

Том 23, № 3. С. 237-368

2020

Официальный журнал
Российского Научного Общества Иммунологов

РОССИЙСКИЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ



RUSSIAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY

Official Journal
of Russian Society of Immunology

Volume 23
Number 3

2020

Российский иммунологический журнал
Russian Journal of Immunology

ISSN 1028-7221 (Print)

Войти

ENG | РУС

РОССИЙСКИЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Расширенный поиск

ГЛАВНАЯ | О ЖУРНАЛЕ | ТЕКУЩИЙ ВЫПУСК | АРХИВЫ | ОБЪЯВЛЕНИЯ

Журнал является официальным изданием Российского научного общества иммунологов.
ISSN 1028-7221
Основан в 1996 г.
Периодичность: 4 раза в год
Главный редактор: академик РАН В.А. Черешнев
Включен в