-10	22,85 (9,00-36,70)	72,35* (28,13-81,40)	74,64*** (5,48-151,79)

Примечание. См. примечание к таблице 4.

Note. As for Table 4.

уровню антител IgG к SARS-CoV-2, было сформировано 3 подгруппы исследуемых: 1-я группа – менее 150 BAU/мл, 2-я группа – 150-500 BAU/мл, 3-я группа – 500 и более BAU/мл (табл. 3).

При анализе средних показателей цитокинов в сыворотке крови и коэффициентов про- и противовоспалительной активности в зависимости от уровня антител IgG к SARS-CoV-2 были получены следующие данные, представленные в таблицах 4 и 5.

При анализе корреляционной взаимосвязи цитокинов было выявлено, что практически все цитокины провоспалительной группы достоверно прямо коррелировали между собой ($p \leq 0,05$) и только IL-1 β – обратно коррелировал с IL-10 ($p \leq 0,05$), который является противовоспалительным цитокином (рис. 1).

Обсуждение

В свете полученных данных, в первую очередь обращает на себя внимание средний уровень IgG к SARS-CoV-2, который через 9 месяцев после вакцинации превышал заявленный защитный уровень более чем в 3 раза. Причем в 2 раза и более выше защитного – у 50% исследуемого контингента. Таким образом, главные вопросы, которые возникают: с чем связан такой высокий уровень антител почти через год после вакцинации, каков их протективный потенциал и нужна ли в данной ситуации ревакцинация от COVID-19?

В целом, при сравнении уровней цитокинов в зависимости от уровня антител IgG к SARS-

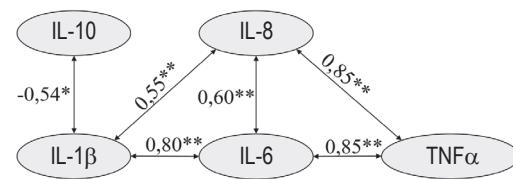


Рисунок 1. Корреляционные взаимосвязи уровней цитокинов в исследуемой группе

Примечание. * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$.

Figure 1. Cytokine correlations in the study group

Note. *, $p \leq 0.05$; **, $p \leq 0.01$.

CoV-2 были получены разноплановые данные. В группе 1 с IgG к SARS-CoV-2, не достигавшими рекомендованного защитного уровня (< 150 BAU/мл), уровни исследованных провоспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-8) были в 2 и более раз выше, чем в группе 2 с IgG к SARS-CoV-2 от 150 до 500 BAU/мл. При этом уровень противовоспалительного цитокина IL-10 был в 5 раз выше в 1-й группе по сравнению со 2-й группой. Значительно выше (в 4 раза) уровень IL-10 был и в группе 3 с IgG к SARS-CoV-2 от 500 и более BAU/мл (табл. 4). При расчете сводного коэффициента воспаления K4 было выявлено, что в группе с IgG к SARS-CoV-2, не достигавшими защитного уровня, его значения были более чем в 3 раза ниже по сравнению с группами, где IgG к SARS-CoV-2 превышали значение 150 BAU/мл.

Эффективность, кинетика и защита после естественного инфицирования и при формировании поствакцинального иммунитета к COVID-19 до конца не изучены. Специфические антитела играют важную роль в защите от COVID-19 посредством эффектов нейтрализации и выведения [5].

По данным некоторых исследований, специфический иммунитет после вакцинации от COVID-19 характеризуется формированием высоких уровней IgG к SARS-CoV-2 в группах, вакцинированных мРНК-вакцинами, по сравнению с естественно инфицированными пациентами. С другой стороны – после вакцинации инактивированными вирусными вакцинами уровни антител к SARS-CoV-2 были более приближены к значениям, как после естественного инфицирования [7, 13, 17]. Сравнительные исследования в когортах реципиентов, получивших две дозы вакцин разных производителей, показали, что вакцины Pfizer/BioNTech и «Спутник V» вызывают более выраженный иммунный ответ и стимулируют устойчивую выработку антител, чем, например, вакцины Sinopharm и Sinovac [10, 11].

Уровень антител IgG к SARS-CoV-2 является важнейшим показателем при оценке сформированности поствакцинального иммунитета. Полученные нами данные также согласуются со многими другими исследованиями, проводившимися в разных сообществах, которые показали значительные различия в продолжительности циркуляции защитных титров антител IgG к SARS-CoV-2 через разные промежутки времени после вакцинации. При оценке титра антител IgG к SARS-CoV-2 через пять месяцев после введения второй дозы вакцин «Спутник V», Sinopharm и AstraZeneca медицинским работникам у 96,4% наблюдались приемлемые уровни антител [6]. Также уровни антител IgG были значительно выше у переболевших людей, которые получили хотя бы одну дозу мРНК-вакцины. Влияние этих факторов на титр антител можно объяснить тем, что инфекция SARS-CoV-2 в анамнезе индуцирует активацию врожденного иммунитета и выработку антител. Таким образом, наблюдался высокий титр антител, что было связано с вовлечением врожденного и адаптивного иммунитета после вакцинации. Результаты исследований факторов, связанных с демографическими характеристиками, видами вакцин и анамнезом заболевания отдельных индивидов крайне неоднородны. По одним данным, они в значительной степени прямо или обратно коррелируют с иммуногенностью и «долговечностью» вакцинации [6, 12, 14].

По другим данным, было установлено, что титр антител, наоборот, не коррелирует с возрастом и полом, а вероятность заражения, тяжесть симптомов не связаны с возрастом, полом и уровнем антител. Более того, время, прошедшее после вакцинации, также не было существенным фактором, определяющим вероятность заражения. И в относительно однородных группах здоровых медработников возраст и ИМТ также не оказывали существенного влияния на силу иммунного ответа [15].

Что касается стратегий вакцинации: нужно ли повторно вакцинировать контингент, включенный в наше исследование, если нужно, то в какие сроки – это важные тактические вопросы, т. к. речь идет о закрытых коллективах. С одной стороны, специфическая стимуляция иммунной системы при ревакцинации, особенно вскоре после естественного заражения или после последней дозы вакцины с высоким уровнем антител, может привести к ограниченному усилению гуморального ответа – «потолок иммунитета» [16]. Т. е., если сравнивать инфекцию с дополнительной дозой вакцины, введенной через несколько недель после последней дозы, повторное воздействие вирусных антигенов либо посредством вакцинации, либо путем заражения через короткие интервалы времени вызывает ограниченный бустерный эффект. Это позволяет предположить, что двух-трех доз может быть достаточно для достижения максимального иммуногенного эффекта вакцины у здоровых лиц. С другой стороны, непрерывная эволюция SARS-CoV-2 определяет структурные изменения, которые позволяют возникающим штаммам частично уклоняться от генерируемого вакциной или предыдущими инфекциями иммунного ответа.

В исследованиях Н. Баратто и соавт. [8] была обнаружена интересная тенденция: у пациентов, перенесших COVID-19, исходные уровни антител IgG к SARS-CoV-2 до и после третьей дозы вакцины были выше по сравнению с теми, кто не заболел COVID-19 в течение 8 месяцев после ревакцинации.

В нашем исследовании наиболее выраженная комплексная провоспалительная активность системы цитокинов была выявлена у людей с уровнем антител, достигавших и превышавших защитный уровень в несколько раз. Своего максимального значения коэффициент K4 = 74,64 достигал при уровне антител 500 и более BAU/мл (табл. 5). Также в данной исследуемой группе обращают на себя внимание повышенный по сравнению с другими группами уровень IFN γ и пониженные уровни IL-8 и TNF α (табл. 4). Ко-

эффективный воспаления K2, посчитанный с учетом только IFN γ в качестве провоспалительного цитокина, отражает тенденцию к увеличению одновременно с увеличением уровня антител IgG к SARS-CoV-2 (табл. 5).

Поскольку иммунная система представляет собой сложный механизм, комбинированный анализ набора различных гетерогенных биомаркеров должен дать лучшую прогностическую информацию и предоставить более подробную картину иммунологического контекста здоровых людей в ответ на вакцинацию и инфицирование. По всей видимости, сывороточные антитела IgG к SARS-CoV-2 хоть и считаются индикаторами серологических тестов, но не являются единственными эффективными маркерами для прогнозирования ответа иммунной системы после полного цикла вакцинации против SARS-CoV-2. Контакт антигена с компонентами иммунной системы по сути определяет активацию как гуморального, так и клеточного иммунитета, играющего ключевую роль в индивидуальном ответе, на который также влияют генетические факторы [9].

Отрицательная сторона исследования состоит в том, что нам не удалось собрать адекватный эпидемиологический анамнез в исследуемой группе, чтобы сделать выводы по поводу взаимосвязей

уровней антител и заболеваемостью COVID-19, т. к. впоследствии весь контингент был привакцинирован сначала от гриппа, затем — повторно от COVID-19. Поэтому полученные данные в процессе обработки и станут темой дальнейших исследований с поправками на сочетанную вакцинацию и новый эпидемиологический сезон.

Заключение

Наше исследование подчеркивает сложность и разнообразие факторов, способствующих реакции иммунитета на COVID-19 среди населения, и указывает на необходимость в современных условиях более тщательного подхода к выбору стратегий вакцинации, особенно с учетом исходного иммунологического контекста. Тем не менее следует подчеркнуть, что, исходя из полученных результатов, при составлении плана повторной вакцинации важно учитывать исходный уровень антител, оставшихся после предыдущих вакцинаций, а для адекватной оценки необходимо не только сравнивать их с рекомендованным защитным уровнем, но и, возможно, рассматривать в совокупности с расчитанными в коэффициентах иммунологическими показателями.

Список литературы / References

1. Костинов М.П. Иммунопатогенные свойства SARS-CoV-2 как основа для выбора патогенетической терапии // Иммунология, 2020. Т. 41, № 1. С. 83-91. [Kostinov M.P. Immunopathogenic properties of SARS-CoV-2 as the basis for the choice of pathogenetic therapy. *Immunologiya = Immunologiya*, 2020, Vol. 41, no. 1, pp. 83-91. (In Russ.)]
2. Костинов М.П., Свитич О.А., Маркелова Е.В. Потенциальная иммунопрофилактика COVID-19 у групп высокого риска инфицирования: временное пособие для врачей. М.: Группа МДВ, 2020. 64 с. [Kostinov M.P., Svitich O.A., Markelova E.V. Potential immunoprophylaxis of COVID-19 in groups at high risk of infection: Temporary allowance for doctors]. Moscow: Gruppa MDV, 2020. 64 p.
3. Крылова Н.В., Леонова Г.Н., Павленко Е.В. Особенности цитокинового профиля на ранних стадиях инфицирования вирусом клещевого энцефалита у вакцинированных и невакцинированных людей // Тихоокеанский медицинский журнал, 2012. № 4. С. 78-81. [Krylova N.V., Leonova G.N., Pavlenko E.V. Features of the cytokine profile in the early stages of infection with tick-borne encephalitis virus in vaccinated and unvaccinated people. *Tikhookeanskiy meditsinskij zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2012, no. 4, pp. 78-81. (In Russ.)]
4. О СПУТНИК V. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://sputnikvaccine.com/rus/about-vaccine/>. (Дата обращения: 06.06.2024). [About Sputnik V. [Electronic resource]. Available at: <https://sputnikvaccine.com/rus/about-vaccine/>. (Access date: June 6, 2024)].
5. Al-Tamimi M., Tarifi A.A., Qaqish A., Abbas M.M., Albalawi H., Abu-Raideh J., Salameh M., Khasawneh A.I. Immunoglobulins response of COVID-19 patients, COVID-19 vaccine recipients, and random individuals. *PLoS One*, 2023, Vol. 18, no. 2, e0281689. doi: 10.1371/journal.pone.0281689.
6. Anvari E., Ghamar T.A., Eshkevar V.M., Karimi N., Ataollahi M., Najafi G., Kabelitz D., Ahmadi I., Kalantar K. Comparison of the antibody responses following vaccination with AstraZeneca and Sinopharm. *Iran J. Immunol.*, 2022, Vol. 19, no. 3, pp. 321-329.

7. Azak E., Karadenizli A., Uzuner H., Karakaya N., Canturk N.Z., Hulagu S. Comparison of an inactivated Covid19 vaccine-induced antibody response with concurrent natural Covid19 infection. *Int. J. Infect. Dis.*, 2021, Vol. 113, pp. 58-64.
8. Baratto N., Maistrello L., Pazienza E., Barresi R. Anti-SARS-CoV-2 IgG antibody response in individuals infected post complete vaccination: a 6-month longitudinal study in healthcare professionals. *Vaccines (Basel)*, 2023, Vol. 11, no. 6, 1077. doi: 10.3390/vaccines11061077.
9. Cheetham N.J., Kibble M., Wong A., Silverwood R.J., Knuppel A., Williams D.M., Hamilton O.K.L., Lee P.H., Bridger S.C., Di G.G., Zhu J., Katikireddi S.V., Ploubidis G.B., Thompson E.J., Bowyer R.C.E., Zhang X., Abbasian G., Garcia M.P., Hart D., Seow J., Graham C., Koupou N., Acors S., Malim M.H., Mitchell R.E., Northstone K., Major-Smith D., Matthews S., Breeze T., Crawford M., Molloy L., Kwong A.S.F., Doores K., Chaturvedi N., Duncan E.L., Timpson N.J., Steves C.J. Antibody levels following vaccination against SARS-CoV-2: associations with post-vaccination infection and risk factors in two UK longitudinal studies. *Elife*, 2023 Vol. 12. e80428. doi: 10.7554/eLife.80428.
10. Dashdorj N.J., Wirz O.F., Röltgen K., Haraguchi E., Buzzanco A.S., Sibai M., Wang H., Miller J.A., Solis D., Sahoo M.K., Arunachalam P.S., Lee A.S., Shah M.M., Liu J., Byambabaatar S., Bat-Ulzii P., Enkhbat A., Batbold E., Zulkhuu D., Ochirsum B., Khurelsukh T., Dalantai G., Burged N., Baatarsuren U., Ariungerel N., Oidovsambuu O., Bungert A.S., Genden Z., Yagaanbuyant D., Mordorj A., Pulendran B., Chinthrajah S., Nadeau K.C., Jardetzky T., Wilbur J.L., Wohlstadter J.N., Sigal G.B., Pinsky B.A., Boyd S.D., Dashdorj N.D. Direct comparison of antibody responses to four SARS-CoV-2 vaccines in Mongolia. *Cell Host Microbe*, 2021, Vol. 29, no. 12, pp. 1738-1743.
11. Ebrahim F., Tabal S., Lamami Y., Alhudiri I.M., El Meshri S.E., Al Dwigen S., Arfa R., Alboeshi A., Aleamam H.A., Abuhtna F., Altrhouni R., Milad M.B., Elgriw N.A., Ruua M.A., Abusrewil Z., Harroush W., Jallul M., Ali F.S., Eltaib F., Elzagheid A. Anti-SARS-CoV-2 IgG antibody's Post-COVID-19 or post-vaccination in libyan population: comparison of four vaccines. *Vaccines*, 2022, Vol. 10, no. 12, 2002. doi: 10.3390/vaccines10122002.
12. Efrati S., Catalogna M., Abu Hamed R., Hadanny A., Bar-Chaim A., Benveniste-Levkovitz P., Strugo R., Levzion-Korach O. Early and long term antibody kinetics of asymptomatic and mild disease COVID-19 patients. *Sci. Rep.*, 2021, Vol. 11, no. 1, 13780. doi: 10.1038/s41598-021-93175-y.
13. Jackson L.A., Anderson E.J., Roushaf N.G., Roberts P.C., Makhene M., Coler R.N., McCullough M.P., Chappell J.D., Denison M.R., Stevens L.J., Pruijssers A.J., McDermott A., Flach B., Doria-Rose N.A., Corbett K.S., Morabito K.M., O'Dell S., Schmidt S.D., Swanson P.A., Padilla M., Mascola J.R., Neuzil K.M., Bennett H., Sun W., Peters E., Makowski M., Albert J., Cross K., Buchanan W., Pikaart-Tautges R., Ledgerwood J.E., Graham B.S., Beigel J.H. An mRNA Vaccine against SARS-CoV-2 – Preliminary Report. *N. Engl. J. Med.*, 2020, Vol. 383, no. 20, pp. 1920-1931.
14. Luo C., Liu M., Li Q., Zheng X., Ai W., Gong F., Fan J., Liu S., Wang X., Luo J. Dynamic changes and prevalence of SARS-CoV-2 IgG/IgM antibodies: Analysis of multiple factors. *Int. J. Infect. Dis.*, 2021, Vol. 108, pp. 57-62.
15. Montero S., Urrunaga-Pastor D., Soto-Becerra P., Cvetkovic-Vega A., Guillermo-Roman M., Figueroa-Montes L., Sagastegui A.A., Alvizuri-Pastor S., Contreras-Macazana R.M., Apolaya-Segura M., Díaz-Vélez C., Maguina J.L. Humoral response after a BNT162b2 heterologous third dose of COVID-19 vaccine following two doses of BBIBP-CorV among healthcare personnel in Peru. *Vaccine X*, 2023, Vol. 14, 100311. doi: 10.1016/j.jvacx.2023.100311.
16. Noh J.Y., Cheong H.J., Kim W.J., Choi J.Y., Lee H.W., Kim S.S., Kim B., Song J.Y. Robust neutralizing antibody responses after single-dose BNT162b2 vaccination at long intervals from prior SARS-CoV-2 infection and ceiling effect with repeated vaccination. *J. Infect.*, 2022, Vol. 85, no. 5, pp. 573-607.
17. Sahin U., Muik A., Derhovanessian E., Vogler I., Kranz L.M., Vormehr M., Baum A., Pascal K., Quandt J., Maurus D., Brachtendorf S., Lörks V., Sikorski J., Hilker R., Becker D., Eller A.K., Grützner J., Boesler C., Rosenbaum C., Kühnle M.C., Luxemburger U., Kemmer-Brück A., Langer D., Bexon M., Bolte S., Karikó K., Palanche T., Fischer B., Schultz A., Shi P.Y., Fontes-Garfias C., Perez J.L., Swanson K.A., Loschko J., Scully I.L., Cutler M., Kalina W., Kyratsous C.A., Cooper D., Dormitzer P.R., Jansen K.U., Türeci Ö. COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and TH1 T cell responses. *Nature*, 2020, Vol. 586, no. 7830, pp. 594-599.
18. Soriano J.B., Murthy S., Marshall J.C., Relan P., Diaz J.V., WHO Clinical Case Definition Working Group on Post-COVID-19 Condition. A clinical case definition of post-COVID-19 condition by a Delphi consensus. *Lancet Infect. Dis.*, 2022, Vol. 22, no. 4, pp. 102-107.
19. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. Available at: <https://data.who.int/dashboards/covid19/cases?n=c>. (Access date: June 6, 2024).
20. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. Vaccination. Available at: <https://covid19.who.int/?mapFilter=vaccinations>. (Access date: June 6, 2024).

21. WHO Director-General's Report to Member States at the 76th World Health Assembly – 22 May 2023. Available at: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-report-to-member-states-at-the-76th-world-health-assembly---22-may-2023>. (Access date: June 6, 2024).

22. Yelin D., Moschopoulos C.D., Margalit I., Gkrania-Klotsas E., Landi F., Stahl J.P., Yahav D. ESCMID rapid guidelines for assessment and management of long COVID. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2022, Vol. 28, no. 7, pp. 955-972.

Авторы:

Ли Ю.А. – к.м.н., врач-инфекционист, майор медицинской службы, преподаватель военного учебного центра ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Дмитраченко М.Н. – студентка лечебного факультета ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Маркелова Е.В. – д.м.н., профессор, заведующая кафедрой нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Authors:

Li Yu.A., PhD (Medicine), Infectious Diseases Doctor, Major of Medical Service, Teacher of the Military Training Center, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Dmitrachenko M.N., Student, Medical Faculty, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Markelova E.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Normal and Pathological Physiology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Костинов М.П. – д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заведующий лабораторией вакцинопрофилактики и иммунотерапии аллергических заболеваний ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»; заведующий кафедрой эпидемиологии и современных технологий вакцинации ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» (Сеченовский университет), Москва, Россия

Королев И.Б. – к.м.н., полковник медицинской службы, начальник военного учебного центра ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Немцев К.К. – студент лечебного факультета ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Поступила 06.06.2024
Принята к печати 14.09.2024

Kostinov M.P., PhD, MD (Medicine), Professor,
Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head,
Laboratory of Vaccination and Immunotherapy of Allergic
Diseases, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines
and Sera; Head, Department of Epidemiology and Modern
Technologies of Vaccination, I. Sechenov First Moscow State
Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian
Federation

Korolev I.B., PhD (Medicine), Colonel of Medical Service,
Head of the Military Training Center of Pacific State Medical
University, Vladivostok, Russian Federation

Nemtsev K.K., Student, Medical Faculty, Pacific State
Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Received 06.06.2024
Accepted 14.09.2024

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ И ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЦИТОКИНОВ В ОЦЕНКЕ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ БОЛЬНЫХ COVID-19

Давыдова Н.В.¹, Путков С.Б.¹, Решетняк Д.В.¹, Казаков С.П.^{1,2}

¹ ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко», Москва, Россия

² ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», Москва, Россия

Резюме. Характер и интенсивность реакции иммунной системы организма человека на заражение вирусом SARS-CoV-2 зависят от многих факторов. Иммунный ответ на инфекцию включает клеточное и гуморальное звено. Гуморальное звено состоит из эффекторных специфических (антитела), неспецифических (белки острой фазы, прокальцитонин (PCT), α - и β -интерфероны) и регуляторных факторов, таких как цитокины (интерлейкины (IL), γ -интерферон (IFN γ)) и медиаторы (лейкотриены и т. д.). В данном исследовании изучались сывороточные уровни цитокинов (IFN γ , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, IL-18) и неспецифический эффекторный фактор иммунной системы PCT при разной степени тяжести заболевания COVID-19.

Биоматериал (сыворотка крови) 91 пациента (15 женщин, 76 мужчин) в возрасте 29–88 лет (средний возраст 53,9 года) собирался в период с мая 2020 по июль 2021 г. Пациенты были распределены на группы по степени тяжести заболевания, в зависимости от клинических данных, потребности в кислороде, данных о госпитализации: больные COVID-19 легкой степени тяжести ($n = 9$) – пациенты на амбулаторном лечении; больные средней степени тяжести ($n = 38$) – пациенты коечного отделения инфекционного стационара; больные тяжелой степени тяжести ($n = 44$) – пациенты инфекционного отделения реанимации и интенсивной терапии; контрольная группа пациентов ($n = 20$) – доноры крови без хронических заболеваний.

В результате исследования были выявлены наиболее важные маркеры тяжести состояния, с помощью ROC-анализа рассчитаны пороговые значения для дифференциальной диагностики разных степеней тяжести по достоверно различающимся критериям, диагностической эффективности показателей медиаторов иммунитета в разработанной логистической регрессивной модели.

Нами были обнаружены и статистически подтверждены показатели, наиболее достоверно влияющие на степень тяжести при COVID-19 – IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, PCT, IFN γ ; максимальный рост IL-17A и IFN γ – при легкой степени и снижение – в средней и максимально в тяжелой степени COVID-19. Факторами плохого прогноза являлись повышение IL-6, IL-10, PCT, снижение IFN γ . Об-

Адрес для переписки:

Казаков Сергей Петрович
ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь
имени академика Н.Н. Бурденко»
105094, Россия, Москва, Госпитальная площадь, 3.
Тел.: 8 (499) 263-01-73.
E-mail: gvkg.ckld@mail.ru

Address for correspondence:

Sergey P. Kazakov
Main Military N. Burdenko Clinical Hospital,
Russian Defense Ministry
3 Gospitálnaya Square
Moscow
105094 Russian Federation
Phone: +7 (499) 263-01-73.
E-mail: gvkg.ckld@mail.ru

Образец цитирования:

Н.В. Давыдова, С.Б. Путков, Д.В. Решетняк, С.П. Казаков «Исследование взаимосвязей и диагностической эффективности цитокинов в оценке степени тяжести больных COVID-19» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 379-394. doi: 10.15789/1563-0625-SIO-3067

© Давыдова Н.В. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

N.V. Davydova, S.B. Putkov, D.V. Reshetnyak, S.P. Kazakov
“Studying interconnections of cytokines and their diagnostic
effectiveness when assessing severity grade in COVID-19
patients”, Medical Immunology (Russia)/Meditinskaya
Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 379-394.
doi: 10.15789/1563-0625-SIO-3067

© Davydova N.V. et al., 2025

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

DOI: 10.15789/1563-0625-SIO-3067

наружены корреляционные связи медиаторов иммунного ответа (IL-8, IL-17A, IL-18, IFN γ), позволяющие глубже понимать механизм развития нарушений, дисбаланса иммунного ответа.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, IFN γ , IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, IL-18

STUDYING INTERCONNECTIONS OF CYTOKINES AND THEIR DIAGNOSTIC EFFECTIVENESS WHEN ASSESSING SEVERITY GRADE IN COVID-19 PATIENTS

Davydova N.V.^a, Putkov S.B.^a, Reshetnyak D.V.^a, Kazakov S.P.^{a, b}

^a Main Military N. Burdenko Clinical Hospital, Moscow, Russian Federation

^b Federal Research and Clinical Center for Specialized Medical Care and Medical Technologies, Federal Medical and Biological Agency, Moscow, Russian Federation

Abstract. The origins and intensity of human immune response to SARS-CoV-2 infection depend on many factors. The anti-infectious immune response includes both cellular and humoral components. The humoral link is mediated by effector-specific (antibodies) and non-specific factors (acute phase proteins, procalcitonin, α - and β -interferons), and regulatory factors, e.g., cytokines (interleukins (IL), γ -interferon (IFN γ)) and mediators (leukotrienes, etc.). In our work, serum levels of cytokines, i.e., IFN γ , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, IL-18 and procalcitonin (PCT), a nonspecific effector factor of the immune system were compared at varying degrees of COVID-19 severity. Biomaterial samples (blood serum) of 91 patients aged 29-88 years (average age 53.9 years; 15 women, 76 males) were collected between May 2020 and July 2021. We divided patients into groups according to the disease severity, depending on clinical data, oxygen demand, and hospitalization data. COVID-19 patients of "mild degree" (n = 9) were subject to outpatient treatment; the patients of "moderate degree" (n = 38) were hospitalized at the infectious hospital; in the "severe degree" cases (n = 44), the patients were treated at the infectious intensive care unit. The control group of patients (n = 20) was presented by the blood donors without chronic diseases. We have identified the most important markers of the disease severity. Moreover, using ROC analysis, we have calculated the thresholds for differential diagnosis of distinct degrees of COVID-19 severity, by significantly differing criteria, as well as diagnostic efficiency of immune mediator indexes using a developed logistic regression model. We have revealed and statistically confirmed the indices that most significantly influence the COVID-19 severity, i.e., IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, PCT, IFN γ . We found a maximum increase in IL-17A and IFN γ at a mild degree, and their reduction in the moderate and maximum severe cases of COVID-19. Increase in IL-6, IL-10, PCT levels, and a decrease in IFN γ proved to be the factors of poor prognosis. We have also found some correlations between the immune mediators (IL-8, IL-17A, IL-18, IFN γ) thus allowing a deeper insight into the mechanisms of the disorders, the imbalance of immune response.

Keywords: SARS-CoV-2 infection, cytokine levels, IFN γ , IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, IL-18

Введение

В 2020 г. началась пандемия новой коронавирусной инфекции (COVID-19), вызванная вирусом SARS-CoV-2, и для ученых до сих пор актуальны вопросы о разработке способов эффективной диагностики и лечения пациентов, прогнозе осложнений, так как данное заболевание в настоящее время продолжает распространяться. Всемирная организация здравоохранения объявила о завершении чрезвычайной фазы пандемии 5 мая 2023 г. По состоянию на 22 октября 2023 г. во всем мире было зарегистрирова-

но более 771 млн подтвержденных случаев и более 6,9 млн умерших [36]. Попытки разработать этиотропное лечение пока не увенчались значительным успехом в связи с чрезвычайно быстрой изменчивостью вируса, мутациями РНК-генома, влияющими на способность вируса уклоняться от действия иммунной системы, селекцией, и появлением новых контагиозных вариантов, различающихся по симптомам и клиническому течению, возникновением «волн» пяти эпидемически значимых штаммов: альфа, бета, гамма, дельта, омикрон [16]. В связи с этим пытаются

выявить предикторы осложнений и группы риска больных, оценить параметры иммунной системы и влияние общей реактивности организма на развитие заболевания [14].

Цитокины играют важное значение не только при инфекционных, но и при аутоиммунных и онкологических заболеваниях, позволяя использовать их в понимании механизмов нарушения иммунного ответа и в диагностике между разными группами исследуемой патологии [6, 7, 8, 11, 17, 18, 19, 21].

Иммунный ответ при коронавирусной инфекции характеризуется развитием так называемого цитокинового шторма (ЦШ) – реакция организма на различные патогены, связанная с избыточной неконтролируемой продукцией некоторых медиаторов иммунной системы, которая запускает каскад по принципу положительной обратной связи [21] и ведет к повреждениям органов и тканей организма. В настоящее время концепция ЦШ лучше изучена при патогенезе многих других состояний, таких как сепсис, ауто-воспалительные заболевания, первичный и вторичный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз и мультицентрический синдром Каствелмана [37] и изучается при CAR-T-терапии [25]. Более того, ЦШ стал ключевым аспектом нового коронавирусного заболевания в 2019 г., поскольку у пациентов наблюдались высокие уровни нескольких ключевых провоспалительных цитокинов: IL-1, IL-2, IL-6, IL-10, TNF α , IFN γ , IP-10, GM-CSF, MCP-1, некоторые из которых коррелировали с тяжестью заболевания [36].

Главную роль в запуске ЦШ при COVID-19 играет IL-6, что доказано многими исследованиями [14, 32]. Например, у пациентов с тяжелой формой COVID-19 отмечались более высокие уровни IL-6 ($p = 0,026$) [32]. IL-6 индуцирует секрецию белков острой фазы, стимулирует дифференцировку В-клеток, активацию и дифференцировку Т-лимфоцитов в Th17, которые, в свою очередь, синтезируют IL-17 [11]. ЦШ играет решающую роль в развитии тяжелого течения COVID-19 [4]. Некоторые исследователи выявляют гипервоспалительный синдром при тяжелом течении COVID-19, проявляющийся высокими уровнями IL-6, IL-8, IL-15, IL-18, MIG, MDC, MCP-1, M-CSF, TNF α [4].

Острая форма COVID-19 была связана с заметным повышением почти всех провоспалительных маркеров, в то время как одиннадцать маркеров (IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-10, IL-18, IL-23, IL-33, TNF α , IP-10, G-CSF и YKL-40) были связаны с тяжестью заболевания [29]. Повышенный уровень провоспалительных цитокинов (особенно IL-2, IL-6, IL-10, IL-17) и истощенные Т-клетки обнаружены в периферической крови

и легких [30]. При этом необходимо четко знать референтные уровни цитокинов, свойственные здоровым людям [5]. Эти показатели могут выходить за пределы значений, которые указываются в инструкциях производителей наборов реагентов, предназначенных для количественного определения цитокинов в биологических жидкостях человека и культуральных средах. Кроме того, как справедливо отмечается в некоторых работах, опубликованные данные о количественном содержании цитокинов в сыворотке и плазме крови как здоровых, так и больных людей, очень противоречивы, что может быть обусловлено среди других причин использованием исследователями наборов разных фирм [20].

Цель – проведение сравнительного исследования уровней цитокинов и медиаторов иммунитета, их диагностической эффективности у больных COVID-19 с разной степенью тяжести заболевания. В нашей работе мы изучали некоторые механизмы развития ЦШ.

Материалы и методы

Биоматериал (сыворотка крови) 91 пациента (15 женщин, 76 мужчин) в возрасте 29–88 лет (средний возраст 53,9 года) собирался в период с мая 2020 по июль 2021 г. В это время регистрировались уханьский, альфа- и дельта-варианты вируса. Пациенты были распределены на группы по степени тяжести, в зависимости от клинических данных, потребности в кислороде, данных о госпитализации: больные COVID-19 легкой степени ($n = 9$) – пациенты на амбулаторном лечении; больные средней степени ($n = 38$) – пациенты коечного отделения инфекционного стационара; больные тяжелой степени ($n = 44$) – пациенты инфекционного отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ); контрольная группа пациентов ($n = 20$) – доноры крови без хронических заболеваний.

Кровь собиралась в вакуумные пробирки с активатором свертывания. Пробирки центрифугировались согласно методическим рекомендациям по преаналитике [12]. Из сыворотки выполнялись исследования на IL-6 и прокальцитонин (PCT) в день забора материала. В дальнейшем, в тот же день, сыворотка отбиралась в пластиковые микропробирки («Эппendorф»), сразу замораживалась, хранилась при температуре -80°C . Позже одномоментно проводилось количественное определение уровней цитокинов. Для работы использовались наборы реагентов для иммуноферментного анализа ручными методами отечественных и зарубежных производителей: IFN γ , IL-2, IL-8, IL-10, IL-18 (АО «Вектор-Бест», Россия), IL-17A (Human, ThermoFisher, США) и наборы для автоматического определения на анализаторе

ре IL-6 и РСТ (Cobas e411, Roche, Швейцария). С нижними пределами чувствительности и порогом 2-500 пг/мл, 1-500 пг/мл, 0,5-100 пг/мл и 2-250 пг/мл для IL-2, IL-10, IL-17A и IL-8 соответственно; для IL-18 и IFN γ – 2-1000 пг/мл, определение в интервале концентраций 1,5-50 000 пг/мл для IL-6 с чувствительностью от 1,5 пг/мл и для РСТ – 0,02-100 нг/мл с чувствительностью от 0,02 нг/мл.

В исследуемых группах определяли среднее значение показателей (M) и среднюю ошибку (m) для оценки точности расчета и определения доверительных интервалов [2]. Статистическая обработка данных проводилась с расчетом непараметрического критерия Манна-Уитни, корреляционного анализа по Спирмену, построением ROC-кривых, с использованием ПО SPSS Statistics v. 26. Достоверно значимые различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$, при сравнении двух групп. Взаимосвязь между непрерывными величинами, имеющими ненормальное распределение, оценивали по ранговой корреляции Спирмена. Силу связей оценивали

по шкале Чеддока [1]. Оценку диагностической чувствительности и специфичности производили с помощью анализа ROC-кривых, с расчетом максимальной площади под кривой. Для показателей были определены пороги отсечения (cut-off). Для определения оптимального порога были заданы следующие критерии его определения: максимальная суммарная чувствительность (Se) и специфичность (Sp) модели (cut-off = $\max(Se + Sp)$) и баланс между чувствительностью и специфичностью, т. е. когда $Se \sim Sp$ (cut-off = $\min |Se - Sp|$).

Результаты

Результаты исследования цитокинов в контрольной группе пациентов и пациентов с COVID-19 с легкой, средней и тяжелой степенями заболевания представлены в таблице 1.

Динамика изменений уровня показателей при разных степенях тяжести заболевания представлена на рисунке 1.

Анализ полученных результатов показал, что концентрация основного провоспалительного

ТАБЛИЦА 1. УРОВНИ МЕДИАТОРОВ ИММУНИТЕТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ COVID-19

TABLE 1. LEVELS OF IMMUNE MEDIATORS DEPENDING ON THE SEVERITY OF COVID-19

Показатель, единицы Indicator, units	Контрольная группа Control group (n = 20)		Группы больных COVID-19, количество, n COVID-19 patient groups, number, n					
			Легкая степень Mild degree (n = 9)		Средняя степень Moderate degree (n = 38)		Тяжелая степень Severe degree (n = 44)	
	M	$\pm m$	M	$\pm m$	M	$\pm m$	M	$\pm m$
IL-6, пг/мл IL-6, pg/mL	3,0	0,4	3,0	1,0	280,3	50,3	3149***	474,7
PCT, нг/мл PCT, ng/mL	0,042	0,004	0,036	0,012	0,2**	0,036	0,89***	0,14
IL-17A, пг/мл IL-17A, pg/mL	0,1	0,05	10,0*	3,33	4,1	0,66	3,2	0,51
IL-18, пг/мл IL-18, pg/mL	157,4	6,2	267,4*	89,15	490,5**	79,6	519	81,1
IFN γ , пг/мл IFN γ , pg/mL	2	0,5	31,3*	10,4	24,4	3,96	15,3***	2,4
IL-8, пг/мл IL-8, pg/mL	2	0,5	10,7*	3,5	119,4**	19,7	103	16,1
IL-10, пг/мл IL-10, pg/mL	6	1	5,2	1,7	46,4**	7,5	101***	15,7
IL-2, пг/мл IL-2, pg/mL	0,3	0,005	0,64	0,2	0,97	0,16	0,763	0,12

Примечание. * – достоверные отличия ($p < 0,05$, критерий Манна-Уитни) между контрольной группой и легкой степенью; ** – достоверные отличия ($p < 0,05$) между легкой и средней степенями; *** – достоверные отличия ($p < 0,05$) между средней и тяжелой степенями.

Note. *, significant differences ($p < 0.05$, Mann-Whitney criterion) between control and mild degree; **, significant differences ($p < 0.05$) between mild and moderate degrees; ***, significant differences ($p < 0.05$) between moderate and severe degrees.

цитокина IL-6 увеличивалась в зависимости от тяжести состояния пациентов с COVID-19. У пациентов с легкой степенью тяжести COVID-19 отмечались показатели среднего уровня IL-6 ($M \pm m$), которые составляли $3,0 \pm 1,0$ пг/мл и достоверно не отличались от этого показателя в контрольной группе. У пациентов средней степени тяжести, находящихся на стационарном лечении в инфекционном отделении, был выявлен высокий уровень IL-6 ($280,3 \pm 50,3$ пг/мл). IL-6 имел тенденцию к росту, по сравнению с группой больных с COVID-19 легкой степени тяжести, однако достоверных различий выявлено не было. Значительный рост уровня IL-6 был отмечен в группе пациентов с COVID-19, находящихся в ОРИТ с тяжелой степенью тяжести заболевания, средний уровень IL-6 составил $3149,5 \pm 474,7$ пг/мл и достоверно ($p = 0,0001$) отличался от группы пациентов со средней степенью тяжести.

Исследование уровня IL-2 у пациентов контрольной группы и групп больных COVID-19 с легкой, средней и тяжелой степенями заболевания позволило отметить тенденцию к увеличению этого цитокина в зависимости от степени тяжести. Так, уровень данного цитокина у заболевших COVID-19 составил $0,64 \pm 0,2$ пг/мл, $0,97 \pm 0,16$ пг/мл и $0,763 \pm 0,12$ пг/мл соответственно, при уровне $0,3 \pm 0,01$ пг/мл в контрольной

группе. Достоверных различий между группами выявлено не было.

Изучение уровня хемокина, продуцируемого нейтрофилами, IL-8, позволило выявить его достоверное ($p = 0,002$) увеличение у больных COVID-19 уже при легкой степени тяжести до уровня $10,7 \pm 3,5$ пг/мл по сравнению с контрольной группой, где концентрация IL-8 составляла $2,0 \pm 0,5$ пг/мл. Достоверные различия ($p = 0,001$) и прирост были обнаружены при сравнении показателя IL-8 у больных средней степени тяжести, составлявшего $119,4 \pm 19,7$ пг/мл, и больных легкой степени тяжести. Последующее снижение уровня IL-8 до $103,1 \pm 16,1$ пг/мл было отмечено в группе пациентов COVID-19, находящихся в ОРИТ, по сравнению с показателем IL-8 у больных в средней степени тяжести без достоверных различий.

Анализ результатов противовоспалительного цитокина IL-10 выявил, что у больных COVID-19 легкой степени тяжести его уровень составлял $5,2 \pm 1,7$ пг/мл и не имел значимых различий и тенденций к изменению, по сравнению с контрольной группой. У больных с COVID-19 средней степени тяжести, находившихся в стационарных условиях, отмечалось достоверное ($p = 0,021$) увеличение уровня IL-10 в 9 раз (до $46,4 \pm 7,5$ пг/мл), по сравнению с уровнем IL-10 у амбулаторных больных с легкой степенью тяжести.

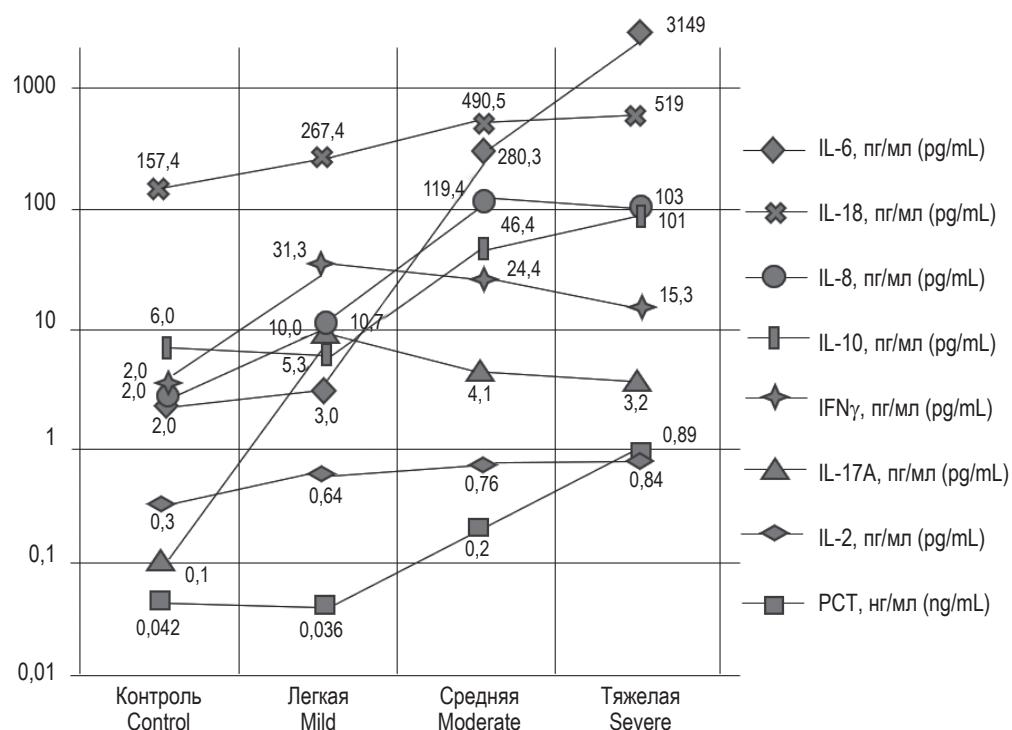


Рисунок 1. Динамика изменения цитокинов в зависимости от степени тяжести COVID-19

Figure 1. Dynamics of cytokine changes depending on the severity COVID-19

жести. У больных COVID-19, находившихся на интенсивной терапии в ОРИТ, концентрация IL-10 продолжала нарастать и достигала в группе уровня $101,4 \pm 15,7$ пг/мл, достоверно ($p = 0,010$) отличаясь от показателя IL-10 у больных средней степени тяжести заболевания.

IL-17A показал значительное повышение концентрации до уровня $10,0 \pm 3,33$ пг/мл уже в группе больных с легкой степенью тяжести заболевания, достоверно ($p = 0,034$) отличаясь у пациентов контрольной группы с уровнем $0,1 \pm 0,05$ пг/мл. Достоверных различий уровней IL-17A в группе больных COVID-19, находящихся на стационарном лечении в инфекционном отделении, и пациентами ОРИТ выявлено не было. Однако отмечена высокая концентрация IL-17A у больных с легкой степенью тяжести COVID-19, которая в дальнейшем снижалась при утяжелении состояния больного. Так, в группах больных со средней и тяжелой степенями тяжести уровень IL-17A составлял $4,1 \pm 0,66$ пг/мл и $3,2 \pm 0,51$ пг/мл соответственно.

В группе больных COVID-19 легкой степени тяжести отмечалось достоверное ($p = 0,034$) увеличение уровня IL-18 до $267,4 \pm 89,15$ пг/мл, по сравнению с этим показателем в контрольной группе ($157,4 \pm 6,2$ пг/мл). Сравнение концентрации IL-18 у больных COVID-19 в группах больных с легкой и средней степенями тяжести заболевания выявило достоверно значимое ($p = 0,019$) увеличение уровня IL-18 в группе больных со средней степенью тяжести до $490,5 \pm 79,6$ пг/мл. Отмечалась тенденция к дальнейшему увеличению уровня IL-18 в группе больных COVID-19, находившихся в ОРИТ, до $519,4 \pm 81,1$ пг/мл, однако достоверных различий выявлено не было.

Изучение иммунорегуляторного цитокина IFN γ , продуцируемого клеточным звеном иммунной системы и участвующего в цитотоксических реакциях, позволило установить его значительный рост в группе больных с легкой степенью тяжести до $31,3 \pm 10,4$ пг/мл, который достоверно ($p = 0,0001$) отличался от этого показателя у пациентов контрольной группы ($2,0 \pm 0,5$ пг/мл). Концентрация цитокина в группах больных со средней и тяжелой степенями тяжести заболевания имела четко выраженную динамику к снижению IFN γ до уровней $24,4 \pm 3,96$ пг/мл и $15,3 \pm 2,4$ пг/мл соответственно, по сравнению с его концентрацией в группе больных с легкой степенью тяжести. Уменьшение концентрации IFN γ у больных средней и тяжелой степенями тяжести заболевания было достоверным ($p = 0,001$).

Сравнение уровня маркера системного воспаления PCT в группах больных COVID-19 показало повышение по мере нарастания степени тяжести заболевания. Так, у больных с легкой,

средней и тяжелой степенями тяжести отмечалась динамика повышения этого показателя до уровней $0,036 \pm 0,012$ нг/мл, $0,2 \pm 0,036$ нг/мл и $0,89 \pm 0,14$ нг/мл соответственно. Достоверное увеличение PCT выявлено у больных со средней степенью тяжести заболевания, по сравнению с легкой степенью ($p = 0,034$), а также концентрация PCT значимо росла у больных от средней к тяжелой степени тяжести заболевания ($p = 0,001$).

Были изучены корреляционные связи исследуемых цитокинов и медиаторов воспаления при различных степенях тяжести заболевания. В группе больных COVID-19 легкой степени тяжести выявлены высокие отрицательные значимые корреляционные связи между цитокинами IL-6 и IL-17A ($r = -0,721$, $p = 0,028$), IL-6 и IFN γ ($r = -0,769$, $p = 0,015$), что указывает на наличие сильной обратной связи между этими показателями. Корреляционные связи с IL-6 отсутствовали у следующих цитокинов и медиаторов: IL-2, IL-8, IL-10, IL-18 и PCT.

Изучение IL-2 при легкой степени тяжести COVID-19 выявило значимую высокую отрицательную корреляцию с IL-17A ($r = -0,726$, $p = 0,027$), средние отрицательные связи IL-2 с IFN γ ($r = -0,661$, $p = 0,053$), IL-2 с PCT ($r = -0,671$, $p = 0,215$) были недостоверными.

Значения IL-8 связаны слабой положительной корреляцией с IL-6 ($r = 0,455$, $p = 0,219$), достоверность не выявлена.

Исследование корреляции IL-10 при легкой степени тяжести заболевания не выявило связи с исследуемыми цитокинами и медиаторами воспаления.

Изучение корреляции IL-17A позволило установить значимые сильные отрицательные связи с IL-2 ($r = -0,726$, $p = 0,027$) и IL-6 ($r = -0,721$, $p = 0,028$) и достоверные сильные положительные связи IL-17A с IFN γ ($r = 0,775$, $p = 0,014$). Связь IL-17A с PCT, с цитокинами IL-8, IL-10, IL-18 не выявлена или не была достоверной.

Анализ корреляций IL-18 выявил положительную среднюю связь с IL-10 ($r = 0,400$, $p = 0,286$), не являющуюся достоверной, остальные медиаторы воспаления IL-2, IL-6, IL-8, IL-17A, IFN γ и PCT не показали взаимосвязи с IL-18 при легкой степени тяжести.

Связи IFN γ показали значимую высокую положительную корреляцию с IL-17A ($r = 0,775$, $p = 0,014$) и сильную достоверную отрицательную связь IFN γ с IL-6 ($r = -0,769$, $p = 0,015$); IFN γ с IL-2 показал среднюю отрицательную связь ($r = -0,661$, $p = 0,053$), а IL-8, IL-10, IL-18 и PCT не имели взаимосвязи с IFN γ в группе пациентов легкой степени тяжести COVID-19.

Медиатор воспаления PCT имел среднюю отрицательную корреляционную зависимость от

IL-2 ($r = -0,671$, $p = 0,215$), без достоверности, остальные цитокины IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, IL-18 и IFN γ с PCT не имели корреляций при оценке показателей в группе легкой степени тяжести заболевания.

Изучение корреляционных связей изучаемых медиаторов воспаления в группе пациентов средней степени тяжести COVID-19 показало усиление противовоспалительного звена с одновременным увеличением значимых корреляций в провоспалительном звене медиаторов воспаления.

Так, изучение корреляции IL-6 позволило обнаружить среднюю значимую положительную связь с IL-10 ($r = 0,603$, $p = 0,0001$), среднюю достоверную положительную корреляцию с IL-17A ($r = 0,486$, $p = 0,003$) и слабую значимую корреляционную зависимость от PCT ($r = 0,342$, $p = 0,048$). IL-2, IL-8, IL-18 и IFN γ не имели корреляции с IL-6 при средней степени тяжести.

Корреляционные связи IL-2 показали очень слабые связи с IL-6 ($r = 0,206$, $p = 0,274$) и IL-10 ($r = 0,250$, $p = 0,160$), не имеющие достоверности. Остальные медиаторы воспаления не имели корреляции с IL-2.

Изучение корреляций IL-8 выявило слабую значимую отрицательную связь с PCT ($r = -0,450$, $p = 0,011$) и недостоверную с IL-10 ($r = -0,305$, $p = 0,075$). С другими цитокинами IL-2, IL-6, IL-17A, IL-18, IFN γ корреляции не обнаружены.

Корреляционные взаимоотношения противовоспалительного цитокина IL-10 отмечены формированием выраженных связей в группе пациентов средней тяжести. Так, выявлены значимые положительные корреляции средней силы с основными провоспалительными цитокинами и медиатором воспаления: IL-6 ($r = 0,603$, $p = 0,0001$), IL-18 ($r = 0,627$, $p = 0,0001$), PCT ($r = 0,572$, $p = 0,001$), с иммуномодулирующим цитокином IFN γ – значимая положительная слабая корреляция ($r = 0,452$, $p = 0,006$), слабые достоверные положительные корреляции с IL-17A ($r = 0,342$, $p = 0,044$) и слабые незначимые отрицательные корреляционные связи с IL-8 ($r = -0,305$, $p = 0,075$). Отсутствовали корреляции между IL-10 и IL-2.

Анализ корреляционных связей IL-17A позволил обнаружить значимые слабые положительные корреляции с IL-6 ($r = 0,486$, $p = 0,003$) и IL-10 ($r = 0,342$, $p = 0,044$), а также выявить более слабые незначимые положительные взаимоотношения с IL-18 ($r = 0,260$, $p = 0,115$) и PCT ($r = 0,244$, $p = 0,164$). Остальные изучаемые цитокины не имели корреляционные связи с IL-17A в группе средней тяжести.

Изучение корреляционной зависимости IL-18 позволило установить значимые положительные

средние связи с IL-10 ($r = 0,627$, $p = 0,0001$) и PCT ($r = 0,450$, $p = 0,008$), очень слабую незначимую положительную зависимость от IL-6 ($r = 0,224$, $p = 0,195$) и IL-17A ($r = 0,260$, $p = 0,115$). С цитокинами IL-2, IL-8 и IFN γ взаимосвязь IL-18 не была обнаружена в этой группе пациентов. IL-18 связан значимыми корреляциями только с PCT и IL-10 при средней и тяжелой степени заболевания COVID-19.

Исследование корреляционной зависимости IFN γ у пациентов средней степени тяжести заболевания показало наличие значимой слабой положительной взаимосвязи IFN γ и IL-10 ($r = 0,452$, $p = 0,006$) и очень слабой незначимой положительной корреляции с IL-6 ($r = 0,205$, $p = 0,238$). С остальными показателями взаимосвязь отсутствовала.

Корреляционные взаимоотношения PCT показали достоверную среднюю положительную связь с IL-10 ($r = 0,572$, $p = 0,001$), слабые значимые положительные взаимоотношения с IL-6 ($r = 0,342$, $p = 0,048$), IL-18 ($r = 0,450$, $p = 0,008$) и слабую значимую отрицательную связь с IL-8 ($r = -0,450$, $p = 0,011$), очень слабую незначимую корреляцию с IL-17A ($r = 0,244$, $p = 0,164$). С IL-2 и IFN γ связь отсутствовала.

Изучение взаимоотношений медиаторов воспаления при тяжелой степени тяжести заболевания пациентов COVID-19 позволяло отметить отсутствие корреляционных связей иммуномодулирующего цитокина, сохранение достаточных корреляционных взаимоотношений противовоспалительных цитокинов и увеличение корреляций провоспалительных цитокинов в основном со средней и слабой положительной корреляцией.

Наиболее значимые средние корреляционные взаимоотношения IL-6 при тяжелой степени заболевания выявлены с IL-10 ($r = 0,578$, $p = 0,0001$), слабые значимые корреляции были получены с IL-17A ($r = 0,332$, $p = 0,034$), с PCT ($r = 0,337$, $p = 0,033$), слабые недостоверные положительные связи установлены с IL-8 ($r = 0,310$, $p = 0,055$) и IL-18 ($r = 0,272$, $p = 0,085$), слабые незначимые отрицательные взаимосвязи – с IL-2 ($r = -0,267$, $p = 0,128$). С IFN γ корреляции отсутствовали.

Анализ корреляционных связей IL-2 выявил слабые недостоверные отрицательные взаимосвязи с IL-6 ($r = -0,267$, $p = 0,128$) и IL-8 ($r = -0,285$, $p = 0,103$). Остальные цитокины и медиаторы воспаления не имели связи с уровнем IL-2.

Корреляционная зависимость IL-8 показывала среднюю значимую положительную взаимосвязь с IL-10 ($r = 0,549$, $p = 0,0001$), слабую достоверную связь с PCT ($r = 0,477$, $p = 0,004$), слабую незначимую связь с IL-6 ($r = 0,310$, $p = 0,055$),

очень слабую недостоверную отрицательную связь с IL-2 ($r = -0,285$, $p = 0,103$), положительную с IL-17A ($r = 0,261$, $p = 0,124$) и IL-18 ($r = 0,215$, $p = 0,207$). С IFN γ корреляции отсутствовали.

Исследование корреляционных взаимосвязей противовоспалительного цитокина IL-10 показало наличие наибольшего числа зависимостей из всех изученных показателей. Так, средний значимый уровень связи был выявлен с IL-6 ($r = 0,578$, $p = 0,0001$), IL-8 ($r = 0,549$, $p = 0,0001$), PCT ($r = 0,571$, $p = 0,0001$), слабые достоверные корреляционные связи установлены с IL-17A ($r = 0,381$, $p = 0,014$) и IL-18 ($r = 0,390$, $p = 0,012$). Отсутствовала зависимость от IL-2 и IFN γ .

Исследование взаимосвязи IL-17A позволило установить значимые слабые положительные корреляции с IL-6 ($r = 0,332$, $p = 0,034$), IL-10 ($r = 0,381$, $p = 0,014$) и PCT ($r = 0,370$, $p = 0,034$), а также выявить очень слабые незначимые взаимосвязи с IL-8 ($r = 0,261$, $p = 0,124$) и отсутствие взаимоотношений с IL-2, IL-18 и IFN γ .

Оценка корреляционных взаимоотношений IL-18 позволила выявить достоверные слабые корреляционные связи с IL-10 ($r = 0,390$, $p = 0,012$) и PCT ($r = 0,468$, $p = 0,003$), очень слабые незначимые связи с IL-6 ($r = 0,272$, $p = 0,085$) и IL-8 ($r = 0,215$, $p = 0,207$) и отсутствие зависимости с IL-2, IL-17A и IFN γ .

Изучение IFN γ у больных COVID-19 тяжелой степени показало отсутствие зависимости этого иммуномодулирующего цитокина от всех изучаемых медиаторов воспаления.

Медиатор воспаления PCT также имел в группе тяжелой степени наибольшее число взаимосвязей из всех изученных показателей наравне с IL-10, а именно: значимую среднюю корреляционную связь с IL-10 ($r = 0,571$, $p = 0,0001$), достоверный слабый уровень взаимоотношений с IL-6 ($r = 0,337$, $p = 0,033$), IL-8 ($r = 0,477$, $p = 0,004$), IL-17A ($r = 0,370$, $p = 0,024$), IL-18 ($r = 0,468$, $p = 0,003$), с IL-2 и IFN γ связь отсутствовала.

С учетом полученных данных в исследуемых группах пациентов различной степени тяжести COVID-19 целесообразным являлось изучение вопроса использования исследованных показателей в качестве диагностического критерия оценки в дифференциальной диагностике и изучения их диагностической эффективности.

Для этих целей мы провели ROC-анализ и рассчитали пороговые значения цитокинов IL-8, IL-17A, IL-18 и IFN γ , значения которых достоверно отличались от пациентов в контрольной группе и позволяли дифференцировать пациентов с легкой степенью тяжести заболевания от контрольной группы (табл. 2).

При анализе ROC-кривых IL-8 у пациентов с легкой степенью тяжести заболевания и паци-

ентов контрольной группы показаны следующие результаты: оптимальным пороговым значением явилось значение 14,1 пг/мл при 100% чувствительности, 77,8% специфичности, при этом показатель AUC составил 0,889 ($p = 0,003$).

Исследование ROC-кривых IL-17A позволяло использовать для отличия больных легкой степенью тяжести заболевания от практически здоровых людей пороговое значение 11,28 пг/мл при 100% чувствительности и 77,8% специфичности, AUC = 0,778 ($p = 0,033$).

Проведенные исследования позволяли использовать уровень IL-18 – 361,1 пг/мл в дифференциальной диагностике легкой степени течения заболевания и контрольной группы с достоверностью $p = 0,033$ при схожих показателях чувствительности и специфичности 100% и 77,8% соответственно и AUC = 0,778.

Значимым показателем, который позволяет дифференцировать легкую степень заболевания от контрольной группы, является IFN γ с пороговым значением 39,5 пг/мл, характеризующийся самым высоким в этой группе уровнем достоверности $p = 0,0001$ при сравнительно схожих показателях чувствительности и специфичности – 100% и 77,8% соответственно и AUC = 0,778.

Таким образом, в дифференциальной диагностике больных COVID-19 легкой степени тяжести заболевания от практически здоровых лиц наиболее значимыми являются показатели цитокинов IL-8 и IFN γ . Уровни цитокинов IL-17A и IL-18 также можно использовать для этих групп пациентов, но их дифференциально-диагностические показатели эффективности несколько хуже.

Анализ дифференциально-диагностических критерии в диагностике больных COVID-19 легкой и средней степенями тяжести заболевания сформировал пул из нескольких цитокинов (IL-8, IL-10, IL-18) и одного маркера воспаления (PCT), которые могут использоваться для разделения пациентов по степени тяжести заболевания.

Уровень IL-8 = 157,91 пг/мл являлся пороговым значением, которое позволяло разделить группы пациентов COVID-19 с легкой и средней степенями тяжести заболевания, при этом пороговое значение характеризовалось хорошей достоверностью получаемых результатов $p = 0,001$ при наиболее высокой AUC = 0,854, показателях чувствительности 100% и специфичности 71,4% (рис. 2).

В группе показателей для дифференциально-диагностических целей при средней степени тяжести заболевания появился IL-10 с невысоким пороговым значением 12,42 пг/мл, что свидетельствовало о начале вовлечения в иммунный ответ противовоспалительных медиаторов. IL-10

ТАБЛИЦА 2. ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕДИАТОРОВ ИММУНИТЕТА В РАЗРАБОТАННОЙ ЛОГИСТИЧЕСКОЙ РЕГРЕССИВНОЙ МОДЕЛИ ПРИ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ РАЗНЫХ СТЕПЕНЕЙ ТЯЖЕСТИ COVID-19

TABLE 2. DIAGNOSTIC EFFECTIVENESS OF IMMUNE MEDIATORS IN THE DEVELOPED LOGISTIC REGRESSION MODEL FOR DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF VARIOUS DEGREES OF SEVERITY OF COVID-19

Показатель Indicator	Пороговое значение Threshold value	Достовер- ность, р Reliability, p	Площадь под кривой, AUC Area under the curve	Чувстви- тельность Sensitivity %	Специфич- ность Specificity %
Группы «контрольная» – «легкая степень» Groups “control” – “mild degree”					
IL-8, пг/мл IL-8, pg/mL	14,1	0,003	0,889	100	77,8
IL-17A, пг/мл IL-17A, pg/mL	11,28	0,033	0,778	100	77,8
IL-18, пг/мл IL-18, pg/mL	361,1	0,033	0,778	100	77,8
IFNγ, пг/мл IFN γ , pg/mL	39,5	0,0001	0,778	100	77,8
Группы «легкая степень» – «средняя степень» Groups “mild degree” – “moderate degree”					
IL-8, пг/мл IL-8, pg/mL	157,91	0,001	0,854	100	71,4
IL-10, пг/мл IL-10, pg/mL	12,42	0,023	0,748	100	71,4
IL-18, пг/мл IL-18, pg/mL	626,98	0,020	0,751	100	71,1
PCT, нг/мл PCT, ng/mL	0,095	0,037	0,791	100	71,4
Группы «средняя степень» – «тяжелая степень» Groups “moderate degree” – “severe degree”					
IL-6, пг/мл IL-6, pg/mL	1470,5	0,0001	0,876	97,1	70,5
IL-10, пг/мл IL-10, pg/mL	37,42	0,010	0,669	94,1	70,5
IFNγ, пг/мл IFN γ , pg/mL	3,91	0,001	0,717	94,7	70,7
PCT, нг/мл PCT, ng/mL	0,485	0,003	0,696	85,7	70,0

характеризовался достоверностью $p = 0,023$ при показателях $AUC = 0,748$, чувствительности 100% и специфичности 71,4%.

В группе цитокинов, используемых для разделения легкой и средней степени тяжести заболевания остался, как и в сравнении с контрольной группой, IL-18 с пороговым значением 626,98 пг/мл, $AUC = 0,751$ ($p = 0,02$), при чувствительности 100% и специфичности 71,1%.

Еще одним показателем, который может использоваться в качестве критерия дифференциальной диагностики, являлся РСТ с пороговым уровнем 0,095 нг/мл. Данный маркер системно-

го воспаления характеризовался значимостью $p = 0,037$ при более высокой $AUC = 0,791$, чем у используемых в этой группе IL-10 и IL-18, и хороших показателях чувствительности 100% и специфичности 71,4%.

Таким образом, наиболее эффективным показателем, позволявшим разделить больных со средней степенью тяжести от пациентов с легкой степенью, являлся показатель IL-8.

Исследование медиаторов воспаления, которые могут использоваться в дифференциально-диагностических целях разделения больных COVID-19 со средней и тяжелой степенью за-

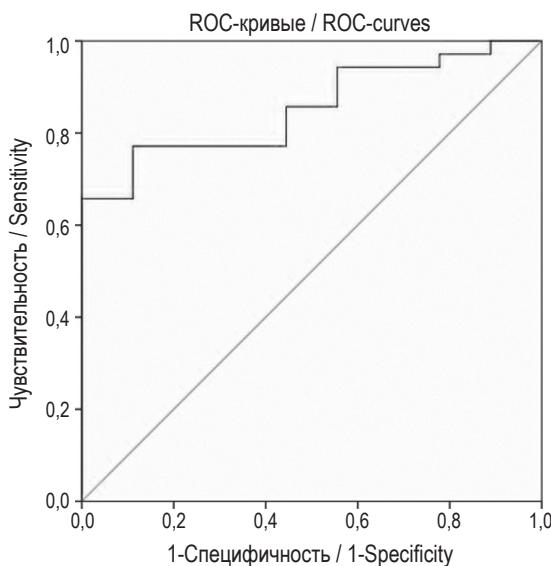


Рисунок 2. ROC-кривые уровней IL-8 в сравнении групп «легкая степень» – «средняя степень»

Figure 2. ROC-curves IL-8 levels in groups “mild degree” – “moderate degree”

болевания, позволило предложить IL-6, IL-10, IFNy и PCT.

Для дифференциально-диагностической эффективности разделения на группы наибольший интерес представлял уровень IL-6, пороговое значение по данным анализа ROC-кривых составило 1470,5 пг/мл, с высоким уровнем достоверно-

сти $p = 0,0001$, достаточно хорошей AUC = 0,876 и высокими значениями чувствительности 100% и специфичности 70,5% (рис. 3).

При исследовании возможностей использования противовоспалительного IL-10 для дифференциальной диагностики тяжелой степени от средней степени заболевания нами получено пороговое значение 37,42 пг/мл при значениях достоверности $p = 0,010$, AUC = 0,699 и показателях чувствительности 94,1% и специфичности 70,5%.

Обращает на себя внимание появление в этой когорте иммуномодулирующего цитокина IFN γ , при этом выделялся низкий уровень порогового значения 3,91 пг/мл, который использовался для диагностики больных с тяжелой степенью заболевания COVID-19. Данное пороговое значение характеризовалось высокой достоверностью $p = 0,001$, хорошими AUC = 0,717, чувствительностью 94,7% и специфичностью 70,7% (рис. 4).

В целях дифференциальной диагностики пациентов COVID-19 с тяжелой и средней степенями тяжести был рассчитан РСТ, который показал высокие значимые различия $p = 0,003$ для порогового значения 0,485 нг/мл, при показателях AUC = 0,696, чувствительности 85,7% и специфичности 70%.

Подводя итоги, можно с уверенностью предложить два показателя для диагностического разделения больных COVID-19 со средней степенью

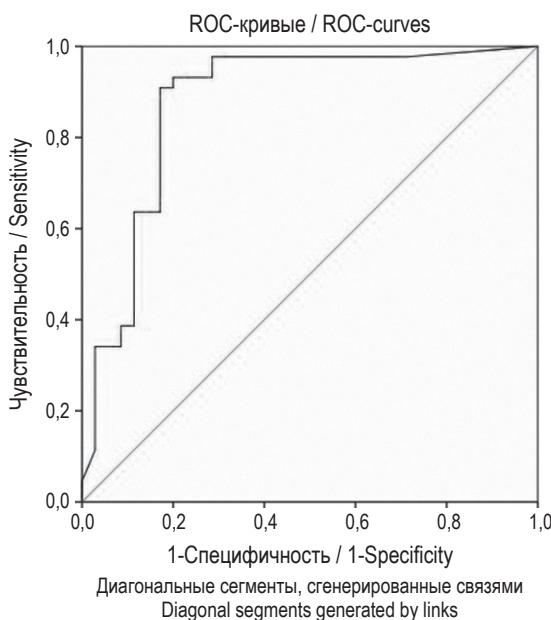


Рисунок 3. ROC-кривые уровней IL6 в сравнении групп «средняя степень» – «тяжелая степень»

Figure 3. ROC-curves IL6 levels in groups “moderate degree” – “severe degree”

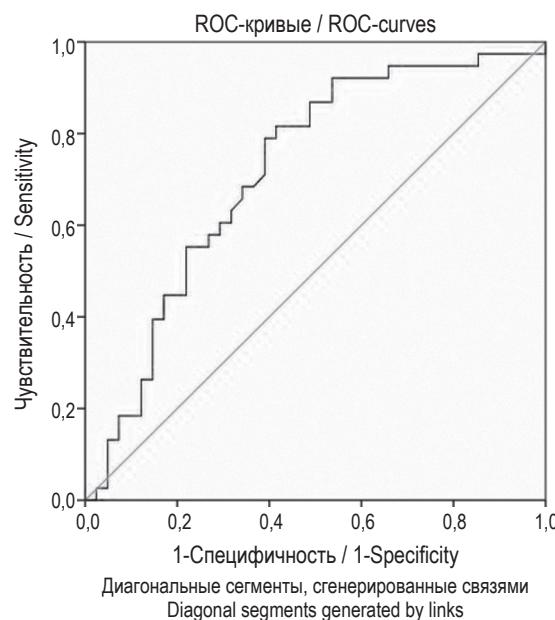


Рисунок 4. ROC-кривые уровней IFNy в сравнении групп «средняя степень» – «тяжелая степень»

Figure 4. ROC-curves IFNy levels in groups “moderate degree” – “severe degree”

тяжести и тяжелой формой заболевания – IL-6, IFN γ , которые с позиции диагностических характеристик являлись наиболее значимыми.

Обсуждение

Инфицирование вирусом SARS-CoV-2 характеризуется повышением уровня IL-6, что доказано многочисленными исследованиями [32, 36]. В нашей работе были получены аналогичные результаты и рассмотрены взаимосвязи с другими медиаторами воспаления. Причем чем более высокий уровень IL-6 у пациента был выявлен, тем более тяжелое течение COVID-19 наблюдалось. Максимальные значения соответствовали крайне тяжелой степени, проявлялся ЦШ. IL-6 является наиболее важным в патогенезе запуска каскадных реакций, лежащих в основе ЦШ при COVID-19 [15].

Выявление повышения уровня провоспалительного цитокина IL-17A при инфицировании вирусом SARS-CoV-2 является важным для понимания механизмов ЦШ [11]. Основным его продуцентом является Th17. Формирование Th17 из «наивных» клеток происходит под действием таких цитокинов, как TGF-Р, IL-1 β , IL-6, IL-21 и IL-23. Основной задачей Th17 является активация нейтрофилов в целях повышения эффективности уничтожения внеклеточных патогенов за счет фагоцитоза. В нашем исследовании мы подтвердили одновременное достоверное повышение уровней IL-8 и IL-18 вместе с IL-17A при легкой степени тяжести. Однако гиперактивация Th17 может служить причиной развития широкого спектра патологических состояний, в основе которых находятся неконтролируемые воспалительные процессы в различных тканях. Этим объясняется гипервоспалительный синдром при тяжелом течении COVID-19. И мы в своих наблюдениях обнаружили достоверное повышение IL-17A уже при легкой степени COVID-19, с пороговым значением более 11,28 пг/мл, коррелирующее с повышением IFN γ и IL-6, при средней степени – с IL-6 и IL-10, при тяжелой степени – только с IL-10.

IL-8 представляет собой провоспалительный цитокин, который играет роль в активации нейтрофилов, был идентифицирован в патогенезе и прогрессировании COVID-19 [24]. IL-8 ответственен за острое повреждение легких, уровень IL-8 значительно увеличивался при пневмонии [22]. Мы обнаружили достоверное повышение IL-8 в группе с легкой и средней степенями тяжести заболевания, коррелирующее с уровнем РСТ при средней и тяжелой степени тяжести, а также с IL-10 при тяжелой степени. Пороговое значение IL-8 соответствует 14,1 пг/мл при лег-

кой степени тяжести и 157,91 пг/мл – при средней степени.

IL-18 является одним из ключевых цитокинов при синдроме активации макрофагов. Концентрации IL-18 в сыворотке крови коррелируют с другими маркерами воспаления и отражают тяжесть заболевания COVID-19. Уровень IL-18 в сыворотке крови выше порогового значения 576 пг/мл при поступлении был связан с повышением риска госпитализации в отделение интенсивной терапии [33]. Мы также отметили достоверное повышение IL-18 у пациентов с легкой и средней степенью тяжести, с пороговым значением более 361 пг/мл при легкой степени и 627 пг/мл при средней степени тяжести, коррелирующее с повышением РСТ и IL-10 при средней и тяжелой степени тяжести пациентов с COVID-19.

Выработка РСТ индуцируется в ответ на воздействие микробных токсинов и определенных цитокинов (IL-1 β , TNF α и IL-6). Прогностическая информация при определении уровня РСТ дает возможность корректировать решения о необходимости проведения дальнейших диагностических исследований или использования других терапевтических стратегий, влияет на принятие решения о целесообразности и необходимости проведения антибактериального лечения, его длительности и эффективности, что связано с определением сроков выписки пациента [3]. Высокий уровень РСТ ($\geq 0,5$ нг/мл) у пациентов с пневмонией при новой коронавирусной инфекции прямо ассоциирован с проявлениями тяжелого течения заболевания [9, 10]. В данном исследовании уровень РСТ достоверно отличался при средней и тяжелой степени COVID-19. Пороговые значения составили 0,095 пг/мл и 0,475 пг/мл соответственно. При легкой степени тяжести корреляции с другими цитокинами и достоверные отличия от нормы не выявлены. При средней степени выявлены значимые корреляции РСТ с IL-6, IL-8, IL-10, IL-18. При тяжелой степени течения выявляется корреляции с теми же цитокинами, как и при средней, и еще дополнительно корреляция с IL-17A.

Важность IL-10 обусловлена тем, что этот плейотропный иммунорегуляторный цитокин защищает от иммунопатологии, аутоиммунитета и аллергии, связанных с инфекцией [31]. Он снижает эффективность взаимодействия с антигенпрезентирующими клетками, блокируя активацию PI3K/AKT путем передачи сигнала от TcR на ядро лимфоцитов, который управляет балансом между воспалением и иммунной толерантностью [28]. IL-10 секretируется широким спектром клеток. Для Treg IL-10 является мощнейшим фактором ауто- и паракринной активации, так

как способствует активации транскрипционного фактора STAT3, его транслокации в ядро клетки, что сопровождается усилением продукции противовоспалительных цитокинов, включая IL-10 по принципу положительной обратной связи. Многие исследования подтверждают, что повышение уровня IL-10 является предиктором тяжелого течения COVID-19 [27, 35]. Мы выявили повышение IL-10 у пациентов с COVID-19, начиная со средней степени тяжести, коррелирующее с повышением IL-6, максимально увеличивающееся к тяжелой степени. При средней степени коррелируют IL-10 и IL-18, IFN γ и IL-17A, при тяжелой степени – значимая корреляция IL-8 и IL-10. Пороговое значение IL-10 соответствует 12,42 пг/мл при средней степени и 37,42 пг/мл – при тяжелой степени тяжести.

Снижение уровня IFN γ у пациентов с тяжелым течением COVID-19 активно изучается [34]. Высокие уровни IFN γ связаны с хорошей выживаемостью и обладают защитным действием [24], в то время как снижение наблюдается при тяжелой форме, что также подтверждается нашим исследованием. К основным провоспалительным эффектам IFN γ относятся: потенцирование активности системы интерферонов I типа; поляризация клеточного иммунного ответа в направлении Th1; активация внутриклеточных противовирусных механизмов; активация микробицидных механизмов клетки; активация продукции иммуноглобулинов IgG B- и плазматическими клетками. IFN γ обладает рядом противовоспалительных эффектов: подавление миграции нейтрофилов; активация T-reg; подавление дифференциации Th2 и Th17 клеток [13]. Изучение клеточного иммунитета и корреляции со степенью тяжести и поражением легочной ткани мы продолжаем активно вести.

В настоящем исследовании мы выявили достоверно значимую связь повышения IL-6 и сни-

жения IFN γ при тяжелой степени тяжести заболевания COVID-19, причем при легкой степени уровень IFN γ достоверно повышался, снижаясь к средней степени тяжести.

Существует противоречивая литература о влиянии семейства цитокинов IL-2 на патогенез COVID-19 и иммунитет. Некоторые исследования предполагают, что семейство IL-2 повышается во время инфекции и вызывает тяжелую воспалительную реакцию и цитокиновый штурм. Показано, что уровень IL-2 повышен у пациентов с ослабленным иммунитетом и ухудшает их прогноз. У лиц без основного заболевания повышение IL-2 определяет клинический исход заболевания и усиливается по мере тяжести заболевания. Однако некоторые другие исследования показывают, что эти цитокины существенно не изменяются [26]. В нашей работе не выявлены достоверные изменения уровней этого цитокина при разных степенях тяжести течения COVID-19. В группе больных с легкой степенью тяжести заболевания отмечалась достоверно высокая отрицательная корреляция по Спирмену по уровню IL-17A и IL-2, вероятно, за счет роста IL-17A.

Заключение

Нами были выявлены и статистически подтверждены показатели, наиболее достоверно влияющие на степень тяжести при COVID-19: IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, PCT, IFN γ . Мы обнаружили максимальный рост IL-17A и IFN γ при легкой степени тяжести заболевания и снижение в средней и тяжелой степени COVID-19. Факторами плохого прогноза заболевания являлись повышение IL-6, IL-10, PCT, снижение IFN γ . Обнаружены корреляционные связи медиаторов иммунного ответа (IL-8, IL-17A, IL-18, IFN γ), позволяющие глубже понимать механизм развития нарушений и дисбаланса иммунного ответа.

Список литературы / References

1. Баврина А.П., Борисов И.Б. Современные правила применения корреляционного анализа // Медицинский альманах, 2021. Т. 68, № 3. С. 70-79. [Bavrina A.P., Borisov I.B. Modern rules of the application of correlation analysis. *Meditinskii almanakh = Medical Almanac*, 2021, Vol. 68, no. 3, pp. 70-79. (In Russ.)]
2. Баврина А.П. Современные правила использования методов описательной статистики в медико-биологических исследованиях // Медицинский альманах, 2020. Т. 63, № 2. С. 95-105. [Bavrina A.P. Modern rules for the use of descriptive statistics methods in biomedical research. *Meditinskii almanakh = Medical Almanac*, 2020, Vol. 63, no. 2, pp. 95-105. (In Russ.)]
3. Войкова А.В., Рукавишникова С.А., Жукова Н.Л., Пушкин А.С., Ахмедов Т.А., Сагинбаев У.Р., Волчкова Е.В. Интерлейкин-6 и прокальцитонин как прогностические клинико-лабораторные показатели при COVID-19 у пациентов старших возрастных групп // Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики, 2022. № 3. С. 116-129. [Voeykova A.V., Rukavishnikova S.A., Zhukova N.L., Pushkin A.S., Akhmedov T.A., Saginbaev U.R., Volchkova E.V. Interleukin-6 and procalcitonin as prognostic clinical and laboratory parameters in COVID-19 in patients of olderage groups. *Sovremennye problemy zdorovookhraneniya i meditsinskoy statistiki = Current Problems of Health Care and Medical Statistics*, 2022, no. 3, pp. 116-129. (In Russ.)]

4. Григорьева Н.Ю., Синичкина А.А., Самолюк М.О., Колосова К.С., Королева Е.В., Кондакова Е.В., Ведунова М.В. Особенности цитокинового профиля у госпитализированных пациентов при разной степени тяжести COVID-19 // Российский кардиологический журнал, 2022. Т. 27, № 3. С. 67-73. [Grigoryeva N.Yu., Sinichkina A.A., Samoliuk M.O., Kolosova K.S., Koroleva E.V., Kondakova E.V., Vedunova M.V. Cytokine profile in hospitalized patients with COVID-19 of different severity. *Rossiyskiy kardiologicheskiy zhurnal = Russian Jurnal of Cardiology*, 2022, Vol. 27, no. 3, pp. 67-73. (In Russ.)]
5. Зайцева Г.А., Вершинина О.А., Матрохина О.И., Сенькина Е.А., Карпова М.В. Цитокиновый статус доноров крови и её компонентов // Фундаментальные исследования, 2011. № 3. С. 61-65. [Zaytseva G.A., Vershinina O.A., Matrokhina O.I., Senkina E.A., Karpova M.V. Cytokine status of the donors of blood and its components. *Fundamentalnye issledovaniya = Fundamental Research*, 2011, no. 3, pp. 61-65. (In Russ.)]
6. Зеленский А.А., Ефименко Н.А., Казаков С.П. Особенности изменения уровня цитокинов и молекул адгезии при развитии ранних гнойно-септических осложнений после операций по поводу рака желудка // Инфекции в хирургии, 2008. Т. 6, № 1. С. 40-44. [Zelenskiy A.A., Efimenko N.A., Kazakov S.P. Features of changes in the level of cytokines and adhesion molecules in the development of early purulent-septic complications after surgery for gastric cancer. *Infektsii v khirurgii = Infections in Surgery*, 2008, Vol. 6, no. 1, pp. 40-44. (In Russ.)]
7. Казаков С.П. Уровень цитокинов и молекул межклеточной адгезии в плазме крови и их диагностическая эффективность при аутоиммунных и онкологических заболеваниях щитовидной железы // Медицинская иммунология, 2010. Т. 12, № 6. С. 559-564. [Kazakov S.P. Differential levels of cytokines and intercellular adhesion molecules and their diagnostic efficiency in autoimmune and oncological thyroid diseases. *Meditinskayaimmunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2010, Vol. 12, no. 6, pp. 559-564. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2010-6-559-564.
8. Казаков С.П., Заботина Т.Н., Кушлинский Н.Е. Соотношения (индексы) цитокинов, молекул межклеточной адгезии в плазме крови, их диагностическая эффективность у больных с аутоиммунными тиреоидитами,adenomами и раком щитовидной железы // Медицинский вестник МВД, 2010. Т. 49, № 6. С. 25-29. [Kazakov S.P., Zabotina T.N., Kushlinskiy N.E. Ratios (indices) of cytokines, intercellular adhesion molecules in blood plasma, their diagnostic effectiveness in patients with autoimmune thyroiditis, adenomas and thyroid cancer. *Meditinskii vestnik MVD = MIA Medical Bulletin*, 2010, Vol. 49, no. 6, pp. 25-29. (In Russ.)]
9. Казаков С.П., Путков С.Б., Мудров В.П., Зайцев А.А., Троян В.Н. Значение системных маркеров воспаления в оценке степени тяжести пациентов COVID-19 // Лабораторная медицина, 2022. № 13. С. 7-14. [Kazakov S.P., Putkov S.B., Mudrov V.P., Zaitsev A.A., Troyan V.N. Systemic markers values of inflammation in assessing the severity of COVID-19 patients. *Laboratornaya meditsina = Laboratory Medicine*, 2022, no. 13, pp. 7-14. (In Russ.)]
10. Ковалева А.Я., Николаев К.Ю., Агамян Е.Р., Лифшиц Г.И. Роль прокальцитонина в диагностике и исходах пневмонии, вызванной новой коронавирусной инфекцией // Сибирское медицинское обозрение, 2023. Т. 143, № 5. С. 74-80. [Kovalyova A.Ya., Nikolaev K.Yu., Agamian E.R., Lifshits G.I. Role of procalcitonin in diagnosis and prognosis of pneumonia caused by the new coronavirus infection 2019 (COVID-19). *Sibirskoyemeditsinskoye obozreniye = Siberian Medical Review*, 2023, Vol. 143, no. 5, pp. 74-80. (In Russ.)]
11. Козлов В.А., Савченко А.А., Кудрявцев И.В., Козлов И.Г., Кудлай Д.А., Продеус А.П., Борисов А.Г. Клиническая иммунология: практическое пособие для врачей. Красноярск: Поликор, 2020. 386 с. [Kozlov V.A., Savchenko A.A., Kudryavtsev I.V., Kozlov I.G., Kudlai D.A., Prodeus A.P., Borisov A.G. Clinical immunology: a practical guide for doctors]. Krasnoyarsk: Polikor, 2020, 386 p.
12. Кудряшов С.К., Канищев Ю.Н., Путков С.Б., Эсауленко Н.Б., Карпов В.О., Овчаренко В.П., Изгородин А.С., Жукова Э.Э., Суслова Л.А., Паршакова Е.В. Инструкция по проведению преаналитического этапа (порядок взятия, хранения и транспортировки) с биоматериалом для лабораторных исследований в центре клинической лабораторной диагностики ГВКГ им. Н.Н. Бурденко / Под ред. С.П. Казакова. М.: Эко-Пресс, 2016. Т. 51. 220 с. [Kudryashov S.K., Kanishchev Yu.N., Putkov S.B., Esaulenko N.B., Karpov V.O., Ovcharenko V.P., Izgorodin A.S., Zhukova E.E., Suslova L.A., Parshakova E.V. Instructions for conducting the preanalytical stage (procedure for taking, storing and transporting) with biomaterial for laboratory research at the Center for Clinical Laboratory Diagnostics of the Main Military N. Burdenko Clinical Hospital, Russian Defense Ministry / Ed. Kazakov S.P.]. Moscow: Eko-Press, 2016, Vol. 51. 220 p.
13. Луцкий А.А., Жирков А.А., Лобзин Д.Ю., Рао М., Алексеева Л.А., Мейрер М., Лобзин Ю.В. Интерферон- γ : биологическая функция и значение для диагностики клеточного иммунного ответа // Журнал инфектологии, 2015. Т. 7, № 4. С. 10-22. [Lutckii A.A., Zhirkov A.A., Lobzin D.Yu., Rao M., Alekseeva L.A., Maeurer M., Lobzin Yu.V. Interferon- γ : biological function and application for study of cellular immune response. *Zhurnal infektologii = Jurnal of Infectology*, 2015, Vol. 7, no. 4, pp. 10-22. (In Russ.)]
14. Путков С.Б., Давыдова Н.В., Казаков С.П. Исследование маркеров воспаления и их диагностической эффективности у больных COVID-19 // Медицинский алфавит, 2023. № 23. С. 11-17. [Putkov S.B., Davydova N.V., Kazakov S.P. Study of inflammatory markers and their diagnostic effectiveness in patients with COVID-19 patients. *Meditinskii alfavit = Medical Alphabet*, 2023, no. 23, pp. 11-17. (In Russ.)]
15. Путков С.Б., Давыдова Н.В., Троян В.Н., Казаков С.П. Исследование взаимосвязи маркеров воспаления с КТ-признаками патологических изменений легких у пациентов с COVID-19. // Медицинский вестник ГВКГ им. Н.Н. Бурденко, 2024. Т. 5, № 2. С. 22-31. [Putkov S.B., Davydova N.V., Troyan V.N., Kazakov S.P. Investigation of the relationship of inflammatory markers with CT signs of pathological lung changes in patients

with COVID-19. *Meditinskij vestnik GVKG im. N.N. Burdenko = Medical Bulletin of the Main Military N. Burdenko Clinical Hospital, 2024, Vol. 5, no. 2, pp. 22-31. (In Russ.)*

16. Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.3597-20 «Профилактика новой коронавирусной инфекции (COVID-19)». [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/564979137?ysclid=lzid31zq6w18848903>. [Sanitary and epidemiological rules SP 3.1.3597-20 “Prevention of new coronavirus infection (COVID-19)”. [Electronic resource]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/564979137?ysclid=lzid31zq6w18848903>.

17. Сахин В.Т., Крюков Е.В., Григорьев М.А., Казаков С.П., Сотников А.В., Гордиенко А.В., Гуляев Н.И., Рукавицын О.А. Особенности секреции интерлейкина-6, интерлейкина-1β, интерферона-γ и их влияние на развитие анемии хронических заболеваний у пациентов с ревматической патологией // Медицинский вестник ГВКГ им. Н.Н. Бурденко, 2021. № 2 (4). С. 26-33. [Sakhin V.T., Kryukov E.V., Grigoriev M.A., Kazakov S.P., Sotnikov A.V., Gordienko A.V., Gulyaev N.I., Rukavitsyn O.A. Features of the secretion of interleukin-6, interleukin-1β, interferon-γ and their influence on the development of anemia of chronic diseases in patients with rheumatic pathology. *Meditinskij vestnik GVKG im. N.N. Burdenko = Medical Bulletin of the Main Military N. Burdenko Clinical Hospital, 2021, no. 2 (4), pp. 26-33. (In Russ.)*]

18. Сахин В.Т., Крюков Е.В., Казаков С.П., Сотников А.В., Гордиенко А.В., Заварцев М.А., Рукавицын О.А. Сравнение секреции цитокинов, а также исследование их влияния на эритропоэз у пациентов со злокачественными новообразованиями с анемией хронических заболеваний, железодефицитной анемией и их сочетанием // Онкогематология, 2023. Т. 18, № 2. С. 45-52. [Sakhin V.T., Kryukov E.V., Kazakov S.P., Sotnikov A.V., Gordienko A.V., Zavartsev M.A., Rukavitsyn O.A. Comparison of cytokine secretion and study of their effect on erythropoiesis in patients with malignant neoplasms with anemia of chronic disease, iron deficiency anemia, and their combination. *Onkogematologiya = Oncohematology, 2023, Vol. 18, no. 2, pp. 45-52. (In Russ.)*]

19. Сахин В.Т., Крюков Е.В., Григорьев М.А., Казаков С.П., Сотников А.В., Гордиенко А.В., Рукавицын О.А. Значение обмена железа, цитокинов в патогенезе анемии у больных ревматологического профиля // Клиническая медицина, 2020. Т. 98, № 9-10. С. 691-698. [Sakhin V.T., Kryukov E.V., Grigoriev M.A., Kazakov S.P., Sotnikov A.V., Gordienko A.V., Rukavitsyn O.A. Iron metabolism, cytokine secretion in patients with rheumatologic pathology. *Klinicheskaya meditsina = Clinical Medicine, 2020, Vol. 98, no. 9-10, pp. 691-698. (In Russ.)*]

20. Тугуз А.Р., Вершинина М.В. Соотношение основных цитокинов в крови онкологических больных и здоровых доноров // Вестник Адыгейского государственного университета, 2007. № 4. [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://vestnik.adygnet.ru/files/2008.1/632/tuguz2008_1.pdf. [Tuguz A.R., Vershinina M.V. The ratio of the main cytokines in the blood of cancer patients and healthy donors. *Vestnik Adygeyskogo gosudarstvennogo universiteta = Bulletin of Adyghe State University, 2007, no. 4. [Electronic resource]. Available at: http://vestnik.adygnet.ru/files/2008.1/632/tuguz2008_1.pdf. (In Russ.)*]

21. Хайтов Р.М., Скворцова В.И., Хайтов М.Р. Биомедицинская безопасность: иммуногенетика и коронавирусная инфекция. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2022. 352 с. [Khaitov R.M., Skvortsova V.I., Khaitov M.R. Biomedical safety: immunogenetics and coronavirus infection]. Moscow: GEOTAR-Media, 2022. 352 p.

22. Яшкина О.Н., Царева Н.Г., Борисова О.В. Корреляции уровней интерлейкинов с тяжестью течения коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2 // Детские инфекции, 2023. Т. 22, № 1. С. 11-13. [Yashkina O.N., Tsareva N.G., Borisova O.V. Correlations of interleukin levels with the severity of SARS-CoV-2 coronavirus infection. *Detskie infektsii = Children Infections, 2023, Vol. 22, no. 1, pp. 11-13. (In Russ.)*]

23. Basheer M., Saad E., Kananeh M., Asad L., Khayat O., Badarne A., Abdo Z., Arraf N., Milhem F., Bassal T., Boulos M., Assy N. Cytokine patterns in COVID-19 patients: which cytokines predict mortality and which protect against? *Curr. Issues Mol. Biol., 2022, Vol. 44, no. 10, pp. 4735-4747.*

24. Cesta M.C., Zippoli M., Marsiglia C., Gavioli E.M., Mantelli F., Allegretti M., Balk R.A. The role of interleukin-8 in lung inflammation and injury: implications for the management of COVID-19 and hyperinflammatory acute respiratory distress syndrome. *Front. Pharmacol., 2022, Vol. 12, 808797. doi: 10.3389/fphar.2021.808797.*

25. Frey N., Porter D. Cytokine release syndrome with chimeric antigen receptor T cell therapy. *Biol. Blood Marrow Transplant., 2019, Vol. 25, no. 4, pp. e123-e127.*

26. Ghanbari Naeini L., Abbasi L., Karimi F., Kokabian P., Abdi Abyaneh F., Naderi D. The important role of interleukin-2 in COVID-19. *J. Immunol. Res., 2023, Vol. 2023, 7097329. doi: 10.1155/2023/7097329.*

27. Han H., Ma Q., Li C., Liu R., Zhao L., Wang W., Zhang P., Liu X., Gao G., Liu F., Jiang Y., Cheng X., Zhu C., Xia Y. Profiling serum cytokines in COVID-19 patients reveals IL-6 and IL-10 are disease severity predictors. *Emerg. Microbes Infect., 2020, Vol. 9, no. 1, pp. 1123-1130.*

28. Han J.M., Patterson S.J., Levings M.K. The role of the PI3K signaling pathway in CD4(+) T cell differentiation and function. *Front. Immunol., 2012, Vol. 3, 245. doi: 10.3389/fimmu.2012.00245.*

29. Hawerkamp H.C., Dyer A.H., Patil N.D., McElheron M., O'Dowd N., O'Doherty L., Mhaonaigh A.U., George A.M., O'Halloran A.M., Reddy C., Kenny R.A., Little M.A., Martin-Loeches I., Bergin C., Kennelly S.P., Donnelly S.C., Bourke N.M., Long A., Sui J., Doherty D.G., Conlon N., Cheallaigh C.N., Fallon P.G. Characterisation of the pro-inflammatory cytokine signature in severe COVID-19. *Front. Immunol., 2023, Vol. 14, 1170012. doi: 10.3389/fimmu.2023.1170012.*

30. Luo X.H., Zhu Y., Mao J., Du R.C. T cell immunobiology and cytokine storm of COVID-19. *Scand. J. Immunol.*, 2021, Vol. 93, no. 3, e12989. doi: 10.1111/sji.12989.
31. Ng T.H., Britton G.J., Hill E.V., Verhagen J., Burton B.R., Wraith D.C. Regulation of adaptive immunity; the role of interleukin-10. *Front. Immunol.*, 2013, Vol. 4, 129. doi: 10.3389/fimmu.2013.00129.
32. Queiroz M.A.F., Neves P.F.M.D., Lima S.S., Lopes J.D.C., Torres M.K.D.S., Vallinoto I.M.V.C., Bichara C.D.A., dos Santos E.F., de Brito M.T.F.M., da Silva A.L.S., Leite M.M., da Costa F.P., Viana M.N.D.S.A., Rodrigues F.B.B., de Sarges K.M.L., Cantanhede M.H.D., da Silva R., Bichara C.N.C., van den Berg A.V.S., Veríssimo A.O.L., Carvalho M.D.S., Henrique D.F., Dos Santos C.P., Nunes J.A.L., Costa I.B., Viana G.M.R., Carneiro F.R.O., Palacios V.R.D.C.M., Quaresma J.A.S., Brasil-Costa I., Dos Santos E.J.M., Falcão L.F.M., Vallinoto A.C.R. Cytokine Profiles Associated With Acute COVID-19 and Long COVID-19 Syndrome. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2022, Vol. 12, 922422. doi: 10.3389/fcimb.2022.922422.
33. Satış H., Özger H.S., Aysert Yıldız P., Hızel K., Gulbahar Ö., Erbaş G., Aygencel G., Guzel Tunccan O., Öztürk M.A., Dizbay M., Tufan A. Prognostic value of interleukin-18 and its association with other inflammatory markers and disease severity in COVID-19. *Cytokine*, 2021, Vol. 137, 155302. doi: 10.1016/j.cyto.2020.155302.
34. Sorrentino L., Fracella M., Frasca F., D'Auria A., Santinelli L., Maddaloni L., Bugani G., Bitossi C., Gentile M., Ceccarelli G., Turriziani O., Mastroianni C.M., Antonelli G., d'Ettorre G., Pierangeli A., Scagnolari C. Alterations in the expression of IFN lambda, IFN gamma and toll-like receptors in severe COVID-19 patients. *Microorganisms*, 2023, Vol. 11, no. 3, 689. doi: 10.3390/microorganisms11030689.
35. Tiwari V., Agarwal J., Pathak A.K., Singh S. Dynamic changes in circulatory cytokines and chemokines levels in mild to severe COVID-19 patients. *Indian J. Clin. Biochem.*, 2023, Vol. 38, no. 2, pp. 212-219.
36. WHO. COVID-19 Epidemiological Update – 27 October 2023. Available at: <https://www.who.int/publications/m/item/covid-19-epidemiological-update---27-october-2023>.
37. Zanza C., Romenskaya T., Manetti A.C., Franceschi F., La Russa R., Bertozzi G., Maiese A., Savioli G., Volonnino G., Longhitano Y. Cytokine Storm in COVID-19: Immunopathogenesis and Therapy. *Medicina (Kaunas)*, 2022, Vol. 58, no. 2, 144. doi: 10.3390/medicina58020144.

Авторы:

Давыдова Н.В. – врач клинической лабораторной диагностики отделения клинических инфекционно-иммунологических исследований Центра клинической лабораторной диагностики ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко», Москва, Россия

Путков С.Б. – врач клинической лабораторной диагностики, заведующий отделением клинических инфекционно-иммунологических исследований Центра клинической лабораторной диагностики ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко», Москва, Россия

Authors:

Davydova N.V., Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Department of Clinical Infectious and Immunological Research, Center for Clinical Laboratory Diagnostics, Main Military N. Burdenko Clinical Hospital, Moscow, Russian Federation

Putkov S.B., Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Head, Department of Clinical Infectious and Immunological Research, Center for Clinical Laboratory Diagnostics, Main Military N. Burdenko Clinical Hospital, Moscow, Russian Federation

Решетняк Д.В. – к.м.н., врач клинической лабораторной диагностики отделения клинических инфекционно-иммунологических исследований Центра клинической лабораторной диагностики ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко», Москва, Россия

Казаков С.П. – д.м.н., доцент, врач клинической лабораторной диагностики, начальник центра клинической лабораторной диагностики – главный лаборант ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко»; профессор ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», Москва, Россия

Reshetnyak D.V., PhD (Medicine), Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Department of Clinical Infectious and Immunological Research, Center for Clinical Laboratory Diagnostics, Main Military N. Burdenko Clinical Hospital, Moscow, Russian Federation

Kazakov S.P., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Head, Clinical Laboratory Center, Main Military N. Burdenko Clinical Hospital; Professor, Federal Research and Clinical Center for Specialized Medical Care and Medical Technologies, Federal Medical and Biological Agency, Moscow, Russian Federation

Поступила 10.08.2024
Принята к печати 14.09.2024

Received 10.08.2024
Accepted 14.09.2024

СОСТОЯНИЕ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ПОЖИЛЫХ, ПРИВИТЫХ ПРОТИВ ГРИППА НАКАНУНЕ ОТМЕНЫ СТАТУСА ПАНДЕМИИ COVID-19

Юшкова С.В.¹, Костинов М.П.^{1, 2}, Гладкова Л.С.^{3, 4}, Камелева А.А.^{3, 5},
Качнова А.С.³, Костинова А.М.^{1, 3}, Соловьева И.Л.⁶, Андреева Н.П.^{7, 8},
Дагиль Ю.А.⁴, Настаева Н.Ю.⁹, Крюкова Н.О.¹⁰, Сайфутдинов К.А.¹¹,
Линок А.В.^{1, 2}, Храпунова И.А.¹, Раичич С.Р.¹, Локтионова М.Н.^{1, 2, 12},
Полищук В.Б.², Албаханса М.И.¹

¹ ФГАОУ ВО «Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский Университет), Москва, Россия

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

³ ГБУЗ «Городская клиническая больница имени Д.Д. Плетнёва Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва, Россия

⁴ ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

⁵ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Париса Лумумбы», Москва, Россия

⁶ ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия

⁷ ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», г. Чебоксары, Чувашская Республика, Россия

⁸ БУ «Городская детская клиническая больница» Министерства здравоохранения Чувашской Республики, г. Чебоксары, Чувашская Республика, Россия

⁹ ФГБУЗ «Новороссийский клинический центр Федерального медико-биологического агентства», г. Новороссийск, Россия

¹⁰ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

¹¹ ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Казань, Республика Татарстан, Россия

¹² ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия

Резюме. Заболеваемость и смертность по причине гриппа непропорционально высоки среди пожилых людей. В Европейском регионе ВОЗ в 2004-2017 гг., самая высокая доля вируса гриппа

Адрес для переписки:

Юшкова София Владимировна
ФГАОУ ВО «Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский Университет)
105064, Россия, Москва, Малый Казенный пер., 5а.
Тел.: 8 (910) 458-63-94.
E-mail: sofia-b@bk.ru

Address for correspondence:

Sofiya V. Iushkova
I. Sechenov First State Medical University (Sechenov University)
5a Malyi Kazennyi Lane
Moscow
105064 Russian Federation
Phone: +7 (910) 458-63-94.
E-mail: sofia-b@bk.ru

Образец цитирования:

С.В. Юшкова, М.П. Костинов, Л.С. Гладкова, А.А. Камелева, А.С. Качнова, А.М. Костинова, И.Л. Соловьева, Н.П. Андреева, Ю.А. Дагиль, Н.Ю. Настаева, Н.О. Крюкова, К.А. Сайфутдинов, А.В. Линок, И.А. Храпунова, С.Р. Раичич, М.Н. Локтионова, В.Б. Полищук, М.И. Албаханса «Состояние гуморального иммунитета у пожилых, привитых против гриппа накануне отмены статуса пандемии COVID-19» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 395-406.
doi: 10.15789/1563-0625-HII-3065

© Юшкова С.В. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

S.V. Iushkova, M.P. Kostinov, L.S. Gladkova, A.A. Kameleva, A.S. Kachnova, A.M. Kostinova, I.L. Solovyeva, N.P. Andreeva, Yu.A. Dagil, N.Yu. Nastaeva, N.O. Kryukova, K.A. Saifutdinov, A.V. Linok, I.A. Khrapunova, S.R. Raicic, M.N. Loktionova, V.B. Polishchuk, M.Y. Albahansa «Humoral immunity in elderly persons vaccinated against influenza shortly before cancellation of COVID-19 pandemic», Medical Immunology (Russia)/Meditinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 395-406.
doi: 10.15789/1563-0625-HII-3065

© Iushkova S.V. et al., 2025

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

DOI: 10.15789/1563-0625-HII-3065

A(H3N2) была отмечена в возрастной группе ≥ 65 лет – 10%. Эффективность вакцинации против гриппа снижается у лиц в возрасте старше 65-70 лет вследствие возрастной иммунной дисфункции (иммуностарения), что может быть связано с дисбалансом эффекторных Т-клеток памяти и регуляторных реакций. В этой возрастной группе высокодозовые или адьювантные вакцины потенциально более эффективны в отношении количества госпитализаций и в экономическом отношении, чем неадьювантные вакцины против гриппа в стандартных дозах. Цель исследования – изучить способность к формированию защитного титра антител после вакцинации к штаммам вируса гриппа на этапе завершения пандемии COVID-19 у пожилых людей. Всего в исследовании принял участие 31 участник в возрасте старше 60 лет, который был иммунизирован гриппозной четырехвалентной инактивированной субъединичной адьювантной вакциной внутримышечным способом введения. Антитела к штаммам вируса гриппа определяли методом постановки реакции торможения гемагглютинации (РТГА) через месяц после введения. Для лиц старше 60 лет через 1 месяц после вакцинации статистически значимое увеличение уровня серопротекции ($p < 0,05$) наблюдается по отношению к трем штаммам: A/Виктория/2570/2019(H1N1) pdm09 до 74,2%, A/H3N2/Дарвин/9/2021 до 93,2% и B/Австрия/1359417/2021 до 74,2%. Уровень серопротекции к штамму B/Пхукет/3073/13 составил 35,5%. Средний геометрический титр антител (СГТ) лиц старшей возрастной группы до вакцинации по штамму H1N1 составлял 15,1 ($\log_2 3,91 \pm 0,59$), после вакцинации – 73,7 ($\log_2 6,20 \pm 0,93$); по штамму H3N2 – 52,7 ($\log_2 5,72 \pm 0,97$) и 147,4 ($\log_2 7,20 \pm 1,22$) до и после соответственно; по штамму B/Ямагата – 8,6 ($\log_2 3,11 \pm 0,54$) и 24,1 ($\log_2 4,59 \pm 0,79$); по штамму B/Виктория СГТ составлял 10,1 ($\log_2 3,33 \pm 0,38$), после – 63,0 ($\log_2 5,98 \pm 0,69$). Фактор сероконверсии (ФСК) достоверно превысил требуемый уровень 2,00 для всех штаммов ($p < 0,05$). Для обоих штаммов H3N2 и B/Ямагата ФСК составил 2,8, для штаммов H1N1 и B/Виктория – 4,89 и 6,26 соответственно. Уровень сероконверсии для штаммов H3N2 и B/Ямагата составил 41,9%, для штамма H1N1 – 61,3%, для штамма B/Виктория – 77,4%. Иммуногенность каждого компонента гриппозной вакцины при однократной внутримышечной иммунизации добровольцев в возрасте старше 60 лет соответствовала как минимум одному критерию требований, предъявляемых к инактивированным гриппозным вакцинам.

Ключевые слова: грипп, адьювантная гриппозная вакцина, иммуногенность, эффективность вакцины, безопасность, COVID-19

HUMORAL IMMUNITY IN ELDERLY PERSONS VACCINATED AGAINST INFLUENZA SHORTLY BEFORE CANCELLATION OF COVID-19 PANDEMIC

Iushkova S.V.^a, Kostinov M.P.^{a, b}, Gladkova L.S.^{c, d}, Kameleva A.A.^{c, e},
Kachanova A.S.^c, Kostinova A.M.^{a, c}, Solovyeva I.L.^f, Andreeva N.P.^{g, h},
Dagil Yu.A.^d, Nastaeva N.Yu.ⁱ, Kryukova N.O.^j, Saifutdinov K.A.^k,
Linok A.V.^{a, b}, Khrapunova I.A.^a, Raicic S.R.^a, Loktionova M.N.^{a, b, l},
Polishchuk V.B.^b, Albahansa M.Y.^a

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

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

^c D. Pletnev City Clinical Hospital, Moscow, Russian Federation

^d National Research Center “Institute of Immunology”, Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russian Federation

^e P. Lumumba Russian University of Peoples’ Friendship, Moscow, Russian Federation

^f Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russian Federation

^g Chuvash State University, Cheboksary, Chuvash Republic, Russian Federation

^h City Children’s Clinical Hospital, Cheboksary, Chuvash Republic, Russian Federation

ⁱ Novorossiysk Clinical Center, Federal Medical Biological Agency, Novorossiysk, Russian Federation

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

^k Kazan State Medical University, Kazan, Republic of Tatarstan, Russian Federation

^l Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation

Abstract. Influenza-related morbidity and mortality are disproportionately high among older population. Over 2004-2017, the highest proportion of influenza A(H3N2) virus in the WHO European Region was observed

in the age group of ≥ 65 years, i.e., 10%. The efficiency of influenza vaccination is shown to be reduced among individuals over 65-70 years of age, due to age-related immune dysfunction (immunosenescence). It may be associated with an imbalance in effector memory T cells and regulatory responses. In this age group, high-dose or adjuvanted influenza vaccines are potentially more effective in terms of hospitalization days and economy than with non-adjuvanted influenza vaccines used at standard doses. The aim of our study was to investigate the ability to form a protective titer of antibodies to influenza virus among elderly persons after vaccination by the end of the COVID-19 pandemic. A total of 31 participants over 60 years of age took part in the study, who were immunized with an influenza quadrivalent inactivated subunit adjuvant vaccine by intramuscular injections. Antibodies to influenza virus strains were determined by performing a hemagglutination inhibition (HI) test one month after the vaccination. For individuals over 60 years old, one month after vaccination, a statistically significant increase in the seroprotection level ($p < 0.05$) was observed in relation to three strains: A/Victoria/2570/2019(H1N1) pdm09 (up to 74.2%), A/H3N2/Darwin/9/2021 (93.2%), and B/Austria/1359417/2021 (up to 74.2%). The seroprotection level to the B/Phuket/3073/13 strain was 35.5%. The geometric means of antibody titer (GMT) in older individuals before vaccination was 15.1 ($\log_2 3.91 \pm 0.59$) for the H1N1 strain *versus* 73.7 ($\log_2 6.20 \pm 0.93$) after vaccination; for the H3N2 strain, 52.7 ($\log_2 5.72 \pm 0.97$) and 147.4 ($\log_2 7.20 \pm 1.22$), respectively; for the B/Yamagata strain, 8.6 ($\log_2 3.11 \pm 0.54$) *versus* 24.1 ($\log_2 4.59 \pm 0.79$). The GMT level for the B/Victoria strain, was 10.1 ($\log_2 3.33 \pm 0.38$) *versus* 63.0 ($\log_2 5.98 \pm 0.69$) after vaccination. The seroconversion rate (SCR) significantly exceeded the required level of 2.00 for all strains tested ($p < 0.05$). For both H3N2 and B/Yamagata strains, the GMT was 2.8; for H1N1 and B/Victoria strains, 4.89 and 6.26, respectively. The seroconversion rate for H3N2 and B/Yamagata strains was 41.9%; for the H1N1 strain, 61.3%, for the B/Victoria strain it was 77.4%. The immunogenicity of each component of the influenza vaccine following a single intramuscular immunization of volunteers over 60 years old met at least one criterion of the requirements for inactivated influenza vaccines.

Keywords: influenza, adjuvant influenza vaccine, vaccine immunogenicity, efficiency, safety, COVID-19

Введение

По оценкам CDC, в сезоне 2023-2024 гг. зарегистрировано не менее 20 млн случаев заболевания гриппом, 230 000 госпитализаций и 14 000 смертей. При рассмотрении показателей по возрасту самый высокий совокупный уровень госпитализации на 100 000 населения был среди взрослых в возрасте 65 лет и старше (128,6), за ним следовали взрослые в возрасте 50-64 лет (59,5) и дети в возрасте 0-4 лет (50,9). Заболеваемость и смертность непропорционально высоки среди пожилых людей, детей раннего возраста и людей с некоторыми хроническими заболеваниями. По данным Отдела народонаселения ООН, число пожилых людей, как ожидается, увеличится с 600 млн в настоящее время до почти 2 млрд во всем мире к 2050 г.; в развитых странах 25% населения будет старше 65 лет из-за увеличения средней продолжительности жизни [7].

В метаанализе, посвященном лабораторно подтвержденному сезонному гриппу 2004-2017 гг. в Европейском регионе ВОЗ, самая высокая доля вируса гриппа A(H3N2) была отмечена в возрастной группе ≥ 65 лет – 10% (95% ДИ: 2-22). Объединенная оценка для всех типов гриппа в возрастной группе ≥ 65 лет составила 33% [6].

Волгоградские ученые, проанализировав заболеваемость гриппом у пожилых за период с 2015 по 2019 гг., установили, что в подавляющем числе случаев (91,3%) у пациентов пожилого и старчес-

кого возраста регистрировались среднетяжелые формы гриппа. Однако в остальных случаях заболевание протекало в тяжелой форме, осложненной картиной полисегментарной вирусно-бактериальной пневмонии с явлениями острой дыхательной недостаточности 1-2-й степени, на фоне РДСВ. В этой связи летальный исход среди наших пациентов наступил у 3,2% из них (4 человека) [2].

Рассчитанная совокупная глобальная частота госпитализаций, связанных с гриппом, составила 40,5 на 100 000 человек, при этом показатели существенно различались в зависимости от возраста: 224,0 у детей в возрасте 0-4 и 96,8 у пожилых людей старше 65 лет [14]. По данным Центров по контролю и профилактике заболеваний в США (Centers for Disease Control and Prevention, CDC), 43,7% госпитализированных по поводу гриппа в сезоне 2021-2022 гг. в США – это пациенты старше 65 лет, поэтому пожилые люди являются приоритетной группой для ежегодной вакцинации против гриппа.

Вакцинация ежегодно сохраняет жизнь 5 млн человек и предотвращает инвалидность для 750 тыс. детей, проявляя себя как самое эффективное медицинское вмешательство в отношении инфекционных болезней, созданное человеком [1]. Для пожилых людей и других групп населения высокого риска рекомендуется ежегодная вакцинация против сезонного гриппа с использованием четырехвалентных гриппозных

вакцин, которые включают обе линии гриппа В. Одним из ограничений этой профилактической стратегии здравоохранения является то, что эффективность вакцины при вакцинации против гриппа, как было показано, снижается у лиц в возрасте старше 65-70 лет, что является следствием возрастной иммунной дисфункции (иммуностарения), что является одной из причин, по которой ВОЗ выступает за разработку улучшенных вакцин против гриппа [16].

Показатели серопротекции, полученные в Индийском исследовании 2018 г., были выше у взрослых по сравнению с участниками пожилого возраста, что подкрепляет данную гипотезу [5]. Снижение эффективности вакцины против гриппа с возрастом может быть связано с дисбалансом эффекторных Т-клеток памяти и регуляторных реакций. CDC приняли новые рекомендации Консультативного комитета по практике иммунизации (ACIP) по вакцинации от гриппа пожилых людей. ACIP проголосовал за то, чтобы предпочтительно рекомендовать использование высоких доз вакцин против гриппа или адьювантных вакцин по сравнению со стандартными дозами неадьювантных вакцин против гриппа для людей 65 лет и старше [9, 10, 11, 12, 13, 15]. Эта рекомендация была основана на обзоре доступных исследований, которые показывают, что в этой возрастной группе эти вакцины потенциально более эффективны в отношении количества госпитализаций и в экономическом отношении, чем неадьювантные вакцины против гриппа в стандартных дозах.

Большинство оценок эффективности адьювантных вакцин со стандартной дозой антигена относительно безадьювантных вакцин с высокой были сопоставимы, лишь немногие статистически значимые суммарные эффекты были небольшими по величине, двигались в противоположных направлениях и зависели от спонсора исследования и специфиности результатов, связанных с гриппом. В настоящее время стандартные дозы вакцин с адьювантом MF59 и высокие дозы вакцин без адьюванта, по-видимому, обладают одинаковой эффективностью в профилактике сезонного гриппа у пожилых людей, и не удалось дать окончательных рекомендаций относительно предпочтения одной вакцины перед другой [8].

Как показано в исследовании, проведенном в сезоне 2021/2022 в г. Тяньцзине, Китай, пожилой возраст оказал значимое негативное влияние на сероконверсию против H1N1 и B/Виктория. Кроме того, наблюдалась значительная отрицательная корреляция между хронологическим возрастом и постvakцинальными среднегеометрическими титрами антител против H1N1, B/Виктория и B/Ямагата [17].

Сообщалось, что у пожилых людей повторная вакцинация усиливает нейтрализующие антитела к вирусам гриппа В. Напротив, повторная вакцинация против вируса гриппа может препятствовать реакции нейтрализующих антител и снизить эффективность вакцины, особенно против штаммов H3N2. Возможно, что у пожилых участников с хроническими или острыми воспалительными заболеваниями на момент вакцинации иммунный ответ на вакцинацию против гриппа может улучшиться, как это наблюдалось в этом исследовании [3].

Исследование, проведенное в Бельгии, Финляндии и Португалии, показало, что в нескольких странах с разными системами здравоохранения переход от стандартной дозы к высокой будет способствовать значительному улучшению состояния общественного здравоохранения (т. е. меньшему количеству случаев гриппа, посещений врачей общей практики и неотложной помощи, госпитализаций и смертей), при этом являясь экономически эффективным вариантом [4].

В совокупности эти исследования предоставляют убедительные доказательства, подтверждающие нарушение иммунного ответа на вакцины против гриппа у пожилых людей и необходимость совершенствования технологий производства вакцин.

Цель данного исследования – изучить способность к формированию защитного титра антител к штаммам вируса гриппа, входящим в состав вакцины, на этапе завершения пандемии COVID-19 у пожилых людей.

Материалы и методы

Настоящее исследование проводили среди взрослых в возрасте 60-85 лет в Москве, Россия. Все участники были набраны в период с октября 2022 г. по апрель 2023 г. Критерии включения: 1) возраст старше 60 лет; 2) отсутствие иммунизации против гриппа в сезон 2022-2023 гг. на момент включения в исследование; 3) наличие письменного добровольного информированного согласия каждого добровольца. Критерии неисключения: 1) вакцинация против гриппа в сезон 2022-2023 гг.; 2) аллергические реакции на куриный белок и компоненты вакцины; 3) аллергические реакции на ранее вводимые гриппозные вакцины; 4) сильная реакция (температура выше 40 °C, отек и гиперемия в месте введения свыше 8 см в диаметре) или осложнения на предыдущее введение гриппозных вакцин в анамнезе; 5) острые инфекционные или неинфекционные заболевания, обострения хронических заболеваний на момент начала проведения исследования; 6) возраст менее 60 лет. Критерии исключения: 1) несоблюдение протокола исследования; 2) отказ от дальнейшего участия в исследовании.

Всего в исследовании принял участие 31 вакцинированный участник в возрасте старше 60 лет. В данной группе количество женщин составляло 17 человек (54,8%), мужчин – 14 человек (45,2%), средний возраст которых $66,2 \pm 5,8$ года. Максимальный возраст среди участников составил 85 лет. Исследование проводилось на базе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», ГБУЗ «ГКБ им. Д.Д. Плетнева ДЗМ», ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Сбор данных и образцов крови

Исследование одобрено локальным этическим комитетом (выписка из протокола № 03-23 очередного заседания Локального этического Комитета ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовского Университета) от 16.02.2023 г.). Участники были набраны обученным медицинским персоналом с информированного согласия. Информация о демографических и клинических характеристиках участников, включая имя, возраст, пол и историю болезни, переносимость вакцинации, развитие респираторных инфекций была получена и записана посредством осмотра и консультаций на протяжение 6 месяцев.

Образцы венозной крови для серологического анализа собирали исходно (0-й день, до вакцинации) и через 28-40 дней после вакцинации. После центрифугирования по 3 мл сыворотки из каждого образца транспортировали в ФГБНУ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова и хранили при -50°C .

Вакцина против гриппа

Вакцина представляла собой гриппозную четырехвалентную инактивированную субъединичную адьювантную вакцину 2022 г. производства и была одобрена для использования Минздравом Российской Федерации. Препарат содержал по 5 мкг антигенов вирусов гриппа типа А (А/Виктория/2570/2019 (H1N1) pdm09-подобный вирус, А/Дарвин/9/2021 (H3N2)-подобный вирус), типа В (В/Пхукет/3073/2013(линия В/Ямагата)-подобный вирус, В/Австрия/1359417/2021 (линия В/Виктория)-подобный вирус) и 0,5 мг полиоксидония (азоксимера бромида) в одной дозе. До употребления препарат хранили с соблюдением температурного режима строго по инструкции. Вакцину в дозе 0,5 мл вводили внутримышечно в дельтовидную мышцу.

Методы

Оценка иммуногенности

Уровень штамм-специфических антител к ингибированию гемагглютинации измеряли с использованием стандартных анализов ингибирования гемагглютинации, которые прово-

дили в соответствии со стандартными операционными процедурами. Антитела к штаммам вируса гриппа определяли методом постановки реакции торможения гемагглютинации (РТГА) с применением диагностиком гриппозных для торможения гемагглютинации сухие (ДИГ) А/Виктория/2570/2019 (H1N1) pdm09, А/H3N2/Дарвин/9/2021, В/Пхукет/3073/2013, В/Австрия/1359417/2021, сыворотки диагностической гриппозной для реакции торможения гемагглютинации сухой (СДГ) А/Виктория/2570/2019(H1N1) pdm09, А/H3N2/Дарвин/9/2021, В/Пхукет/3073/2013, В/Австрия/1359417/2021.

В качестве эталона оценки иммуногенности вакцины ориентировались на критерии эффективности вакцин, разработанные для стандартного взрослого человека, установленные Комитетом по Патентам медицинских продуктов (Committee for Proprietary Medicinal Products [CPMP]) – протокол CPMP/BWP/214/96:

– уровень серопротекции – процент привитых, у которых титр гемагглютинин-ингибирующих антител составляет более 1:40 к 21-му дню после проведения вакцинации; для лиц старше 60 лет этот показатель должен составлять более 60%;

– уровень сероконверсии или иммунологическая активность вакцины – относительное число привитых, у которых титр гемагглютинин-ингибирующих антител повысился более чем в 4 раза по сравнению с исходным уровнем среди всех иммунопротективных людей; для лиц старше 60 лет этот показатель должен составлять более 30%;

– фактор сероконверсии или средний геометрический прирост – повышение средних геометрических титров гемагглютинин-ингибирующих антител на 21-й день по сравнению с исходным уровнем, выражаящийся в кратности увеличения; для лиц старше 60 лет этот показатель должен составлять более 2,0.

Для признания вакцины эффективной должен отвечать указанным требованиям как минимум один из указанных показателей.

Оценка безопасности вакцин

За всеми участниками наблюдали в течение как минимум 30 минут после вакцинации для обеспечения безопасности и фиксации острых побочных проявлений после иммунизации (ПППИ). В период с 0-го по 7-й день проводился активный опрос участников по телефону. О ПППИ участники могли сообщать исследователям в течение 28 дней после вакцинации.

Статистический анализ

Проверка нормальности распределения признаков проводилась критерием Шапиро–Уилка. В результате были выявлены значительные отклонения распределения признаков от нор-

мального. Описательная статистика уровня АТ представлена средним геометрическим титром и его 95% доверительным интервалом. Также было рассчитано геометрическое среднее кратное увеличение по сравнению с исходным уровнем (фактор сероконверсии) и его 95% доверительный интервал. Сравнение фактора сероконверсии между группами исследования проводилось с помощью критерия Манна–Уитни в случае несвязанных выборок. Для качественных признаков находили абсолютные и относительные (%) частоты, для относительных показателей рассчитывался 95%-ный доверительный интервал, рассчитанный по методу Вилсона. Сравнения двух групп по качественным номинальным показателям проводили в ходе анализа таблиц сопряженности точным критерием Фишера.

Групповые различия анализировались с использованием двустороннего t-критерия или U-критерия Манна–Уитни для непрерывных переменных и критерия Хи-квадрат или точного критерия Фишера для категориальных переменных, в зависимости от ситуации. Весь статистический анализ проводился с использованием IBM SPSS Статистика 26.0, статистическая значимость была установлена на уровне $p < 0,05$.

Результаты

Иммуногенность

Для оценки иммуногенности инактивированной квадривалентной вакцины со штаммовым составом, обновленным на сезон 2022–2023 гг., были проанализированы парные сыворотки 31 лица в возрасте старше 60 лет (средний возраст $66,2 \pm 5,8$ лет), привитых с ноября 2022 г. по февраль 2023 г. в Москве.

Осеню 2022 г. до проведения вакцинации уровень серопroteкции лиц в старшей воз-

растной группе составила: к вирусам гриппа А/Виктория/2570/2019(H1N1) pdm09 – 32,3%; к вирусам гриппа А/H3N2/Дарвин/9/2021 – 67,7%; к вирусам В/Пхукет/3073/2013 – 12,9%; к вирусам гриппа В/Австрия/1359417/2021 – 19,4%.

Для лиц старше 60 лет через 1 месяц после вакцинации статистически значимое увеличение уровня серопroteкции ($p < 0,05$) наблюдается по отношению к трем штаммам: А/Виктория/2570/2019(H1N1) pdm09 до 74,2%, А/H3N2/Дарвин/9/2021 до 93,2% и В/Австрия/1359417/2021 до 74,2%. Уровень серопroteкции к штамму В/Пхукет/3073/13 составил 35,5% (табл. 1).

Средний геометрический титр антител (СГТ) лиц старшей возрастной группы до вакцинации по штамму H1N1 составлял $15,1 (\log_2 3,91 \pm 0,59)$, после вакцинации – $73,7 (\log_2 6,20 \pm 0,93)$; по штамму H3N2 – $52,7 (\log_2 5,72 \pm 0,97)$ и $147,4 (\log_2 7,20 \pm 1,22)$ до и после соответственно; по штамму В/Ямагата – $8,6 (\log_2 3,11 \pm 0,54)$ и $24,1 (\log_2 4,59 \pm 0,79)$ до и после соответственно; по штамму В/Виктория СГТ составлял $10,1 (\log_2 3,33 \pm 0,38)$, после – $63,0 (\log_2 5,98 \pm 0,69)$ (табл. 2).

Фактор сероконверсии (ФСК) у лиц старше 60 лет достоверно превысил требуемый уровень 2,00 для всех штаммов ($p < 0,05$). Для обоих штаммов H3N2 и В/Ямагата ФСК составил 2,8, для штаммов H1N1 и В/Виктория – 4,89 и 6,26 соответственно (табл. 3).

Уровень сероконверсии лиц старше 60 лет для штаммов H3N2 и В/Ямагата составил 41,9%, для штамма H1N1 – 61,3%, для штамма В/Виктория – 77,4% (табл. 4).

Безопасность

У лиц в возрасте старше 60 лет местные постvakцинальные реакции проявлялись в основном в виде болезненности в верхней конечно-

ТАБЛИЦА 1. УРОВЕНЬ СЕРОПРОТЕКЦИИ К ЧЕТЫРЕМ ШТАММАМ ВИРУСА ГРИППА ИСХОДНО И ЧЕРЕЗ 1 МЕСЯЦ ПОСЛЕ ВАКЦИНАЦИИ У ЛИЦ СТАРШЕ 60 ЛЕТ

TABLE 1. SEROPROTECTION RATE (SPR) TO FOUR STRAINS OF INFLUENZA VIRUS INITIALLY AND 1 MONTH AFTER VACCINATION IN PERSONS OVER 60 YEARS OLD

Штамм Strain	Уровень серопroteкции исходно Initial SPR	Уровень серопroteкции через 1 месяц SPR after 1 month
H1N1	32,3% (ДИ 18,6-49,9)	74,2% (ДИ 56,8-86,3)
H3N2	67,7% (ДИ 50,1-81,4)	93,2% (ДИ 84,9-98,2)
В/Ямагата B/Yamagata	12,9% (ДИ 5,1-28,9)	35,5% (ДИ 21,1-53,1)
В/Виктория B/Victoria	19,4% (ДИ 9,2-36,3)	74,2% (ДИ 56,8-86,3)

ТАБЛИЦА 2. СРЕДНИЙ ГЕОМЕТРИЧЕСКИЙ ТИТР АНТИТЕЛ (СГТ) К ЧЕТЫРЕМ ШТАММАМ ВИРУСА ГРИППА ИСХОДНО И ЧЕРЕЗ 1 МЕСЯЦ ПОСЛЕ ВАКЦИНАЦИИ У ЛИЦ СТАРШЕ 60 ЛЕТ

TABLE 2. GEOMETRIC MEAN TITER (GMT) TO FOUR STRAINS OF INFLUENZA VIRUS INITIALLY AND 1 MONTH AFTER VACCINATION IN PERSONS OVER 60 YEARS OLD

Штамм Strain	СГТ антител исходно Initial GMT	СГТ антител через 1 месяц GMT after 1 month
H1N1	15,1 ($\log_2 3,91 \pm 0,59$)	73,7 ($\log_2 6,20 \pm 0,93$)
H3N2	52,7 ($\log_2 5,72 \pm 0,97$)	147,4 ($\log_2 7,20 \pm 1,22$)
В/Ямагата B/Yamagata	8,6 ($\log_2 3,11 \pm 0,54$)	24,1 ($\log_2 4,59 \pm 0,79$)
В/Виктория B/Victoria	10,1 ($\log_2 3,33 \pm 0,38$)	63,0 ($\log_2 5,98 \pm 0,69$)

ТАБЛИЦА 3. ФАКТОР СЕРОКОНВЕРСИИ (ФСК) К ЧЕТЫРЕМ ШТАММАМ ВИРУСА ГРИППА ЧЕРЕЗ 1 МЕСЯЦ ПОСЛЕ ВАКЦИНАЦИИ У ЛИЦ СТАРШЕ 60 ЛЕТ

TABLE 3. GMT RATIO TO FOUR STRAINS OF INFLUENZA VIRUS INITIALLY AND 1 MONTH AFTER VACCINATION IN PERSONS OVER 60 YEARS OLD

Штамм Strain	ФСК через 1 месяц после вакцинации GMT ratio 1 month after vaccination
H1N1	4,89 (ДИ 4,25-5,62)
H3N2	2,80 (ДИ 2,39-3,28)
В/Ямагата B/Yamagata	2,80 (ДИ 2,39-3,28)
В/Виктория B/Victoria	6,26 (ДИ 5,61-6,98)

ТАБЛИЦА 4. УРОВЕНЬ СЕРОКОНВЕРСИИ К ЧЕТЫРЕМ ШТАММАМ ВИРУСА ГРИППА ЧЕРЕЗ 1 МЕСЯЦ ПОСЛЕ ВАКЦИНАЦИИ У ЛИЦ СТАРШЕ 60 ЛЕТ

TABLE 4. SEROCONVERSION RATE (SCR) TO FOUR STRAINS OF INFLUENZA VIRUS INITIALLY AND 1 MONTH AFTER VACCINATION IN PERSONS OVER 60 YEARS OLD

Штамм Strain	Уровень сероконверсии через 1 месяц после вакцинации у лиц старше 60 лет SCR after 1 month in persons over 60 years old
H1N1	61,3% (ДИ 43,8-76,3%)
H3N2	41,9% (ДИ 26,4-59,2%)
В/Ямагата B/Yamagata	41,9% (ДИ 26,4-59,2%)
В/Виктория B/Victoria	77,4% (ДИ 60,2-88,9%)

сти – 6 случаев (19,4%). Реакции слабой степени выраженности были выявлены у 6 (19,4%) привитых (табл. 5). Системные поствакцинальные реакции проявлялись в виде общего недомогания, артритов, повышения температуры тела,

утомляемости и сонливости, в одном случае – ОРВИ (единственный случай сочетания местной и общей реакции). Реакции слабой степени выраженности были выявлены также у 6 (19,4%) привитых. В 20 (64,5%) случаях переносимость

ТАБЛИЦА 5. МЕСТНЫЕ И СИСТЕМНЫЕ ПОСТВАКЦИНАЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ У ДОБРОВОЛЬЦЕВ СТАРШЕ 60 ЛЕТ
В ТЕЧЕНИЕ 28 СУТОК НАБЛЮДЕНИЯ ПОСЛЕ ВАКЦИНАЦИИ

TABLE 5. LOCAL AND SYSTEMIC POST-VACCINATION REACTIONS IN VOLUNTEERS OVER 60 YEARS OLD DURING 28 DAYS AFTER VACCINATION

Характер поствакцинальной реакции Nature of the post-vaccination reaction	Степень выраженности Degree	Количество добровольцев, у которых были зарегистрированы поствакцинальные реакции Number of volunteers with post-vaccination reactions	
		Абс. Abs.	%
Любые реакции Any reactions	Отсутствует No reactions	20	64,5
	Присутствует Any reaction	11	35,5
Местные реакции Local reactions	Отсутствует No reactions	25	80,6
	Слабая Mild	6	19,4
	Средняя Medium	0	0
	Сильная Serious	0	0
Системные реакции Systemic reactions	Отсутствует No reactions	25	80,6
	Слабая Mild	6	19,4
	Средняя Medium	0	0
	Сильная Serious	0	0
Местные и системные реакции Local and systemic reactions		1	3,2

вакцинации была хорошей, поствакцинальные реакции отсутствовали.

В течение месяца не возникло никаких тяжелых поствакцинальных реакций или событий, требующих медицинского вмешательства, все реакции купировались самостоятельно в течение 1-3 дней с момента вакцинации без применения медикаментозных препаратов либо с применением НПВС.

Обсуждение

Существует недостаточное количество отечественных исследований, описывающих эффективность вакцинации от гриппа у пациентов старшего возраста, часто с сопутствующими заболеваниями, хотя пожилые остаются приоритетной целевой группой населения для вакцинации. Во всем мире появляется все больше доказательств, подтверждающих связь между инфекцией гриппа и сердечными, неврологическими, эндокринными и другими осложнениями, которые чаще встречаются у людей с сопутствую-

ющими факторами риска. Это может стать перспективной ветвью для будущих исследований.

ВОЗ рекомендует вакцинацию как наиболее эффективный метод профилактики гриппа, в это время в России достигается показатель охвата вакцинацией против гриппа величиной более 55% (прививочная кампания 2023-2024).

В ходе настоящего исследования перед проведением вакцинации против гриппа показатели иммуногенности значимо отличались от таких после вакцинации, кроме В/Пхукет/3073/13 ($p < 0,05$) – 12,9% (ДИ 5,1-28,9) исходно и 35,5% (ДИ 21,1-53,1) через 1 месяц после вакцинации. Для штамма А/H3N2/Дарвин/9/2021 уровень серопротекции достоверно достиг требуемого значения $> 60\%$ (93,2% (ДИ 84,9-98,2)). Для штаммов А/Виктория/2570/2019 (H1N1) pdm09 и В/Австрия/1359417/2021 уровень серопротекции достиг требуемого значения недостоверно (74,2% (ДИ 56,8-86,3)).

Фактор сероконверсии лиц старше 60 лет достоверно превысил нормативное значение ($> 2,0$) для всех штаммов.

Что касается уровня сероконверсии, то для всех штаммов данный показатель оказался высок, однако недостоверно для штамма линии В/Ямагата (В/Пхукет/3073/13) (41,9% (ДИ 26,4-59,2%)), как и для штамма А/H3N2/Дарвин/9/2021 (41,9% (ДИ 26,4-59,2%)).

Ниже приведены результаты зарубежных исследований иммуногенности вакцин от гриппа, проведенные с период с 2018 по 2022 гг, в сопоставлении с проведенным нами.

Показатели серопротекции, полученные в Индийском исследовании 2018 г. среди обследуемых в возрасте старше 60 лет, схожи с настоящими показателями – для штамма H1N1 серопротекция находилась на уровне 89,3% в 2018 г., 74,2% в 2022 г. (настоящее исследование), для штамма H3N2 – 96,7% и 93,2% соответственно, для штамма линии В/Виктория – 51,3% и 74,2% соответственно, для штамма линии В/Ямагата серопротекция оказалась минимальной в обоих исследованиях – 43,6% и 35,5% [9]. Данные, полученные в Китае в 2022 г., противоречат вышеописанным – показатель серопротекции для штаммов H1N1, H3N2, В/Виктория варьируется от 71,6% до 77,3%, что, касаемо H3N2, ниже; однако для штамма линии В/Ямагата уровень серопротекции составил 89,8%, что более чем вдвое выше [17].

Исследование, проведенное в США в 2021 г. среди пожилых вакцинированных лиц, выявило

наибольшее значение ФСК и уровня сероконверсии для штамма H1N1 (8,1% и 72,1%), в то время как в настоящей работе ФСК и сероконверсия составили 4,9% и 61,3% соответственно (что немного ниже их наивысших значений для штамма линии В/Виктория), а в упомянутом выше китайском исследовании 2022 г. эти показатели были наименьшие среди всех четырех штаммов (4,13% и 47,7%) [12].

Что касается безопасности, вакцины, используемые в предшествующих и настоящем исследовании, продемонстрировали схожие профили местной и системной реактогенности. В целом, среди участников наблюдался низкий уровень развития постvakцинальных реакций легкой степени тяжести, единичные случаи средней степени тяжести, реакций тяжелой степени зарегистрировано не было. В нашем исследовании побочных проявлений после иммунизации средней и тяжелой степени не наблюдалось.

Заключение

Результаты этого исследования показывают, что четырехвалентная инактивированная субъединичная адьювантная вакцина против гриппа была иммуногенна и хорошо переносилась участниками исследования в возрасте старше 60 лет. Иммуногенная активность каждого компонента вакцины при однократной внутримышечной иммунизации добровольцев в возрасте старше 60 лет соответствовала требованиям, предъявляемым к инактивированным гриппозным вакцинам как минимум по одному критерию.

Список литературы / References

1. Костинов М.П. Вакцинация взрослых – от стратегии к тактике. Руководство для врачей. Москва: Группа МДВ, 2020. 248 с. [Kostinov M.P. Adult vaccination: from strategy to tactics. Manual for medical professionals.] Moscow: Gruppa MDV, 2020. 248 p.
2. Попов С.Ф., Иоанниди Е.А., Александров О.В. Эпидемиологические особенности современного течения гриппа у пациентов пожилого и старческого возраста // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета, 2021. Т. 77, № 1. С. 150-153. [Popov S.F., Ioannidi E.A., Alexandrov O.V. Clinical and epidemiological features of the modern course of influenza among elderly patients. Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of Volgograd State Medical University, 2021, Vol. 77, no. 1, pp. 150-153. (In Russ.)]
3. Abreu R.B., Kirchenbaum G.A., Sautto G.A., Clutter E.F., Ross T.M. Impaired memory B-cell recall responses in the elderly following recurrent influenza vaccination. *PLoS One*, 2021, Vol. 16, no. 8, e0254421. doi: 10.1371/journal.pone.0254421.
4. Alvarez F.P., Chevalier P., Borms M., Bricout H., Marques C., Soininen A., Sainio T., Petit C., de Courville C. Cost-effectiveness of influenza vaccination with a high dose quadrivalent vaccine of the elderly population in Belgium, Finland, and Portugal. *J. Med. Econ.*, 2023, Vol. 26, no. 1, pp. 710-719.
5. Basu I., Agarwal M., Shah V., Shukla V., Naik S., Supe P.D., Srivastava M.K., Giriraja K.V., Pinjar P., Mishra P.K., Joshi S., Vijayakumar R., van de Witte S. Immunogenicity and safety of two quadrivalent influenza vaccines in healthy adult and elderly participants in India – A phase III, active-controlled, randomized clinical study. *Hum. Vaccin. Immunother.*, 2022, Vol. 18, no. 1, pp. 1-10.
6. Belazi S., Olsen S.J., Brown C., Green H.K., Mook P., Nguyen-Van-Tam J., Penttinen P., Lansbury L. Spotlight influenza: Laboratory-confirmed seasonal influenza in people with acute respiratory illness: a literature review and meta-analysis, WHO European Region, 2004 to 2017. *Euro Surveill.*, 2021, Vol. 26, no. 39, 2000343. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2021.26.39.2000343.

7. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Weekly U.S. Influenza Surveillance Report (FluView). Available at: <https://www.cdc.gov/flu/weekly/weeklyarchives2023-2024/week11.htm>.
8. Domnich A., de Waure C. Comparative effectiveness of adjuvanted *versus* high-dose seasonal influenza vaccines for older adults: a systematic review and meta-analysis. *Int. J. Infect. Dis.*, 2022, Vol. 122, pp. 855-863.
9. Doyon-Plourde P., Przepiorkowski J., Young K., Zhao L., Sinilaite A. Intraseasonal waning immunity of seasonal influenza vaccine – A systematic review and meta-analysis. *Vaccine*, 2023, Vol. 41, no. 31, pp. 4462-4471.
10. Gorse G.J., Grimes S., Buck H., Mulla H., White P., Hill H., May J., Frey S.E., Blackburn P. MAS-1, a novel water-in-oil adjuvant/delivery system, with reduced seasonal influenza vaccine hemagglutinin dose may enhance potency, durability and cross-reactivity of antibody responses in the elderly. *Vaccine*, 2022, Vol. 40, no. 10, pp. 1472-1482.
11. Izikson R., Brune D., Bolduc J.S., Bourron P., Fournier M., Moore T.M., Pandey A., Perez L., Sater N., Shrestha A., Wague S., Samson S.I. Safety and immunogenicity of a high-dose quadrivalent influenza vaccine administered concomitantly with a third dose of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 vaccine in adults aged ≥ 65 years: a phase 2, randomised, open-label study. *Lancet Respir. Med.*, 2022, Vol. 10, no. 4, pp. 392-402.
12. Lee J.K.H., Lam G.K.L., Shin T., Samson S.I., Greenberg D.P., Chit A. Efficacy and effectiveness of high-dose influenza vaccine in older adults by circulating strain and antigenic match: An updated systematic review and meta-analysis. *Vaccine*, 2021, Vol. 39, Suppl. 1, pp. A24-A35.
13. Ortiz de Lejarazu R., Martinón Torres F., Gil de Miguel A., Díez Domingo J., Redondo Marguello E. High-dose trivalent influenza vaccine: safety and immunogenicity. *Rev. Esp. Quimioter.*, 2021, Vol. 34, no. 1, pp. 1-11. (In Spanish)
14. Paget J., Staadegaard L., Wang X., Li Y., van Pomeren T., van Summeren J., Dückers M., Chaves S.S., Johnson E.K., Mahé C., Nair H., Viboud C., Spreeuwenberg P. Global and national influenza-associated hospitalisation rates: Estimates for 40 countries and administrative regions. *J. Glob. Health*, 2023, Vol. 27, no. 13, 04003. doi: 10.7189/jogh.13.04003.
15. Pott H., Andrew M.K., Shaffelburg Z., Nichols M.K., Ye L., ElSherif M., Hatchette T.F., LeBlanc J., Ambrose A., Boivin G., Bowie W., Johnstone J., Katz K., Lagacé-Wiens P., Loeb M., McCarthy A., McGeer A., Poirier A., Powis J., Richardson D., Semret M., Smith S., Smyth D., Stiver G., Trottier S., Valiquette L., Webster D., McNeil S.A. Serious Outcomes Surveillance SOS Network of the Canadian Immunization Research Network CIRN; Toronto Invasive Bacterial Diseases Network TIBDN. Vaccine Effectiveness of non-adjuvanted and adjuvanted trivalent inactivated influenza vaccines in the prevention of influenza-related hospitalization in older adults: A pooled analysis from the Serious Outcomes Surveillance (SOS) Network of the Canadian Immunization Research Network (CIRN). *Vaccine*, 2023, Vol. 41, no. 42, pp. 6359-6365.
16. Taniguchi K., Ikeda S., Hagiwara Y., Tsuzuki D., Klai M., Sakai Y., Crawford B., Nealon J. Epidemiology and burden of illness of seasonal influenza among the elderly in Japan: A systematic literature review and vaccine effectiveness meta-analysis. *Influenza Other Respir. Viruses*, 2021, Vol. 15, no. 2, pp. 293-314.
17. Xiao T., Wei M., Guo X., Zhang Y., Wang Z., Xia X., Qi X., Wang L., Li X., Leng S.X. Immunogenicity and safety of quadrivalent influenza vaccine among young and older adults in Tianjin, China: implication of immunosenescence as a risk factor. *Immun. Ageing*, 2023, Vol. 20, no. 1, 37. doi: 10.1186/s12979-023-00364-6.

Авторы:

Юшкова С.В. – аспирант кафедры эпидемиологии и современных технологий вакцинации Института профессионального образования ФГАОУ ВО «Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Костинов М.П. – д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заведующий лабораторией вакцинопрофилактики и иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»; заведующий кафедрой эпидемиологии и современных технологий вакцинации Института профессионального образования ФГАОУ ВО «Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Authors:

Iushkova S.V., Postgraduate Student, Department of Epidemiology and Modern Technologies of Vaccination, Institute of Professional Education, I. Sechenov First State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Kostinov M.P., PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Vaccination and Immunotherapy of Allergic Diseases, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera; Head, Department of Epidemiology and Modern Technologies of Vaccination, Institute of Professional Education, I. Sechenov First State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Гладкова Л.С. – к.м.н., заместитель главного врача больницы по санитарно-эпидемиологическим вопросам ГБУЗ «Городская клиническая больница имени Д.Д. Плетнёва Департамента здравоохранения г. Москвы»; доцент кафедры эпидемиологии и социальной гигиены Института медико-социальных технологий ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

Камелева А.А. – к.м.н., врач – аллерголог-иммунолог, клинико-диагностическое отделение ГБУЗ «Городская клиническая больница имени Д.Д. Плетнёва Департамента здравоохранения г. Москвы»; ассистент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и адаптологии факультета непрерывного медицинского образования Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Париса Лумумбы», Москва, Россия

Качнова А.С. – врач – аллерголог-иммунолог, клинико-диагностическое отделение ГБУЗ «Городская клиническая больница имени Д.Д. Плетнёва Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва, Россия

Костинова А.М. – к.м.н., ассистент кафедры эпидемиологии и современных технологий вакцинации Института профессионального образования ФГАОУ ВО «Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский Университет); врач – аллерголог-иммунолог, клинико-диагностическое отделение ГБУЗ «Городская клиническая больница имени Д.Д. Плетнёва Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва, Россия

Соловьева И.Л. – д.м.н., профессор, заведующая кафедрой педиатрии медицинского факультета имени Т.З. Биктимирова Института медицины, экологии и физической культуры ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия

Андреева Н.П. – к.м.н., доцент кафедры организации здравоохранения и информационных технологий в медицине ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова»; врач – аллерголог-иммунолог Республиканского центра семейной вакцинопрофилактики, заместитель главного врача БУ «Городская детская клиническая больница» Министерства здравоохранения Чувашской Республики, г. Чебоксары, Чувашская Республика, Россия

Дагиль Ю.А. – к.б.н., научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

Настаева Н.Ю. – врач-эпидемиолог ФГБУЗ «Новороссийский клинический центр Федерального медико-биологического агентства», г. Новороссийск, Россия

Крюкова Н.О. – ассистент кафедры госпитальной терапии педиатрического факультета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Сайфутдинов К.А. – студент 5-го курса стоматологического факультета ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Казань, Республика Татарстан, Россия

Gladkova L.S., PhD (Medicine), Deputy Chief Doctor for Sanitary and Epidemiological Issues, D. Pletnev City Clinical Hospital; Associate Professor, Department of Epidemiology and Social Hygiene, Institute of Medical and Social Technologies, National Research Center “Institute of Immunology”, Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russian Federation

Kameleva A.A., PhD (Medicine), Allergist-Immunologist, Consultative and Diagnostic Department, D. Pletnev City Clinical Hospital; Assistant Professor, Department of Clinical Immunology, Allergy, and Adaptation, Faculty of Continuous Medical Education, Medical Institute, P. Lumumba Russian University of Peoples’ Friendship, Moscow, Russian Federation

Kachnova A.S., Allergist-Immunologist, Consultative and Diagnostic Department, D. Pletnev City Clinical Hospital, Moscow, Russian Federation

Kostinova A.M., PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Epidemiology and Modern Technologies of Vaccination, Institute of Professional Education, I. Sechenov First State Medical University (Sechenov University); Allergist-Immunologist, Consultative and Diagnostic Department, D. Pletnev City Clinical Hospital, Moscow, Russian Federation

Solov'yeva I.L., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Pediatrics, T. Biktamirov Faculty of Medicine, Institute of Medicine, Ecology and Physical Education, Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russian Federation

Andreeva N.P., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Healthcare Organization and Information Technologies in Medicine, Chuvash State University; Allergist-Immunologist, Republican Family Vaccination Center, Deputy Chief, City Children's Clinical Hospital, Cheboksary, Chuvash Republic, Russian Federation

Dagil Yu.A., PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Clinical Immunology, National Research Center “Institute of Immunology”, Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russian Federation

Nastaeva N.Yu., Epidemiologist, Novorossiysk Clinical Center, Federal Medical Biological Agency, Novorossiysk, Russian Federation

Kryukova N.O., Assistant Professor, Department of Hospital Therapy, Pediatrics Faculty, N. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Saifutdinov K.A., 5th year Student, Faculty of Dentistry, Kazan State Medical University, Kazan, Republic of Tatarstan, Russian Federation

Линок А.В. – к.м.н., доцент кафедры эпидемиологии и современных технологий вакцинации Института профессионального образования ФГАОУ ВО «Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский Университет); научный сотрудник лаборатории эпидемиологического анализа и мониторинга инфекционных заболеваний ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Храпунова И.А. – д.м.н., профессор кафедры эпидемиологии и современных технологий вакцинации Института профессионального образования ФГАОУ ВО «Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Раичич С.Р. – к.м.н., ассистент кафедры эпидемиологии и современных технологий вакцинации Института профессионального образования ФГАОУ ВО «Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Локтионова М.Н. – к.м.н., доцент кафедры эпидемиологии и современных технологий вакцинации Института профессионального образования ФГАОУ ВО «Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский Университет); старший научный сотрудник лаборатории эпидемиологии природно-очаговых инфекций ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора; старший научный сотрудник лаборатории эпидемиологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Полищук В.Б. – к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории вакцинопрофилактики и иммунотерапии аллергических заболеваний ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Албаханса М.И. – аспирант кафедры эпидемиологии и современных технологий вакцинации Института профессионального образования ФГАОУ ВО «Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Поступила 07.08.2024
Принята к печати 14.09.2024

Linok A.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Epidemiology and Modern Technologies of Vaccination, Institute of Professional Education, I. Sechenov First State Medical University (Sechenov University); Research Associate, Laboratory for Epidemiological Analysis and Monitoring of Infectious Diseases, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Khrapunova I.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Epidemiology and Modern Technologies of Vaccination, Institute of Professional Education, I. Sechenov First State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Raicic S.R., PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Epidemiology and Modern Technologies of Vaccination, Institute of Professional Education, I. Sechenov First State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Loktionova M.N., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Epidemiology and Modern Technologies of Vaccination, Institute of Professional Education, I. Sechenov First State Medical University (Sechenov University); Leading Research Associate, Laboratory for Epidemiology of Natural Foci Infections, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation; Leading Research Associate, Laboratory of Vaccination and Immunotherapy of Allergic Diseases, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Polishchuk V.B., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Vaccine Prophylaxis and Immunotherapy of Allergic Diseases, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Albahansa M.Y., Postgraduate Student, Department of Epidemiology and Modern Technologies of Vaccination, Institute of Professional Education, I. Sechenov First State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Received 07.08.2024
Accepted 14.09.2024

ПРИМЕНЕНИЕ IFN γ ИЛИ TNF α -Т В ПРОТОКОЛАХ ПОЛУЧЕНИЯ ЦИК ДЛЯ АДОПТИВНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ

Гельм Ю.В.¹, Гривцова Л.Ю.¹, Пасова И.А.¹, Константинова Т.В.¹,
Мушкарина Т.Ю.¹, Иванов С.А.^{1, 2}, Каприн А.Д.^{2, 3, 4}

¹ Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Обнинск, Россия

² ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва, Россия

³ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Обнинск, Россия

⁴ Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. Методы иммунокоррекции, основанные на введении в организм аутологичных лейкоцитов, активированных в условиях *in vitro* различными иммуномодуляторами, получают все более широкое распространение. Ранее проведенные нами исследования позволяют утверждать об эффективности применения иммунотерапии лимфоцитами, активированными *in vitro* с помощью цитокинов для лечения онкологических больных и хорошей переносимости данной терапии. В данной статье рассмотрены варианты применения препаратов рекомбинантного интерферона гамма (IFN γ) и рекомбинантного фактора некроза опухоли-альфа-тимозина-альфа-1 (TNF α -Т) для получения цитокин-индуцированных киллеров (ЦИК) человека *in vitro*. Целью исследования являлась оценка возможности применения препаратов IFN γ и TNF α -Т в протоколах получения ЦИК человека в условиях *in vitro*. Мононуклеары (МНК), выделенные из крови 15 доноров, культивировали в условиях CO₂-инкубатора до 12 суток. Для оценки токсичности IFN γ и TNF α -Т в отношении лимфоцитов *in vitro* концентрации препаратов были выверены экспериментальным путем с учетом контроля уровня жизнеспособности клеток. Уровни цитокинов в супернатантах на этапах культивирования клеток определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА). До и после культивирования оценивали наличие адгезии и гранулярности изучаемых лимфоцитов, фенотип клеток изучали методом проточной цитометрии, оценку уровня жизнеспособности активированных лимфоцитов проводили в камере Горяева. Проведен сравнительный анализ способов культивирования лимфоцитов в различных средах, содержащих: только IFN γ (группа 1); IFN γ , интерлейкин-2 (IL-2) и интерлейкин-15 (IL-15) (группа 2);

Адрес для переписки:

Гельм Юлия Витальевна
Медицинский радиологический научный центр
имени А.Ф. Цыба
249031, Россия, г. Обнинск, ул. Маршала Жукова, 10.
Тел.: 8 (48439) 2-96-04.
E-mail: julia_marizina@mail.ru

Address for correspondence:

Yulia V. Gelm
A. Tsyb Medical Radiological Research Centre
10 Marshal Zhukov St
Obninsk
249031 Russian Federation
Phone: +7 (48439) 2-96-04.
E-mail: julia_marizina@mail.ru

Образец цитирования:

Ю.В. Гельм, Л.Ю. Гривцова, И.А. Пасова, Т.В. Константинова, Т.Ю. Мушкарина, С.А. Иванов, А.Д. Каприн «Применение IFN γ или TNF α -Т в протоколах получения ЦИК для адоптивной иммунотерапии» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 407-416.

doi: 10.15789/1563-0625-UOI-3027

© Гельм Ю.В. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

Yu.V. Gelm, L.Yu. Grivtsova, I.A. Pasova, T.V. Konstantinova, T.Yu. Mushkarina, S.A. Ivanov, A.D. Kaprin “Usage of IFN γ or TNF α -T in protocols for obtaining cytokine-induced killer cells for adoptive immunotherapy”, Medical Immunology (Russia)/Meditinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 407-416.

doi: 10.15789/1563-0625-UOI-3027

© Gelm Yu.V. et al., 2025

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

DOI: 10.15789/1563-0625-UOI-3027

только TNF α -T (группа 3); TNF α -T, IL-2 и IL-15 (группа 4) и только IL-2 и IL-15 (группа контроля). При активации МНК в среде, содержащей IFN γ , IL-2 и IL-15 или в среде, содержащей TNF α -T, IL-2 и IL-15, отмечена общая тенденция к значительному увеличению показателей Т-цитотоксических клеток (CD3 $^+$ CD8 $^+$), NKT-клеток (CD3 $^+$ CD16 $^+$ CD56 $^+$), активированных лимфоцитов (HLA-DR $^+$), активированных Т-лимфоцитов (CD3 $^+$ HLA-DR $^+$) и маркеров активации на всех лимфоцитах (CD38 $^+$) и на Т-клетках (CD3 $^+$ CD38 $^+$). Оценена возможность применения препаратов IFN γ и TNF α -T для получения ЦИК человека *in vitro*. Полученные данным способом активированные цитотоксические лимфоциты могут применяться для фундаментальных исследований по выявлению новых закономерностей и морфо-функциональных особенностей активированных лимфоцитов человека, а также для проведения адоптивной иммунотерапии онкологическим больным.

Ключевые слова: культивирование, IFN γ , TNF α -T, IL-2, IL-15, ЦИК, ИФА, фенотип

USAGE OF IFN γ OR TNF α -T IN PROTOCOLS FOR OBTAINING CYTOKINE-INDUCED KILLER CELLS FOR ADOPTIVE IMMUNOTHERAPY

Gelm Yu.V.^a, Grivtsova L.Yu.^a, Pasova I.A.^a, Konstantinova T.V.^a,
Mushkarina T.Yu.^a, Ivanov S.A.^{a, b}, Kaprin A.D.^{b, c, d}.

^a A. Tsyb Medical Radiological Research Centre, a Branch of National Medical Research Radiological Centre of the Russian Federation, Obninsk, Russian Federation

^b P. Lumumba Peoples Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

^c National Medical Research Radiological Center of the Russian Federation, Obninsk, Russian Federation

^d P. Herzen Moscow Oncology Research Institute, a Branch of National Medical Research Radiological Centre of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Abstract. Methods of immunocorrection based on injection of *in vitro* activated autologous leukocytes are becoming widespread. Our previous studies suggest that implementation of immunotherapy with *in vitro* activated lymphocytes using cytokines is effective for the treatment of cancer patients, and that this therapy is well tolerated. This article discusses the use of biological drugs, i.e., recombinant interferon-gamma (IFN γ) and recombinant tumor necrosis factor-alpha-thymosin-alpha-1 (TNF α -T) for the *in vitro* production of human cytokine-induced killer cells (CIC). The purpose of our study was to assess the possibility of IFN γ and TNF α -T usage within protocols for *in vitro* production of human CIC. Isolated mononuclear blood cells from 15 donors were cultured in a CO₂ incubator for 12 days and the morpho-functional characteristics of lymphocytes were studied. To assess the *in vitro* toxicity of IFN γ and TNF α -T towards lymphocytes, the drug concentrations have been adjusted experimentally, with respect to control of cell viability. The levels of cytokines in the supernatants at the stages of cell culture were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Before and after cultivation, the presence of adhesion and granularity of the studied lymphocytes was assessed, the phenotype of cultured cells was studied by flow cytometry, and the level of viability of activated lymphocytes was assessed in a haemocytometer chamber. We carried out a comparison of methods for culturing lymphocytes under different conditions. We studied culture media containing the following supplements: only IFN γ (group 1); IFN γ , interleukin-2 (IL-2) and interleukin-15 (IL-15) (group 2); TNF α -T only (group 3); TNF α -T, IL-2 and IL-15 (group 4), and only IL-2 and IL-15 (control group). When mononuclear cells are activated in a medium containing IFN γ , IL-2 and IL-15, or in a medium containing TNF α -T, IL-2 and IL-15, we observed a general trend towards significant increase in T-cytotoxic cells (CD3 $^+$ CD8 $^+$), NKT cells (CD3 $^+$ CD16 $^+$ CD56 $^+$), activated lymphocytes (HLA-DR $^+$), activated T lymphocytes (CD3 $^+$ HLA-DR $^+$), and activation markers of all lymphocytes (CD38 $^+$) and on T cells (CD3 $^+$ CD38 $^+$). We assessed the possibility of using IFN γ and TNF α -T to obtain human CIK *in vitro*. Activated cytotoxic lymphocytes obtained by this approach may be used for fundamental research, in order to identify new patterns and morpho-functional characteristics of activated human lymphocytes, as well as for adoptive immunotherapy for cancer patients.

Keywords: natural killer cells, culture, IFN γ , TNF α -T, IL-2, IL-15, ELISA, phenotype

Введение

Как известно, иммуномодуляторы – это биологические вещества, которые в терапевтических дозах восстанавливают функции иммунной системы, т. е. приводят патологически измененный иммунный ответ в физиологическую норму [10, 15]. В последние годы проведено большое количество исследований по использованию иммуномодуляторов для коррекции иммунологических показателей у онкологических больных, получающих химиотерапию. Существуют данные о том, что такие препараты могут способствовать уменьшению токсичности химиопрепараторов, сокращению сроков восстановления лейкоцитов, снижению заболеваемости от вирусных инфекций, а в ряде случаев – увеличению продолжительности ремиссии. Однако применение иммуномодуляторов также ассоциируют и с возникновением побочных эффектов или серьезных осложнений, связанных с проведением лечения, а также повышением риска возникновения инфекций и рецидива перенесенных ранее заболеваний [5, 16].

Все более широкое распространение получают методы иммунокоррекции, основанные на введении в организм аутологичных лейкоцитов, активированных в условиях *in vitro* различными иммуномодуляторами: адоптивная или экстракорпоральная терапия [6, 7, 11, 18]. Ранее проведенные нами исследования дают основания говорить об эффективности лечения онкологических больных и хорошей переносимости иммунотерапии лимфоцитами, активированными *in vitro* с помощью IL-2 и IL-15. Полученные данные позволили сделать выводы о том, что адоптивная иммунотерапия является безопасным методом лечения, а у значительной части пациентов – эффективным методом сопроводительной терапии, так как она позволяет увеличить продолжительность безрецидивного периода, уменьшить количество побочных эффектов химиотерапии и улучшить результаты комплексного лечения онкологических пациентов [1, 2, 3].

Оптимизация путей введения иммуномодуляторов в организм, обеспечивающих максимальную биодоступность препаратов для клеток-мишеней и повышающих эффективность терапии при минимизации побочных реакций, является основной задачей исследования. Указанные тенденции актуализируют необходимость изучения иммуномодуляторов в протоколах культивирования в качестве стимулятора для клеточных культур. В данной работе рассмотрено применение таких препаратов, как IFN γ и TNF α -Т (гибридная молекула рекомбинантного TNF α и тимозина-альфа-1), для активации лимфоцитов человека *in vitro*. Известно, что IFN γ и TNF α рабатываются различными клетками иммунной

системы для регуляции комплекса межклеточных взаимодействий при иммунном ответе, а именно – индуцируют активацию киллерных свойств мононуклеаров периферической крови человека, которые при этом приобретают свойственный им фенотип. Цитотоксические Т-лимфоциты, NK-клетки, а также макрофаги и нейтрофилы, имеют рецепторы к IFN γ , поэтому он активирует эффекторные функции этих клеток, а именно: их цитотоксичность и цитокинопродукцию. В клинических исследованиях выявлена способность IFN γ снижать процент супрессорных Т-клеток (CD4 $^+$ CD25 $^+$ FoxP3 $^+$), ингибировать В-клеточный ответ на IL-4 (интерлейкин), подавлять продукцию IgE и экспрессию CD23-антитела. IFN γ способен отменять супрессивный эффект IL-4 на IL-2-зависимую пролиферацию и генерацию лимфокин-активированных киллеров (ЛАК). TNF α может выделяться NK-клетками периферической крови, Т-лимфоцитами и гранулоцитами. Он не оказывает цитотоксического действия на нормальные клетки, а оказывает стимулирующее влияние на цитотоксичность NK-клеток и фагоцитоз, усиливает экспрессию CD4 и CD8, являясь фактором дифференцировки Т-хелперов и Т-киллеров [7, 8, 11].

Известно, что TNF α успешно используют в протоколах получения активированных дендритных клеток совместно с GM-CSF и IL-4, IL-1 β , IL-6 или с IL-12 и IL-18 [12, 13, 14, 17]. Известно о применении IFN γ в питательной среде для культивирования макрофагов и для активации макрофагов совместно с IL-2 и анти-CD3 [4, 9]. Однако данные способы не предусматривают применение IFN γ или TNF α совместно с IL-2 и IL-15 для активации лимфоцитов *in vitro*, с последующим их применением для адоптивной иммунотерапии. В российских и зарубежных базах данных отсутствует информация о дозировках препаратов IFN γ и TNF α совместно с IL-2 и IL-15 и без них, сроках культивирования, и влияния данных препаратов на уровень активации лимфоцитов (T-, NK- и ЦИК-клеток) в условиях *in vitro*. Целью данного исследования являлось изучение морфо-функциональных характеристик лимфоцитов, культивируемых с IFN γ или TNF α -Т для оценки возможности применения данной схемы активации *in vitro* для получения ЦИК-клеток человека.

Материалы и методы

Выделение и культивирование МНК

В исследование включены данные 15 доноров. Объект исследования – периферическая кровь доноров для пациентов, поступающих к нам в Центр с целью проведения адоптивной иммунотерапии (после подписания информирован-

ванного согласия). Мононуклеары (МНК) выделяли из гепаринизированной венозной крови в стерильных условиях на градиенте плотности фиколла ($\rho = 1,077$) путем центрифугирования при 2000 оборотов/мин в течение 40 мин, далее МНК дважды отмывали фосфатно-солевым буфером ($\text{pH} = 7,4$) путем центрифугирования при 1800 оборотов/мин в течение 10 мин и доводили до концентрации 1,5 млн/мл в изучаемой среде. Выделенные МНК доноров культивировали в условиях CO_2 – инкубатора в 24-луночных планшетах в концентрации клеток 1,5 млн/мл в среде на основе RPMI-1640 и 5% эмбриональной телячьей сыворотки (FBS) с добавлением определенных цитокинов. Концентрации препаратов $\text{IFN}\gamma$ («Ингарон», НПП «Фармаклон», Россия) и $\text{TNF}\alpha$ -T («Рефнот», НПП «Фармаклон», Россия) выверены экспериментальным путем с учетом оценки уровня жизнеспособности культивируемых лимфоцитов ($\text{IFN}\gamma$ – 500 Ме/мл, $\text{TNF}\alpha$ -T – 100 Ме/мл), концентрация IL-2 («Ронколейкин», ООО «Биотех», Россия) составляла 250 МЕ/мл, IL-15 («Активный Интерлейкин-15», Cloud-Clone Corp., США) – 5 нг/мл. Изучали и сравнивали способ культивирования лимфоцитов в среде, содержащей только $\text{IFN}\gamma$ (группа 1), содержащей $\text{IFN}\gamma$, IL-2 и IL-15 (группа 2), содержащей только $\text{TNF}\alpha$ -T без интерлейкинов (группа 3), содержащей $\text{TNF}\alpha$ -T, IL-2 и IL-15 (группа 4) и содержащей только IL-2 и IL-15 (группа контроля). На 3-и и 7-е сутки культивирования собирали и замораживали супернатанты для ИФА: группа 1, группа 2, группа 3, группа 4 и группа контроля и добавляли новой питательной среды в планшеты. До и после культивирования оценивали наличие адгезии и гранулярность изучаемых клеток, проводили фенотипирование и считали процент живых клеток в камере Горяева с помощью 0,4%-ного раствора трипанового синего (ООО «Биотех», Россия), пересчитывали в процентном соотношении долю окрашенных (мертвых) к общему количеству клеток.

Проточная цитометрия

Фенотипирование флуоресцентно меченых клеток проводили на цитофлуориметре FACScan II (Becton Dickinson, США). Оценивали субпопуляционный состав T-, NK-, NKT-лимфоцитов (CD3, CD4, CD8, CD14, CD16, CD45, CD56) и маркеры активации на них (CD25, CD38 и HLA-DR). Субпопуляционный состав клеточной супензии определяли до и после культивирования – на 12-е сутки.

Иммуноферментный анализ (ИФА)

В супернатантах, полученных на этапах культивирования на 3-и и 7-е сутки, для определения функциональной активности клеток изменили концентрации цитокинов: IL-2, IL-4, IL-6,

IL-10, $\text{IFN}\gamma$ и $\text{TNF}\alpha$. ИФА проводили с помощью наборов реагентов АО «Вектор Бест» (Россия) по инструкции фирмы-производителя. Оптическую плотность образцов измеряли на фотометре ChroMate (Awareness Technology, США) в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – 620 нм.

Статистика

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Microsoft Excel 2007. Результаты представлены в виде среднего арифметического значения по группе (M) или среднее±стандартное отклонение (M±σ). Для выявления значимых различий сравниваемых показателей использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Различия считали значимыми при уровне $p < 0,05$.

Работа выполнялась в рамках темы Государственного задания Центра: «Экспериментальная разработка и клиническая апробация подходов и схем для иммунной и клеточной терапии при комбинированном лечении онкологических заболеваний».

Результаты

Проведен сравнительный анализ культивирования лимфоцитов в различных средах. Группа 1 – применялась среда только с препаратом $\text{IFN}\gamma$, без интерлейкинов; группа 2 – $\text{IFN}\gamma$ и интерлейкины: IL-2 и IL-15; группа 3 – только $\text{TNF}\alpha$ -T без интерлейкинов; группа 4 – $\text{TNF}\alpha$ -T и интерлейкины: IL-2 и IL-15; группа контроля – только IL-2 и IL-15, без $\text{IFN}\gamma$ или $\text{TNF}\alpha$ -T.

Жизнеспособность и морфология клеток

Жизнеспособность выделенных лимфоцитов до культивирования составляла $99,7 \pm 0,3\%$ и постепенно снижалась во всех группах с каждым последующим днем активации ($p < 0,05$).

Следует отметить, что при использовании сочетания препаратов $\text{IFN}\gamma$ или $\text{TNF}\alpha$ -T с цитокинами IL-2 и IL-15 отмечался более высокий уровень жизнеспособности клеток ($p < 0,05$), чем без цитокинов (табл. 1). В группе контроля и группах 2 и 4 – клетки достаточно хорошо пролиферировали – количество клеток увеличивалось в 1,5-2 раза, чего не наблюдалось в группах 1 и 3, вероятно, из-за присутствия в среде IL-2 и IL-15, способствующих данному процессу.

При ежедневной оценке морфологии лимфоцитов доноров в культуре было замечено формирование скоплений клеток в процессе роста, и адгезия некоторых лимфоцитов к поверхности культурального пластика, так, в группах 1 и 3 – с 1-х суток культивирования, а в группах 2, 4 и контрольной – с 3-х суток. Известно, что адгезивными свойствами могут обладать В-лимфоциты и в меньшей степени – T- и NK-клетки во время

ТАБЛИЦА 1. ВЛИЯНИЕ СОСТАВА КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СРЕДЫ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ЛИМФОЦИТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СУТОК КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

TABLE 1. EFFECT OF THE COMPOSITION OF THE CULTURE MEDIUM ON THE VIABILITY OF LYMPHOCYTES DEPENDING ON THE DAY OF CULTIVATION

Суточный день культивирования Cultivation day	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3	Группа 4 Group 4	Группа контроля Control group
0-е сутки 0 th day	99,7±0,3	99,7±0,3	99,7±0,3	99,7±0,3	99,7±0,3
3-и сутки 3 rd day	95,7±1,9*	97,4±2,2	93,8±1,6**	97,8±2,4	99,2±0,4***
7-е сутки 7 th day	89,4±2,6*	93,6±3,4	86,2±5,3**	94,7±6,1	97,4±0,9***
12-е сутки 12 th day	77,1±6,0*	91,4±5,7	70,4±10,4**	89,4±7,8	93,5±1,7***

Примечание. Различия статистически значимы при $p < 0,05$ при сравнении групп 2 и 1 (*), групп 4 и 3 (**), групп 2 и 4 с группой контроля (***)

Note. The differences are statistically significant at $p < 0,05$ when comparing groups 2 and 1 (*), groups 4 and 3 (**), groups 2 and 4 with the control group (***)

активации. В группах 1 и 3 клетки становились более гранулярными после 3-х суток и сохраняли адгезивные свойства с 1-х суток до окончания наблюдения (до 12 суток). В контрольной группе лимфоциты начинали отлипать от поверхности пластика после 10-х суток наблюдения, в группе 2 – после 7-х суток, а в группе 4 – после 3-х суток. Переход клеток в суспензию может означать окончание процесса их активации. Отмечено, что клетки групп 2, 4 и группы контроля постепенно начинали пролиферировать, в отличие от групп 1 и 3 соответственно, и менять форму с круглой на продолговатую и неровную, увеличиваться в размерах и сохраняли морфологию больших гранулярных лимфоцитов на протяжении всего периода наблюдения.

Проточная цитометрия

При изучении фенотипа клеток после культивирования на 12-е сутки, относительно клеток до активации, отмечается общая тенденция во всех группах к существенному увеличению показателей Т-клеток ($CD3^+CD45^+$), NKT-клеток ($CD3^+CD16^+CD56^+$), активированных лимфоцитов ($HLA-DR^+$) и Т-лимфоцитов ($CD3^+HLA-DR^+$). В группах 1 и 3 замечен рост показателей Т-хелперов ($CD3^+CD4^+$) в среднем на 11,9% и 13,7%, в то время как в группах 2, 4 и контрольной группе значительного роста не наблюдалось, что подтверждает предварительно полученные данные. Однако в группах 2, 4 и контрольной группе замечен существенный рост показателей Т-цитотоксических клеток ($CD3^+CD8^+$) в сред-

нем на 11,2%, 11,0% и на 11% соответственно ($p < 0,05$). Аналогичная тенденция наблюдается и для NKT-клеток ($CD3^+CD16^+CD56^+$), активированных лимфоцитов ($HLA-DR^+$), активированных Т-лимфоцитов ($CD3^+HLA-DR^+$), маркеров активации на всех лимфоцитах ($CD38^+$) и на Т-клетках ($CD3^+CD38^+$), что указывает на эффективность применения препаратов $IFN\gamma$ или $TNF\alpha$ -Т совместно с $IL-2$ и $IL-15$ для активации клеток *in vitro*. Сравнивая показатели группы 1 с группой 2 и группы 3 с группой 4, можно отметить существенное увеличение активированных лимфоцитов ($HLA-DR^+$) в 2,1 раза (на 19,3%) и в 2,4 раза (на 22,3%) соответственно ($p < 0,05$), активированных Т-лимфоцитов ($CD3^+HLA-DR^+$) в 2,8 раза (на 22,2% и на 22,0% соответственно) ($p < 0,05$), маркеров активации на всех лимфоцитах ($CD38^+$) в 2,8 раза (на 37,4%) и в 2,4 раза (на 30,0%), на Т-клетках ($CD3^+CD38^+$) в 5,0 раза (на 42,7%) и в 3,5 раза (на 31,4%) соответственно.

ИФА (3-и сутки)

Следует отметить, что уровень всех изучаемых цитокинов в группах 1 и 3 был невысоким на 3-и сутки культивирования. При сравнении группы 1 с группой 2 на 3-и сутки культивирования наблюдается значительное повышение концентраций цитокинов $IL-2$, $IL-6$, $IL-10$, $IFN\gamma$, $TNF\alpha$ в среде, содержащей $IFN\gamma$, $IL-2$ и $IL-15$, чем в среде, содержащей только $IFN\gamma$ (табл. 2). Учитывая, что основными продуцентами указанных цитокинов являются цитотоксические Т-лимфоциты, NKT- и NK-клетки, подтверждает факт имен-

но их активации. Содержание IL-2 в группе 2 было выше, чем в группе 1 в среднем в 7,5 раза ($p < 0,05$); IL-6 в 20,3 раза ($p < 0,05$); IL-10 в 14,1 раза ($p < 0,05$); IFN γ в 10,0 раза ($p < 0,05$); TNF α в 21,4 раза ($p < 0,05$). Уровень IL-4 на 3-и сутки был невысоким и примерно одинаковым во всех группах. Сравнив группу 3 с группой 4, заметили значительное повышение концентраций цитокинов IL-2, IL-6, IL-10 и IFN γ в среде, содержащей TNF α -T, IL-2 и IL-15, чем в среде содержащей только TNF α -T. Содержание IL-2 в группе 4 было выше, чем в группе 3, в среднем в 9,7 раза ($p < 0,05$); IL-6 в 5,1 раза ($p < 0,05$); IL-10 в 11,3 раза ($p < 0,05$); IFN γ в 102,2 раза ($p < 0,05$).

При сравнении группы 2 и 4 с группой контроля можно отметить, что уровень IL-2, IL-4, IL-6 был примерно одинаковым. Уровень IL-10 во 2-й группе был несколько выше, чем в контрольной на 13,2%, а в 4-й группе – на 9,4%. Уровень IFN γ во 2-й группе был значительно выше, чем в контрольной – в 2,2 раза ($p < 0,05$), а в 4-й группе –

на 26,8%. Уровень TNF α во 2-й группе был выше, чем в контрольной на 71,3%, а в 4-й группе – на 53,2% (табл. 2).

ИФА (7-е сутки). При сравнении группы 1 с группой 2 на 7-е сутки культивирования наблюдается повышение концентраций цитокинов IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN γ , TNF α в среде, содержащей IFN γ , IL-2 и IL-15, чем в среде, содержащей только IFN γ (табл. 3). Содержание IL-2 в группе 2 было выше, чем в группе 1 в среднем в 18,9 раза ($p < 0,05$); IL-4 в 3,3 раза; IL-6 в 4,7 раза ($p < 0,05$); IL-10 в 5,7 раза; IFN γ в 11,9 раза ($p < 0,05$); TNF α в 4,6 раза ($p < 0,05$). Сравнив группу 3 с группой 4, можно отметить значительное повышение концентраций цитокинов IL-2, IL-6 и IFN γ в среде, содержащей TNF α -T, IL-2 и IL-15, чем в среде, содержащей только TNF α -T. Содержание IL-2 в группе 4 было значительно выше, чем в группе 3 – в среднем в 29,4 раза ($p < 0,05$); IFN γ в 21,5 раза ($p < 0,05$); IL-6 в 4,5 раза ($p < 0,05$); IL-4,

ТАБЛИЦА 2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИФА СУПЕРНАТАНТОВ ПОСЛЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛИМФОЦИТОВ ПО ГРУППАМ НА 3-И СУТКИ

TABLE 2. RESULTS OF ELISA OF SUPERNATANTS AFTER CULTURING LYMPHOCYTES BY GROUP ON THE 3RD DAY

	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3	Группа 4 Group 4	Группа контроля Control group
IL-2	38,2*	287,2	30,7**	289,3	284,0
IL-4	1,5	1,7	1,5	1,5	1,7
IL-6	2,2*	44,7	8,8**	45,2	41,7
IL-10	15,2*	213,7	18,3**	206,5	188,7
IFN γ	120,8*	1203,2	6,8**	694,8	549,5
TNF α	7,8*	166,7	141,8	147,5	96,3

Примечание. Различия статистически значимы при $p < 0,05$ при сравнении групп 2 и 1 (*), групп 4 и 3 (**).

Note. The differences are statistically significant at $p < 0.05$ when comparing groups 2 and 1 (*), groups 4 and 3 (**).

ТАБЛИЦА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИФА СУПЕРНАТАНТОВ ПОСЛЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛИМФОЦИТОВ ПО ГРУППАМ НА 7-Е СУТКИ

TABLE 3. RESULTS OF ELISA OF SUPERNATANTS AFTER CULTURING LYMPHOCYTES BY GROUP ON THE 7TH DAY

	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3	Группа 4 Group 4	Группа контроля Control group
IL-2	16,8*	317,5	10,2**	299,5	294,7
IL-4	2,0	6,5	1,8**	3,8	6,0
IL-6	7,5*	35,0	7,7**	34,3	32,5
IL-10	57,0	325,7	115,3	189,7	212,0
IFN γ	72,7*	867,7	30,3**	650,8	661,3
TNF α	31,2*	143,3	135,3	155,0	118,5

Примечание. См. примечание к таблице 2.

Note. As for Table 2.

IL-10 и TNF α – незначительно – в 2,1 раза, в 1,6 раза и в 1,1 раза соответственно.

При сравнении группы 2 с группой контроля на 7-е сутки можно отметить, что уровень IL-10, IFN γ и TNF α во 2-й группе был значительно выше, чем в контрольной группе на 53,6%, 31,2% и на 20,9% соответственно. Уровень IL-2, IL-4 и IL-6 был несколько выше контрольных значений, но не более чем на 8,3%. Полученные данные указывают на эффективность применения полной питательной среды, содержащей IFN γ совместного с IL-2 и IL-15, в протоколах культивирования до 7 суток. При сравнении группы 4 с группой контроля уровень TNF α был выше на 30,8%. Уровень IL-2, IL-6 был незначительно выше, чем в группе контроля, но не более чем на 5,5%. А уровень IL-4, IL-10 и IFN γ был несколько ниже: на 36,7%, на 10,5%, и на 1,6% соответственно. Таким образом, цитокинопродуцирующая способность клеток в данной схеме культивирования снижается к 7-м суткам (табл. 3).

ИФА (сравнительная характеристика)

Сравнивая уровень всех изучаемых цитокинов в группах 1 и 3, продуцируемых на 3-и и 7-е сутки, можно отметить, что к 7-м суткам несколько увеличивается рост IL-10 относительно 3-х суток. Увеличение концентраций IL-10 в образцах, вероятно, способствовало ингибированию индукции секреции воспалительных цитокинов TNF α и IFN γ в некоторых образцах, что свойственно для IL-10, а также привело к снижению экспрессии цитокинов Т-хелперами-1. Так, в 1-й группе уровень IL-10 вырос в 4,8 раза, TNF α – в 4 раза, а уровень IL-2 при этом снизился в 2,3 раза, IFN γ – в 1,7 раза, уровень IL-4 и IL-6 существенно не изменился. В группе 3 уровень IL-10 вырос в 6,3 раза, IFN γ – в 4,5 раза, а уровень IL-2 при этом снизился в 3,0 раза, уровень IL-4 и IL-6 и TNF α существенно не изменился. Полученные результаты значительно хуже, чем в группах 2, 4 и группе контроля, что также сопоставимо с худшими показателями по уровню жизнеспособности в сравнении с данными группами.

В группе контроля на 7-е сутки продолжается рост уровня цитокинов: IL-2, IL-4, IL-10, IFN γ и TNF α в супернатантах, что свойственно активированным клеткам в данной схеме культивирования. В группе 2 и 4 на 7-е сутки несколько увеличивается уровень IL-2 на 10,6% и 3,5% соответственно. Однако в группе 2 на 7-е сутки начинает снижаться уровень IL-6, IFN γ , TNF α , но остается выше контрольных значений, что позволяет сделать вывод о возможности применения данной схемы совместного использования IFN γ с IL-2 и IL-15 в протоколах культивирования до 7 суток. В группе 4 на 7-е сутки начинает снижаться уровень IL-6, IL-10, IFN γ , причем

концентрации IL-10 и IFN γ уже несколько ниже контрольных значений (табл. 3, 4). Полученные данные указывают на малую эффективность применения полной питательной среды, содержащей TNF α -Т совместно с IL-2 и IL-15, в протоколах культивирования более 3 суток, так как клетки начинают терять свою способность к продукции цитокинов.

Обсуждение

В данной работе проведена оценка морфологии, уровня жизнеспособности, фенотипа и цитокинопродуцирующей способности лимфоцитов доноров до активации и на этапах культивирования в среде, содержащей IL-2, IL-15, IFN γ , TNF α . Следует отметить, что при применении препарата IFN γ или TNF α -Т в сочетании с цитокинами IL-2 и IL-15 в культуре отмечался более высокий уровень жизнеспособности клеток, чем без цитокинов, особенно к 12-м суткам культивирования, уровень пролиферации клеток также был выше в 1,5-2 раза [1-3]. Отмечается общая тенденция к значительному увеличению показателей Т-цитотоксических клеток (CD3 $^+$ CD8 $^+$), NKT-клеток (CD3 $^+$ CD16 $^+$ CD56 $^+$), активированных лимфоцитов (HLA-DR $^+$), активированных Т-лимфоцитов (CD3 $^+$ HLA-DR $^+$), и маркеров активации на всех лимфоцитах (CD38 $^+$) и на Т-клетках (CD3 $^+$ CD38 $^+$). ИФА показал, что продукция цитокинов лимфоцитами доноров, которые культивировали только в присутствии IFN γ или TNF α , была значительно ниже, чем при совместном культивировании с IL-2 и IL-15, что также сопоставимо с худшими показателями по уровню жизнеспособности и пролиферации клеток. Показано, что при совместном использовании IFN γ с IL-2 и IL-15 в протоколах культивирования к 7-м суткам в супернатантах начинает снижаться уровень IL-6, IFN γ , TNF α , но остается выше контрольных значений. При совместном использовании TNF α -Т с IL-2 и IL-15 в протоколах культивирования после 3-х суток начинает снижаться уровень IL-6, IL-10, IFN γ , причем концентрации IL-10 и IFN γ уже несколько ниже контрольных значений. Полученные данные позволили установить оптимальные сроки культивирования для получения активированных лимфоцитов доноров.

Заключение

Оценена возможность применения препаратов IFN γ и TNF α -Т в протоколах получения активированных лимфоцитов доноров в условиях *in vitro*. Препараторы IFN γ или TNF α -Т можно рекомендовать только в сочетании с цитокинами IL-2 и IL-15, причем данные схемы эффектив-

нее, чем при применении только IL-2 и IL-15 для получения активированных лимфоцитов в более короткий срок [1, 2, 3]. При этом питательную среду необходимо дополнять препаратами в следующих концентрациях: IFN γ – 500 МЕ/мл, TNF α -Т – 100 МЕ/мл, IL-2 – 250 МЕ/мл и IL-15 – 5 нг/мл, сроки культивирования при этом должны составлять до 7 суток с препаратом IFN γ , с

TNF α -Т – до 3 суток. Полученные данным способом активированные цитотоксические лимфоциты могут применяться для фундаментальных исследований по выявлению новых закономерностей и морфо-функциональных особенностей активированных лимфоцитов человека, а также для проведения адоптивной иммунотерапии онкологическим больным.

Список литературы / References

1. Абакушина Е.В., Гельм Ю.В., Пасова И.А., Бажин А.В. Иммунотерапевтические подходы к лечению больных колоректальным раком // Биохимия, 2019. Т. 84, № 7. С. 923-933. [Abakushina E.V., Gelm Yu.V., Pasova I.A., Bazhin A.V. Immunotherapeutic approaches for the treatment of colorectal cancer. *Biochemistry*, 2019, Vol. 84, no. 7, pp. 720-728. (In Russ.)]
2. Гельм Ю.В., Абакушина Е.В., Пасова И.А., Гриццова Л.Ю. Разработка подходов к клеточной иммунотерапии онкологических больных // Медицинская иммунология, 2021. Т. 23, № 2. С. 381-388. [Gelm Yu.V., Abakushina E.V., Pasova I.A., Grivtsova L.Yu. Development of approaches for cellular immunotherapy of cancer patients. *Meditinskaya immunologiya* = *Medical Immunology (Russia)*, 2021, Vol. 23, no. 2, pp. 381-388. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-DOA-2135.
3. Гельм Ю.В., Кузьмина Е.Г., Абакушина Е.В. Функциональная активность лимфоцитов здоровых доноров и онкологических больных при культивировании в присутствии ИЛ-2 и ИЛ-15 // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2019. Т. 167, № 4. С. 471-477. [Gel'm Yu.V., Kuz'mina E.G., Abakushina E.V. Functional activity of lymphocytes of healthy donors and cancer patients after culturing with IL-2 and IL-15. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny* = *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2019, Vol. 167, no. 4, pp. 486-491. (In Russ.)]
4. Горчаков А.А., Кулемзин С.В., Чикаев А.Н., Таранин А.В. NK-клеточная линия, экспрессирующая PSMA-специфический химерный антигенный рецептор и секретирующая блокатор взаимодействия CD47/SIRPa. Патент RU 2757353 C1, 12.10.2020. [Gorchakov A.A., Kulemzin S.V., Chikaev A.N., Taranin A.V. NK cell line expressing PSMA-specific chimeric antigen receptor and secreting a blocker of the CD47/SIRPa interaction. Patent RU C1 2757353, 12.10.2020].
5. Земсков В.М., Земсков А.М., Нейманн В.В., Пронько К.Н., Земскова В.А., Демидова В.С. Противоречия клинической иммунологии. Полезные и вредные свойства иммунотерапии // Успехи современной биологии, 2021. Т. 141. № 3. С. 258-264. [Zemskov V.M., Zemskov A.M., Neymann V.V., Pronko K.N., Zemskova V.A., Demidova V.S. Contradictions to Clinical Immunology. Useful and Harmful Immunotherapy Properties. *Uspekhi sovremennoy biologii* = *Advances in Modern Biology*, 2021, Vol. 141, no. 3, pp. 258-264. (In Russ.)]
6. Лежнин Ю.Н., Христиченко А.Ю., Ратникова Н.М. Клеточная иммунотерапия – современный подход к лечению онкологических заболеваний // Медицинская иммунология, 2018. Т. 20, № 3. С. 313-340. [Lezhnin Yu.N., Khristichenko A.Yu., Ratnikova N.M. Cellular immunotherapy: a modern approach to treatment of oncological diseases. *Meditinskaya immunologiya* = *Medical Immunology (Russia)*, 2018, Vol. 20, no. 3, pp. 313-340. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2018-3-313-340.
7. Ниёзова Ш.Х. Экстракорпоральные методы иммунокоррекции при лечении злокачественных новообразований // Вестник науки и образования, 2019. № 17. С. 83-91. [Niyozova Sh.Kh. Extracorporeal immunocorrection methods in the treatment of malignant neoplasms. *Vestnik nauki i obrazovaniya* = *Bulletin of Science and Education*, 2019, no. 17, pp. 83-91. (In Russ.)]
8. Методические рекомендации по применению препаратов Рефнот и Ингарон. НПП Фармаклон. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.pharmaclon.ru/publikatsii/onkologiya/metodicheskie-rekomendatsii-po-primeneniyu-preparatov-refnot-i-ingaron/> (дата обращения: 14.03.2024). [Guidelines for the use of the drugs Refnot and Ingaron. Research and production enterprise Pharmaklon. [Electronic resource]. Available at: <http://www.pharmaclon.ru/publikatsii/onkologiya/metodicheskie-rekomendatsii-po-primeneniyu-preparatov-refnot-i-ingaron/> (access date: March 14, 2024)].
9. Парк С.В., Сон Й.О., Сон Ч.Х., Парк Й.С., Бан Д.Х., Ли К.-Г., Дзанг Д.С., Канг Ч.Д., Ким В.-С., Ан К.Ч., Ли Б.Ч., Ким Д.И., Парк Е.К., Чой С.Х. Способ производства активированных лимфоцитов для иммунотерапии. Заявка 2009110156, 27.09.2010. [Park S.W., Song Y.O., Song C.H., Park Y.S., Ban D.H., Lee K.-G., Dzang D.S., Kang C.D., Kim V.-S., Ahn K.Ch., Lee B.Ch., Kim D.I., Park E.K., Choi S.H. Method of production of activated lymphocytes for immunotherapy. Application 2009110156. 27.09.2010].
10. Пинегин Б.В., Хайтов Р.М. Современные принципы создания иммунотропных лекарственных препаратов // Иммунология, 2019. Т. 40, № 6. С. 57-62. [Pinegin B.V., Khaitov R.M. Modern principles of immunotropic drugs creation. *Immunologiya* = *Immunology*, 2019, Vol. 40, no. 6, pp. 57-62. (In Russ.)]
11. Селедцов В.И., Селедцова Г.В., Доржиева А.Б., Иванова И.П. Иммунотерапия в комплексном лечении опухолевых заболеваний // Сибирский онкологический журнал, 2022. Т. 21, № 2. С. 118-129. [Seledtsov V.I.,

- Seledtsova G.V., Dorzhieva A.B., Ivanova I.P. Immunotherapy in the complex treatment of tumor diseases. *Sibirskiy onkologicheskiy zhurnal = Siberian Journal of Oncology*, 2022, Vol. 21, no. 2, pp. 118-129. (In Russ.)]
12. Сенников С.В., Курилин В.В., Облеухова И.А., Лопатникова Ю.А., Якушенко Е.В., Якушенко В.К. Способ генерации антиген-специфических цитотоксических клеток с противоопухолевой активностью. Патент RU 2458985 C1, 18.03.2011. [Sennikov S.V., Kurilin V.V., Obleukhova I.A., Lopatnikova Yu.A., Yakushenko E.V., Yakushenko V.K. Method for generating antigen-specific cytotoxic cells with antitumor activity. Patent RU 2458985 C1, 18.03.2011].
13. Сенников С.В., Облеухова И.А., Курилин В.В., Красильников С.Э., Тархов А.В., Гончаров М.А. Способ генерации антиген-специфических цитотоксических клеток с активностью против клеток рака яичника. Патент RU 2508298 C2, 03.02.2012. [Sennikov S.V., Obleukhova I.A., Kurilin V.V., Krasilnikov S.E., Tarkhov A.V., Goncharov M.A. Method for generating antigen-specific cytotoxic cells with activity against ovarian cancer cells. Patent RU 2508298 C2, 03.02.2012].
14. Сенников С.В., Шевченко Ю.А., Хантакова Ю.Н., Курилин В.В., Лопатникова Ю.А., Сидоров С.В., Волгушев С.А., Оглоблин В.П., Ефимова Л.В., Теплова Н.В. Способ генерации антиген-специфических цитотоксических клеток с противоопухолевой активностью при раке молочной железы. Патент RU 2521506 C1, 01.04.2013. [Sennikov S.V., Shevchenko Yu.A., Khantakova Yu.N., Kurilin V.V., Lopatnikova Yu.A., Sidorov S.V., Volgushev S.A., Ogloblin V.P., Efimova L.V., Teplova N.V. A method for generating antigen-specific cytotoxic cells with antitumor activity in breast cancer. Patent RU 2521506 C1, 01.04.2013].
15. Хайтов Р.М. Иммуномодуляторы: мифы и реальность // Иммунология, 2020. Т. 41, № 2. С. 101-106. [Khaitov R.M. Immunomodulators: myths and reality. *Immunologiya = Immunologiya*, 2020, Vol. 41, no. 2, pp. 101-106. (In Russ.)]
16. Цой О.Г., Макишев А.К., Цой Н.О., Рутжанулы И.Р. Иммуномодуляторы химио и лучевой терапии // Медицинский журнал Астаны, 2019. № 3. С. 60-70. [Tsoi O., Makishev A., Tsoi N., Rutzhanuly I. Immunomodulators with chemistry and radiotherapy. *Meditinskij zhurnal Astany = Medical Journal of Astana*, 2019, no. 3, pp. 60-70. (In Russ.)]
17. Черных Е.Р., Олейник Е.А., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Тыринова Т.В., Старостина Н.М., Останин А.А. Индукция HCV-специфического клеточного ответа *in vitro* дендритными клетками, генерированными в присутствии интерферона- α // Инфекция и иммунитет, 2019. Т. 9, № 1. С. 76-86. [Chernykh E.R., Oleynik E.A., Leplina O.Yu., Tikhonova M.A., Tyrinova T.V., Starostina N.M., Ostanin A.A. Induction of HCV-specific cell response *in vitro* by dendritic cells generated with interferon- α . *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2019, Vol. 9, no. 1, pp. 76-86. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2019-1-76-86.
18. Lee D.A. Cellular therapy: Adoptive immunotherapy with expanded natural killer cells. *Immunol. Rev.*, 2019, Vol. 290, Iss. 1, pp. 85-99.

Авторы:

Гельм Ю.В. – научный сотрудник отделения клинической иммунологии, Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Обнинск, Россия

Гривцова Л.Ю. – д.б.н., заведующая отделением клинической иммунологии, Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Обнинск, Россия

Пасова И.А. – врач – аллерголог-иммунолог отделения клинической иммунологии, Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Обнинск, Россия

Константинова Т.В. – биолог отделения клинической иммунологии, Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Обнинск, Россия

Authors:

Gelm Yu.V., Research Associate, Department of Clinical Immunology, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre, a Branch of National Medical Research Radiological Centre of the Russian Federation, Obninsk, Russian Federation

Grivtsova L.Yu., PhD, MD (Biology), Head, Department of Clinical Immunology, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre, a Branch of National Medical Research Radiological Centre of the Russian Federation, Obninsk, Russian Federation

Pasova I.A., Allergologist-Immunologist, Department of Clinical Immunology, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre, a Branch of National Medical Research Radiological Centre of the Russian Federation, Obninsk, Russian Federation

Konstantinova T.V., Biologist, Department of Clinical Immunology, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre, a Branch of National Medical Research Radiological Centre of the Russian Federation, Obninsk, Russian Federation

Мушкина Т.Ю. – научный сотрудник отделения клинической иммунологии, Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Обнинск, Россия

Иванов С.А. – д.м.н., член-корр. РАН, директор Медицинского радиологического научного центра имени А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Обнинск; профессор кафедры онкологии и рентгенорадиологии имени В.П. Харченко медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва, Россия

Каприн А.Д. – д.м.н., профессор, академик РАН, генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Обнинск; заведующий кафедрой онкологии и рентгенорадиологии имени В.П. Харченко медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва; директор Московского научно-исследовательского онкологического института имени П.А. Герцена – филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Mushkarina T.Yu., Research Associate, Department of Clinical Immunology, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre, a Branch of National Medical Research Radiological Centre of the Russian Federation, Obninsk, Russian Federation

Ivanov S.A., PhD, MD (Medicine), Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Director, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre, a Branch of National Medical Research Radiological Centre of the Russian Federation, Obninsk; Professor, V. Kharchenko Department of Oncology and Radiology, P. Lumumba Peoples Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

Kaprin A.D., PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, General Director, National Medical Research Radiological Center of the Russian Federation, Obninsk; Director, P. Herzen Moscow Oncology Research Institute, a Branch of National Medical Research Radiological Centre of the Russian Federation, Moscow; Head, V. Kharchenko Department of Oncology and Radiology, P. Lumumba Peoples Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

Поступила 11.07.2024
Отправлена на доработку 16.07.2024
Принята к печати 14.09.2024

Received 11.07.2024
Revision received 16.07.2024
Accepted 14.09.2024

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА IL-2 T-330G НА МАРКЕРЫ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ, КИШЕЧНОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ И СОСУДИСТОЙ РЕГУЛЯЦИИ У ПАЦИЕНТОВ В ПОСТКОВИДНОМ ПЕРИОДЕ

Яцков И.А., Белоглазов В.А., Агеева Е.С., Аблаева Р.Н., Жукова А.А.,
Онучина И.Г.

Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Резюме. Исследования последних лет указывают на роль генетических факторов, а именно полиморфизма генов молекул основных иммунных звеньев противовирусного ответа на риск заражения COVID-19, тяжелого течения и вероятности летального исхода, а также развития клинических или лабораторных изменений в постковидном периоде. Интерлейкин-2 (IL-2) играет важную роль в иммунопатологии COVID-19, однако данных о влиянии однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) генов, кодирующих молекулу IL-2 330T/G (rs2069762), на молекулярные изменения в постковидном периоде на данный момент практически нет. Целью исследования было изучение различий в показателях маркеров системного воспаления, кишечной проницаемости и сосудистой регуляции у пациентов с постковидным синдромом и различными вариантами ОНП гена IL-2 330T/G. В исследование было включено 54 пациента (28 женщин (51,85%) и 26 мужчин (48,15%), средний возраст $45,6 \pm 6,14$ года), перенесших COVID-19. Всем пациентам проводился анализ полиморфизма IL-2 T-330G методом аллель-специфической полимеразной цепной реакции с электрофоретической детекцией. Аллель-специфическую ПЦР проводили с использованием набора «IL-2 T-330G» (ООО НПФ «Литех», Россия) в соответствии с инструкциями производителя. Детекция продуктов амплификации проводилась методом горизонтального электрофореза в 3%-ном агарозном геле. Содержание С-реактивного белка (CRP) (мг/л), липополисахарид-связывающего белка (LBP) (нг/мл), тканевого активатора плазминогена (tPA) (нг/мл), зонулина (нг/мл), эндотелина-1 (пг/мл) и ангиотензина-2 (пг/мл) в плазме крови определялось количественным высокочувствительным иммуноферментным методом с использованием теста ELISA производства Cloud Clone корп. (Ухань, Хубей, Китай). У пациентов с гомозиготным вариантом GG полиморфизма гена T-330G IL-2 наблю-

Адрес для переписки:

Яцков Игорь Анатольевич
Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский
институт имени С.И. Георгиевского
295051, Россия, Республика Крым, г. Симферополь,
б-р Ленина, 5/7.
Тел.: 8 (978) 709-40-15.
E-mail: egermd@yandex.ru

Address for correspondence:

Igor A. Yatskov
S. Georgievsky Medical Institute
5/7 Lenin Blvd
Simferopol, Republic of Crimea
295051 Russian Federation
Phone: +7 (978) 709-40-15.
E-mail: egermd@yandex.ru

Образец цитирования:

И.А. Яцков, В.А. Белоглазов, Е.С. Агеева, Р.Н. Аблаева, А.А. Жукова, И.Г. Онучина «Влияние полиморфизма IL-2 T-330G на маркеры системного воспаления, кишечной проницаемости и сосудистой регуляции у пациентов в постковидном периоде» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 417-422.
doi: 10.15789/1563-0625-EOI-3024

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

For citation:

I.A. Yatskov, V.A. Beloglazov, E.S. Ageeva, R.N. Ablaeva, A.A. Zhukova, I.G. Onuchina “Effect of IL-2 T-330G polymorphism on markers of systemic inflammation, intestinal permeability and vascular regulation in post-COVID patients”, Medical Immunology (Russia)/Meditinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 417-422.
doi: 10.15789/1563-0625-EOI-3024

© Yatskov I.A. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-EOI-3024

даются достоверно более низкие показатели уровня CRP, чем в группе гетерозигот TG ($p = 0,013$) и гомозигот TT ($p = 0,039$). Уровень tPA был статистически значимо выше в группе гомозигот GG, по сравнению с гомозиготами TT ($p = 0,017$). Наиболее высокие значения зонулина были зарегистрированы у гетерозиготной группы TG по сравнению с гомозиготами TT ($p = 0,013$). Наивысшие показатели аngiotензина-2 были выявлены в группе с гомозиготным вариантом TT ОНП IL-2 T-330G ($p < 0,05$). Статистически значимых колебаний LBP и эндотелина-1 между исследуемыми группами зарегистрировано не было. Полиморфизм T-330G гена IL-2 ассоциирован с рядом молекулярных изменений в постковидном периоде, которые потенциально могут влиять как на клинические проявления постковидного синдрома, так и на его отдаленные последствия в последующей перспективе. Необходимо дальнейшее более углубленное изучение взаимосвязи ОНП T-330G гена IL-2 для понимания клинических аспектов постковидного синдрома.

Ключевые слова: полиморфизм, новая коронавирусная инфекция, T-330G, IL-2, SARS-CoV-2, CRP, проницаемость

EFFECT OF IL-2 T-330G POLYMORPHISM ON MARKERS OF SYSTEMIC INFLAMMATION, INTESTINAL PERMEABILITY AND VASCULAR REGULATION IN POST-COVID PATIENTS

Yatskov I.A., Beloglazov V.A., Ageeva E.S., Ablaeva R.N., Zhukova A.A., Onuchina I.G.

S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Abstract. Recent studies suggest a role of genetic factors, i.e., polymorphisms of genes controlling the main immune components of antiviral response, and the risk of COVID-19 infection, severe course and lethal outcomes of the disease, as well as development of clinical or laboratory changes in the post-COVID period. Interleukin-2 (IL-2) plays an important role in immunopathology of COVID-19. However, there are only few data on the impact of single nucleotide polymorphisms, e.g., IL-2 330T/G (rs2069762) gene variant on molecular changes during the post-COVID period. The aim of our study was to investigate differences in systemic inflammation markers, intestinal permeability and vascular regulation in patients with post-COVID syndrome, and single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the IL-2 330T/G gene. Fifty-four patients (28 females (51.85%) and 26 males (48.15%), mean age 45.6 ± 6.14 years) who suffered with COVID-19 were included into the study. The patients were tested for IL-2 T-330G polymorphism by allele-specific polymerase chain reaction (PCR) with electrophoretic detection of products. PCR was performed using the IL-2 T-330G kit (LLC "Litech", Russia). The contents of C-reactive protein (CRP, mg/L), lipopolysaccharide-binding protein (LBP, ng/mL), tissue plasminogen activator (tPA, ng/mL), zonulin (ng/mL), endothelin-1 (pg/mL), and angiotensin-2 (pg/mL) in blood plasma were determined by ELISA test manufactured by Cloud Clone Corp. (Wuhan, Hubei, China). The patients harboring a homozygous GG variant of T-330G IL-2 gene polymorphism showed significantly lower CRP levels than in the heterozygous TG group ($p = 0.013$), and TT homozygous group ($p = 0.039$). The tPA levels were significantly higher in the GG homozygote group compared to TT homozygotes ($p = 0.017$). The highest zonulin values were recorded in the TG heterozygote group, compared to TT homozygotes ($p = 0.013$). The highest angiotensin-2 values were found in the homozygous TT group ($p < 0.05$). No significant variations of LBP and endothelin-1 were registered between the studied groups. The T-330G polymorphism of IL-2 gene is, therefore, associated with some molecular changes in the post-COVID period, which may potentially influence both clinical manifestations of post-COVID syndrome, and its long-term consequences in future. Further in-depth studies of T-330G effects upon activity of the IL-2 gene and related molecular events is necessary in order to understand the clinical aspects of post-COVID syndrome.

Keywords: полиморфизм, SARS-CoV-2, new coronavirus infection, IL-2, T-330G полиморфизм, CRP, проницаемость

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-15-20021, <https://rscf.ru/project/23-15-20021/>.

Введение

Период после перенесенной острой инфекции SARS-CoV-2 (НКИ, COVID-19) у многих пациентов сопровождается симптомокомплексом, известным как long COVID (при персистенции симптомов после выздоровления) или постковидный синдром (при возникновении симптомов через 12 недель после выздоровления) [6]. Синдром проявляется когнитивными нарушениями, ухудшением памяти, депрессией, астенией, одышкой, кашлем, болью в грудной клетке, тошнотой, а также лабораторными изменениями, а именно: низкоинтенсивным воспалением, дисбалансом в системе гемостаза и эндотелиальной дисфункцией, существенно увеличивая риск кардиоваскулярной патологии [7]. На данный момент выявлен ряд факторов, увеличивающих риск развития постковидного синдрома или усугубляющий тяжесть его проявлений, например поражение почек или желудочно-кишечного тракта в период острого SARS-CoV-2, женский пол [4]. Также описаны протекторные с точки зрения развития постковидного синдрома факторы, такие как вакцинация и раннее начало терапии препаратами генно-инженерной терапии в остром периоде НКИ [4]. Исследования последних лет указывают также на роль генетических факторов, а именно полиморфизма генов молекул основных иммунных звеньев противовирусного ответа на риск заражения COVID-19, тяжелого течения и вероятности летального исхода, а также развития клинических или лабораторных изменений в постковидном периоде [12]. Интерлейкин-2 (IL-2) играет важную роль в иммунопатологии НКИ, однако данных о влиянии однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) генов, кодирующих молекулу IL-2 330T/G (rs2069762), на молекулярные изменения в постковидном периоде на данный момент практически нет [5]. В связи с этим **целью нашего исследования** было изучение различий в показателях маркеров системного воспаления, кишечной проницаемости и сосудистой регуляции у пациентов с постковидным синдромом и различными вариантами ОНП гена IL-2 330T/G.

Материалы и методы

В исследование было включено 54 пациента (28 женщин (51,85%) и 26 мужчин (48,15%), средний возраст $45,6 \pm 6,14$ года), перенесших НКИ.

Критериями включения в исследование были: предшествующая новая коронавирусная инфекция, подписанное информированное согласие на

включение в исследование. Критериями исключения были: наличие осложненных форм вирусной пневмонии при наличии тяжелых функциональных легочных и внелегочных нарушений, возраст старше 75 лет.

Верификация перенесенной НКИ была основана на анамнестических данных и данных, проведенных на момент заболевания исследований (ПЦР). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Исследование проводилось в соответствии с правилами Хельсинкской декларации 1975 года, пересмотренной в 2013 году и одобренной этическим комитетом ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского». Протокол комитета ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» (г. Симферополь) от 23 июня 2023 года (№ 7).

Для анализа полиморфизма IL-2 T-330G использовалась аллель-специфическая полимеразная цепная реакция с электрофоретической детекцией. ДНК выделяли из цельной крови пациентов, перенесших НКИ с помощью набора для выделения ДНК-экспресс из крови в соответствии с предоставленной производителем инструкцией. Аллель-специфическую ПЦР проводили с использованием набора «IL-2 T-330G» (ООО НПФ «Литех», Россия) в соответствии с инструкциями производителя. Детекция продуктов амплификации проводилась методом горизонтального электрофореза в 3% агарозном геле.

Содержание С-реактивного белка (CRP) (мг/л), липополисахарид-связывающего белка (LBP) (нг/мл), тканевого активатора плазминогена (tPA) (нг/мл), зонулина (нг/мл), эндотелина-1 (пг/мл) и ангиотензина-2 (пг/мл) в плазме крови определялось количественным высокочувствительным иммуноферментным методом с использованием теста ELISA производства Cloud Clone corp. (Ухань, Хубей, Китай).

Исследование проводилось в центре коллективного пользования научного оборудования «Молекулярная биология» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского».

Статистический анализ полученных данных производился с использованием пакета программ IBM SPSS Statistics 27. Все изучаемые количественные показатели проверяли на нормальность распределения с помощью W-критерия Шапиро–Уилка; за нормальное распределение принимали выборки, в которых критерий составлял $p \geq 0,1$, за ненормальное распределение принимали значение W-критерия $p < 0,1$. При обработке непараметрических данных для сравнения групп использовали критерий Краскела–Уоллиса для независимых выборок. Статистически значимыми считали показатели при $p < 0,05$.

ТАБЛИЦА 1. ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ОНП IL-2 T-330G, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. LABORATORY PARAMETERS IN DEPENDENCE ON THE SNP OF IL-2 T-330G, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатель Parameter	GG (n = 12)	TT (n = 22)	TG (n = 20)	p
CRP, мг/л CRP, mg/mL	0,08 (0,07-0,28)	0,56 (0,30-0,94)	0,77 (0,5-1,5)	0,012* p ₁₋₂ = 0,039* p ₁₋₃ = 0,013*
LBP, нг/мл LBP, ng/mL	2,94 (0,01-13,20)	15,6 (8,9-18,7)	8,98 (0,01-23,50)	0,650
tPA, нг/мл tPA, ng/mL	0,37 (0,12-0,43)	0,01 (0,01-0,02)	0,01 (0,01-0,07)	0,019* p ₁₋₂ = 0,017*
Зонулин, нг/мл Zonulin, ng/mL	207,0 (140,0-227,0)	198,0 (143,0-231,0)	278,5 (229,0-331,0)	0,008* p ₂₋₃ = 0,013*
Эндотелин-1, пг/мл Endothelin-1, pg/mL	43,5 (36,1-52,9)	51,9 (48,6-56,5)	50,5 (38,9-55,6)	0,507
Ангиотензин-2, пг/мл Angiotensin-2, pg/mL	59,3 (37,0-133,3)	503,7 (279,7-624,1)	83,3 (40,7-237,0)	0,005* p ₁₋₂ = 0,020* p ₁₋₃ = 0,016*

Примечание. * – различия значимы при $p < 0,05$; CRP – С-реактивный белок, LBP – липополисахарид-связывающий белок, tPA – тканевый активатор плазминогена; различия между группами рассчитаны с применением критерия Краскела–Уоллиса.

Note. *, differences are significant at $p < 0.05$; CRP, C-reactive protein; LBP, lipopolysaccharide-binding protein; tPA, tissue plasminogen activator; differences between groups were calculated using the Kruskal–Wallis test.

Результаты и обсуждение

Как видно из данных, представленных в таблице 1, у пациентов с гомозиготным вариантом GG полиморфизма гена T-330G IL-2 наблюдаются достоверно более низкие показатели уровня CRP, чем в группе гетерозигот TG ($p = 0,013$) и гомозигот TT ($p = 0,039$). Уровень tPA был статистически значимо выше в группе гомозигот GG, по сравнению с гомозиготами TT ($p = 0,017$). Наиболее высокие значения зонулина были зарегистрированы у гетерозиготной группы TG, по сравнению с гомозиготами TT ($p = 0,013$). Наивысшие показатели ангиотензина-2 были выявлены в группе с гомозиготным вариантом TT ОНП IL-2 T-330G ($p < 0,05$). Статистически значимых колебаний LBP и эндотелина-1 между исследуемыми группами зарегистрировано не было.

По данным литературы, полиморфизм T-330G гена IL-2 влияет на риск развития и степень тяжести течения заболевания при различных инфекционных и неинфекционных нозологиях, таких как ветряная оспа, вирусный гепатит В и С [3], периодонтит [9], эндометриоз [11], а также некоторые виды онкологических заболеваний [14]. Результаты нашего предшествующего исследования показали, что варианты полиморфизма гена IL-2 330T/G ассоциированы с риском инфицирования SARS-CoV-2. Так, у детей с риском раз-

вития новой коронавирусной инфекции был ассоциирован генотип GG полиморфизма T-330G гена IL-2 (31,1% у детей и 18,0% в группе контроля, $p < 0,05$, OR = 2,047), гомозиготный генотип TT полиморфизма T-330G гена IL-2, напротив, являлся протективным генотипом (его частота встречаемости составила у пациентов – 26,7%, в группе контроля – 54,0%, $p < 0,05$, OR = 0,315). Во взрослой популяции риском инфицирования был ассоциирован гетерозиготный генотип GT полиморфизма T-330G гена IL-2 (в группе пациентов – 44,0% против контроля – 28,0%, $p = 0,028$, OR = 2,020), низкий риск развития заболевания был ассоциирован с гомозиготным вариантом TT полиморфизма T-330G гена IL-2 (в группе пациентов 37,0% против контроля – 54,0%, $p = 0,024$, OR = 0,500) [1]. Несмотря на увеличения риска заражения при некоторых вариантах полиморфизма T-330G гена IL-2, ассоциации с тяжестью течения и исходами заболевания выявлено не было [13].

Полученные нами результаты свидетельствуют о влиянии полиморфизма T-330G гена IL-2 на концентрацию ряда маркеров воспаления, кишечной проницаемости и сосудистой регуляции.

IL-2 непосредственно способен влиять на уровень CRP в периферической крови, что может объяснить некоторые изменения данного пока-

зателя на фоне различных вариантов полиморфизма T-330G гена IL-2 [8].

IL-2 играет важную роль в предотвращении хронического воспаления в желудочно-кишечном тракте [2]. Исследование Zhou с соавторами показывают, что IL-2 необходим для поддержания иммунологического гомеостаза и толерантность к пищевым антигенам в тонком кишечнике, что, по нашему мнению, может быть связано с колебаниями уровня зонулина при различных вариантах полиморфизма T-330G гена IL-2 [15].

Механизм влияния IL-2 на изменение концентрации ангиотензина II, выявленный в нашем исследовании, не совсем ясен. Известно о наличии связи между ангиотензином II и сигнализацией рецептора ангиотензина II 1-го типа (AGT1R) и активацией Т-лимфоцитов с последующей выработкой IL-2, однако литературных данных о действии IL-2 на выработку ангиотензина-2 на данный момент нет [10].

Список литературы / References

1. Ageeva E.S., Ablaeva R.N., Yatskov I.A., Aleshina O.K., Rymarenko N.V., Beloglazov V.A., Dyadyura E.N. Features of the frequency of occurrence of T-330G IL2 gene polymorphism in patients with COVID-19. *Medical Immunology (Russia)*, 2023, Vol. 25, no. 4, pp. 779-784. doi: 10.15789/1563-0625-FOT-2813.
2. Boyman O., Sprent J. The role of interleukin-2 during homeostasis and activation of the immune system. *Nat. Rev. Immunol.*, 2012, Vol. 12, no. 3, pp. 180-190.
3. Gao Q.J., Xie J.X., Wang L.M., Zhou Q., Zhang S.Y. Interaction effects among IFN- γ +874, IL-2-330, IL-10-1082, IL-10-592 and IL-4-589 polymorphisms on the clinical progression of subjects infected with hepatitis B virus and/or hepatitis C virus: a retrospective nested case-control study. *BMJ Open*, 2017, Vol. 7, no. 8, e013279. doi: 10.1136/bmjopen-2016-013279.
4. Gentilotti E., Górska A., Tami A., Gusinow R., Mirandola M., Rodríguez Baño J., Palacios Baena Z.R., Rossi E., Hasenauer J., Lopes-Rafegas I., Righi E., Caroccia N., Cataudella S., Pasquini Z., Osmo T., Del Piccolo L., Savoldi A., Kumar-Singh S., Mazzaferrari F., Caponcello M.G., de Boer G., Hara G.L., ORCHESTRA Study Group, de Nardo P., Malhotra S., Canziani L.M., Ghosn J., Florence A.M., Lafhej N., van der Gun B.T.F., Giannella M., Laouénan C., Tacconelli E. Clinical phenotypes and quality of life to define post-COVID-19 syndrome: a cluster analysis of the multinational, prospective ORCHESTRA cohort. *EClinicalMedicine*, 2023, Vol. 62, 102107. doi: 10.1016/j.eclinm.2023.102107.
5. Ghanbari Naeini L., Abbasi L., Karimi F., Kokabian P., Abdi Abyaneh F., Naderi D. The important role of interleukin-2 in COVID-19. *J. Immunol. Res.*, 2023, Vol. 2023, 7097329. doi: 10.1155/2023/7097329.
6. Nalbandian A., Sehgal K., Gupta A., Madhavan M.V., McGroder C., Stevens J.S., Cook J.R., Nordvig A.S., Shalev D., Sehrwat T.S., Ahluwalia N., Bikdelli B., Dietz D., Der-Nigoghossian C., Liyanage-Don N., Rosner G.F., Bernstein E.J., Mohan S., Beckley A.A., Seres D.S., Choueiri T.K., Uriel N., Ausiello J.C., Accili D., Freedberg D.E., Baldwin M., Schwartz A., Brodie D., Garcia C.K., Elkind M.S.V., Connors J.M., Bilezikian J.P., Landry D.W., Wan E.Y. Post-acute COVID-19 syndrome. *Nat. Med.*, 2021, Vol. 27, no. 4, pp. 601-615.
7. Pierce J.D., Shen Q., Cintron S.A., Hiebert J.B. Post-COVID-19 Syndrome. *Nurs. Res.*, 2022, Vol. 71, no. 2, pp. 164-174.
8. Rosenzweig I.B., Wiebe D.A., Hank J.A., Albers J.J., Adolphson J.L., Borden E., Shrager E.S., Sondel P.M. Effects of interleukin-2 (IL-2) on human plasma lipid, lipoprotein, and C-reactive protein. *Biotherapy*, 1990, Vol. 2, no. 3, pp. 193-198.
9. Scarel-Caminaga R.M., Trevilatto P.C., Souza A.P., Brito R.B., Line S.R. Investigation of an IL-2 polymorphism in patients with different levels of chronic periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, 2002, Vol. 29, no. 7, pp. 587-591.
10. Tawinwung S., Petpiroon N., Chanvorachote P. Blocking of Type 1 angiotensin II Receptor inhibits T-lymphocyte activation and IL-2 production. *In Vivo*, 2018, Vol. 32, no. 6, pp. 1353-1359.
11. Wang X.Q., Hu M., Chen J.M., Sun W., Zhu M.B. Effects of gene polymorphism and serum levels of IL-2 and IL-6 on endometriosis. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, 2020, Vol. 24, no. 9, pp. 4635-4641.
12. Yessenbayeva A., Apsalikov B., Massabayeva M., Kazymov M., Shakhanova A., Mussazhanova Z., Kadyrova I., Aukanov N., Shaimardanov N. Biomarkers of immunothrombosis and polymorphisms of IL2, IL6,

Интересной находкой является изменение уровня tPA у пациентов с различными вариантами полиморфизма T-330G гена IL-2, что вместе с изменением уровня ангиотензина-2 может в перспективе оказаться на клинических проявлениях постковидного периода.

Заключение

Полиморфизм T-330G гена IL-2 ассоциирован с рядом молекулярных изменений в постковидном периоде, которые потенциально могут влиять как на клинические проявления постковидного синдрома, так и на его отдаленные последствия в последующей перспективе. Необходимо дальнейшее более углубленное изучение взаимосвязи ОНП T-330G гена IL-2 для понимания клинических аспектов постковидного синдрома.

and IL10 genes as predictors of the severity of COVID-19 in a Kazakh population. *PLoS One*, 2023, Vol. 18, no. 6, e0288139. doi: 10.1371/journal.pone.0288139.

13. Yessenbayeva A.A., Massabayeva M.R., Apsalikov B.A., Zholambayeva Z.S., Khamitova M.O., Khamidullina Z.G., Kassym L.T. Effect of genetics polymorphisms on reinfection with COVID-19 and progression severity. *Science and Healthcare (Russia)*, 2023, Vol. 25, no. 3, pp. 16-21.

14. Zhao H., Wang R. IL-2 -330T/G polymorphism and cancer risk: a meta-analysis. *OncoTargets Ther*, 2015, Vol. 8, pp. 1753-1760.

15. Zhou L., Chu C., Teng F., Bessman N.J., Goc J., Santosa E.K., Putzel G.G., Kabata H., Kelsen J.R., Baldassano R.N., Shah M.A., Sockolow R.E., Vivier E., Eberl G., Smith K.A., Sonnenberg G.F. Innate lymphoid cells support regulatory T cells in the intestine through interleukin-2. *Nature*, 2019, Vol. 568, no. 7752, pp. 405-409.

Авторы:

Яцков И.А. – к.м.н., доцент кафедры внутренней медицины № 2, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Белоглазов В.А. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой внутренней медицины № 2, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Агеева Е.С. – д.м.н., профессор, заведующая кафедрой биологии медицинской, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Аблаева Р.Н. – ассистент кафедры биологии медицинской, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Жукова А.А. – к.б.н., доцент кафедры биологии медицинской, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Онучина И.Г. – старший лаборант кафедры внутренней медицины № 2, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Authors:

Yatskov I.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Internal Medicine No. 2, S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Beloglazov V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Internal Medicine No. 2, S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Ageeva E.S., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Medical Biology, S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Ablaeva R.N., Assistant Professor, Department of Medical Biology, S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Zhukova A.A., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Medical Biology, S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Onuchina I.G., Senior Laboratory Assistant, Department of Internal Medicine No. 2, S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *HLA-G* В ФОРМИРОВАНИИ ПАТОЛОГИИ В СИСТЕМЕ «МАТЬ – ПЛОД»

Гордеева Л.А.¹, Воронина Е.Н.², Поленок Е.Г.¹, Мун С.А.¹,
Оленникова Р.В.³, Гареева Ю.В.⁴, Глушков А.Н.¹

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

² ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия

³ ГАУЗ «Кемеровская областная клиническая больница», г. Кемерово, Россия

⁴ ООО «Медицинская Практика», г. Кемерово, Россия

Резюме. В настоящее время обсуждается связь полиморфных вариантов гена *HLA-G* с разными осложнениями беременности (неудачи после экстракорпорального оплодотворения, преэклампсией, спонтанными выкидышами). Однако результаты исследований отличаются у женщин разных популяций. Остается неизвестным, могут ли материнские аллели *HLA-G* контролировать врожденные пороки развития (ВПР) у плода. Изучали роль полиморфизма гена *HLA-G* в формировании патологии в системе «мать – плод» на примере невынашивания беременности (НБ) и ВПР у плода. Обследованы 461 женщина с репродуктивной патологией в системе «мать – плод» и 407 здоровых и fertильных женщин, родивших 1-2 детей и не имеющих патологической беременности в анамнезе (группа контроль). В группу НБ была включена 151 женщина с привычными выкидышами до 20 недель беременности (min = 2; max = 6). Группу ВПР составили 310 женщин с врожденными пороками развития у плода. Диагноз ВПР был поставлен в соответствии с МКБ-10 (Q00-Q99). Все обследуемые женщины подписали информированное согласие на участие в исследовании. Локусы rs41551813, rs12722477 и rs41557518 гена *HLA-G* типировали методом асимметричной ПЦР в режиме реального времени. Полиморфизм 14 bp Ins/Del *HLA-G* (rs66554220) определяли с помощью электрофоретического разделения продуктов амплификации. Наше исследование показало, что полиморфные сайты rs41557518 и rs66554220 *HLA-G* были неравновесно сцепленными ($D' = 0,808$ ($r = 0,017$), $\chi^2 = 14,67$, $d(f) = 3$, $p = 0,002$). Выявлена единственная высоко значимая ассоциация аллеля 110Ile *HLA-G* с риском НБ у женщин ($OR = 3,03$ (1,97-4,64), $p_{cor} < 0,0006$), сохранившаяся после статистической коррекции. Ассоциации полиморфных локусов rs41551813, rs41557518 и rs66554220 гена *HLA-G* с НБ не обнаружены. Изучаемые полиморфные локусы *HLA-G* у матери не были связаны с риском ВПР у плода.

Адрес для переписки:

Гордеева Людмила Александровна
ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр
угля и углехимии Сибирского отделения Российской
академии наук»
650065, Россия, г. Кемерово, Ленинградский пр., 10.
Тел.: 8 (913) 322-78-99.
E-mail: gorsib@rambler.ru

Address for correspondence:

Lyudmila A. Gordeeva
Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry,
Siberian Branch, Russian Academy of Sciences
10 Leningradskiy Ave
Kemerovo
650065 Russian Federation
Phone: +7 (913) 322-78-99.
E-mail: gorsib@rambler.ru

Образец цитирования:

Л.А. Гордеева, Е.Н. Воронина, Е.Г. Поленок, С.А. Мун,
Р.В. Оленникова, Ю.В. Гареева, А.Н. Глушков
«Роль полиморфизма гена *HLA-G* в формировании
патологии в системе «мать – плод»» // Медицинская
иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 423-428.
doi: 10.15789/1563-0625-TRO-16887

© Гордеева Л.А. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

L.A. Gordeeva, E.N. Voronina, E.G. Polenok, S.A. Mun,
R.V. Olennikova, Yu.V. Gareeva, A.N. Glushkov “The role
of *HLA-G* gene polymorphism in the formation of pathology
in maternal-fetal interface”, Medical Immunology (Russia)/
Meditinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2,
pp. 423-428.
doi: 10.15789/1563-0625-TRO-16887

© Gordeeva L.A. et al., 2025

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

DOI: 10.15789/1563-0625-TRO-16887

По-видимому, роль отдельных полиморфных локусов *HLA-G* при формировании ВПР у плода может быть минимальной. Ассоциация аллеля 110Ile (*HLA-G*01:04*) с НБ у женщин, вероятно, связана с его рецессивными эффектами при локальном воспалении.

Ключевые слова: ген *HLA-G*, полиморфизм, система «мать – плод», патология, невынашивание беременности, врожденные пороки развития у плода

THE ROLE OF *HLA-G* GENE POLYMORPHISM IN THE FORMATION OF PATHOLOGY IN MATERNAL-FETAL INTERFACE

**Gordeeva L.A.^a, Voronina E.N.^b, Polenok E.G.^a, Mun S.A.^a,
Olennikova R.V.^c, Gareeva Yu.V.^d, Glushkov A.N.^a**

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

^b Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

^c Kemerovo Regional Clinical Hospital, Kemerovo, Russian Federation

^d LLC “Medical Practice”, Kemerovo, Russian Federation

Abstract. The relation between polymorphic variants of the *HLA-G* gene and various pregnancy complications (failure after *in vitro* fertilization, preeclampsia, spontaneous abortions) is discussed. However, research results vary among women in different populations. It remains unknown whether maternal *HLA-G* alleles can control congenital malformations (CMs) in the fetus. We studied the role of *HLA-G* gene polymorphism in the formation of pathology in maternal-fetal interface using the example of recurrent miscarriage (RM) and CMs in the fetus. We studied 461 women with reproductive pathology and 407 healthy and fertile women having 1-2 children and with no history of pathological pregnancy (control group). The RM group included 151 women with miscarriages before 20 weeks of pregnancy (min = 2; max = 6). The CM group consisted of 310 women with congenital malformations of the fetus. The diagnosis of CM type was carried out according to the International Classification of Diseases, Injuries and Conditions Affecting the Health, Tenth Revision (Q00-Q99). All women provided written informed consent to participate in the study. The rs41551813, rs12722477 and rs41557518 loci of the *HLA-G* gene were typed by asymmetric real-time PCR. *HLA-G* 14 bp Ins/Del polymorphism (rs66554220) was determined using electrophoretic separation of amplification products. Polymorphic loci rs41557518 and rs66554220 of *HLA-G* were linked disequilibrium ($D' = 0.808$, $r = 0.017$, $\chi^2 = 14.67$, $d(f) = 3$, $p = 0.002$). Found only highly significant the association of the 110Ile *HLA-G* allele with the risk of RM in women after statistical correction ($OR = 3.03$ (1.97-4.64), $p_{cor} < 0.0006$). Found no statistically significant associations of polymorphic loci rs41551813, rs41557518 and rs66554220 of the *HLA-G* gene with RM in women. Found no associations of maternal *HLA-G* polymorphic loci with the risk of CMs in the fetus. It seems the role of individual the *HLA-G* polymorphic loci in the formation of CMs in the fetus may be minimal. The association of the 110Ile allele (*HLA-G*01:04*) with RM in women is likely due to its recessive effects on local inflammation.

Keywords: *HLA-G* gene, polymorphism, maternal-fetal interface, pathology, recurrent miscarriage, congenital malformations

Введение

Как известно, неклассические молекулы человеческих лейкоцитарных антигенов I класса – *HLA-G* отличаются от классических локусов *HLA* I класса характером клеточной и тканевой экспрессии, свойствами связывания пептидов и вы-

полняемыми функциями [6]. Первичная их экспрессия на границе «мать – плод», ограниченный полиморфизм и способность ингибировать NK-клетки и Т-клетки делают *HLA-G* ключевыми игроками в механизме иммунной толерантности матери в отношении полуаллогенного плода [5].

Экспериментальные исследования показали, что уровни продукции мРНК и белка (растворимых и связанных с мембраной форм) контролируются аллелями гена *HLA-G* [5]. Обнаружены ассоциации полиморфных вариантов гена с различными осложнениями беременности (презкламсией, спонтанными выкидышами, неудачами после экстракорпорального оплодотворения), но их характер варьирует у женщин в разных популяциях [4, 10]. До сих пор неизвестно, могут ли материнские аллели *HLA-G* контролировать формирование таких нарушений в системе «мать – плод», как врожденные пороки развития (ВПР) у плода. Поэтому целью настоящего исследования стало изучение роли полиморфных локусов *HLA-G* в формировании патологии в системе «мать – плод» на примере невынашивания беременности и ВПР у плода/новорожденного.

Материалы и методы

Обследована 461 женщина с репродуктивной патологией в системе «мать – плод» и 407 здоровых и фертильных женщин, родивших 1-2 детей и не имеющих патологичной беременности в анамнезе (группа контроль, $26,8 \pm 5,3$ (SD) лет). Группу невынашивание беременности (НБ) составили 151 женщина с привычными выкидышами на сроках до 20 недель беременности (min = 2; max = 6). Женщины не имели медицинских абортов, родов и внематочных беременностей в анамнезе. Средний возраст женщин в группе был $29,4 \pm 4,8$ (SD) лет. Вторую группу (ВПР) составили 310 женщин с врожденными пороками развития у плода. Диагноз ВПР у плода ставился на основании УЗИ на разных сроках беременности женщины, отклонения от нормы маркеров состояния плода (АФП и ХГЧ) и патологоанатомического заключения о наличии порока(ов) у abortusов и мертворожденных. Диагноз ВПР у живорожденных детей ставился неонатологом согласно МКБ-10 (Q00-Q99). Средний возраст женщин в группе был $26,1 \pm 5,1$ (SD) лет. Наличие ВПР, хромосомных аномалий в кариотипе у одного из супружеских и заболевание сахарным диабетом были критериями исключения женщин из обследуемых групп. Все обследуемые женщины подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Методология выделения геномной ДНК из лимфоцитов периферической крови и типирование полиморфных локусов rs41551813, rs12722477, rs41557518 и rs66554220 гена *HLA-G* детально представлена в работах [1, 2].

Соответствие частот генотипов гена *HLA-G* равновесию Харди–Вайнберга оценивали с помощью критерия χ^2 Пирсона. Нулевую гипотезу

отвергали при $p \leq 0,05$. Неравновесие по сцеплению между полиморфными сайтами *HLA-G* анализировали на основе значений D' , рассчитанных с использованием программы CubeX (<http://www.oegc.org/software/cubex/>). Значение отношения шансов (OR) и его доверительный интервал (95% ДИ) оценивали с помощью логистической регрессии (функция glm, пакет статистических программ GenABEL, Genetics программного обеспечения R-project (www.r-project.org)). В качестве базовой модели использовали аддитивную модель наследования признака.

Результаты и обсуждение

Во всех группах обследуемых нами женщин наблюдаемые частоты генотипов rs41551813, rs12722477, rs41557518 и rs66554220 гена *HLA-G* соответствовали их ожидаемым частотам согласно закону Харди–Вайнберга ($p > 0,05$, табл. 1). Сайты rs41557518 и rs66554220 *HLA-G* были неравновесно сцепленными ($D' = 0,808$ ($r = 0,017$), $\chi^2 = 14,67$, $d(f) = 3$, $p = 0,002$).

Сравнительный анализ показал, что полиморфные локусы rs41551813 и rs41557518 гена *HLA-G* не имели каких-либо ассоциаций с риском НБ и ВПР у плода ($p \geq 0,05$, табл. 1). В то же время обнаружена связь материнского аллеля 110IIe (rs12722477) с риском НБ ($OR = 3,03$ (1,97-4,64), $p < 0,0001$) и ВПР у плода ($OR = 1,27$ (1,07-2,30), $p = 0,02$). Также выявлена ассоциация аллеля 14bp Ins с риском НБ у женщин ($OR = 1,41$ (1,08-1,85), $p = 0,01$), но не с ВПР у плода ($p > 0,05$). Для исключения ошибки I рода провели статистическую коррекцию по Бонферрони. Оказалось, что после введения поправки значимой осталась только ассоциация аллеля 110IIe *HLA-G* с риском НБ у женщин (табл. 1). Сравнение распределения частот генотипов rs12722477 *HLA-G* у женщин с НБ и ВПР у плода показало значимые отличия между этими группами ($\chi^2 = 12,28$, $d(f) = 2$, $p = 0,003$). Аллель 110IIe чаще выявлялся у женщин группы НБ, чем в группе ВПР (0,169 против 0,095).

Наше исследование показало, что полиморфный локус rs12722477 гена *HLA-G* ассоциирован с риском НБ у обследуемых женщин. Наши результаты подтверждаются данными литературы, где ранее была обнаружена связь аллеля 110IIe (*HLA-G*01:04*) с повторяющимися самопроизвольными выкидышами у европейских женщин и в бразильских супружеских парах [4, 14]. Также обнаружены ассоциации этого аллеля с высоким риском отторжения аллотрансплантата легкого [7] и почки [11] у людей. Как показали исследования, у людей разных этносов аллель 110IIe (*HLA-G*01:04*) относится к UTR3-гаплотипу. Об-

ТАБЛИЦА 1. АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *HLA-G* С РИСКОМ РЕПРОДУКТИВНЫХ НАРУШЕНИЙ В СИСТЕМЕ «МАТЬ – ПЛОД» (АДДИТИВНАЯ МОДЕЛЬ НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКА)

TABLE 1. ASSOCIATIONS OF *HLA-G* GENE POLYMORPHISM WITH THE RISK OF REPRODUCTIVE DISORDERS IN THE MOTHER-FETUS INTERFACE (ADDITIVE INHERITANCE MODEL)

Полиморфизм гена <i>HLA-G</i> <i>HLA-G</i> gene polymorphism	Женщины с репродуктивной патологией Women with reproductive pathology		Группа контроль Control group n = 407	OR _{НБ} (95% ДИ)*, p OR _{RM} (95% CI)*, p OR _{СМ} (95% CI), p	OR _{ВПР} (95% ДИ), p OR _{СМ} (95% CI), p
	НБ RM n = 151	ВПР СМ n = 310			
Thr31Ser (rs41551813) Thr/Thr Thr/Ser Ser/Ser аллель риска 31Ser (*01:03) risk allele 31Ser P_{HWE}^{**}	144 7 – 7 (0,023)*** 0,77	295 15 – 15 (0,024) 0,66	388 18 1 20 (0,024) 0,11	0,91	0,65
Leu110Ile (rs12722477) Leu/Leu Leu/Ile Ile/Ile аллель риска 110Ile (*01:04) risk allele 110Ile P_{HWE}	103 45 3 51 (0,169) 0,44	256 50 4 58 (0,095) 0,38	355 51 1 53 (0,065) 0,55	3,03 (1,97-4,64); < 0,0001 (cor < 0,0006)****	1,27 (1,07-2,30); 0,02 (cor 0,12)
1597 delC (rs41557518) C/C C/delC delC/delC аллель риска delC (*01:05N) risk allele delC P_{HWE}	142 9 – 9 (0,030) 0,70	291 19 – 19 (0,030) 0,58	394 13 – 13 (0,016) 0,74	0,14	0,05
3'UTR 14bp Ins/Del (rs66554220) Del/Del Ins/Del Ins/Ins аллель риска 14bp Ins risk allele 14bp Ins P_{HWE}	33 74 44 162 (0,536) 0,85	72 169 69 307 (0,495) 0,11	116 212 79 370 (0,454) 0,31	1,41 (1,08-1,85); 0,01 (cor 0,06)	0,07

Примечание. НБ – невынашивание беременности; ВПР – врожденные пороки развития у плода/новорожденного; * – показаны только значимые результаты; ** – уровень статистической значимости согласно закону Харди–Вайнберга; *** – в скобках показана наблюдаемая частота аллеля; **** – значения p после коррекции по Бонферрони (количество статистических тестов равно 6).

Note. RM, recurrent miscarriage; CM, congenital malformations in fetus/newborn; *, shown only significant results; **, level of statistical significance according to Hardy–Weinberg equilibrium; ***, observed allele frequency is shown in parentheses; ****, p-values after Bonferroni correction (number of statistical tests equal to 6).

наружены корреляции аллеля и гаплотипа с низкой продукцией секреторных HLA-G (sHLA-G) в сыворотке крови у реципиентов трансплантата легкого [7, 8]. Как известно, низкая продукция sHLA-G в крови у женщин на ранних сроках беременности является фактором риска самопроизвольного выкидыша [5]. Интересно, что гаплотип *HLA-G*01:04~UTR3* содержит замену +1827

G > A (кодон 267) в 4-м экзоне гена, связанную с образованием двух аллелей *HLA-G*01:04:01* и *HLA-G*01:04:04*, коррелирующих как с повышенной, так пониженной продукцией sHLA-G у людей [9]. Кроме того, эта замена может влиять на неклассическую коровую консенсусную последовательность элемента ответа на прогестерон в 5'UTR-регионе. По-видимому, нарушается ак-

тивация экспрессии гена *HLA-G* и, как следствие, теряется контроль над локальным воспалением [12]. Мы не выявили значимого влияния материнского полиморфизма гена *HLA-G* с риском ВПР у плода, что также подтверждается отдельными авторами. Есть вероятность, что отдельно полиморфные локусы *HLA-G* «имеют минимальную роль в иммунных нарушениях в системе «мать-плод»» [3].

Заключение

Обнаружена значимая ассоциация аллеля 110Ile (*HLA-G*01:04*) с НБ у женщин, которая, вероятно, может быть связана с его рецессивными эффектами при локальном воспалении. Полиморфные локусы гена *HLA-G* не влияли на риск ВПР у плода. Наше исследование может быть полезным в понимании роли полиморфных локусов гена *HLA-G* при формировании патологии в системе «мать – плод».

Список литературы / References

1. Гордеева Л.А., Воронина Е.Н., Поленок Е.Г., Мун С.А., Нерсесян С.Л., Оленникова Р.В., Филипенко М.Л., Глушков А.Н. Изучение связи полиморфизма гена *HLA-G*, внутриматочной инфекции и невынашивания беременности у женщин // Медицинская иммунология, 2021. Т. 23, № 2. С. 347-358. [Gordeeva L.A., Voronina E.N., Polenok E.G., Mun S.A., Nersesyan S.L., Olennikova R.V., Filipenko M.L., Glushkov A.N. Study of relationships between *HLA-G* gene polymorphism, intrauterine infection and recurrent miscarriage in women. *Medsinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2021, Vol. 23, no 2, pp. 347-358. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-SOR-2155.
2. Сухих Г.Т., Ванько Л.В. Иммунные факторы в этиологии и патогенезе осложнений беременности // Акушерство и гинекология, 2012. № 1. С. 128-136. [Sukhikh G.T., Vanko L.V. Immune factors in the etiology and pathogenesis of pregnancy complications. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*, 2012, no. 1, pp. 128-136. (In Russ.)]
3. Aldrich C.L., Stephenson M.D., Garrison T., Odem R.R., Branch D.W., Scott J.R., Schreiber J.R., Ober C. *HLA-G* genotypes and pregnancy outcome in couples with unexplained recurrent miscarriage. *Mol. Hum. Reprod.*, 2001, Vol. 7, no. 12, pp. 1167-1172.
4. Arnaiz-Villena A., Juarez I., Suarez-Trujillo F., López-Nares A., Vaquero C., Palacio-Gruber J., Martin-Villa J.M. *HLA-G*: Function, polymorphisms and pathology. *Int. J. Immunogenet.*, 2021, Vol. 48, no. 2, pp. 172-192.
5. Carlini F., Picard C., Garulli C., Piquemal D., Roubertoux P., Chiaroni J., Chanez P., Gras D., Di Cristofaro J. Bronchial epithelial cells from asthmatic patients display less functional *HLA-G* isoform expression. *Front. Immunol.*, 2017, Vol. 8, 6. doi: 10.3389/fimmu.2017.00006.
6. Castelli E.C., Mendes-Junior C.T., Deghaide N.H.S., de Albuquerque R.S., Muniz Y.C.N., Simões R.T., Carosella E.D., Moreau P., Donadi E.A. The genetic structure of 3'untranslated region of the *HLA-G* gene: polymorphisms and haplotypes. *Genes Immun.*, 2010, Vol. 11, no. 2, pp. 134-141.
7. Cristofaro J.D., Reynaud-Gaubert M., Carlini F., Roubertoux P., Lououdou A., Basire A., Frassati C., Thomas P., Gomez C., Picard C. *HLA-G*01:04~UTR3 Recipient Correlates With Lower Survival and Higher Frequency of Chronic Rejection After Lung Transplantation*. *Am. J. Transplant.*, 2015, Vol. 15, no. 9, pp. 2413-2420.
8. Di Cristofaro J., El Moujally D., Agnel A., Mazieres S., Cortey M., Basire A., Chiaroni J., Picard C. *HLA-G* haplotype structure shows good conservation between different populations and good correlation with high, normal and low soluble *HLA-G* expression. *Hum. Immunol.*, 2013, Vol. 74, no. 2, pp. 203-206.
9. Donadi E.A., Castelli E.C., Arnaiz-Villena A., Roger M., Rey D., Moreau P. Implications of the polymorphism of *HLA-G* on its function, regulation, evolution and disease association. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2011, Vol. 68, no. 3, pp. 369-395.
10. Persson G., Melsted W.N., Nilsson L.L., Hviid T.V.F. *HLA* class Ib in pregnancy and pregnancy-related disorders. *Immunogenetics*, 2017, Vol. 69, no. 8-9, pp. 581-595.
11. Pirri A., Contieri F.C., Benvenutti R., Bicalho M.G. A study of *HLA-G* polymorphism and linkage disequilibrium in renal transplant patients and their donors. *Transpl. Immunol.*, 2009, Vol. 20, no. 3, pp. 143-149.
12. Ribeyre C., Carlini F., René C., Jordier F., Picard C., Chiaroni J., Abi-Rached L., Gouret P., Marin G., Molinari N., Chanez P., Paganini J., Gras D., di Cristofaro J. *HLA-G* haplotypes are differentially associated with asthmatic features. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, 278. doi: 10.3389/fimmu.2018.00278.

13. Tan Z., Shon A.M., Ober C. Evidence of balancing selection at the HLA-G promoter region. *Hum. Mol. Gene*, 2005, Vol. 14, no. 23, pp. 3619-3628.
14. Vargas R.G., Sartori P.R., Mattar S.B., Bompeixe E.P., Silva J.S., Pirri A., Bicalho M.G. Association of HLA-G alleles and 3' UTR 14 bp haplotypes with recurrent miscarriage in Brazilian couples. *Hum. Immunol.*, 2011, Vol. 72, no. 6, pp. 479-485.

Авторы:

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

Воронина Е.Н. – к.б.н., старший научный сотрудник группы молекулярной генетики ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия

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

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

Оленикова Р.В. – врач-генетик Медико-генетической консультации ГАУЗ «Кемеровская областная клиническая больница», г. Кемерово, Россия

Гареева Ю.В. – врач-педиатр ООО «Медицинская Практика», г. Кемерово, Россия

Глушков А.Н. – д.м.н., заместитель директора ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук» (Институт экологии человека СО РАН), г. Кемерово, Россия

Поступила 02.04.2024

Отправлена на доработку 04.04.2024

Принята к печати 23.04.2024

Authors:

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

Voronina E.N., PhD (Biology), Senior Research Associate, Molecular Genetics Group, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

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

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

Olennikova R.V., Geneticist, Genetic Consultation, Kemerovo Regional Clinical Hospital, Kemerovo, Russian Federation

Gareeva Yu.V., Pediatrician, LLC “Medical Practice”, Kemerovo, Russian Federation

Glushkov A.N., PhD, MD (Medicine), Deputy Director, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences (Institute of Human Ecology, SB RAS), Kemerovo, Russian Federation

Received 02.04.2024

Revision received 04.04.2024

Accepted 23.04.2024

КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ МУЛЬТИФУНКЦИОНАЛЬНОГО БЕЛКА YB-1, ЦИТОКИНОВ ВОСПАЛЕНИЯ И БЕЛКА ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ P-grp В ОПЕРАЦИОННОМ МАТЕРИАЛЕ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

Ерохина М.В.^{1,2}, Павлова Е.Н.¹, Щербакова Е.А.¹, Рыбалкина Е.Ю.¹,
Лепеха Л.Н.¹, Тарасов Р.В.¹, Тарасова Е.К.¹

¹ ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», Москва, Россия

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

Резюме. YB-1 – мультифункциональный белок, фактор транскрипции, участвующий в регуляции многочисленных клеточных процессов. YB-1 является важным участником молекулярных каскадов, через которые регулируются реакции организма на присутствие возбудителя, активность воспаления, эффективность заживления и излечения. Эти функции YB-1 являются актуальными и при таком социально значимом заболевании, как туберкулез легких, при котором выявление транскрипционной активности *YBX1* и роли YB-1 в патогенезе ранее не проводилось. В связи с этим была поставлена цель исследования – определить у больных туберкулезом легких (туберкулемами) наиболее значимые корреляции между экспрессией гена белка YB-1, генами ключевых цитокинов, участвующих в регуляции воспаления при ТБ (IL-6, IL-10, IFN γ , TGF- β , TNF α , IL-1 β), фактором гипоксии HIF1 α и геном белка P-grp *ABCB1*. Уровни экспрессии генов определяли с помощью количественной ПЦР в образцах перифокальной области гранулем, полученных от 35 пациентов в ходе плановой операции. На основе результатов ПЦР был проведен корреляционный и иерархический кластерный анализ. Статистическую обработку проводили с помощью статистического пакета GraphPad Prism Version 7.04. Корреляцию между переменными оценивали с помощью коэффициента корреляции Спирмена. Иерархический кластерный анализ и тепловые карты выполняли с использованием инструмента ClustVis 2.0. Обнаружена положительная корреляция между экспрессией генов *YBX1*, *TGFB1* и *ABCB1*. Корреляция между экспрессией генов *YBX1* и *ABCB1* умеренная, при этом экспрессия гена *ABCB1* имеет сильную положительную корреляцию с генами *HIF1A* и *IL6*. Наиболее сильная корреляция выявлена

Адрес для переписки:

Ерохина Мария Владиславовна
ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский
институт туберкулеза»
107564, Россия, Москва, Яузская аллея, 2.
Тел.: 8 (499) 785-91-79.
E-mail: masha.erokhina@gmail.com

Address for correspondence:

Maria V. Erokhina
Central Tuberculosis Research Institute
2 Yauzskaya Alley
Moscow
107564 Russian Federation
Phone: +7 (499) 785-91-79.
E-mail: masha.erokhina@gmail.com

Образец цитирования:

М.В. Ерохина, Е.Н. Павлова, Е.А. Щербакова, Е.Ю. Рыбалкина, Л.Н. Лепеха, Р.В. Тарасов, Е.К. Тарасова «Корреляционный анализ экспрессии генов мультифункционального белка YB-1, цитокинов воспаления и белка лекарственной устойчивости P-grp в операционном материале больных туберкулезом легких» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 429-436. doi: 10.15789/1563-0625-CBE-3077

© Ерохина М.В. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

M.V. Erokhina, E.N. Pavlova, E.A. Scherbakova,
E.Yu. Rybalkina, L.N. Lepekha, R.V. Tarasov, E.K. Tarasova
“Correlations between expression levels of genes encoding
multifunctional YB-1 protein, inflammatory cytokines and
multidrug resistance P-grp protein in surgical material from
patients with lung tuberculosis”, Medical Immunology
(Russia)/Meditinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2,
pp. 429-436.
doi: 10.15789/1563-0625-CBE-3077

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

DOI: 10.15789/1563-0625-CBE-3077

между *YBX1* и *TGFB1* ($r = 0,62$). Корреляция *YBX1* с генами других цитокинов отсутствует. При этом *TGFB1* имеет умеренную корреляцию с *TNF* ($r = 0,56$). Взаимосвязь *YBX1* с *TGFB1* также подтвердил иерархический кластерный анализ, который демонстрирует формирование единого кластера генов *YBX1*, *TGFB1*, *TNF*. Мы предполагаем, что выявленный в нашей работе кластер генов *YBX1*, *TGFB1*, *TNF* образует регуляторную систему, играющую важную роль в развитии туберкулезного воспаления. Наша работа расширяет данные о молекулярно-генетической характеристики одной из форм туберкулезом легких – туберкулемах. Мы предполагаем, что белок YB-1 потенциально может выполнять при туберкулезе легких разные функции: выступать в качестве одного из участников туберкулезного воспаления через влияние на экспрессию генов ключевых цитокинов, а также модулировать активность белка-транспортера P-gp и изменять фармакокинетику противотуберкулезных препаратов, что требует дальнейшего изучения.

Ключевые слова: туберкулез, YB-1, P-gp, цитокины, воспаление, ПЦР

CORRELATIONS BETWEEN EXPRESSION LEVELS OF GENES ENCODING MULTIFUNCTIONAL YB-1 PROTEIN, INFLAMMATORY CYTOKINES AND MULTIDRUG RESISTANCE P-gp PROTEIN IN SURGICAL MATERIAL FROM PATIENTS WITH LUNG TUBERCULOSIS

Erokhina M.V.^{a,b}, Pavlova E.N.^a, Scherbakova E.A.^a, Rybalkina E.Yu.^a,
Lepekha L.N.^a, Tarasov R.V.^a, Tarasova E.K.^a

^a Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russian Federation

^b Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Abstract. YB-1 is a multifunctional protein, being a transcription factor involved in the regulation of numerous cellular processes. YB-1 is an important factor in molecular cascades that regulate the response to the pathogen invasion, inflammatory activity, as well as efficient curation and healing. We suggest that YB-1 may also play an important role in pulmonary tuberculosis. However, the *YBX1* transcriptional activity and the role of the YB-1 protein in pathogenesis of this disease have not yet been determined. The aim of our study was to identify the most significant correlations between expression rates of YB-1 gene with expression of some key cytokine genes involved in the regulation of tuberculous inflammation (IL-6, IL-10, IFN γ , TGF- β , TNF α , IL-1 β), hypoxia factor-1 (HIF1a) gene, and P-gp protein gene *ABCB1* in the patients with pulmonary tuberculosis. Gene expression was determined by quantitative PCR in the samples obtained at surgery from 35 patients. Correlation and cluster analysis were performed based on the PCR results. A positive correlation was found between the expression of *YBX1*, *TGFB1*, and *ABCB1* genes. Correlation between the expression of *YBX1* and *ABCB1* genes were moderate, whereas *ABCB1* gene expression exhibited a strong positive correlation with *HIF1A* and *IL6* genes. The strongest correlation was found between *YBX1* and *TGFB1* gene expression ($r = 0.62$). There is no correlation found between *YBX1* and the genes encoding other cytokines. *TGFB1* showed a moderate correlation with *TNF* ($r = 0.56$). The relationship of *YBX1* with *TGFB1* was confirmed by cluster analysis, thus demonstrating a single cluster of *YBX1*, *TGFB1*, *TNF*. We assume that the *YBX1*, *TGFB1*, *TNF* gene cluster forms a regulatory system that plays an important role in development of tuberculous inflammation. Our work expands the knowledge on the molecular genetic features in tuberculoma, a clinical form of pulmonary tuberculosis. We suggest that the YB-1 protein can potentially have different functions: (1) being a participant in tuberculous inflammation *via* the cytokine expression; (2) modulating the P-gp activity and changing the pharmacokinetics of anti-tuberculosis drugs, thus requiring future studies.

Keywords: tuberculosis, YB-1, P-gp, cytokines, inflammation, PCR

Введение

YB-1 (Y-box binding protein-1, кодируется геном *YBX1*) – мультифункциональный белок, фактор транскрипции, который участвует в регуляции многочисленных клеточных процессов. Его роль особенно важна в условиях быстрого изменения программы экспрессии генов и переключения молекулярных каскадов, в том числе в ответ на инфицирование возбудителем. Продемонстрировано, что бактериальные липополисахариды выступают в роли триггера, вызывающего значительное возрастание уровня белка YB-1 при развитии острой фазы воспаления у мышей. При воспалении YB-1 активирует фактор гипоксии HIF1a, транскрипцию генов цитокинов и хемокинов, влияет на их секрецию [17]. Нокаут гена *YBX1* приводит к отсутствию выраженной воспалительной реакции [10] и снижению активности фиброзирования [4], что позволило подтвердить ключевую роль YB-1 в этих процессах. При хроническом воспалении (эндометриозе) у больных также выявлено возрастание экспрессии гена *YBX1* [19]. Отдельно хотелось бы подчеркнуть участие YB-1 в регуляции экспрессии гена *ABCB1* белка-транспортера P-gp, опосредующего снижение эффективности химиотерапии, что является актуальным при многих заболеваниях [5]. Таким образом, белок YB-1 является важным участником молекулярных каскадов, через которые регулируются реакции организма на присутствие возбудителя, активность воспаления, эффективность заживления и излечения. Мы предполагаем, что эти функции YB-1 являются актуальными и при таком социально значимом заболевании, как туберкулез (ТБ) легких, при котором выявление транскрипционной активности *YBX1* и роли YB-1 в патогенезе ранее не проводилось. В связи с этим в данном исследовании была поставлена цель: определить в операционном материале больных ТБ легких (туберкулемами) наиболее значимые корреляции между экспрессией гена белка YB-1, генами ключевых цитокинов, участвующих в регуляции воспаления при ТБ (IL-6, IL-10, IFN γ , TGF- β , TNF α , IL-1 β), фактором гипоксии HIF1a и геном белка P-gp *ABCB1*.

Материалы и методы

Операционный материал

Образцы (25–50 мг) были получены из перифокальной области туберкулем легкого от 38 пациентов в ходе плановых операций. Образцы хранили при температуре -80°C. Все исследования были одобрены этическим комитетом ЦНИИТ (Протокол № 1 от 15 января 2017 г.) и проводились в соответствии с принципами, изложенными в Хельсинской декларации. От каждого пациента, участвовавшего в этом исследовании,

было получено письменное информированное согласие. Настоящее исследование выполнено на базе Центрального научно-исследовательского института туберкулеза (Москва) с частичным использованием приборной базы Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва), согласно Договору о некоммерческом сотрудничестве от 25 мая 2022 г. № НС-2022/1.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) в реальном времени

Экстракцию РНК проводили с использованием TRI Reagent (MRC, США) согласно инструкции производителя. Концентрацию РНК измеряли с помощью спектрофотометра NanoDrop 8000 (Thermo Fisher Scientific, США). Целостность РНК оценивали методом гель-электрофореза, для анализа брали образцы с видимыми полосами 5S и 18S РНК. После проверки качества и сохранности РНК в анализ были взяты 35 образцов. 1 мкг тотальной РНК обрабатывали с помощью ДНКазы I (Thermo Fisher Scientific, США) согласно протоколу производителя. Обратную транскрипцию проводили с использованием набора MMLV RT (ЗАО «Евроген», Россия) с использованием случайных гексамерных праймеров в соответствии с предоставленными инструкциями. Полученную кДНК использовали для количественного ПЦР-анализа. Для ПЦР в реальном времени использовали коммерческую смесь qPCRmix-HS SYBR Low-Rox (ЗАО «Евроген», Россия), содержащую полимеразу, буфер и смесь нуклеотидов согласно инструкции производителя. В реакцию брали 250 нг синтезированной кДНК с последующим добавлением прямого и обратного праймеров в конечной концентрации 1 мкМ. ПЦР в реальном времени проводили с использованием системы QuantStudio 12K Flex (Applied Biosystems, США) с использованием последовательностей праймеров, которые приведены в таблице 1.

Каждый образец амплифицировали в двух технических повторах, используя следующий профиль циклов ПЦР: 95 °C в течение 3 мин, затем 40 циклов при 95 °C в течение 15 с и 60 °C в течение 60 с. Относительные уровни экспрессии определяли количественно с использованием метода ΔCt , а условные единицы (у. е.) рассчитывали как $2^{-\Delta Ct} \times 10^4$, где ΔCt – разница между пороговыми циклами целевого гена и гена домашнего хозяйства *B2M*.

Обработка данных и статистический анализ

Статистическую обработку проводили с помощью статистического пакета GraphPad Prism Version 7.04 (GraphPad Software, США). Корреляцию между переменными оценивали с помощью коэффициента корреляции Спирмена. Иерархический кластерный анализ и тепловые карты вы-

ТАБЛИЦА 1. ПАРЫ ПРАЙМЕРОВ, ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ ДЛЯ ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ

TABLE 1. PRIMER PAIRS USED FOR REAL-TIME PCR

Ген Gene	Прямой праймер Forward primer	Обратный праймер Reverse primer
B2M	GGGTTTCATCCATCCGACATTG	ACACGGCAGGCATACTCATCTTT
ABCB1	TTGCTGCTTACATTCAAGGTTCA	AGCCTATCTCCTGTGGCATT
HIF1A	CTGAACGTCGAAAGAAAAGTC	AAATCACCAGCATCCAGAAGT
IL1B	TTACAGTGGCAATGAGGATGAC	TGTAGTGGTGGTCGGAGATT
IL6	ACTCACCTCTCAGAACGAATTG	CCATCTTGGAAAGGTTCAGGTTG
IL10	CGCTGTCATCGATTCTTCCC	AGAGTCGCCACCCCTGATGTC
TNF	TCAGCAAGGACAGCAGAGGA	GTCAGTATGTGAGAGGAAGAGAAC
IFNG	TCGGTAACTGACTGAATGTCCA	TCGCTTCCCTGTTTAGCTGC
TGFB1	AACAATTCTGGCGATACCTCA	AAGCCCTCAATTCCCTCC
YBX1	CCCCAGGAAGTACCTTCGC	AGCGTCTATAATGGTTACGGTCT

полняли с использованием инструмента ClustVis 2.0 (<https://biit.cs.ut.ee/clustvis>).

Результаты и обсуждение

Для исследования связи между экспрессией *YBX1*, генами ключевых цитокинов, участвующих в регуляции воспаления при ТБ, фактором гипоксии HIF1a и геном белка P-gp был проведен корреляционный анализ. Данные представлены в таблице 2, в которой корреляция считается умеренной при значениях коэффициента корреляции (*r*) 0,40-0,59 и сильной – при значениях 0,6-0,8 (0,2-0,39 – слабая корреляция и в таблице ее значения не приводятся).

Мы обнаружили, что *YBX1* имеет сильную корреляцию с *TGFB1* (*r* = 0,62) и умеренную кор-

реляцию с геном *ABCB1* (*r* = 0,4). *TGFB1* имеет умеренную корреляцию с *TNF* (*r* = 0,56). Экспрессия гена *HIF1A* сильно коррелирует с генами: *IL10* (*r* = 0,69), *IL6* (*r* = 0,9) и *ABCB1* (*r* = 0,65). *ABCB1* имеет сильную корреляцию с *IL6* (*r* = 0,65) (табл. 2).

Взаимосвязь *YBX1* с *TGFB1* также подтвердил иерархический кластерный анализ, который демонстрирует формирование единого кластера генов *YBX1*, *TGFB1*, *TNF* (рис. 1, см. 3-ю стр. обложки). Таким образом, взаимосвязь между генами *YBX1* и *TGFB1* подтверждена корреляционным и кластерным методами анализа.

Полученные результаты расширяют имеющиеся данные о развитии туберкулезного воспаления и задействованных в нем молекулярных механизмов при одной из форм ТБ легких – ту-

ТАБЛИЦА 2. МАТРИЦА ЗНАЧИМЫХ КОЭФФИЦИЕНТОВ КОРРЕЛЯЦИИ СПИРМЕНА (*r*) МЕЖДУ ОТНОСИТЕЛЬНЫМИ УРОВНЯМИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ОБРАЗЦАХ ЛЕГКИХ БОЛЬНЫХ ТБ

TABLE 2. MATRIX OF SIGNIFICANT SPEARMAN CORRELATION COEFFICIENTS (*r*) BETWEEN RELATIVE LEVELS OF GENE EXPRESSION IN THE LUNGS OF TB PATIENTS

	YBX1	ABCB1	HIF1A	IL1B	IL6	IL10	IFNG	TNF	TGFB1
YBX1	–	< 0,05							< 0,001
ABCB1	0,4	–	< 0,001		< 0,001		< 0,01		
HIF1A		0,65	–	< 0,01	< 0,001	< 0,001			
IL1B			0,46	–	< 0,01	< 0,001			
IL6			0,65	0,9	0,46	–	< 0,001		
IL10				0,69	0,63	0,59	–		
IFNG							–	< 0,01	
TNF								0,49	–
TGFB1	0,65								0,56

Примечание. * – коэффициент Спирмена (*r*) – белый фон, статистическая значимость (*p*) – серый фон.

Note. *, Spearman's coefficient (*r*), white background; statistical significance (*p*), gray background.

беркулемах, доля которых составляет в настоящее время не менее 18,8% [9]. Туберкулемы состоят из центрального казеозного слоя, окружающей его капсулы, образованной грануляционным и фиброзным слоями, степень выраженности которых может варьировать и является маркером активности воспаления. Для анализа мы брали материал из прилегающей к капсule перифокальной области. Предполагается, что анализ микрокружения может лежать в основе прогноза заживления или прогрессирования заболевания у больных ТБ легких. Основной результат нашей работы – это выявление в операционном материале больных ТБ легких наибольшей взаимосвязи экспрессии гена *YBX1* с геном *TGFB1*.

Согласно современным данным, цитокин TGF-β играет определяющую роль в формировании иммуносупрессивной среды в туберкулезных гранулемах за счет ограничения экспансии CD4⁺Т-клеток и уменьшения выработки ими IFNγ. Селективная блокада TGF-β, наоборот, приводит к накоплению терминально дифференцированных эффекторных CD4⁺Т-клеток в гранулеме, возрастанию уровня IFNγ и уменьшению бактериальной нагрузки [8]. Экспрессия гена *TGFB1* регистрируется в миелоидных клетках в центральной части гранулемы и на периферии – преимущественно в регуляторных Т-клетках (Treg). TGF-β стимулирует активность и пролиферацию Treg, которые, в свою очередь, препятствуют активации эффекторных Т-клеток, что способствует выживанию возбудителя *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tb*) [14].

В настоящее время совместное действие YB-1 и TGF-β рассматривается в качестве ключевого tandem, регулирующего формирование фиброза и постулируется, что YB-1 необходим для синтеза TGF-β. Как было показано, повышенные уровни TGF-β в сыворотке крови и бронхоальвеолярном лаваже коррелируют с увеличением площади фибротических изменений в легких через 6 месяцев с начала лечения ТБ [1]. На клетках человека НК-2 выявлено, что YB-1 повышает экспрессию гена *TGFB1* через связывание с 5'-нетранслируемой областью мРНК. В свою очередь подавление экспрессии гена *YBX1* с помощью миРНК предотвращает синтез TGF-β *de novo* [12]. На модели фиброза почки у мышей продемонстрировано, что YB-1 стимулирует экспрессию гена коллагена 1-го типа *Col1a1* через индукцию синтеза TGF-β, воздействует на сигнальный путь Smad7. TGF-β также индуцирует дифференцировку фибробластов в коллаген-продуцирующие миофибробласти. YB-1 отвечает за метилирование β-глюкуронидазы (Klotho). В норме Klotho блокирует сигналы TGF-β, но ее метилирование под действием YB-1 приводит к возрастанию экс-

прессии генов *Col1a1*, *Tgfb1* и, соответственно, индукции процессов фиброза в эксперименте [4].

Другой важный защитный цитокин при ТБ – IFNγ – вызывает транслокацию YB-1 в ядро, где он взаимодействует с областью промотора гена коллагена 1-го типа *Col1a2*, ингибируя его транскрипцию [11]. В ответ на инфицирование *M. tb* происходит образование высоких уровней IFNγ, который, по-видимому, предотвращает фибротический эффект YB-1. В противодействии TGF-β, IFNγ также подавляет опосредованный TGF-β синтез проколлагена и коллагена в миофибробластах. Таким образом, про- или противофиброзный эффект YB-1 зависит от его взаимодействия с ключевыми цитокинами туберкулезного воспаления и их баланса.

В нашей работе также была обнаружена умеренная корреляция между *TGFB1* и *TNF* и присутствие их в одном кластере генов. TNFα – цитокин, обладающий плейотропными функциями и продуцируемый различными иммунными клетками. Он способствует борьбе фагоцитов с *M. tb*, рекрутированию иммунных клеток и формированию гранулемы. Тогда как при ингибировании TNFα аддитивом наблюдается индукция экспрессии гена *TGFB1* и увеличение бактериальной нагрузки [2]. Это указывает на роль TNFα в подавлении действия TGF-β. В свою очередь YB-1 необходим для экспрессии TRAF2 – центрального компонента комплекса рецептора TNFα, который играет важную роль в транслокации в ядро транскрипционного фактора NF-κB под действием TNFα [18]. NF-κB является одним из ключевых медиаторов воспалительных реакций, участвует в регуляции разных аспектов активации врожденного и адаптивного иммунитета и через действие на TNF YB-1 влияет на эффекты NF-κB и воспалительный процесс.

Таким образом, TGF-β и TNFα являются противоположными по своему действию цитокинами, вовлечены в формирование гранулемы и находятся под регуляцией YB-1. Мы предполагаем, что выявленный в нашей работе кластер генов *YBX1*, *TGFB1*, *TNF* образует регуляторную систему, играющую важную роль в развитии туберкулезного воспаления. Следует отметить, что YB-1, TGF-β и TNFα являются объектами разработок таргетной терапии [2, 7, 20], что может быть актуально и при ТБ легких.

Нами также обнаружена умеренная корреляция между экспрессией генов *YBX1* и *ABCB1*: взаимодействию этих генов посвящены работы, изучающие их в контексте развития лекарственной устойчивости опухолевых клеток. Известно, что *ABCB1* содержит в своем промоторе Y-box, который необходим для базовой экспрессии гена *ABCB1*. Показано, что в родительских клетках

аденокарциномы молочной железы MCF-7 экспрессия *ABCB1* отсутствует и YB-1 локализуется в цитоплазме. В то же время устойчивые клетки MCF-7 экспрессируют *ABCB1*, и в них YB-1 локализован как в цитоплазме, так и в ядре: ядерная локализация YB-1 совпадала с возрастанием экспрессии *ABCB1*. Это позволило предположить, что YB-1 является индуктором экспрессии *ABCB1* [17], что было подтверждено на клетках аденокарциномы молочной железы линии HBL100. Эти клетки имеют ген *ABCB1*, но не экспрессируют его: трансфекция этих клеток *YBX1* привела к гиперэкспрессии *ABCB1* и приобретению клетками лекарственно-устойчивого фенотипа [3]. Противотуберкулезные препараты также могут являться субстратами для P-gr, а полиморфизм гена *ABCB1* влияет на их фармакокинетику [16]. Экспрессия гена *ABCB1* характеризуется более высокими уровнями в группе туберкулем с высокой активностью, по сравнению с группой туберкулем с умеренной активностью и связана с разными молекулярно-генетическими сигнатурами [15]. Экспрессия гена *ABCB1* имеет силь-

ную положительную корреляцию с геном *HIF1A*. Известно, что фактор гипоксии HIF1a, так же как и YB-1, является индуктором экспрессии гена *ABCB1*, но его роль при ТБ неоднозначна. HIF1a способствует активации макрофагов против *M. tb*, но нарушает дифференцировку CD4⁺Т-клеток, что имеет иммуносупрессивный эффект и способствует выживанию *M. tb*. В свою очередь, YB-1 регулирует трансляцию мРНК HIF1a и обеспечивает поддержания его высоких уровней в условиях гипоксии [6].

Заключение

Таким образом, белок YB-1 потенциально может выполнять при ТБ легких разные функции: выступать в качестве одного из участников туберкулезного воспаления через влияние на экспрессию генов ключевых цитокинов, а также модулировать активность белка-транспортера P-gr и изменять фармакокинетику противотуберкулезных препаратов, что является важным при ТБ и требует дальнейшего изучения.

Список литературы / References

1. Ameglio F, Casarini M, Capoluongo E, Mattia P, Puglisi G, Giosuè S. Post-treatment changes of six cytokines in active pulmonary tuberculosis: differences between patients with stable or increased fibrosis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2005, Vol. 9, no. 1, pp. 98-104.
2. Arbués A, Brees D, Chibout S.D., Fox T, Kammüller M., Portevin D. TNF- α antagonists differentially induce TGF- β 1-dependent resuscitation of dormant-like *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathog.*, 2020, Vol. 16, no. 2, e1008312. doi: 10.1371/journal.ppat.1008312.
3. Bargou R.C., Jürchott K., Wagener C., Bergmann S., Metzner S., Bommert K., Mapara M.Y., Winzer K.J., Dietel M., Dörken B., Royer H.D. Nuclear localization and increased levels of transcription factor YB-1 in primary human breast cancers are associated with intrinsic MDR1 gene expression. *Nat. Med.*, 1997, Vol. 3, no. 4, pp. 447-450.
4. Brandt S., Bernhardt A., Häberer S., Wolters K., Gehringer F., Reichardt C., Krause A., Geffers R., Kahlfuß S., Jeron A., Bruder D., Lindquist J.A., Isermann B., Mertens P.R. Comparative analysis of acute kidney injury models and related fibrogenic responses: convergence on methylation patterns regulated by cold shock protein. *Cells*, 2024, Vol. 13, no. 5, 367. doi: 10.3390/cells13050367.
5. Dong J., Yuan L., Hu C., Cheng X., Qin J.J. Strategies to overcome cancer multidrug resistance (MDR) through targeting P-glycoprotein (ABCB1): An updated review. *Pharmacol. Ther.*, 2023, Vol. 249, 108488. doi: 10.1016/j.pharmthera.2023.108488.
6. El-Naggar A.M., Veinotte C.J., Cheng H., Grunewald T.G., Negri G.L., Somasekharan S.P., Corkery D.P., Tirode F., Mathers J., Khan D., Kyle A.H., Baker J.H., LePard N.E., McKinney S., Hajee S., Bosiljcic M., Leprivier G., Tognon C.E., Minchinton A.I., Bennewith K.L., Delattre O., Wang Y., Dellaire G., Berman J.N., Sorensen P.H. Translational activation of HIF1 α by YB-1 promotes sarcoma metastasis. *Cancer Cell*, 2015, Vol. 27, no. 5, pp. 682-697.
7. Gautam U.S., Foreman T.W., Bucsan A.N., Veatch A.V., Alvarez X., Adekambi T., Golden N.A., Gentry K.M., Doyle-Meyers L.A., Russell-Lodrigue K.E., Didier P.J., Blanchard J.L., Kousoulas K.G., Lackner A.A., Kalman D., Rengarajan J., Khader S.A., Kaushal D., Mehra S. In vivo inhibition of tryptophan catabolism reorganizes the tuberculoma and augments immune-mediated control of *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2018, Vol. 115, no. 1, pp. E62-E71.
8. Gern B.H., Adams K.N., Plumlee C.R., Stoltzfus C.R., Shehata L., Moguche A.O., Busman-Sahay K., Hansen S.G., Axthelm M.K., Picker L.J., Estes J.D., Urdahl K.B., Gerner M.Y. TGF β restricts expansion, survival, and function of T cells within the tuberculous granuloma. *Cell Host Microbe*, 2021, Vol. 29, no. 4, pp. 594-606.e6.

9. Giller D.B., Giller B.D., Giller G.V., Shcherbakova G.V., Bizhanov A.B., Enilenis I.I., Glotov A.A. Treatment of pulmonary tuberculosis: past and present. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.*, 2017, Vol. 53, no. 5, pp. 967-972.
10. Hanssen L., Alidousty C., Djedjaj S., Frye B.C., Rauen T., Boor P., Mertens P.R., van Roeyen C.R., Tacke F., Heymann F., Tittel A.P., Koch A., Floege J., Ostendorf T., Raffetseder U. YB-1 is an early and central mediator of bacterial and sterile inflammation in vivo. *J. Immunol.*, 2013, Vol. 191, no. 5, pp. 2604-2613.
11. Higashi K., Inagaki Y., Fujimori K., Nakao A., Kaneko H., Nakatsuka I. Interferon-gamma interferes with transforming growth factor-beta signaling through direct interaction of YB-1 with Smad3. *J. Biol. Chem.*, 2003, Vol. 278, no. 44, pp. 43470-43479.
12. Jenkins R.H., Bennagi R., Martin J., Phillips A.O., Redman J.E., Fraser D.J. A conserved stem loop motif in the 5'untranslated region regulates transforming growth factor- β 1 translation. *PLoS One*, 2010, Vol. 5, no. 8, e12283. doi: 10.1371/journal.pone.0012283.
13. Lindquist J.A., Mertens P.R. Cold shock proteins: from cellular mechanisms to pathophysiology and disease. *Cell Commun. Signal.*, 2018, Vol. 16, no. 1, 63. doi: 10.1186/s12964-018-0274-6.
14. McCaffrey E.F., Donato M., Keren L., Chen Z., Delmastro A., Fitzpatrick M.B., Gupta S., Greenwald N.F., Baranski A., Graf W., Kumar R., Bosse M., Fullaway C.C., Ramdial P.K., Forgó E., Jovic V., van Valen D., Mehra S., Khader S.A., Bendall S.C., van de Rijn M., Kalman D., Kaushal D., Hunter R.L., Banaei N., Steyn A.J.C., Khatri P., Angelo M. The immunoregulatory landscape of human tuberculosis granulomas. *Nat. Immunol.*, 2022, Vol. 23, no. 2, pp. 318-329.
15. Pavlova E.N., Lepekha L.N., Rybalkina E.Y., Tarasov R.V., Sychevskaya K.A., Voronezhskaya E.E., Masyutin A.G., Ergeshov A.E., Erokhina M.V. High and low levels of ABCB1 expression are associated with two distinct gene signatures in lung tissue of pulmonary TB patients with high inflammation activity. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, Vol. 24, no. 19, 14839. doi: 10.3390/ijms241914839.
16. Pontual Y., Pacheco V.S.S., Monteiro S.P., Quintana M.S.B., Costa M.J.M., Rolla V.C., de Castro L. ABCB1 gene polymorphism associated with clinical factors can predict drug-resistant tuberculosis. *Clin. Sci. (Lond.)*, 2017, Vol. 131, no. 15, pp. 1831-1840.
17. Rybalkina E.Yu., Moiseeva N.I. Role of YB-1 protein in inflammation. *Biochemistry*, 2022, Vol. 87, no. S1, pp. S94-S102.
18. Shah A., Plaza-Sirvent C., Weinert S., Buchbinder J.H., Lavrik I.N., Mertens P.R., Schmitz I., Lindquist J.A. YB-1 Mediates TNF-induced pro-survival signaling by regulating NF- κ B activation. *Cancers*, 2020, Vol. 12, no. 8, 2188. doi: 10.3390/cancers12082188.
19. Silveira C.G., Krampe J., Ruhland B., Diedrich K., Hornung D., Agic A. Cold-shock domain family member YB-1 expression in endometrium and endometriosis. *Hum. Reprod.*, 2012, Vol. 27, no. 1, pp. 173-182.
20. Yin Q., Zheng M., Luo Q., Jiang D., Zhang H., Chen C. YB-1 as an oncoprotein: functions, regulation, post-translational modifications, and targeted therapy. *Cells*, 2022, Vol. 11, no. 7, 1217. doi: 10.3390/cells11071217.

Авторы:

Ерохина М.В. – д.б.н., заведующая лабораторией клеточной биологии, отдел патоморфологии, клеточной биологии и биохимии ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», Москва, Россия; доцент кафедры клеточной биологии и гистологии, биологический факультет ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Павлова Е.Н. – к.б.н., научный сотрудник лаборатории клеточной биологии, отдел патоморфологии, клеточной биологии и биохимии ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», Москва, Россия

Шербакова Е.А. – младший научный сотрудник лаборатории клеточной биологии, отдел патоморфологии, клеточной биологии и биохимии ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», Москва, Россия

Authors:

Erokhina M.V., PhD, MD (Biology), Head, Laboratory of Cell Biology, Department of Pathomorphology, Cell Biology and Biochemistry, Central Tuberculosis Research Institute; Associate Professor, Department of Cell Biology and Histology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Pavlova E.N., PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Cell Biology, Department of Pathomorphology, Cell Biology and Biochemistry, Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russian Federation

Scherbakova E.A., Junior Research Associate, Laboratory of Cell Biology, Department of Pathomorphology, Cell Biology and Biochemistry, Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russian Federation

Рыбалкина Е.Ю. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточной биологии, отдел патоморфологии, клеточной биологии и биохимии ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», Москва, Россия

Лепеха Л.Н. – д.б.н., профессор, главный научный сотрудник отдела патоморфологии, клеточной биологии и биохимии ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», Москва, Россия

Тарасов Р.В. – к.м.н., врач-хирург, младший научный сотрудник, отдел хирургии ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», Москва, Россия

Тарасова Е.К. – младший научный сотрудник лаборатории клеточной биологии, отдел патоморфологии, клеточной биологии и биохимии ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», Москва, Россия

Rybalkina E.Yu., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Cell Biology, Department of Pathomorphology, Cell Biology and Biochemistry, Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russian Federation

Lepekhina L.N., PhD, MD (Biology), Professor, Chief Research Associate, Department of the Pathomorphology, Cell Biology and Biochemistry, Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russian Federation

Tarasov R.V., PhD (Medicine), Surgeon, Junior Research Associate, Department of Surgery, Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russian Federation

Tarasova E.K., Junior Research Associate, Laboratory of Cell Biology, Department of Pathomorphology, Cell Biology and Biochemistry, Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russian Federation

Поступила 24.07.2024
Принята к печати 30.08.2024

Received 24.07.2024
Accepted 30.08.2024

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ, ИНДУЦИРУЕМОГО СУПЕРНАТАНТАМИ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ И КИШЕЧНЫХ ШТАММОВ БИФИДО- И ЛАКТОБАКТЕРИЙ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Бухарин О.В.¹, Иванова Е.В.¹, Чайникова И.Н.^{1,2}, Перунова Н.Б.¹,
Бондаренко Т.А.¹, Бекпергенова А.В.¹

¹ Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук – обособленное структурное подразделение ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Оренбург, Россия

² ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

Резюме. Иммуномодулирующие свойства пробиотиков зависят не только от микробных клеток, но и от метаболитов, секрецируемых в культуральную среду, которую исследуют как бесклеточный супернатант и относят к постбиотикам. Цель работы – провести скрининг цитокинового профиля кишечных штаммов бифидо- и лактобактерий с использованием мононуклеаров периферической крови человека и, сравнив его с цитокиновым профилем типовых производственных штаммов, отобрать перспективные штаммы с противовоспалительными свойствами в качестве про-/постбиотиков. В работе использовались типовые производственные культуры бифидо- и лактобактерий, входящие в состав отечественных пробиотиков, и кишечные штаммы бифидо- и лактобактерий, отобранные среди выделенных бактериальных культур при исследовании микробиоты толстого кишечника здоровых лиц в возрасте от 18 до 45 лет. Для оценки иммунорегуляторных свойств исследуемых культур определяли влияние их бесклеточных супернатантов на продукцию про- (IFN γ , TNF α , IL-17, IL-8, IL-6) и противовоспалительных (IL-10, IL-1ra) цитокинов, секрецируемых мононуклеарными клетками периферической крови здоровых людей. Установлено, что по профилю воздействия супернатантов на секрецию цитокинов, как типовые производственные, так и кишечные штаммы, в равной степени распределились по трем типам влияния на цитокиновый профиль мононуклеарных клеток человека: 1-й тип: преимущественное увеличение продукции IL-10 и снижение TNF α , IL-17, IL-6; 2-й тип: снижение в основном противовоспалительных цитокинов (IL-6, IL-17, IL-8, TNF α , IFN γ) и 3-й

Адрес для переписки:

Иванова Елена Валерьевна
Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза
Уральского отделения Российской академии наук
460000, Россия, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11.
Тел.: 8 (3532) 77-26-19.
E-mail: walerewna13@gmail.com

Address for correspondence:

Elena V. Ivanova
Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis
11 Pionerskaya St
Orenburg
460000 Russian Federation
Phone: +7 (3532) 77-26-19.
E-mail: walerewna13@gmail.com

Образец цитирования:

О.В. Бухарин, Е.В. Иванова, И.Н. Чайникова, Н.Б. Перунова, Т.А. Бондаренко, А.В. Бекпергенова «Сравнительная характеристика цитокинового профиля, индуцируемого супернатантами производственных и кишечных штаммов бифидо- и лактобактерий в условиях *in vitro*» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 437-444.
doi: 10.15789/1563-0625-CCO-3015

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

For citation:

O.V. Bukharin, E.V. Ivanova, I.N. Chainikova, N.B. Perunova, T.A. Bondarenko, A.V. Bekpergenova
“Comparative characteristics of cytokine profile induced in vitro by supernatants of industrial and intestinal strains of bifido- and lactobacteria”, Medical Immunology (Russia)/ Meditsinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 437-444.
doi: 10.15789/1563-0625-CCO-3015

© Bukharin O.V. et al., 2025
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-CCO-3015

типа: снижение секреции как про-, так и противовоспалительных цитокинов. Среди кишечных культур 1-го и 2-го типа высоким противовоспалительным потенциалом обладали штаммы *Bifidobacterium bifidum* ICIS-202 и *Bifidobacterium bifidum* ICIS-504, способные не только подавлять секрецию противовоспалительных цитокинов, но и усиливать продукцию противовоспалительных цитокинов. Кроме того, перспективной культурой оказался штамм лактобактерий *L. ruminis* ICIS-540, супернатант которого характеризовался многократной способностью снижать уровень раннего провоспалительного цитокина TNF α . В целом было установлено, что выраженность противовоспалительной активности указанных штаммов не уступает, а в отношении отдельных цитокинов (IL-10, TNF α , IL-6) превосходит известные пробиотические штаммы. Использование бесклеточных супернатантов, содержащих продукты метаболизма микроорганизмов, для оценки их влияния на уровень цитокинов *in vitro* позволило отобрать перспективные штаммы *L. ruminis* ICIS-540, *B. bifidum* ICIS-504 и *B. bifidum* ICIS-202, пригодные для создания бактериальных препаратов с противовоспалительной активностью. Результаты исследований могут быть использованы в практике при отборе и тестировании кишечных штаммов по влиянию их на цитокиновый профиль клеток хозяина для создания новых биопрепаратов таргетного действия.

Ключевые слова: цитокины, бесклеточные супернатанты, бифидобактерии, лактобактерии, скрининг, пробиотики, постбиотики

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF CYTOKINE PROFILE INDUCED *IN VITRO* BY SUPERNATANTS OF INDUSTRIAL AND INTESTINAL STRAINS OF BIFIDO- AND LACTOBACTERIA

Bukharin O.V.^a, Ivanova E.V.^a, Chainikova I.N.^{a, b}, Perunova N.B.^a,
Bondarenko T.A.^a, Bekpergenova A.V.^a

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

^b Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

Abstract. The immunomodulatory properties of probiotics largely depend on the metabolites secreted into the culture medium, which is studied as a cell-free supernatant and referred to as postbiotics. The aim of the present work was to conduct screening of cytokine profiles for intestinal strains of *Bifidobacteria* and *Lactobacillus* by testing it with mononuclear cells from human peripheral blood, and comparing it with cytokine profile of typical industrial bacterial strains, in order to select promising strains with anti-inflammatory properties as potential pro-/postbiotics. The cytokine profile of probiotic and intestinal strains of *Bifidobacteria* and *Lactobacillus* isolated from the large intestine of healthy people was determined by the biological effects of cell-free supernatants on the production of pro- (IFN γ , TNF α , IL-17, IL-8, IL-6) and anti-inflammatory (IL-10, IL-1ra) cytokines in the *in vitro* model of peripheral mononuclear cells isolated from human blood. We have established three types of effects on the cytokine profile: type 1 was characterized by a predominant increase in IL-10 production, and a decrease in TNF α , IL-17, IL-6; type 2, produced a decrease, mainly at the level of pro-inflammatory cytokines; type 3 caused a decreased secretion of both pro- and anti-inflammatory cytokines. Among type 1 and type 2 cultures, the *Bifidobacterium bifidum* ICIS-202 and *Bifidobacterium bifidum* ICIS-504 strains had high anti-inflammatory potential, capable of both suppressing the secretion of pro-inflammatory cytokines, and enhancing the production of anti-inflammatory cytokines. The supernatant of *L. ruminis* ICIS-540 strain showed a promising effect, i.e., it repeatedly reduced the level of early pro-inflammatory TNF α cytokine. The anti-inflammatory activity of these strains was not inferior, but, in relation to individual cytokines (IL-10, TNF α , IL-6), was superior to the known probiotic bacterial cultures. The *in vitro* testing of metabolic products in bacterial supernatants enabled us to select promising strains of *L. ruminis* ICIS-540, *B. bifidum* ICIS-504 and *B. bifidum* ICIS-202 which may be suitable for implementation of bacterial preparations with anti-inflammatory activity.

Keywords: cytokines, cell-free supernatants, bifidobacteria, lactobacilli, screening, probiotics, postbiotics

Введение

Появляется все больше материалов о том, что полезными для организма человека могут быть не только пробиотики, обеспечивающие поддержание здоровой микробиоты кишечника, антагонистическую активность, стабилизацию и укрепление барьерной функции кишечника, но и метаболиты пробиотических штаммов. Биологически активные вещества, полученные в результате метаболических процессов микробиоты, рассматриваются как постбиотики, которые обладают широким спектром полезных для человека свойств, в том числе антибактериальными, иммуномодулирующими и противовоспалительными свойствами [13]. В настоящее время появляется все больше доказательств того, что пероральный прием постбиотиков может регулировать микробиоту кишечника, повышать иммунитет, подавлять воспалительные процессы в кишечнике [2]. Поэтому постбиотики рассматриваются в качестве дополнительной терапевтической стратегии.

Постбиотики, полученные из молочнокислых бактерий в качестве биологически активных метаболитов, содержат широкий спектр органических кислот, короткоцепочечных жирных кислот, углеводов, antimикробных пептидов, ферментов, витаминов, кофакторов, иммуносигнальных соединений и других молекул [12, 13]. Поэтому можно предположить возможность их направленного действия в отношении влияния на секрецию цитокинов, оппозитных по отношению к воспалению. Вместе с тем вопросы, касающиеся отбора пробиотических штаммов с учетом их иммунорегуляторного профиля с оценкой индукции/ингибирования про- и противовоспалительных цитокинов, изучены недостаточно. Указанные моменты и определили направленность наших исследований, которые могли бы способствовать изысканию новых подходов по отбору эффективных пробиотиков (постбиотиков) мишень-направленного действия.

Цель работы — провести скрининг цитокинового профиля кишечных штаммов бифидо- и лактобактерий с использованием мононуклеаров периферической крови человека и, сравнив его с цитокиновым профилем типовых производственных штаммов, отобрать перспективные штаммы с противовоспалительными свойствами в качестве про-/постбиотиков.

Материалы и методы

В работе были использованы типовые производственные штаммы: *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 (№ 900811), *Lactobacillus fermentum* 90T-C4

(№ 900812), депонированные в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов (ГКПМ) ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России; *Lactobacillus acidophilus* К3Ш24 (№ 42) и *Bifidobacterium longum* MC-42 (№ 210) — в Государственной коллекции микроорганизмов нормальной микрофлоры ФБУН МИИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора; *Bifidobacterium bifidum* 791 (№ В-3300) — во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ) ФГУП ГосНИИГенетика.

В работе были также использованы бифидо- и лактобактерии, выделенные в лаборатории инфекционной симбиологии ИКБС УрО РАН (*Bifidobacterium bifidum* ICIS-643, ICIS-202, ICIS-629, ICIS-310, ICIS-504; *Bifidobacterium longum* ICIS-1113, ICIS-505; *Lactobacillus rhamnosus* ICIS-627, *Ligilactobacillus ruminis* ICIS-540), депонированные в Государственной коллекции микроорганизмов нормальной микрофлоры ФБУН МИИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора и в сетевой коллекции симбионтных микроорганизмов и их консорциумов ИКБС УрО РАН. Исследуемые кишечные культуры были отобраны среди выделенных бактериальных культур при исследовании микробиоты толстого кишечника здоровых лиц в возрасте от 18 до 45 лет. Идентификацию микроорганизмов проводили с помощью времяпролетной масс-спектрометрии MALDI TOF MS серии Microflex LT (Bruker Daltonics, Германия) и ПЦР-анализом с использованием оригинальных праймеров 16sРНК (ООО «ДНК-технология», Россия).

Микробные бесклеточные супернатанты получали из бульонных культур микроорганизмов двукратным центрифугированием при 3200 об/мин с последующей фильтрацией через мембранные фильтры с диаметром пор 0,22 мкм (Milipore, США).

Мононуклеарные лейкоциты выделяли в стерильных условиях из гепаринизированной крови здоровых доноров методом градиентного центрифугирования (400 g) в градиенте плотности фиколл-верографин (Pharmacia, Швеция) плотностью 1,077 г/см³. После отмычки клетки лейкоцитов доводили до концентрации 2x10⁶/мл в культуральной среде: RPMI-1640 с 10% фетальной сывороткой и с добавлением Нерес (25 мМ), 0,01% L-глутамина и гентамицина (100 мкг/мл). Полученную суспензию клеток разносили в лунки планшета с последующим добавлением супернатантов культур бифидо- и лактобактерий (опыт) и без их добавления (контроль). Исследование проводилось в 3 параллелях. После 24-часовой инкубации клеток при 37 °C в атмосфере

5% CO₂ собирали культуральную жидкость и замораживали (-20 °C).

В опытных и контрольных пробах определяли уровень про- (IFN γ , TNF α , IL-17, IL-8, IL-6) и противовоспалительных (IL-10, IL-1ra) цитокинов методом ИФА (ООО «Цитокин», Россия). Регистрацию результатов проводили на фотометре Multiskan (Labsystems, Финляндия). Результат влияния микроорганизмов на мононуклеары оценивали по изменению концентрации цитокинов в культуральной среде.

Полногеномное секвенирование штаммов микроорганизмов было осуществлено с использованием технологии высокопроизводительного секвенирования на платформе MiSeq (Illumina, США).

Статистическая обработка проводилась с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel и STATISTICA 10.0, включая методы параметрического (t-критерий Стьюдента), непараметрического (U-критерий Манна–Уитни) анализов. Результаты исследований представлены в виде $M \pm m$, где M – средняя арифметическая, m – стандартная ошибка средней, в виде медианы (Me) и границ межквартильных 25-го и 75-го интервалов Me (Q_{0,25}–Q_{0,75}). Статистически значимыми считали изменения при $p < 0,05$. Все эксперименты были проведены в 5 независимых повторах.

Результаты и обсуждение

Проведенный анализ цитокин-модулирующего эффекта супернатантов исследуемых производственных и кишечных штаммов позволил выделить три типа модуляции цитокинового профиля мононуклеарных клеток человека: первый – преимущественное увеличение продукции IL-10 и снижение TNF α , IL-17, IL-6; второй – снижение уровня в основном только провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-17, IL-8, TNF α , IFN γ) и третий – снижение секреции про- и противовоспалительных цитокинов (табл. 1).

Первый тип модуляции был характерен для трех кишечных штаммов, выделенных в лаборатории инфекционной симбиологии ИКБС УрО РАН (*B. bifidum* ICIS-310, *B. bifidum* ICIS-202, *B. bifidum* ICIS-504), а также двух типовых производственных штаммов лактобактерий (*L. plantarum* 8P-A3, *L. acidophilus* K₃Ш₂₄), входящих в состав пробиотиков (табл. 1). По выраженности модулирующего влияния на базовую продукцию цитокинов мононуклеарами исследуемые штаммы можно расположить в порядке убывания эффекта влияния на цитокины. По уровню стимуляции противовоспалительного цитокина IL-10 штаммы

располагались в следующем порядке: *B. bifidum* ICIS-504 ≈ *B. bifidum* ICIS-202 > *L. acidophilus* K₃Ш₂₄ > *B. bifidum* ICIS-310 > *L. plantarum* 8P-A3. По выраженности подавления секреции провоспалительного цитокина TNF α культуры располагались в ряду: *L. plantarum* 8P-A3 > *B. bifidum* ICIS-310 > *B. bifidum* ICIS-202 > *B. bifidum* ICIS-504 ≈ *L. acidophilus* K₃Ш₂₄; по уровню подавления секреции IL-6 – *B. bifidum* ICIS-202 > *B. bifidum* ICIS-310 > *B. bifidum* ICIS-504 > *L. plantarum* 8P-A3 > *L. acidophilus* K₃Ш₂₄; по влиянию на продукцию IL-17 – *B. bifidum* ICIS-310 > *B. bifidum* ICIS-504 > *L. acidophilus* K₃Ш₂₄ > *B. bifidum* ICIS-202 > *L. plantarum* 8P-A3.

Второй тип модуляции был свойственен двум кишечным штаммам бифидобактерий (*B. longum* ICIS-505, *B. bifidum* ICIS-629), штамму лактобактерий *L. ruminis* ICIS-540, выделенным в лаборатории инфекционной симбиологии ИКБС УрО РАН, а также пробиотическому штамму бифидобактерий *B. bifidum* 791. Анализируя свойства штаммов второго типа модуляции по уровню ингибирования провоспалительных цитокинов (табл. 1), их можно расположить в следующем порядке: для TNF α – *L. ruminis* ICIS-540 > *B. bifidum* ICIS-629 ≈ *B. bifidum* 791 > *B. longum* ICIS-505; для IL-6 – *B. bifidum* 791 > *L. ruminis* ICIS-540 ≈ *B. bifidum* ICIS-629 ≈ *B. longum* ICIS-505; для IFN γ – *B. bifidum* ICIS-629 ≈ *B. bifidum* 791 ≈ *B. longum* ICIS-505 > *L. ruminis* ICIS-540; для IL-17 – *B. longum* ICIS-505 ≈ *L. ruminis* ICIS-540 > *B. bifidum* ICIS-629 ≈ *B. bifidum* 791; для IL-8 – *B. longum* ICIS-505 > *B. bifidum* ICIS-629 > *B. bifidum* 791 > *L. ruminis* ICIS-540 (табл. 1).

Третий тип модуляции цитокинов был представлен штаммами, супернатанты которых ингибировали продукцию как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов. Эта группа была представлена тремя кишечными штаммами (*B. bifidum* ICIS-643, *B. longum* ICIS-1113, *L. rhamnosus* ICIS-627) и двумя типовыми производственными культурами (*L. fermentum* 90-TC-4, *B. longum* Mc-42). Тем самым указанные культуры не обладали какой-либо избирательностью в отношении модуляции продукции цитокинов.

Таким образом, полученные результаты позволили выявить среди выделенных кишечных штаммов культуры бифидо- и лактобактерий с различной способностью *in vitro* модулировать секрецию цитокинов мононуклеарами периферической крови человека. Супернатанты штаммов 1-го типа (*B. bifidum* ICIS-310, *B. bifidum* ICIS-202, *B. bifidum* ICIS-504) и 2-го типа модуляции (*B. bifidum* ICIS-629, *B. longum* ICIS-505 и *L. ruminis* ICIS-540) характеризовались выраженной способностью снижать уровень провоспа-

ТАБЛИЦА 1. ВЛИЯНИЕ СУПЕРНАТАНТОВ БИФИДО- И ЛАКТОБАКТЕРИЙ НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ МОНОНУКЛЕАРАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

TABLE 1. EFFECT OF BIFIDO- AND LACTOBACTERIA SUPERNATANTS ON CYTOKINE PRODUCTION BY HUMAN PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEARS

Штаммы бифидо- и лактобактерий Strains of bifidobacteria and lactobacteria	Продукция цитокинов периферическими мононуклеарными клетками (пг/мл) Cytokine production by peripheral mononuclear cells (pg/ml)						
	IFN γ	TNF α	IL-6	IL-10	IL-1ra	IL-8	IL-17
	Контроль-уровень цитокинов в среде без добавления супернатантов Control-the level of cytokines in the medium without the addition of supernatants						
	26,0	110,5	184,5	50,5	321,1	936,5	138,9
I тип влияния Type I of influence							
<i>B. bifidum</i> ICIS-310	29,0±1,9	22,0±2,3*	67,0±3,9*	112,0±12,4*	324,0±39,2	937,8±44,1	45,6±4,1*
<i>B. bifidum</i> ICIS-202	33,0±3,2	31,0±0,6*	35,0±4,1*	262,0±26,9*	312,0±25,9	931,2±39,1	69,9±2,8*
<i>B. bifidum</i> ICIS-504	32,0±2,8	51,6±2,5*	100,0±15,3*	279,3±19,6*	310,0±11,4	934,3±40,1	56,8±4,2*
<i>L. fermentum</i> 8- PA-3	18,5±0,2	10,5±1,8*	115,8±12,3*	106,6±12,3*	315,3±21,9	925,7±36,4	73,6±4,8*
<i>L. acidophilus</i> K ₃ Ш ₂₄	19,7±4,2	59,2±5,3*	121,4±9,3*	183,3±9,3*	322,9±22,9	935,6±25,8	64,4±3,6*
Ме (Q _{0,25} -Q _{0,75})	29,0 (19,7-29,0)	31,0 (22,0-31,0)	100,0 (67,0-100,0)	183,3 (112,0-183,3)	315,3 (312,0-315,3)	935,7 (931,0-935,7)	64,4 (56,9-64,4)
II тип влияния Type II of influence							
<i>B. longum</i> ICIS-505	11,0±3,2*	26,4±1,4*	88,0±5,3*	40,00±0,01	269,0±14,3	167,0±28,6*	36,1±3,1*
<i>B. bifidum</i> ICIS-629	8,0±2,5*	10,00±0,01*	82,0±4,8*	40,00±0,02	275,0±29,4	324,0±45,3*	39,1±2,8*
<i>B. bifidum</i> 791	10,0±1,5*	12,00±0,15*	51,0±25,3*	63,0±3,8	300,0±35,9	534,2±36,1*	37,1±3,4*
<i>L. ruminis</i> ICIS-540	15,0±2,1*	3,00±0,01*	82,0±3,9*	45,0±0,01	288,0±16,9	639,4±33,2*	36,3±3,0*
Ме (Q _{0,25} -Q _{0,75})	10,5 (9,5-10,5)	11,0 (8,25-11,00)	82,0 (74,25-82,00)	42,5 (40,0-42,5)	281,5 (273,5-281,5)	429,0 (284,7-429,0)	36,7 (35,9-36,7)
III тип влияния Type III of influence							
<i>B. bifidum</i> ICIS-643	17,0±2,2*	18,0±0,1*	120,0±12,4*	14,0±0,1*	223,0±34,3	419,0±45,2*	37,9±3,5*
<i>B. longum</i> ICIS-1113	16,0±2,1*	12,17±1,10*	140,0±8,3*	15,2±0,2*	121,0±15,3*	149,0±27,3*	36,8±2,5*
<i>L. rhamnosus</i> ICIS-627	11,0±3,1*	32,20±0,02*	96,0±2,6*	10,00±0,01*	90,0±10,3*	299,0±33,6*	34,8±2,9*
<i>L. fermentum</i> 90-TC-4	2,9±0,3*	45,8±1,9*	124,6±11,3*	39,2±1,5*	219,8±15,6*	345,1±41,6*	34,2±5,3*
<i>B. longum</i> Mc-42	3,40±0,03*	41,6±2,2*	132,0±14,3*	23,7±2,1*	228,9±25,9*	531,2±42,3*	34,8±2,9*
Ме (Q _{0,25} -Q _{0,75})	11,0 (3,5-11,0)	32,2 (18,0-32,2)	124,0 (120,0-124,0)	15,2 (14,0-15,2)	219,8 (121,0-219,8)	345,1 (299,0-345,1)	34,2 (32,1-34,2)

Примечание. * – p < 0,05 по отношению к контролю.

Note. *, p < 0.05 in relation to the control.

лительных цитокинов. Дополнительно, бифидобактерии *B. bifidum* ICIS-202, *B. bifidum* ICIS-504 (1-й тип модуляции) значительно стимулировали секрецию противовоспалительного цитокина IL-10 (5-10-кратно), что усиливало противовоспалительный потенциал данных штаммов. Тем самым выявленные цитокин-стимулирующие (в отношении противовоспалительных цитокинов) и цитокин-ингибирующие (в отношении провоспалительных цитокинов) свойства представленных в работе бифидо- и лактобактерий позволяют характеризовать их как перспективные для создания современных бактериальных биопрепараторов с противовоспалительным эффектом.

Кроме того, среди исследованных кишечных штаммов перспективной культурой оказался штамм лактобактерий *L. ruminis* ICIS-540, супернатант которого характеризовался многократной способностью *in vitro* снижать уровень провоспалительных цитокинов: TNF α (в десять раз), IL-17 (четырехкратно) и IL-6 (двукратно).

В отношении кишечных штаммов бифидо- и лактобактерий было проведено определение биобезопасности, молекулярно-генетической паспортизации с генотипированием с помощью полногеномного секвенирования. Геномная последовательность культур депонирована в базе данных NCBI BioProject GenBank: *L. ruminis* ICIS-540-SRNR00000000.1; *B. longum* ICIS-505-RJZF00000000.1; *B. bifidum* ICIS-629-JAJFBS000000000.1; *B. bifidum* ICIS-202-SSMS00000000.1; *B. bifidum* ICIS-504-JAJPPE000000000.1; *B. bifidum* ICIS-310-NBYL01000001.1.

Терапевтический потенциал современных пробиотиков в настоящее время рассматривается как с позиции возможности направленного иммуномодулирующего влияния на механизмы врожденного и адаптивного иммунитета, так и с использованием их как эффективных противовоспалительных препаратов [12]. Приоритетным является применение не только непосредственно живых/инактивированных микробных культур, но и секретируемых ими метаболитов, являющихся основой постбиотиков, обладающих высоким лечебным потенциалом благодаря разнообразию состава метаболических компонентов, хорошо- му усвоению, безопасности их использования [9, 13]. Разнообразная биологическая активность бесклеточной среды отдельных пробиотических штаммов, включая противовоспалительный, противоопухолевый и противовирусный эффекты, установленная рядом исследователей [1, 12], может быть объяснена биологически активными веществами, выделяемыми бактериями. К ним относятся растворимые белки, полисахари-

ды клеточных мембран, гликопротеины [4, 15], которые обеспечивают важнейшие сигналы, необходимые для развития и функционирования иммунной системы. Кроме того, установлено, что бесклеточная надосадочная жидкость пробиотических штаммов – *L. rhamnosus*, *L. fermentum*, *Pediococcus acidilactici* и *Lactobacillus delbrueckii* богата активными фенольными соединениями и флавоноидами, которые известны своими противовоспалительными, антиоксидантными и иммуномодулирующими свойствами [6].

Противовоспалительные свойства пробиотиков и их метаболитов, как указывалось выше, обосновывают возможность применения их в качестве успешного средства для лечения воспалительных заболеваний [5], противовоспалительный эффект которых может реализовываться различными механизмами. Так, на модели дифференцировки моноцитарных клеток человека THP-1, индуцированной форбол миристатацетатом, показано, что противовоспалительная активность бесклеточных супернатантов двух видов лактобацилл (*L. acidophilus* и *L. rhamnosus* GG) проявлялась в способности снижать экспрессию и активность ферментов из группы матриксных металлопротеиназ, секретируемых активированными макрофагами [10]. С другой стороны, противовоспалительные свойства пробиотиков и их супернатантов могут реализовываться через усиление секреции противовоспалительных цитокинов IL-10 [11], TGF- β [3] и подавление продукции ранних провоспалительных цитокинов, например IL-6 [14]. В других работах показан противоположный эффект влияния пробиотических штаммов лакто-, бифидобактерий на ранние провоспалительные цитокины [7], что связывают со штаммоспецифичностью. Иммуностимулирующие свойства бесклеточных супернатантов смеси коммерческих пробиотиков *Dophilus*TM были выявлены на модели мышиных макрофагов RAW264 в отношении продукции TNF α , выраженности миграции и активности фагоцитоза [1].

Хотя наше исследование не включало детальный химический анализ бесклеточных супернатантов исследуемых штаммов бифидо- и лактобактерий, вместе с тем выявленные различные профили воздействия на секрецию цитокинов мононуклеарами крови человека обосновывают дальнейшую необходимость проведения дополнительных исследований для выяснения специфических путей и сигнальных механизмов, участвующих во взаимодействии между метаболитами исследованных новых кишечных штаммов и иммунными клетками.

Заключение

Проведенное в работе исследование *in vitro* цитокин-модулирующей активности бесклеточных супернатантов новых кишечных штаммов бифидо- и лактобактерий позволило выделить штаммы с противовоспалительным потенциалом, реализуемым через подавление секреции провоспалительных цитокинов и/или усиление продукции противовоспалительных цитокинов. Выраженность противовоспалительной активности исследованных штаммов не уступала, а в отношении отдельных цитокинов (IL-10, TNF α ,

IL-6) превосходила известные пробиотические штаммы. В результате проведенного скрининга модулирующих свойств кишечных штаммов бифидо- и лактобактерий отобраны перспективные штаммы *L. ruminis* ICIS-540, *B. bifidum* ICIS-504 и *B. bifidum* ICIS-202, пригодные для создания бактериальных препаратов с противовоспалительной активностью. Результаты исследований могут быть использованы в практике при отборе и тестировании кишечных штаммов по влиянию их на цитокиновый профиль клеток хозяина для создания новых биопрепаратов таргетного действия.

Список литературы / References

1. Al-Najjar M.A.A., Abdulrazzaq S.B., Alzaghrari L.F., Mahmod A.I., Omar A., Hasen E., Athamneh T., Talib W.H., Chellappan D.K., Barakat M. Evaluation of immunomodulatory potential of probiotic conditioned medium on murine macrophages. *Sci Rep.*, 2024, Vol. 14, 7126. doi: 10.1038/s41598-024-56622-0.
2. Asif A., Afzaal M., Shahid H., Saeed F., Ahmed A., Shah Y.A., Ejaz A., Ghani S., Ateeq H., Khan M.R. Probing the functional and therapeutic properties of postbiotics in relation to their industrial application. *Food Sci. Nutr.*, 2023, Vol. 11, no. 8, pp. 4472-4484.
3. Bermudez-Brito M., Muñoz-Quezada S., Gomez-Llorente C., Romero F., Gil A. *Lactobacillus rhamnosus* and its cell-free culture supernatant differentially modulate inflammatory biomarkers in *Escherichia coli*-challenged human dendritic cells. *Br. J. Nutr.*, 2014, Vol. 111, no. 10, pp. 1727-1737.
4. Chen Y.C., Wu Y.J., Hu C.Y. Monosaccharide composition influence and immunomodulatory effects of probiotic exopolysaccharides. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2019, Vol. 133, pp. 575-582.
5. Oey A., Habil N., Strachan A., Beal J. *Lacticaseibacillus casei* strain shirota modulates macrophage-intestinal epithelial cell co-culture barrier integrity, bacterial sensing and inflammatory cytokines. *Microorganisms*, 2022, Vol. 10, no. 10, 2087. doi: 10.3390/microorganisms10102087.
6. Hamad G.M., Abdelmotilib N.M., Darwish A.M., Zeitoun A.M. Commercial probiotic cell-free supernatants for inhibition of *Clostridium perfringens* poultry meat infection in Egypt. *Anaerobe*, 2020, Vol. 62, 102181. doi: 10.1016/j.anaerobe.2020.102181.
7. Lee J., Kim S., Kang C.H. Immunostimulatory activity of lactic acid bacteria cell-free supernatants through the activation of NF- κ B and MAPK signaling pathways in RAW 264.7 cells. *Microorganisms*, 2022, Vol. 10, no. 11, 2247. doi: 10.3390/microorganisms10112247.
8. Leser T., Baker A. Molecular mechanisms of *Lacticaseibacillus rhamnosus*, LGG[®] probiotic function. *Microorganisms*, 2024, Vol. 12, no. 4, 794. doi: 10.3390/microorganisms12040794.
9. Liang B., Xing D. The current and future perspectives of postbiotics. *Probiotics Antimicrob. Proteins*, 2023, Vol. 15, no. 6, pp. 1626-1643.
10. Maghsoud F., Mirshafiey A., Farahani M.M., Modarressi M.H., Jafari P., Mottevaseli E. Dual effects of cell free supernatants from *lactobacillus acidophilus* and *lactobacillus rhamnosus* GG in regulation of MMP-9 by up-regulating TIMP-1 and down-regulating CD147 in PMADifferentiated THP-1 cells. *Cell J.*, 2018, Vol. 19, no. 4, pp. 559-568.
11. Magryś A., Pawlik M. Postbiotic fractions of probiotics *Lactobacillus plantarum* 299v and *Lactobacillus rhamnosus* GG show immune-modulating effects. *Cells*, 2023, Vol. 12, no. 21, 2538. doi: 10.3390/cells12212538.
12. Mazziotta C., Tognon M., Martini F., Torreggiani E., Rotondo J.C. Probiotics mechanism of action on immune cells and beneficial effects on human health. *Cells*, 2023, Vol. 12, no. 1, 184. doi: 10.3390/cells12010184.
13. Prajapati N., Patel J., Singh S., Yadav V.K., Joshi C., Patani A., Prajapati D., Sahoo D.K., Patel A. Postbiotic production: harnessing the power of microbial metabolites for health applications. *Front. Microbiol.*, 2023, Vol. 14, 1306192. doi: 10.3389/fmicb.2023.1306192.
14. Zanetta P., Ballacchino C., Squarzanti D.F., Amoruso A., Pane M., Azzimonti B. *Lactobacillus johnsonii* LJO02 (DSM 33828) cell-free supernatant and vitamin D improve wound healing and reduce interleukin-6 production in *staphylococcus aureus*-infected human keratinocytes. *Pharmaceutics*, 2023, Vol. 16, no. 1, 18. doi: 10.3390/pharmaceutics16010018.

15. Zhang J., Xiao Y., Wang H., Zhang H., Chen W., Lu W. Lactic acid bacteria-derived exopolysaccharide: Formation, immunomodulatory ability, health effects, and structure-function relationship. *Microbiol. Res.*, 2023, Vol. 274, 127432. doi: 10.1016/j.micres.2023.127432.

Авторы:

Бухарин О.В. – д.м.н., академик Российской академии наук, научный руководитель Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук – обособленного структурного подразделения ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Оренбург, Россия

Иванова Е.В. – д.м.н., доцент, заведующий лабораторией инфекционной симбиологии, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук – обособленное структурное подразделение ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Оренбург, Россия

Чайникова И.Н. – д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории инфекционной симбиологии, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук – обособленное структурное подразделение ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук»; профессор кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

Перунова Н.Б. – д.м.н., профессор Российской академии наук, ведущий научный сотрудник лаборатории инфекционной симбиологии, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук – обособленное структурное подразделение ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Оренбург, Россия

Бондаренко Т.А. – научный сотрудник лаборатории инфекционной симбиологии, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук – обособленное структурное подразделение ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Оренбург, Россия

Бекпергенова А.В. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории инфекционной симбиологии, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук – обособленное структурное подразделение ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Оренбург, Россия

Поступила 06.06.2024
Принята к печати 14.09.2024

Authors:

Bukharin O.V., PhD, MD (Medicine), Full Member, Russian Academy of Sciences, Scientific Director, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Ivanova E.V., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Head, Laboratory of Infectious Symbiology, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Chaynikova I.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Leading Research Associate, Laboratory of Infectious Symbiology, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Professor, Department of Normal Physiology, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

Perunova N.B., PhD, MD (Medicine), Professor, Russian Academy of Sciences, Leading Research Associate, Laboratory of Infectious Symbiology, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Bondarenko T.A., Research Associate, Laboratory of Infectious Symbiology, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Bekpergenova A.V., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Infectious Symbiology, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Received 06.06.2024
Accepted 14.09.2024

РЕГУЛЯЦИЯ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ НК-КЛЕТОК ФАКТОРАМИ МИКРООКРУЖЕНИЯ, ХАРАКТЕРНЫМИ ДЛЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Гребенкина П.В.¹, Михайлова В.А.¹, Беспалова О.Н.¹, Сельков С.А.^{1, 2},
Соколов Д.И.^{1, 2}

¹ ФГБНУ «Институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Децидуальные NK-клетки обладают отличными фенотипическими и функциональными характеристиками по сравнению с периферическими NK-клетками. Однако механизмы, лежащие в основе развития этих уникальных свойств, остаются малоизученными. Предполагается, что клетки макроокружения оказывают как прямое, так и косвенное влияние на NK-клетки в матке, модулируя их уровень «агgressии» по отношению к тканям плода, включая клетки трофобласт.

Одним из механизмов регуляции NK-клеток является выделение цитокинов. Трофобласты, как и другие элементы микроокружения, продуцируют цитокины. Связываясь с рецепторами на поверхности клеток-мишеней, они изменяют поведение NK-клеток. В результате NK-клетки сами могут выделять цитокины, которые, в свою очередь, влияют на поведение других клеток. Как упоминалось ранее, недостаточно данных о причинах и механизмах, лежащих в основе изменений характеристик NK-клеток в матке. Тем не менее эти данные могут стать основой для создания более точной клеточной модели взаимодействия между клетками плода и иммунной системой матери. Кроме того, они могут послужить основой для разработки инструментов диагностики репродуктивных проблем.

Целью исследования – изучение цитокинового профиля NK-клеток (продукция TNF α , TGF- β , IFN γ , RANTES, IL-10, VEGF) под влиянием цитокинов, связанных с беременностью, – TNF α , IFN γ , TGF- β 1, IL-15, IL-18 или IL-10.

Уровни этих цитокинов в кондиционированных средах, полученных после культивирования NK-клеток, были измерены с помощью проточной цитометрии. Было обнаружено, что TGF- β 1, секретируемый клетками трофобласта, обладает способностью регулировать цитокиновый профиль NK-клеток. Под его воздействием уровни IFN γ , IL-10 и RANTES в средах, полученных из культуры NK-клеток, были снижены.

Основываясь на этих результатах, можно сделать вывод, что существует система, которая контролирует активность NK-клеток через сеть цитокинов. Эти данные указывают на потенциальную возможность использования TGF- β 1 для моделирования взаимодействия между NK-клетками и трофобластами *in vitro*.

Ключевые слова: NK-клетки, цитокины, беременность, трофобласт, TGF- β , межклеточные взаимодействия, микроокружение

Адрес для переписки:

Гребенкина Полина Владимировна
ФГБНУ «Институт акушерства, гинекологии
и репродуктологии имени Д.О. Отта»
199034, Россия, Санкт-Петербург,
Менделеевская линия, д. 3.
Тел.: 8 (905) 802-85-58.
E-mail: grebenkinap@gmail.com

Address for correspondence:

Polina V. Grebenkina
D. Ott Research Institute of Obstetrics,
Gynecology and Reproductology
3 Mendelevskaya Line
St. Petersburg
199034 Russian Federation
Phone: +7 (905) 802-85-58.
E-mail: grebenkinap@gmail.com

Образец цитирования:

П.В. Гребенкина, В.А. Михайлова, О.Н. Беспалова, С.А. Сельков, Д.И. Соколов «Регуляция цитокинового профиля NK-клеток факторами микроокружения, характерными для беременности» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 445-450.
doi: 10.15789/1563-0625-ROT-3061

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

For citation:

P.V. Grebenkina, V.A. Mikhailova, O.N. Bespalova, S.A. Selkov, D.I. Sokolov “Regulation of the cytokine profile of NK cells by the microenvironment factors typical for pregnancy”, Medical Immunology (Russia)/Meditinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 445-450.
doi: 10.15789/1563-0625-ROT-3061

© Grebenkina P.V. et al., 2025
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-ROT-3061

REGULATION OF THE CYTOKINE PROFILE OF NK CELLS BY THE MICROENVIRONMENT FACTORS TYPICAL FOR PREGNANCY

**Grebennikina P.V.^a, Mikhailova V.A.^a, Bespalova O.N.^a, Selkov S.A.^{a, b},
Sokolov D.I.^{a, b}**

^a D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russian Federation

^b First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Decidual NK cells exhibit distinct phenotypic and functional characteristics as compared to peripheral NK cells. However, the mechanisms underlying development of these unique properties remain poorly understood. The cells in microenvironment are known to exert both direct and indirect influence on NK cells within uterus, modulating their level of “aggressiveness” towards fetal tissues, including trophoblasts. Cytokine release presents a remote regulatory tool for the NK cells. Trophoblasts produce cytokines like as other components of the microenvironment. These cytokines bind the receptors on surface of target cells thus changing the behavior of NK cells. As a result, NK cells may release the own cytokines, which, in turn, influence the behavior of other cells. As mentioned above, there is a lack of data on causes and mechanisms behind the changes in characteristics of NK cells in uterus. Nevertheless, this data can lay the foundation for designing a more accurate cellular model of interactions between fetal cells and maternal immune system. Moreover, it may serve as a basis for developing diagnostic tools for reproductive issues.

The aim of our study was to investigate changes in cytokine profile of NK cells, in particular, their production of TNF α , TGF- β , IFN γ , RANTES, IL-10, and VEGF under the influence of cytokines associated with pregnancy, i.e., TNF α , IFN γ , TGF- β 1, IL-15, IL-18, or IL-10. The levels of these cytokines in the culture media conditioned by NK cells were measured using flow cytometry. TGF- β 1, produced by trophoblasts was found to have the ability of regulating cytokine secretion by NK cells. The levels of IFN γ , IL-10, and RANTES in the media derived from NK cell culture have been decreased under its influence.

On the basis of these findings, one may propose the existence of a regulatory system that controls activity of NK cells via the cytokine network. These data suggest a potential for using TGF- β 1 to model *in vitro* interactions between NK cells and trophoblasts.

Keywords: NK cells, cytokines, pregnancy, trophoblast, TGF- β , intercellular communication, microenvironment

This study was funded by the project – “Development of diagnostic criteria for predicting and overcoming reproductive losses”, head O.N. Bespalova. State registration number 122041500061-8.

Introduction

NK cells are found in peripheral blood, but there are also local populations of these cells with special properties. One such population is decidual NK cells, which are found in the uteroplacental contact zone. These cells have a different phenotype and function compared to NK cells in peripheral blood [6].

One of the mechanisms of long-distance regulation of natural killer (NK) cells is cytokine secretion. The primary population of cells that influence NK cells is trophoblasts, but other cells such as uterine macrophages and endometrial cells also produce cytokines in the context of maternal-fetal interaction. Cytokines bind to receptors on cell membranes, triggering signaling cascades that result

in changes in NK cell function, including cytokine secretion, which in turn allows NK cells to influence other cells. The cytokines under consideration in this study were detected in the region of uterine-placental interaction – IL-15, IL-18, IL-10, TGF- β , TNF α , IFN γ , RANTES VEGF [4, 7, 8, 15]. Data on possible uterine-placental cells that produce these cytokines are presented in Table 1.

The intricate molecular mechanisms governing the regulation of natural killer (NK) cell functions by pregnancy-specific cytokines remain underexplored. Therefore, the objective of this study was to elucidate the nature of alterations in the cytokine profile of NK cells in response to microenvironmental cues.

Materials and methods

Cell cultures

This study was performed using the NK-92 cell line (ATCC, USA), which reflect the main characteristics of and natural killer cells, respectively. The cells

TABLE 1. LIST OF CYTOKINES ANALYZED IN THE RESEARCH AND THEIR EFFECTS

Cytokine	Cell-producer	Effect
IL-15	Trophoblast cells, endometrial cells, placental macrophages	Regulation of effector functions of NK cells, stimulation of invasion and proliferation of trophoblast cells
IL-18	Decidual stromal cells	Induces cytotoxicity proteins expression by uterine, natural killer (uNK) cells
IL-10	NK cells, trophoblast cells	Inducing the effector functions of NK cells, stimulating the expression of the protective molecule HLA-G on the surface of trophoblast cells, anti-invasive effect on trophoblast cells
TGF- β	NK cells, trophoblast cells, T regulatory cells	Reduction of cytotoxicity of NK cells, regulation of trophoblast cell invasion
TNF α	NK cells	Enhancement of effector functions of NK cells, invasive effect on trophoblast cells
IFN γ	NK cells, trophoblast cells	Enhancement of effector functions of NK cells, inhibition of trophoblast cell invasion
RANTES	NK cells, trophoblast cells	Stimulation of NK cell proliferation and migration, increased migration and invasion of trophoblast cells
VEGF	Decidual NK cells, endometrial cells	Regulation of vascular growth and formation at the uteroplacental contact boundary. Promotes the acquisition of an endothelial phenotype by the extracellular trophoblast, which ensures the successful embedding of the trophoblast into the experimental vessel model

were cultured together with the manufacturer's recommendations in a humid environment at 37 °C, 5% CO₂. The viability of the cells was controlled by trypan blue exclusion, it was 95±3.4%.

Cytokines

The following inducers were used: TNF α (50 U/mL), IFN γ (1000 U/mL), TGF- β 1 (5 ng/mL), IL-15 (10 ng/mL), IL-18 (10 ng/mL), IL-10 (10 ng/mL) (R&D, USA). These concentrations were chosen according to the concentrations in human biological fluids, including in the area of utero-placental contact.

NK-92 cells were added to a part of the wells in 100 μ L of a medium of 20,000 cells. IL-2 (500 U/mL) was added to all wells (LLC "Biotech", Russia), cytokines were added to some of the wells and then cells were cultured for 96 hours in the presence of TNF α , IFN γ , TGF- β 1, IL-15, IL-18, or IL-10. After that, the analysis of their cytokine production was conducted. Four experiments were conducted with two technical repetitions in each.

Analysis of cytokine level in conditioned media obtained after cultivation of NK-92 cells

After cultivation for 96 hours in the presence of cytokines, NK-92 cells were centrifuged for 5 minutes at 2500 g, the supernatants (hereinafter "conditioned media", CM) were frozen at -20 °C and stored until the study. Then, the level of IL-10, RANTES, VEGF, TNF α , IFN γ and TGF- β 1 in CM was evaluated using commercial kits for CBA (Cytometric Bead Array) (BD, USA) and a flow cytofluorimeter

BD FACSCanto II (BD, USA) according to the manufacturer's instructions.

Results and discussion

The content of TNF α , TGF- β , IFN γ , RANTES, IL-10, and VEGF was evaluated in CM obtained after cultivation of NK-92 cells for 96 hours in the presence of cytokines. We found that NK-92 cells on the baseline level secreted IFN γ , IL-10 and RANTES and in low concentrations TGF- β , but did not secrete VEGF and TNF α (Figure 1).

It has previously been shown that NK-92 cells are capable of secreting VEGF [13], TNF α [5]. During the 96-hour incubation period, it is likely that secreted cytokines are internalized by NK cells in order to regulate their properties. However, in order to confirm this hypothesis, further analysis will be required to determine the intracellular content of cytokines. The content of IFN γ , RANTES, and IL-10 in CM was reduced after cultivation of NK-92 cells in the presence of TGF- β 1 when compared with the content of these cytokines after cultivation without inducers (Figure 1).

TGF- β 1, a major cytokine secreted by trophoblast cells, exerts an immunosuppressive influence [11], nonetheless, it has been demonstrated that in certain instances, it may enhance the cytotoxic potency of cytotoxic cells [9]. The pro-inflammatory cytokine IFN γ enhances the effector functions of NK cells [12], has an inhibitory effect on trophoblast cells, reducing their ability to invade [1]. IL-10 it can

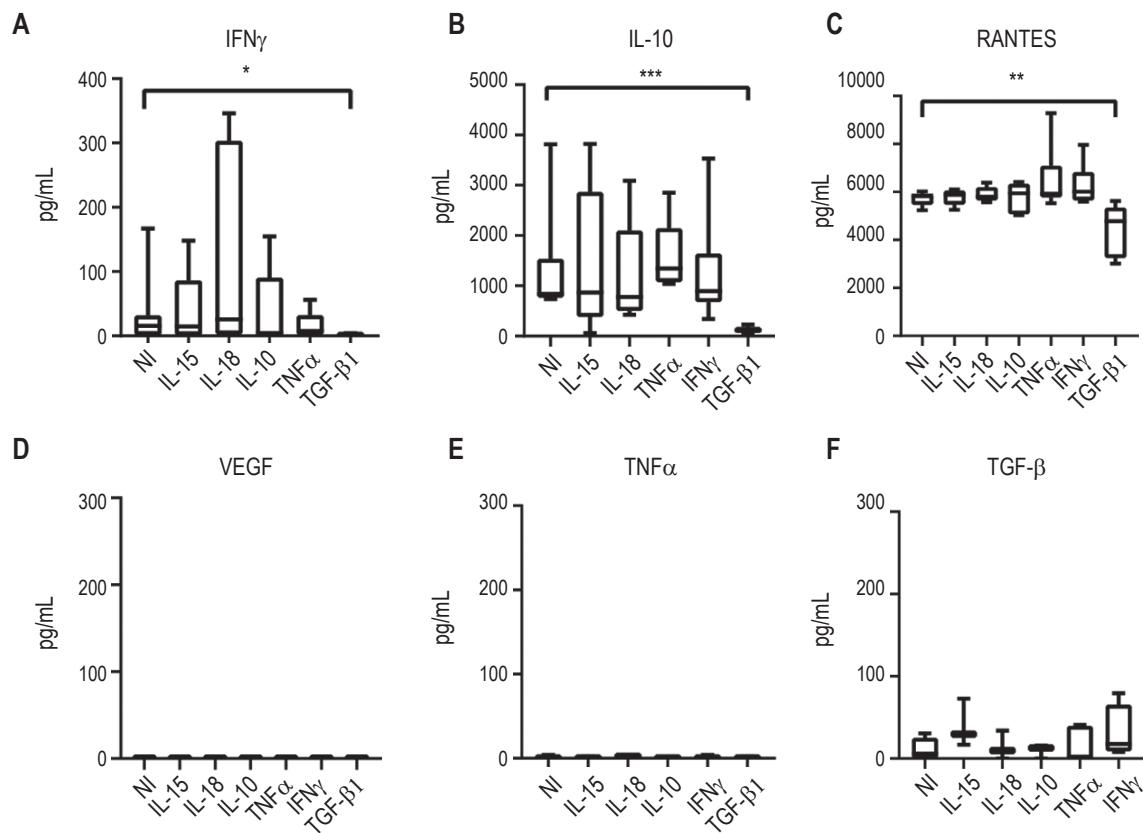


Figure 1. Content of IFN γ (A), IL-10 (B), RANTES (C), VEGF (D), TNF α (E), and TGF- β (F) in CM after cultivation of NK-92 cells in the presence of various cytokines (indicated on the abscissa axis) for 96 hours: NI – NK-92 cells without inductors
Note. Significance of differences: * p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001.

also serve as an enhancer of the effector capabilities of NK cells [3], elicit the secretion of IFN γ , thereby augmenting the cytotoxic capacity [2]. Moreover, the cytokine exerts an anti-invasive and pro-apoptotic influence on trophoblast cells [10]. Accordingly, inhibition of IFN- γ and IL-10 secretion by the action of TGF- β 1 may be a mechanism used by trophoblast cells to establish a tolerant microenvironment for a semiallogenic fetus.

Nonetheless, this notion does not align with the reduction in RANTES secretion upon TGF- β 1 treatment. On the contrary, it has been observed that RANTES serves as a stimulant for the proliferation and migration of NK cells [14], this is a piece of evidence that supports the hypothesis of fostering tolerance towards fetal cells. Nonetheless, it should be noted that cytokine also serves as a stimulant for the migration and infiltration of trophoblast cells [4].

Consequently, a reduction in the production of NK cells hinders the development of fetal cells. This observation may suggest the existence of a regulatory mechanism employed by trophoblast cells to prevent their own over-invasion.

Conclusion

In the presence of TGF- β 1, NK cells decrease the production of IFN γ , IL-10 and RANTES. This finding may indicate that trophoblast cells and other cells in the microenvironment, producing TGF- β 1, can alter NK cell function, creating an optimal environment for fetal development. The data obtained reflect processes occurring between cells of the maternal and fetal immune systems during pregnancy and could serve as a basis for developing tests to diagnose causes of reproductive pathologies resulting from disruptions in intercellular communication.

References

1. Bačenková D., Trebuňová M., Čížková D., Hudák R., Dosedla E., Findrik-Balogová A., Živčák J. *In vitro* model of human trophoblast in early placentation. *Biomedicines*, 2022, Vol. 10, no. 4, 904. doi: 10.3390/biomedicines10040904.
2. Burgess S.J., Marusina A.I., Pathmanathan I., Borrego F., Coligan J.E. IL-21 down-regulates NKG2D/DAP10 expression on human NK and CD8 $^{+}$ T cells. *J. Immunol.*, 2006, Vol. 176, no. 3, pp. 1490-1497.

3. Cai G., Kastelein R.A., Hunter C.A. IL-10 enhances NK cell proliferation, cytotoxicity and production of IFN-gamma when combined with IL-18. *Eur. J. Immunol.*, 1999, Vol. 29, no. 9, pp. 2658-2665.
4. Fujiwara H., Higuchi T., Sato Y., Nishioka Y., Zeng B.X., Yoshioka S., Tatsumi K., Ueda M., Maeda M. Regulation of human extravillous trophoblast function by membrane-bound peptidases. *Biochim. Biophys. Acta*, 2005, Vol. 1751, no. 1, pp. 26-32.
5. Gómez-Lomelí P., Bravo-Cuellar A., Hernández-Flores G., Jave-Suárez L.F., Aguilar-Lemarroy A., Lerma-Díaz J.M., Domínguez-Rodríguez J.R., Sánchez-Reyes K., Ortiz-Lazareno P.C. Increase of IFN-γ and TNF-γ production in CD107a + NK-92 cells co-cultured with cervical cancer cell lines pre-treated with the HO-1 inhibitor. *Cancer Cell Int.*, 2014, Vol. 14, no. 1, 100. doi: 10.1186/s12935-014-0100-1.
6. Hanna J., Goldman-Wohl D., Hamani Y., Avraham I., Greenfield C., Natanson-Yaron S., Prus D., Cohen-Daniel L., Arnon T.I., Manaster I., Gazit R., Yutkin V., Benharroch D., Porgador A., Keshet E., Yagel S., Mandelboim O. Decidual NK cells regulate key developmental processes at the human fetal-maternal interface. *Nat Med*, 2006, Vol. 12, no. 9, pp. 1065-1074.
7. Klimkiewicz-Blok D., Florjanski J., Zalewski J., Blok R. Analysis of the concentrations of interleukin 15 in amniotic fluid in the second and the third trimesters of pregnancy. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2012, Vol. 21, no. 1, pp. 75-79.
8. Klimkiewicz-Blok D., Florjanski J., Zalewski J., Blok R. Analysis of the concentrations of interleukin 18 in amniotic fluid in the second and the third trimesters of pregnancy. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2013, Vol. 22, no. 5, pp. 699-703.
9. Peters C., Meyer A., Kouakanou L., Feder J., Schricker T., Lettau M., Janssen O., Wesch D., Kabelitz D. TGF-beta enhances the cytotoxic activity of Vdelta2 T cells. *Oncoimmunology*, 2019, Vol. 8, no. 1, e1522471. doi: 10.1080/2162402X.2018.1522471.
10. Roth I., Fisher S.J. IL-10 is an autocrine inhibitor of human placental cytrophoblast MMP-9 production and invasion. *Dev. Biol.*, 1999, Vol. 205, no. 1, pp. 194-204.
11. Viel S., Marcais A., Guimaraes F.S., Loftus R., Rabilloud J., Grau M., Degouve S., Djebali S., Sanlaville A., Charrier E., Bienvenu J., Marie J.C., Caux C., Marvel J., Town L., Huntington N.D., Bartholin L., Finlay D., Smyth M.J., Walzer T. TGF-beta inhibits the activation and functions of NK cells by repressing the mTOR pathway. *Sci. Signal.*, 2016, Vol. 9, no. 415, ra19. doi: 10.1126/scisignal.aad1884.
12. Wang R., Jaw J.J., Stutzman N.C., Zou Z., Sun P.D. Natural killer cell-produced IFN-gamma and TNF-alpha induce target cell cytosis through up-regulation of ICAM-1. *J. Leukoc. Biol.*, 2012, Vol. 91, no. 2, pp. 299-309.
13. Wang X., Liang C., Xia W., Guo C., Niu Z., Zhu W., Zhang H. VEGF165b augments NK92 cytolytic activity against human K562 leukemia cells by upregulating the levels of perforin and granzyme B via the VEGR1-PLC pathway. *Mol. Immunol.*, 2020, Vol. 128, pp. 41-46.
14. Weiss I.D., Shoham H., Wald O., Wald H., Beider K., Abraham M., Barashi N., Galun E., Nagler A., Peled A. Ccr5 deficiency regulates the proliferation and trafficking of natural killer cells under physiological conditions. *Cytokine*, 2011, Vol. 54, no. 3, pp. 249-257.
15. Zhang C., Tian Z. NK cell subsets in autoimmune diseases. *J. Autoimmun.*, 2017, Vol. 83, pp. 22-30.

Авторы:

Гребенкина П.В. – младший научный сотрудник
ФГБНУ «Институт акушерства, гинекологии
и репродуктологии имени Д.О. Омма», Санкт-
Петербург, Россия

Михайлова В.А. – д.б.н., старший научный сотрудник
лаборатории межклеточных взаимодействий
ФГБНУ «Институт акушерства, гинекологии
и репродуктологии имени Д.О. Омма», Санкт-
Петербург, Россия

Authors:

Grebennikina P.V., Junior Research Associate, D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russian Federation

Mikhailova V.A., PhD, MD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Intercellular Interactions, D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russian Federation

Беспалова О.Н. – д.м.н., заместитель директора по научной работе ФГБНУ «Институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия

Сельков С.А. – д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий отделом иммунологии и межклеточных взаимодействий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта»; профессор кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Соколов Д.И. – д.б.н., доцент, заведующий лабораторией межклеточных взаимодействий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта»; профессор кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Поступила 29.07.2024
Отправлена на доработку 30.07.2024
Принята к печати 14.09.2024

Bespalova O.N., PhD, MD (Medicine), Deputy Director for Research, D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russian Federation

Selkov S.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Head, Department of Immunology and Intercellular Communications, D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology; Professor, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Sokolov D.I., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Head, Laboratory of Intercellular Communications, D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology; Professor, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Received 29.07.2024
Revision received 30.07.2024
Accepted 14.09.2024

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ В ПЕЧЕНИ ПРИ ЕЕ ДИФФУЗНОМ ПОВРЕЖДЕНИИ И ВВЕДЕНИИ ГЕПТОРА

Альпидовская О.В.

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

Резюме. Хронические диффузные болезни печени являются одной из актуальных проблем в современном мире. В качестве модели для воспроизведения патологии печени было использовано воздействие табачного дыма. Цель исследования – оценить уровень цитокинов – IL-6, IL-18, IL-1 α , IFN γ , TNF α , TGF- β 1 на модели табачной интоксикации и при введении Гептора в течение 7-го, 14-го, 21-го дня. Исследования проводились на крысах-самцах, разделенных на интактных и 3 опытные группы по 10 крыс в каждой. В течение одного, двух и четырех месяцев животные находились в табачном дыме. Для опытов применялась камера – $V = 0,3 \text{ м}^3$, в которой происходило задымление при сгорании сигарет. После четырехмесячного воздействия (3-я группа) вводили *per os* Гептор в дозе 120 мг/кг с дистиллированной водой на 7-й, 14-й, 21-й день. После выведения животных из эксперимента брались образцы печени для изучения уровня цитокинов и готовились срезы, которые окрашивались гематоксилином и эозином. В 1-й группе в печени выявлялась воспалительная клеточная инфильтрация, дистрофические изменения, фиброз отсутствовал. Во 2-й группе в печени помимо кровоизлияний, дистрофических изменений отмечались некробиотические очаги, фиброз отсутствовал. В 3-й группе определялись деструктивные изменения, участки некроза в печени, портопортальные и портоцентральные септы. Уровень TNF α повысился в цитоплазматической фракции ткани печени в 1-й группе в 1,6 раза по сравнению с интактной группой, во 2-й группе – увеличился в 1,7 раза, в 3-й группе – увеличился в 1,9 раза. Концентрация IL-6 отмечалась самой высокой в 3-й группе. TGF- β 1 зачимо увеличился в этот же срок, гистологически выявлялись деструктивные изменения и фиброз в печени. Использование препарата Гептор в течение 21 дня у животных 3-й группы способствовало снижению уровня провоспалительных цитокинов IL-18, IL-6, IFN γ в ткани печени и TNF α , TGF- β . Вследствие их воздействия отмечалось уменьшение воспалительной реакции, деструктивных изменений и степени фиброза, развивалось постепенное восстановление структурной организации печени.

Ключевые слова: IL-6, IL-1 α , IL-18, TNF α , IFN γ , TGF- β 1, табачная интоксикация, Гептор

Адрес для переписки:

Альпидовская Ольга Васильевна
ФГБОУ ВО «Чувашский государственный
университет имени И.Н. Ульянова»
428015, Россия, г. Чебоксары, Чувашская Республика,
Московский пр., 45.
Тел.: 8 (927) 858-05-18.
E-mail: olavorobeva@mail.ru

Address for correspondence:

Olga V. Alpidovskaya
I. Ulyanov Chuvash State University
45 Moskovsky Ave
Cheboksary, Chuvash Republic
428015 Russian Federation
Phone: +7 (927) 858-05-18.
E-mail: olavorobeva@mail.ru

Образец цитирования:

О.В. Альпидовская «Цитокиновый профиль в печени при ее диффузном повреждении и введении Гептора» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 451-456. doi: 10.15789/1563-0625-CPI-3017

© Альпидовская О.В., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

O.V. Alpidovskaya “Cytokine profile in the liver during its diffuse damage and Heptor introduction”, Medical Immunology (Russia)/Meditinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 451-456.
doi: 10.15789/1563-0625-CPI-3017

© Alpidovskaya O.V., 2025

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

DOI: 10.15789/1563-0625-CPI-3017

CYTOKINE PROFILE IN THE LIVER DURING ITS DIFFUSE DAMAGE AND HEPTOR INTRODUCTION

Alpidovskaya O.V.

I. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Chuvash Republic, Russian Federation

Abstract. Chronic diffuse liver diseases are among urgent problems in the modern world. Exposure to tobacco smoke was used as a model to reproduce liver pathology. The purpose of the study was to evaluate the level of cytokines, i.e., IL-6, IL-18, IL-1 α , IFN γ , TNF α , TGF- β 1 in an animal model of tobacco intoxication, with administration of Heptor substance for 7, 14, 21 days. The studies were carried out on male rats, divided into intact and 3 experimental groups of 10 rats each. The animals were exposed to tobacco smoke for one, two and four months. For the experiments, a chamber was used with a volume of 0.3 m 3 , in which the cigarette smoke was produced. After four months of exposure (3rd group), Heptor was administered *per os* at a dose of 120 mg/kg with distilled water for 7, 14, 21 days. After withdrawal from experiment, the liver specimens were sampled, in order to study the level of cytokines. Liver sections were also prepared and stained with Hematoxylin/Eosin. In group 1, inflammatory cell infiltration and degenerative changes were detected in the liver; fibrosis was absent. In the 2nd group, necrobiotic foci were noted in the liver along with hemorrhages and dystrophic changes; fibrosis was absent. In the 3rd group, destructive changes, areas of necrosis in the liver, porto-portal and porto-central septa were observed. The level of TNF α was 1.6 times increased in the cytoplasmic fraction of liver tissue in the 1st group compared to the intact group; in the 2nd group it was 1.7 times higher; in the 3rd group it increased by 1.9 times. The concentration of IL-6 was the highest in the group 3. At these terms, TGF- β 1 was significantly increased, with destructive changes and liver fibrosis being detected by histology. The use of the drug Heptor for 21 days in animals of the third group contributed to decreased levels of pro-inflammatory cytokines (IL-18, IL-6, IFN γ) in liver tissue, along with reduced TNF α and TGF- β . As a result of their influence, a decrease in the inflammatory response, destructive changes and lower degree of fibrosis was noted, as well as gradual restoration of the liver structures was developed.

Keywords: IL-6, IL-1 α , IL-18, TNF α , IFN γ , TGF- β 1, tobacco intoxication, Heptor

Введение

Хронические диффузные болезни печени являются одной из актуальных проблем в современном мире. Течение и прогноз при данной патологии определяются состоянием иммунного статуса. На всех этапах иммунного ответа участвуют цитокины или медиаторы воспаления, регулирующие иммунный ответ, регенерацию, апоптоз, воспаление, пролиферацию и фиброгенез [1, 2, 3, 4]. Каскадный механизм действия цитокинов объясняется индукцией выработки одним цитокином другого, а также синергизмом во взаимодействии. В последние годы интенсивно изучается роль цитокинов в патогенезе хронических гепатитов и циррозов печени [5, 6, 7]. Изучение цитокинового профиля при хронических диффузных болезнях печени имеет важное значение для прогноза, так как уровень цитокинов отражает интенсивность регенераторных процессов в печени и прогрессирование болезни [6, 7, 8, 9]. Существуют цитокины: а) провоспалительные

(IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IFN γ); б) противовоспалительные (IL-4, IL-10, TGF); в) регулирующие клеточный иммунитет (IL-1, IL-12 IFN γ , TGF- β); г) регулирующие гуморальный иммунитет (IL-4, IL-5, IFN γ , трансформирующий фактор роста- β). В связи с этим является актуальным изучение механизмов повреждения, цитокиновый профиль в печени и возможная терапия под влиянием Гептора[®] (ademetionine) является многокомпонентным универсальным препаратом, обладает заметным воздействием на фактор некроза опухолей [2], этот цитокин во многом определяющий воспалительный процесс и являющийся главным агентом, приводящим к воспалительной реакции, деструктивным изменениям и некрозу. Помимо этого подавляет активность провоспалительных цитокинов. Препарат оказывает влияние на клетки Купфера и рекрутированные макрофаги, что подавляет синтез TGF- β . Также препарат обладает детоксикационными, антиоксидантными свойствами. Цель исследования –

оценить уровень цитокинов – IL-6, IL-18, IL-1 α , IFN γ , TNF α , TGF- β 1 на модели табачной интоксикации и при введении Гептора[®] в течение 7-го, 14-го, 21-го дня.

Материалы и методы

Исследования проводились на крысах-самцах, которых разделили на интактную и 3 опытные группы по 10 крыс в каждой. В течение одного (1-я группа), двух (2-я группа) и четырех (3-я группа) месяцев животные находились в табачном дыме (два раза в день по 5 крыс в одной клетке). Для опытов применялась камера – $V = 0,3 \text{ м}^3$, в которой происходило задымление при сгорании сигарет. 3-й опытной группе (крысы находились в затравочной камере четыре месяца) вводили *per os* Гептор[®], МНН: адеметионин (форма выпуска: таблетки) в дозе 120 мг/кг с дистиллированной водой на 7-й, 14-й, 21-й день. Контрольная группа соответствовала количеству опытных животных. После выведения животных из эксперимента брались образцы печени для определения уровня цитокинов и готовились срезы, которые окрашивались гематоксилином и эозином.

Проводилась оценка уровня цитокинов в печени: IL-6, IL-18, IL-1 α , IFN γ , TNF α , TGF- β 1. После извлечения печень промывалась и помещалась в фосфатно-солевой буфер (PBS) с pH 7,6 (ООО «Эко-Сервис», Россия) из расчета 1 мл раствора на 1 мг органа. Все процедуры проводили на льду для предотвращения протеолиза. Ткань дезагрегировали с использованием автоматизированной системы для дезагрегации тканей BD Medimachine (Becton Dickinson, США). Суспензию пропускали через фильтр falcon, BD Bioscience, размером пор 50 мкм, затем центрифугировали 30 минут при 4 °C и 15 000 оборотах в минуту, собирали супернатант и разводили в 2 раза PBS. Полученный супернатант распределяли по 200 мкл в микроцентрифужные пробирки типа «Эппендорф», замораживали и хранили до использования при -80 °C. Концентрацию цитокинов в гомогенатах печени определяли методом ИФА согласно стандартным протоколам (наборы и приборы Lazurite Automated Elisa System).

Этическая экспертиза

Эксперименты основывали на принципах гуманности, изложенных в Директиве Совета Европейского Союза (86/609/EЭС), а также в ГОСТ Р 53434-2009 от 1 марта 2010 г. «Принципы надлежащей лабораторной практики» (идентичен GLP OECD). Проведение эксперимента одобрено этическим комитетом Марийского го-

сударственного университета (протокол № 1 от 28.04.2023 г.).

Статистическая обработка проводилась в программе Statistica-10 (StatSoft Inc., США). Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью программного обеспечения OriginPro 2018 software (OriginLab Corporation, США) с применением непараметрического критерия Краскела–Уоллиса для множественных сравнений (непараметрический метод сравнения трех или более независимых групп).

Результаты

У животных 1-й группы отмечалось полнокровие сосудов, воспалительная клеточная инфильтрация, дистрофические изменения, отсутствовала соединительная ткань. При анализе цитокинового профиля в цитоплазматической фракции ткани печени отмечалось статистически значимое повышение уровня IFN γ и IL-6, что очевидно способствует миграции лейкоцитов в поврежденные зоны. Показатели TNF α и TGF- β 1 также изменились (табл. 1).

Во 2-й группе в печени помимо кровоизлияний, дистрофических изменений отмечались некробиотические очаги. Отмечалось отсутствие фиброза. Уровень IL-18 повысился (табл. 1), что способствует усилиению провоспалительного иммунного ответа, повышая концентрацию TNF α и IL-1 α . IL-18 сигнализирует гепатоцитам в поврежденной печени о продукции белков острой фазы.

В 3-й группе определялись деструктивные изменения, участки некроза в печени, портопортальные и портоцентральные септы. Значимо повысился уровень TGF- β 1, концентрация IL-18 оставалась высокой (табл. 1). IL-18 является мощным индуктором выработки IFN γ Т-клетками и NK-клетками и действует как костимулирующий фактор для активации Т-клеток.

После приема препарата Гептор[®] в 3-й группе отмечалось увеличение IL-1 α и уменьшение IL-6, IFN γ , TGF- β 1. Гистологически у животных отмечалось уменьшение выраженности фиброза. По данным M. Pach wka и соавт. [9], IL-6 играет ключевую роль в регенерации печени. В эксперименте было показано, что в течение нескольких часов после частичной гепатэктомии увеличивалась концентрация большого количества митогенов в гепатоцитах. Среди них важную функцию в восстановлении играет IL-6.

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ ФРАКЦИИ ПЕЧЕНИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

TABLE 1. CONTENT OF CYTOKINES IN THE CYTOPLASMIC FRACTION OF THE LIVER OF EXPERIMENTAL ANIMALS

Опытные животные Experienced animals	TNF α , пг/мл TNF α , pg/mL	IL-6, пг/мл IL-6, pg/mL	IL-1 α , пг/мл IL-1 α , pg/mL	IL-18, пг/мл IL-18, pg/mL	IFN γ , пг/мл IFN γ , pg/mL	TGF- β 1, пг/мл TGF- β 1, pg/mL
Интактная группа Intact group	689,3 \pm 44,9	31,44 \pm 3,70	941,2 \pm 77,3	552,3 \pm 19,4	929,3 \pm 83,5	821,2 \pm 18,5
1-я группа 1 st group	1087,8 \pm 56,2	45,7 \pm 4,4 ^a	1144,64 \pm 84,10	589,9 \pm 27,3	1211,2 \pm 79,8	568,4 \pm 16,9
2-я группа 2 nd group	1166,3 \pm 136,2	37,4 \pm 8,5	1288,8 \pm 41,3 ^a	781,1 \pm 44,2 ^{a, e}	861,56 \pm 51,20 ^b	763,9 \pm 17,7
3-я группа 3 rd group	1276,2 \pm 89,7 ^a	13,5 \pm 2,3 ^{a, b, e, f}	1422,55 \pm 98,30 ^{a, e}	612,5 \pm 20,7	681,4 \pm 63,8 ^b	1524,8 \pm 23,7
Введение Гептора [®] течение 7 дней Administration of Heptor [®] for 7 days	1188,9 \pm 145,1	29,7 \pm 2,1 ^b	956,7 \pm 89,7	534,1 \pm 23,4	846,3 \pm 78,4 ^b	1314,5 \pm 21,9
Введение Гептора [®] течение 14 дней Administration of Heptor [®] for 14 days	1472,6 \pm 234,2	79,4 \pm 1,9 ^{a, b, e}	1712,8 \pm 121,5 ^{a, c, e}	744,6 \pm 39,6 ^{a, e}	681,2 \pm 18,7 ^{a, b, c}	1277,8 \pm 19,9
Введение Гептора [®] в течение 21 дня Administration of Heptor [®] for 21 days	1142,1 \pm 68,3	9,2 \pm 1,1 ^{a, b, c, e, f}	1389,9 \pm 103,1 ^{a, e}	581,9 \pm 41,3 ^{c, f}	665,4 \pm 41,1 ^{a, b, c}	946,0 \pm 18,7

Примечание. TNF α (tumor necrosis factor alpha) – фактор некроза опухоли альфа, IL – интерлейкин, IFN γ (interferon gamma) – интерферон гамма, TGF- β 1 (transforming growth factor beta 1) – трансформирующий фактор роста; ^{a, b, c, d, e, f} – статистически значимые различия ($p < 0,05$) с группой (a), (b), (c), (d), (e), (f).

Note. TNF α (tumor necrosis factor alpha), necrosis factor tumors alpha; IL, interleukin; IFN γ (interferon gamma), interferon gamma; TGF- β 1 (transforming growth factor beta 1), transforming growth factor; ^{a, b, c, d, e, f}, statistically significant differences ($p < 0.05$) with group (a), (b), (c), (d), (e), (f).

Обсуждение

После повреждения печени отмечались изменения уровня цитокинов, таких как IL-1 β , IL-6, IL-18, а также факторов роста (TGF- β , TNF). IFN γ значительно увеличивает выработку медиаторов воспаления макрофагами. Клетки Купфера активированные IFN γ , экспрессируют провоспалительные цитокины (IL-6 и TNF α). Эти провоспалительные сигналы могут привести к усилению воспалительной реакции и повреждению печени. Значимо повысился уровень TGF- β в 3-й группе, без приема препарата Гептор®, гистологически отмечались альтеративные изменения в виде дистрофических и некротических изменений, фиброз (портопортальные и портоцентральные септы). Сигнальные пути, инициируемые TGF- β 1, играют важную роль в регуляции различных клеточных процессов: пролиферации, дифференцировке, миграции или гибели клеток [7, 8, 9].

Клетки Купфера, рекрутированные макрофаги, активированные звездчатые клетки и в меньшей степени синусоидальные эндотелиальные клетки печени способны к синтезу TGF- β [6, 7]. Доказано, что высокий уровень TGF- β приводит к трансдифференцировке покоящихся звездчатых клеток печени в миофибробласти и массовой гибели гепатоцитов, что способствует развитию фиброза печени и последующего цирроза.

Заключение

Использование препарата Гептор® у животных 3-й группы способствовало снижению уровня провоспалительных цитокинов IL-18, IL-6, IFN γ в ткани печени и TGF- β . Вследствие их воздействия отмечалось уменьшение воспалительной реакции, деструктивных изменений и степени фиброза, развивалось постепенное восстановление структурной организации печени.

Список литературы / References

1. Адеметионин в терапевтической практике // Медицинский совет, 2018. № 21. С. 106-109. [Ademetionine in therapeutic practice. Gastroenterology. Meditsinskiy sovet = Medical Council, 2018, no. 21, pp. 106-109. (In Russ.)]
2. Альпидовская О.В. Уровень цитокинов IL-6, IL-10, IL-18, TNF α в условиях табачной интоксикации и после введения аминофталгидразида // Медицинская иммунология, 2024. Т. 26, № 3. С. 613-616. [Alpidovskaya O.V. Plasma levels of IL-6, IL-10, IL-18, TNF α under the conditions of tobacco intoxication and after treatment with aminophthalhydrazide. Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2024, Vol. 26, no. 3, pp. 613-616. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-PLO-2907.
3. Глухов А.А., Лаптиёва А.Ю., Андреев А.А., Остроушко А.П. Влияние факторов роста на процесс регенерации печени // Сибирское медицинское обозрение, 2022. № 1. С. 15-22. [Glukhov A.A., Laptieva A.Yu., Andreev A.A., Ostroushko A.P. The effect of growth factor expression on liver regeneration. Sibirskoye meditsinskoye obozreniye = Siberian Medical Review, 2022, no. 1, pp. 15-22. (In Russ.)]
4. Кляритская И.Л., Стилиди Е.И. Роль различных цитокинов в фиброгенезе печени при хронических вирусных гепатитах В и С // Кримський терапевтичний журнал, 2010. № 1. С. 41-45. [Klyaritskaya I.L., Stilidi E.I. The role of various cytokines in liver fibrogenesis during chronic viral hepatitis B and C. Krymskyy terapevtychnyy zhurnal = Crimean Therapeutic Journal, 2010, no. 1, pp. 41-45. (In Russ.)]
5. Малышев И.И., Воробьева О.В., Романова Л.П. Влияние пассивного курения на структуру гепатоцитов и состояние микроциркуляторного русла в печени крыс // Морфология, 2022. Т. 160, № 1. С. 57-63. [Malyshev I.I., Vorobeva O.V., Romanova L.P. The effect of passive smoking on the structure of hepatocytes and the state of the microcirculatory bed in the liver in rats. Morfologiya = Morphology, 2022, Vol. 160, no. 1, pp. 57-63. (In Russ.)]
6. Морозова Т.С., Гришина И.Ф., Ковтун О.П. Цитокиновый профиль при хронических диффузных заболеваниях печени (обзор литературы) // Уральский медицинский журнал, 2018. № 13. С. 119-134. [Morozova T.S., Grishina I.F., Kovtun O.P. Cytokine profile in chronic diffuse liver diseases (literature review). Uralskiy meditsinskiy zhurnal = Ural Medical Journal, 2018, Vol. 13. pp. 119-134. (In Russ.)]
7. Пулатова С.Д., Мироджов Г.К., Азимова С.М. Цитокины при циррозе печени // Медицинский вестник Национальной академии наук Таджикистана, 2017. № 2. С. 94-97. [Pulatova S.D., Mirojov G.K., Azimova S.M. Cytokines at cirrhosis of the liver. Meditsinskiy vestnik Natsionalnoy akademii nauk Tadzhikistana = Medical Bulletin of the National Academy of Sciences of Tajikistan, 2017, no. 2, pp. 94-97. (In Russ.)]

8. Finotto H., Siebler J., Hausding M., Schipp M., Wirtz S., Klein S., Protsvhka M., Doganci A., Lehr H., Trautwein C., Khosravi-Fahr R., Strand D., Lohse A., Galle P.R., Blessing M., Neurath M.F. Severe hepatic injury in interleukin 18 (IL-18) transgenic mice: a key role for IL-18 in regulating hepatocyte apoptosis in vivo. *Gut*, 2004, Vol. 53, pp. 392-400.

9. Pachówka M., Zegarska J., Ciecielski R., Korczak-Kowalska G. The role of IL-6 during the late phase of liver regeneration. *Ann. Transplant.*, 2008, Vol. 13, pp. 15-19.

Автор:

Альпидовская О.В. – к.м.н., доцент кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», г. Чебоксары, Чувашская Республика, Россия

Author:

Alpidovskaya O.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of General and Clinical Morphology and Forensic Medicine, I. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Chuvash Republic, Russian Federation

Поступила 10.06.2024

Принята к печати 14.09.2024

Received 10.06.2024

Accepted 14.09.2024

ВНЕДРЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ МЕТОДОМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОФЛУОРИМЕТРИИ В КЛИНИЧЕСКУЮ ЛАБОРАТОРНУЮ ПРАКТИКУ

Шушкова И.Г.^{1,2}, Панина А.А.^{1,2}, Никулина Л.В.², Павловская В.Н.^{1,2},
Олейникова И.С.^{1,2}

¹ ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет», г. Волгоград, Россия

² ГУЗ «Консультативно-диагностическая поликлиника № 2», г. Волгоград, Россия

Резюме. В последнее время проточная цитофлуориметрия используется как в научных целях, так и в рутинной лабораторной практике. Круг задач, решаемых методом проточной цитофлуориметрии постоянно расширяется, и на данный момент она используется не только для диагностики гемобластозов и оценки эффективности терапии, но и является перспективным методом анализа функционирования различных популяций клеток, в том числе нейтрофилов крови, играющих роль в патогенезе целого ряда иммунодифицитных состояний, сопровождающихся развитием рецидивирующих бактериальных инфекций. Данная работа посвящена внедрению в лабораторную практику метода определения фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов с помощью проточной цитофлуориметрии. При проведении исследования данный тест был сопоставлен с традиционно используемым в лаборатории методом простой визуальной оценки реакции фагоцитоза суспензии пекарских дрожжей. Результаты фагоцитарной активности нейтрофилов, полученные методом проточной флуориметрии, оказались более воспроизводимыми, легко контролировались по сравнению с методом простой визуальной оценки. В ходе работы было установлено, что на результаты исследования параметров фагоцитоза, измеренных методом проточной цитофлуориметрии, не оказывает влияние пол и возраст пациентов. Поэтому были рассчитаны единые границы референтных интервалов для различных категорий пациентов. Клиническая апробация метода определения фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов с помощью проточной цитофлуориметрии была проведена на группе пациентов, страдающих рецидивирующими бактериальными инфекциями. Оценка фагоцитарной активности методом проточной цитофлуориметрии позволила выявить пациента с дефектом фагоцитарного звена, в то время как метод простой визуальной оценки реакции фагоцитоза суспензии пекарских дрожжей оказался в данной ситуации недостаточно чувствительным, и полученные по-

Адрес для переписки:

Шушкова Ирина Геннадьевна
ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный
медицинский университет»
400081, Россия, г. Волгоград, ул. Ангарская, 114а.
Тел.: 8 (937) 566-13-75.
E-mail: i_surok@mail.ru

Address for correspondence:

Irina G. Shushkova
Volgograd State Medical University
114a Angarskaya St
Volgograd
400081 Russian Federation
Phone: +7 (937) 566-13-75.
E-mail: i_surok@mail.ru

Образец цитирования:

И.Г. Шушкова, А.А. Панина, Л.В. Никулина, В.Н. Павловская, И.С. Олейникова «Внедрение исследования фагоцитарной активности нейтрофилов методом проточной цитофлуориметрии в клиническую лабораторную практику» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 457-464.
doi: 10.15789/1563-0625-IOF-3003

© Шушкова И.Г. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

I.G. Shushkova, A.A. Panina, L.V. Nikulina,
V.N. Pavlovskaya, I.S. Oleinikova “Implementation of flow
cytometry technique for evaluation of neutrophil phagocytic
activity in clinical laboratory practice”, Medical Immunology
(Russia)/Meditinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2,
pp. 457-464.

doi: 10.15789/1563-0625-IOF-3003

© Shushkova I.G. et al., 2025

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

DOI: 10.15789/1563-0625-IOF-3003

казатели фагоцитарной активности нейтрофилов не выходили за границы референтных интервалов. Таким образом, метод определения фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов с помощью проточной цитофлуориметрии предпочтителен при использовании его в рутинной лабораторной практике по сравнению с методом простой визуальной оценки реакции фагоцитоза суспензии пекарских дрожжей.

Ключевые слова: фагоцитарная активность, проточная цитофлуориметрия, фагоцитоз пекарских дрожжей, референтный интервал, иммунодефицит

IMPLEMENTATION OF FLOW CYTOMETRY TECHNIQUE FOR EVALUATION OF NEUTROPHIL PHAGOCYTIC ACTIVITY IN CLINICAL LABORATORY PRACTICE

Shushkova I.G.^{a, b}, Panina A.A.^{a, b}, Nikulina L.V.^b, Pavlovskaya V.N.^{a, b},
Oleinikova I.S.^{a, b}

^a Volgograd State Medical University, Volgograd, Russian Federation

^b Consultative and Diagnostic Polyclinic No. 2, Volgograd, Russian Federation

Abstract. Recently, flow cytometry (FC) has been used both for scientific purposes and in routine laboratory practice. The range of tasks solved by the FC technique is constantly expanding, and flow cytometry is currently used not only for the diagnosis of hemoblastoses and evaluation of therapeutic efficiency, but also is a promising method for analyzing functions of various cell populations, including blood neutrophils, which play a role in pathogenesis of different immunodeficiency conditions accomplished by recurrent bacterial infections. This work concerns implementation of an FC-based method for determining phagocytic activity of neutrophil granulocytes into laboratory practice. In the course of this study, this test was compared with a traditional technique used in laboratories, i.e., simple visual assessment of phagocytosis reaction of baker's yeast in suspension. Determining the phagocytic activity of neutrophils by means of flow cytometry proved to be more reproducible and easily controlled when compared to simple visual assessment technique. We have found that the results of studying the phagocytosis parameters measured by FC-based technique were not influenced by gender and age of the patients. Therefore, uniform ranges for the reference intervals were calculated for different categories of patients. Clinical testing of the FC-based method for determining phagocytic activity of neutrophils was performed in a group of patients suffering from recurrent bacterial infections. Assessment of phagocytic activity by FC approach enabled us to identify a patient with phagocytosis deficiency. Meanwhile, the method of simple visual phagocytosis with a suspension of baker's yeast showed inferior sensitivity in this case, and the obtained indices of neutrophils' phagocytic activity did not exceed the reference intervals. Thus, the FC-based method of determining phagocytic activity of neutrophils using FC approach is preferable when used in routine laboratory practice as compared with the method of simple visual assessment of baker's yeast phagocytosis.

Keywords: phagocytic activity, flow cytometry, baker's yeast phagocytosis, reference interval, immune deficiency

Введение

Нейтрофильные гранулоциты – это клетки, которые выполняют различные функции в реализации адаптивного и врожденного иммунитета. Они способны синтезировать различные белки, которые обладают ферментативной активностью, антибактериальными и регуляторными свойствами, выполняют рецепторную функ-

цию, обеспечивая взаимосвязи нейтрофилов с микроокружением и другими клетками иммунной системы. Однако основная функция данных клеток – фагоцитарная, заключается захвате и последующем уничтожении бактерий, вирусов, грибов и пр. Поэтому они играют важную роль в патогенезе многих инфекционно-воспалительных (в том числе сепсис), аллергических, аутоим-

мунных, неопластических заболеваний [4]. Для пациентов, страдающих данными заболеваниями, исследование фагоцитарной активности нейтрофилов клинически целесообразно. Методы оценки фагоцитоза известны достаточно давно, но внедренных в рутинную лабораторную практику – относительно ограниченное количество, прежде всего это простые и доступные методы с визуальной оценкой реакции фагоцитоза, но стандартизация данных тестов невозможна [2]. Включение в программу неонатального скрининга новорожденных оценки риска развития первичных иммунодефицитов путем определения TREC и KREC привело к необходимости внедрения в лабораторную практику более надежных и чувствительных методов исследования фагоцитарного звена иммунитета, так как в 10–20% случаев первичные иммунодефицитные состояния связаны с дефектом фагоцитоза [3].

ГУЗ «Консультативно-диагностическая поликлиника № 2» оказывает специализированную иммунологическую и аллергологическую помощь населению г. Волгограда и Волгоградской области в том числе, с 2023 года проводит консультирование и обследование лиц, подозреваемых в наличии первичных иммунодефицитных состояний по результатам проведения скрининговых исследований TREC и KREC. Поэтому возникла необходимость внедрения исследования фагоцитарной активности нейтрофилов.

Материалы и методы

В работе использовались образцы гепаринизированной цельной крови условно здоровых добровольцев (55 человек, в возрасте от 2 до 67 лет: 24 женщины и 31 мужчина), а также пациентов, страдающих рецидивирующими бактериальными инфекциями (6 человек). Группа здоровых добровольцев включала 28 взрослых человек (15 мужчин, 13 женщин) и 27 детей (15 мальчиков, 13 девочек).

В лаборатории ГУЗ «Консультативно-диагностическая поликлиника № 2» с 2003 года для определения фагоцитарной активности нейтрофилов использовали прямой визуальный метод оценки реакции фагоцитоза суспензии пекарских дрожжей в модификации [2]. Приготовление 1%-ной суспензии пекарских дрожжей проводили путем разведения свежих дрожжей в 0,9%-ном растворе хлорида натрия в соотношении 1:5. Затем взвесь выдерживали на водяной бане в течение 60 минут. После охлаждения несколько раз отмывали полученную смесь физиологическим раствором до получения прозрачной надосадочной жидкости

и готовили 1%-ную взвесь дрожжевых клеток. Далее в несенсибилизированном полистероловом 96-луночном планшете смешивали в равном соотношении 1%-ную взвесь пекарских дрожжей и крови пациента. Полученную смесь инкубировали при 37 °C в течение 30 минут. После чего проводили приготовление мазка с последующей окраской по Романовскому–Гимзе. Оценку фагоцитарной активности проводили по двум показателям: фагоцитарное число (ФЧ) и фагоцитарный показатель (ФП). Расчет проводили по следующим формулам:

$$\text{ФП (фагоцитарный показатель)} = \text{Д/НГ},$$

где Д – количество фагоцитированных дрожжевых клеток, НГ – количество «активных» нейтрофилов.

$$\text{ФЧ (фагоцитарное число)} = \text{НГ}/100,$$

где НГ – число фагоцитирующих нейтрофилов на 100 подсчитанных нейтрофилов.

Для оценки фагоцитарной активности методом проточной цитофлуориметрии использовался коммерческий набор FagoFlowEx® Kit («ЭКСБИО Прага, а.с.», Чешская Республика). Детекцию образующегося в ходе реакции флуоресцентного родамина 123 осуществляли с помощью проточного цитофлуориметра FS500 (Beckman Coulter, США). На основании полученных данных рассчитывали индекс стимуляции (ИС), который равен отношению средней интенсивности флуоресценции активированных гранулоцитов стимулированных образцов и отрицательных контролей.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 7.0 и Microsoft Excel. Расчет себестоимости методов исследования осуществлялся в соответствии с приложением 13 Приказа № 380 Минздрава РФ от 25.12.97 г. Проверка соответствия распределений распределению Гаусса (по критерию Шапиро–Уилка) показала, что распределения показателей в группе здоровых лиц значительно отличались от нормального. Поэтому наличие различий между несвязанными выборками проверяли с помощью критерия Манна–Уитни. В качестве референсного интервала (РИ) использовали значения 2,5% и 97,5% перцентилей.

Результаты и обсуждение

Согласно литературным данным, для оценки фагоцитарной активности на первом этапе осуществляют активацию нейтрофилов с помощью различных микроорганизмов, частиц и пр. А затем проводят детекцию реакции фагоцитоза, используя методы световой микроскопии, хемилю-

менисценции, проточной цитофлуориметрии и пр. [1]. Анализ публикаций в базе PubMed показал, что в последние годы интерес исследователей к определению параметров фагоцитоза методом проточной цитофлуориметрии растет и для него разработаны коммерческие наборы, прошедшие процедуру валидации методики и имеющие документы, разрешающие их использование в клинической практике.

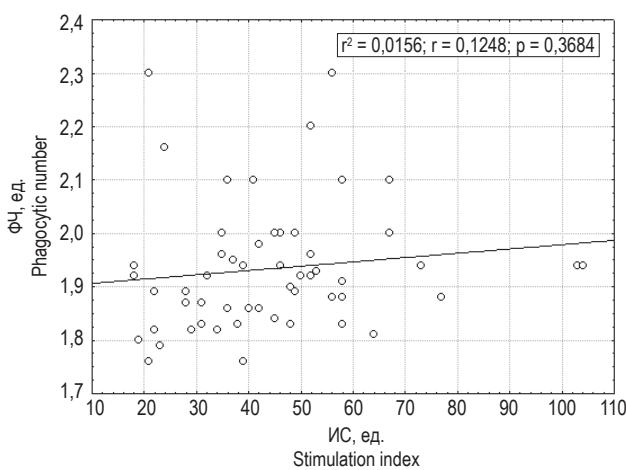
Для внедрения нового теста в лабораторную практику необходимо сопоставить его с существующей на данный момент методикой, оценить преимущества и недостатки и затем принимать обоснованное решение. Параметрами для сопоставления могут служить аналитические характеристики метода, себестоимость, трудоемкость.

В ходе исследования была определена фагоцитарная активность 54 образцов гепаринизированной цельной крови методом прямой визуальной оценки реакции фагоцитоза суспензии пекарских дрожжей и методом проточной цитофлуориметрии. Результаты корреляционного анализа представлены на рисунке 1. При сопоставлении результатов, полученных двумя методами, статистически значимых взаимосвязей параметров (индекса стимуляции и фагоцитарного числа – рисунок 1Б, индекса стимуляции и фагоцитарного показателя – рисунок 1А) обнаружено не было.

Определение основных аналитических характеристик, таких как сходимость, воспроизведимость и правильность, предполагает наличие доступных стабильных контрольных материалов, а в случае фагоцитоза таким материалом могут быть только образцы, содержащие функционально активные нейтрофильные гранулоциты. Таким образом, оценка воспроизведимости и правильности не проводилась в связи с отсутствием стабильного биоматериала. В таблице 1 представлены основные характеристики методов исследования фагоцитарной активности, используемых в ГУЗ «Консультативно-диагностическая поликлиника № 2».

Для оценки экономической составляющей внедрения нового теста была рассчитана стоимость 1 исследования. Она составила 285 руб. для исследования фагоцитарной активности методом прямой визуальной оценки и 1875 руб. при проведении данного исследования методом проточной цитофлуориметрии. Кроме того, прямой визуальный метод не требует дорогостоящего оборудования и высококвалифицированного медицинского персонала, быстр и прост. Однако данный тест уступает по своим аналитическим характеристикам, оценка получаемых результатов субъективна, контроль качества не разработан, что существенно ограничивает использование данной методики на современном этапе.

А (А)



Б (Б)

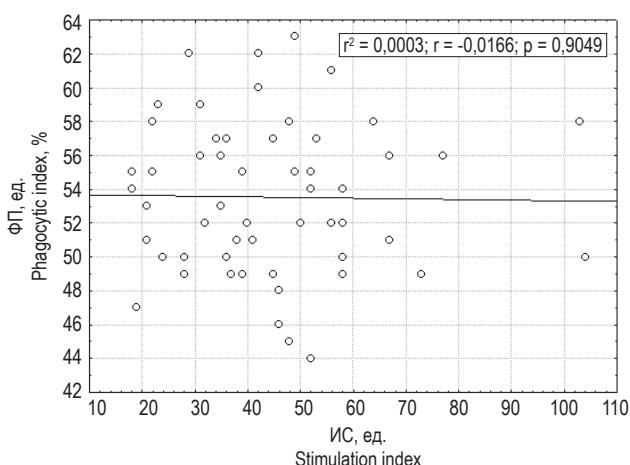


Рисунок 1. Взаимосвязь показателей фагоцитоза, полученных методом прямой визуальной оценки реакции фагоцитоза суспензии пекарских дрожжей и методом проточной цитофлуориметрии

Примечание. А – взаимосвязь индекса стимуляции и фагоцитарного числа. Б – взаимосвязь индекса стимуляции и фагоцитарного показателя.

Figure 1. Relationship between phagocytosis indicators obtained by direct visual assessment of the phagocytosis reaction of a suspension of baker's yeast and the method of flow cytometry

Note. A, the relationship between the stimulation index and the phagocytic number. B, the relationship between the stimulation index and the phagocytic index.

ТАБЛИЦА 1. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ГУЗ «КОНСУЛЬТАТИВНО-ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ПОЛИКЛИНИКА № 2»

TABLE 1. COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF PHAGOCYTIC ACTIVITY RESEARCH METHODS USED IN THE CONSULTATIVE AND DIAGNOSTIC POLYCLINIC № 2

Наименование параметра Name of the parameter	Прямой визуальный метод Direct visual method	Метод проточной цитофлуориметрии Flow cytometry method
Упоминание в литературе за период 2014-2024 год (согласно данным PubMed) References in the literature for the period 2014-2024 (according to PubMed data)	5	717
Сходимость, % Coefficient of variation inter-assay, %	28,4	7,7
Себестоимость исследования, руб. Cost of the study, RUB	285	1875
Трудозатраты, мин Labor costs, min	20	45
Оборудование Equipment	Микроскоп Microscope	Проточный цитофлуориметр Flow cytometer
Квалификация медицинского персонала Qualification of medical personnel	Нет требований No requirements	Требуется высококвалифицированный медицинский персонал (врач КЛД, биолог) Highly qualified medical personnel (KLD doctor, biologist)

До использования метода в клинической практике требуется определить границы референтного интервала. При анализе фагоцитарной активности нейтрофилов методом проточной цитофлуориметрии статистически значимых различий показателей индекса стимуляции нейтрофилов у мужчин и женщин обнаружено не было ($p = 0,734$). Кроме того, результаты определения индекса стимуляции не коррелировали с возрастом пациента ($R^2 = 0,011$, при $p = 0,81$). Таким образом, согласно полученным данным, было установлено, что границы референтного интервала фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови, измеренной методом проточной цитофлуориметрии, составляли 20,4-74,2 ед., и их можно использовать для пациентов различных возрастных групп вне зависимости от пола.

Клиническая апробация метода проводилась среди пациентов, страдающих рецидивирующими бактериальными инфекциями. Анализ фагоцитарной активности у 5 пациентов не выходил за границы референтного интервала. Тем не менее у одного пациента С. 25 лет данный показатель индекса стимуляции составил 6 ед. Из анамнеза пациента следует, что он страдает частыми про-

студными заболеваниями, хроническим риносинуситом. При осмотре было выявлено затрудненное носовое дыхание без отделяемого, на коже многочисленные папилломы. Данному пациенту было проведено развернутое лабораторное обследование, результаты которого представлены в таблице 2. При анализе иммунограммы пациента С. обнаружено снижение абсолютного количества Т-цитотоксических лимфоцитов и NK-клеток. Интересным является тот факт, что при существенном снижении индекса стимуляции показатели фагоцитоза, измеренные прямым визуальным методом, не выходят за границы референтного интервала. Вероятно, отличие результатов фагоцитарной активности, полученных двумя методами, связаны различными принципами, лежащими в основе данных тестов. Согласно литературным данным, прямой визуальный метод оценки реакции фагоцитоза суспензии пекарских дрожжей используют при выявлении дефектов компонента С5, а определение фагоцитарной активности методом проточной цитофлуориметрии предполагает оценку окислительного взрыва в гранулоцитах после стимуляции их *E. coli* [2, 5]. Различие механизмов, на

ТАБЛИЦА 2. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТА С., 1998 г. р.

TABLE 2. RESULTS OF A LABORATORY EXAMINATION OF A PATIENT BORN IN 1998

Показатель Laboratory test	Результат Result	Референтный интервал Reference range
Риноцитограмма Rhinocytogram	Клетки эпителия 12 в п/з 12 epithelial cells in the field of view	—
IgA в крови, г/л Level IgA in blood, g/L	1,6	0,7-4,0
IgM в крови, г/л Level IgM in blood, g/L	1,96	0,4-2,3
IgG в крови, г/л Level IgG in blood, g/L	12,05	7-16
IgE в крови, МЕ/мл Level IgE in blood, U/mL	11,9	0-87
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$ Leukocytes, $\times 10^9/\text{L}$	6,4	3,8-8,6
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$ Red blood cells, $\times 10^{12}/\text{L}$	4,8	3,5-5,2
Гемоглобин, г/л Hemoglobin, g/l	150	110-150
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$ Platelets, $\times 10^9/\text{L}$	256	140-360
Нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$ Neutrophils, $\times 10^9/\text{L}$ %	4,54 71	1,52-6,62 40-77
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$ Lymphocytes, $\times 10^9/\text{L}$ %	1,49 23	0,72-3,35 19-39
Моноциты, $\times 10^9/\text{л}$ Monocytes, $\times 10^9/\text{L}$ %	0,29 4,5	0,11-1,03 3-12
Эозинофилы, $\times 10^9/\text{л}$ Eosinophils, $\times 10^9/\text{L}$ %	0,05 0,8	0,03-0,60 1-7
Базофилы, $\times 10^9/\text{л}$ Basophils, $\times 10^9/\text{L}$ %	0,02 0,4	0,00-0,11 0-1
Скорость оседания эритроцитов по Вестергрену, мм/ч Erythrocyte sedimentation rate according to Westergren, mm/h	8	0-20
Т-лимфоциты (CD3 ⁺), кл/мкл T lymphocytes, cells/ μL %	1208 81	1100-1900 60-85
В-лимфоциты (CD22 ⁺), кл/мкл B lymphocytes, cells/ μL %	89 6	50-600 1-15
NK-клетки, кл/мкл NK cells, cells/ μL %	104 7	6-29 200-600
Т-хелперы, кл/мкл T helper cells, cells/ μL %	746 50	700-1400 29-59

Таблица 2 (окончание)
Table 2 (continued)

Показатель Laboratory test	Результат Result	Референтный интервал Reference range
Т-цитотоксические, кл/мкл Cytotoxic T cells, cells/ μ L %	418 28	500-1100 19-46
Иммунорегуляторный индекс, ед. Immunoregulatory index, units CD4 $^{+}$ /CD8 $^{+}$ ratio	1,79	1,0-1,5
ФП, % Phagocytic index, %	42	40-90
ФЧ, ед. Phagocytic number, units	2,5	1,0-2,5
ИС, ед. Stimulation index, units	6	20,4-74,2

которых основаны данные методы, объясняет и отсутствие корреляционной взаимосвязи между индексом стимуляции и показателями фагоцитоза, полученными методом простой визуальной оценки, описанными выше.

Заключение

Таким образом, определение фагоцитарной активности нейтрофилов методом проточной ци-

тофлуориметрии характеризуется целым рядом преимуществ, среди которых хорошие аналитические характеристики, возможность проведения контроля качества для каждого пациента, высокая чувствительность и надежность. В совокупности это дает право рекомендовать данный метод для проведения скрининговых исследований фагоцитарного звена у пациентов с первичными иммунодефицитами.

Список литературы / References

1. Хайдуков С.В., Зурочка А.В. Возможности проточной цитофлюориметрии в диагностике инфекционных заболеваний. Часть 3 // Инфекция и иммунитет, 2011. Т. 1, № 3. С. 221-230. [Khaidukov S.V., Zurochka A.V. Opportunities of the flow cytometry in diagnostics of infectious diseases. Part 3. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2011, Vol. 1, no. 3, pp. 221-230. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2011-3-221-230.
2. Фриммель Г. Иммунологические методы. М.: Медицина, 1987. 472 с. [Frimmel G. Immunological methods]. Moscow: Meditsina, 1987. 472 p.
3. Dinauer M.C. Primary immune deficiencies with defects in neutrophil function. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program*, 2016, Vol. 2016, Iss. 1, pp. 43-50.
4. Liew P.X., Kubes P. The neutrophil's role during health and disease. *Physiol. Rev.*, 2019, Vol. 99, Iss. 2, pp. 1223-1248.
5. Pilania R.K., Rawat A., Shandilya J., Arora K., Gupta A., Saikia B., Sharma M., Kaur G., Singh S. Pediatric systemic lupus erythematosus: phagocytic defect and oxidase activity of neutrophils. *Pediatr. Res.*, 2022, Vol. 92, pp. 1535-1542.

Авторы:

Шушкова И.Г. – к.м.н., ассистент кафедры лучевой, функциональной и лабораторной диагностики, Институт непрерывного медицинского и фармацевтического образования ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»; заведующая лабораторией ГУЗ «Консультативно-диагностическая поликлиника № 2», г. Волгоград, Россия

Authors:

Shushkova I.G., PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Radiation, Functional and Laboratory Diagnostics, Institute of Continuing Medical and Pharmaceutical Education, Volgograd State Medical University; Head of Laboratory, Consultative and Diagnostic Polyclinic No. 2, Volgograd, Russian Federation

Панина А.А. – д.м.н., профессор кафедры лучевой, функциональной и лабораторной диагностики, Институт непрерывного медицинского и фармацевтического образования ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»; главный врач ГУЗ «Консультативно-диагностическая поликлиника № 2», г. Волгоград, Россия

Никулина Л.В. – врач клинической лабораторной диагностики ГУЗ «Консультативно-диагностическая поликлиника № 2», г. Волгоград, Россия

Павловская В.Н. – ассистент кафедры лучевой, функциональной и лабораторной диагностики, Институт непрерывного медицинского и фармацевтического образования ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»; заведующая лабораторией ГУЗ «Консультативно-диагностическая поликлиника № 2», г. Волгоград, Россия

Олейникова И.С. – ассистент кафедры лучевой, функциональной и лабораторной диагностики, Институт непрерывного медицинского и фармацевтического образования ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»; врач клинической лабораторной диагностики ГУЗ «Консультативно-диагностическая поликлиника № 2», г. Волгоград, Россия

Поступила 23.05.2024

Отправлена на доработку 07.10.2024

Принята к печати 14.09.2024

Panina A.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Radiation, Functional and Laboratory Diagnostics, Institute of Continuing Medical and Pharmaceutical Education, Volgograd State Medical University; Chief Medical Officer, Consultative and Diagnostic Polyclinic No. 2, Volgograd, Russian Federation

Nikulina L.V., Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Consultative and Diagnostic Polyclinic No. 2, Volgograd, Russian Federation

Pavlovskaya V.N., Assistant Professor, Department of Radiation, Functional and Laboratory Diagnostics, Institute of Continuing Medical and Pharmaceutical Education, Volgograd State Medical University; Head of Laboratory, Consultative and Diagnostic Polyclinic No. 2, Volgograd, Russian Federation

Oleinikova I.S., Assistant Professor, Department of Radiation, Functional and Laboratory Diagnostics, Institute of Continuing Medical and Pharmaceutical Education, Volgograd State Medical University; Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Consultative and Diagnostic Polyclinic No. 2, Volgograd, Russian Federation

Received 23.05.2024

Revision received 07.10.2024

Accepted 14.09.2024

Абакушина Е.В.	297	Михайлова В.А.	445
Аблаева Р.Н.	417	Морозова Я.В.	303
Агеева Е.С.	417	Мун С.А.	423
Албаханса М.И.	395	Мушкина Т.Ю.	407
Альпидовская О.В.	451	Настаева Н.Ю.	395
Андреева Н.П.	395	Наумов Д.Е.	351
Балышева К.Д.	297	Немцев К.К.	369
Бекетова М.В.	297	Никулина Л.В.	457
Бекпергенова А.В.	437	Олейникова И.С.	457
Белевич А.С.	245	Оленникова Р.В.	423
Белоглазов В.А.	265, 417	Онучина И.Г.	417
Беспалова О.Н.	445	Павлова Е.Н.	429
Бондаренко А.Л.	317	Павловская В.Н.	457
Бондаренко Т.А.	437	Панина А.А.	457
Бублей К.В.	265	Пасова И.А.	407
Бухарин О.В.	437	Перельман Ю.М.	351
Воронина Е.Н.	423	Перунова Н.Б.	437
Вшивков В.А.	343	Пирогов А.Б.	351
Гареева Ю.В.	423	Пирогова Н.А.	351
Гассан Д.А.	351	Поленок Е.Г.	423
Гельм Ю.В.	407	Поливанова Т.В.	343
Гималдинова Н.Е.	311	Полищук В.Б.	395
Гладкова Л.С.	395	Приходько А.Г.	351
Глушков А.Н.	423	Протасов А.Д.	361
Гордеева Л.А.	423	Путков С.Б.	479
Гребенкина П.В.	445	Пухаева Е.Г.	303
Гривцова Л.Ю.	407	Радаев С.М.	303
Гринь А.А.	303	Раичич С.Р.	395
Давыдова Н.В.	479	Решетняк Д.В.	479
Дагиль Ю.А.	395	Румянцев С.А.	297
Дмитраченко М.Н.	369	Рыбалкина Е.Ю.	429
Ерохина М.В.	429	Савельев Р.В.	303
Жукова А.А.	417	Сайфутдинов К.А.	395
Журиков Р.В.	297	Сельков С.А.	245, 445
Иванова Е.В.	437	Скупневский С.В.	303
Иванов С.А.	407	Смирнова О.В.	275
Казаков С.П.	479	Смирнов В.А.	303
Камелева А.А.	395	Соколов Д.И.	245, 445
Каприн А.Д.	407	Соловьева И.Л.	395
Качнова А.С.	395	Тарасова Е.К.	429
Конищева А.Ю.	361	Тарасов Р.В.	429
Константинова Т.В.	407	Храпунова И.А.	395
Королев И.Б.	369	Чайникова И.Н.	437
Костинос А.М.	361	Шушкова И.Г.	457
Костинос А.М.	395	Щербакова Е.А.	429
Костинос М.П.	361, 369, 395	Юшкова С.В.	395
Крюкова Н.О.	395	Ярмолинская М.И.	245
Лазарева А.М.	275	Яцков И.А.	265, 417
Лепеха Л.Н.	429	Abbas Khalili	329
Линок А.В.	395	Ahmed Hebatalla Abd Elmaksoud	335
Ли Ю.А.	369	Bamdad Sadeghi	329
Локтионова М.Н.	395	Eissa Samar Ahmed	335
Любезнова О.Н.	317	Fatemeh Azadi Talab Davoudabadi	329
Любовцева Л.А.	311	Keshk Rabab Alaa Eldin	335
Маркелова Е.В.	369	Saleh Sally Ali	335
Мачарадзе Д.Ш.	287		

аброцитиниб.....	287	семейная предрасположенность.....	343
адоптивная терапия.....	297	система «мать – плод».....	424
адьювантная гриппозная вакцина.....	396	системная красная волчанка	335
анафилактогенная активность.....	304	скрининг.....	438
антитела	370	СРБ	418
астма	362	табачная интоксикация	451
атопический дерматит.....	287	трофобласт.....	445
атопия	362	туберкулез.....	430
безопасность.....	396	туберкулема	311
беременность.....	445	упадацитиниб	287
бесклеточные супернатанты	438	фагоцитарная активность	458
биологический маркер	335	фагоцитоз	304
бифидобактерии.....	438	фагоцитоз пекарских дрожжей	458
бронхиальная астма.....	351	фенотип	275, 297, 408
вакцинация.....	370	холод-индуцированный бронхоспазм	351
возраст	343	холодовая гиперреактивность дыхательных путей ..	351
воспаление.....	430	хроническая крапивница	329
врожденные пороки развития у плода	424	хронический риносинусит	275
гастрит	343	ЦИК	408
ген HLA-G	424	цитокины	343, 362, 370, 430, 438, 445
генерация NK-клеток	297	эндометриоз	246
Гептор.....	451	эндотипы	275
гиперлипидемия.....	329	эндотипы астмы	362
гиперчувствительность немедленного типа.....	304	эндотоксин	265
грипп.....	396	эффективность вакцины	396
гуморальный иммунитет	304	юноши	370
дети	343	язвенная болезнь	343
дупилумаб	287	4-1BB	246
иммунный ответ	275	II класс	318
иммуногенность	396	BPI	265
иммунодефицит	458	CD4-лимфоциты	311
иммунорегулирующий индекс	311	CD8-лимфоциты	311
иммунотоксичность	304	CD79a.....	311
ингибиторы малых молекул.....	287	CD163	335
исходы заболевания	318	COVID-19	370, 396
ИФА.....	408	CTLA-4	246
клеточный иммунитет	304	Fascin	311
клешевой энцефалит	318	GITR	246
клинические формы	318	HLA	318
контрольные точки иммунитета	246	IFN γ	362, 380, 408, 451
культтивирование	408	IgE	362
лактобактерии	438	IL-1 α	451
лечение	287	IL-2	408, 418
липидный профиль сыворотки крови	329	IL-4	287
маркеры NK-клеток	297	IL-6	380, 451
межклеточные взаимодействия	445	IL-8	380
микобактерии	311	IL-10	380
микроокружение	445	IL-13	287
мононуклеарные клетки пуповинно-плацентарной крови человека	304	IL-15	408
натуральные киллеры	297	IL-17A	380
неаллергический фенотип астмы	351	IL-18	380, 451
невынашивание беременности	424	LAG-3	246
нефрит	335	LBP	265
новая коронавирусная инфекция	418	LPS	265
пандемия	370	NK-клетки	445
патогенез	275	P-gp	430
патология	424	PD-1	246
пневмококковая вакцина	362	SARS-CoV-2	380, 418
полиморфизм	418, 424	T-330G	418
полипозный риносинусит	275	TGF- β	445
постбиотики	438	TGF- β 1	451
пробиотики	438	Th1/Th17-цитокины	351
прогноз	318	Th2-цитокины	351
проницаемость	418	TIGIT	246
проточная цитофлуориметрия	458	Tim-3	246
ПЦР	430	TNF α	451
ревматоидный артрит	265	TNF α -T	408
референтный интервал	458	YB-1	430

ИЛЛЮСТРАЦИИ К СТАТЬЕ «ДИСБАЛАНС ЛИПОПОЛИСАХАРИД-СВЯЗЫВАЮЩИХ СИСТЕМ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОЕ ЗВЕНО ПАТОГЕНЕЗА РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА» (АВТОРЫ: ЯЦКОВ И.А., БЕЛОГЛАЗОВ В.А., БУБЛЕЙ К.В. [с. 265-274])

ILLUSTRATIONS FOR THE ARTICLE "IMBALANCE OF LIPOPOLYSACCHARIDE-BINDING SYSTEMS AS A POTENTIAL LINK IN PATHOGENESIS OF RHEUMATOID ARTHRITIS" (AUTHORS: YATSKOV I.A., BELOGLAZOV V.A., BUBLEY K.V. [pp. 265-274])

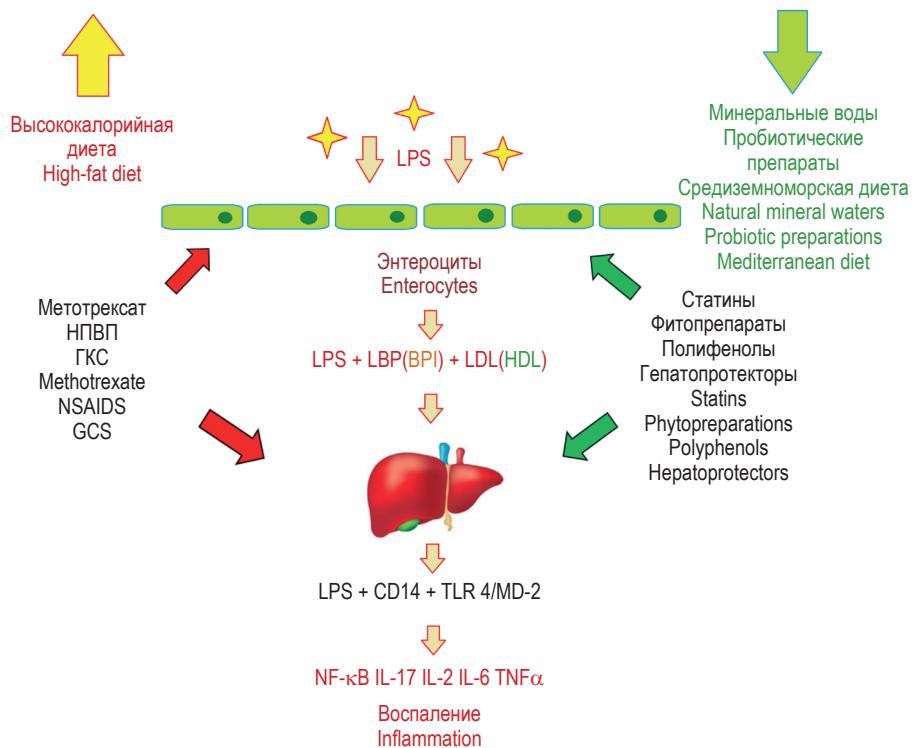


Рисунок 1. Клиренс и роль LPS в регуляции воспаления

Figure 1. Clearance and role of LPS in the regulation of inflammation

ИЛЛЮСТРАЦИИ К СТАТЬЕ «КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ МУЛЬТИФУНКЦИОНАЛЬНОГО БЕЛКА YB-1, ЦИТОКИНОВ ВОСПАЛЕНИЯ И БЕЛКА ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ P-GP В ОПЕРАЦИОННОМ МАТЕРИАЛЕ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ» (АВТОРЫ: ЕРОХИНА М.В., ПАВЛОВА Е.Н., ЩЕРБАКОВА Е.А., РЫБАЛКИНА Е.Ю., ЛЕПЕХА Л.Н., ТАРАСОВ Р.В., ТАРАСОВА Е.К. [с. 429-436])

ILLUSTRATIONS FOR THE ARTICLE "CORRELATIONS BETWEEN EXPRESSION LEVELS OF GENES ENCODING MULTIFUNCTIONAL YB-1 PROTEIN, INFLAMMATORY CYTOKINES AND MULTIDRUG RESISTANCE P-GP PROTEIN IN SURGICAL MATERIAL FROM PATIENTS WITH LUNG TUBERCULOSIS" (AUTHORS: EROKHINA M.V., PAVLOVA E.N., SCHERBAKOVA E.A., RYBALKINA E.YU., LEPEKHA L.N., TARASOV R.V., TARASOVA E.K. [pp. 429-436])

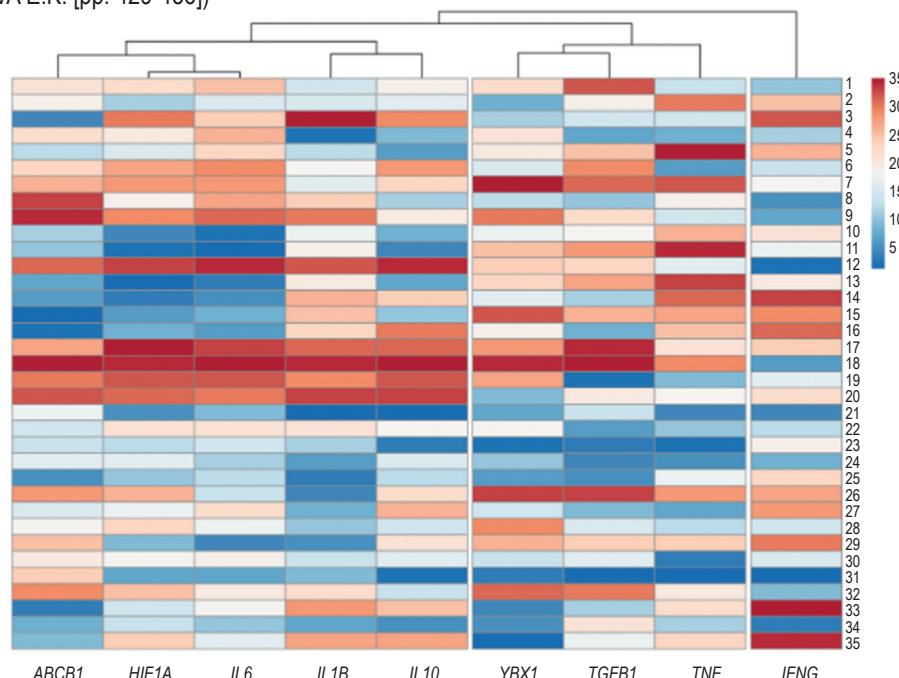


Рисунок 1. Тепловая карта корреляции экспрессии генов в легких больных туберкулезом и кластерный иерархический анализ

Примечание. Использовалась трехцветная шкала, где синий цвет обозначал низкий, белый – средний, красный – высокий относительный уровень экспрессии гена. Тепловая карта выполнена на основе преобразованных по рангу относительных экспрессий генов анализа.

Figure 1. Gene expression correlation heat map in lungs of tuberculosis patients and cluster hierarchical analysis

Note. A three-color scale was used, where blue color denoted low; white, medium; red, high relative gene expression level. The heat map was compiled based on transformed rank expression analysis of genes.

ПОДПИСНОЙ ИНДЕКС:
УРАЛ-ПРЕСС – 42311

ISSN 1563-0625



9 771563 062002 >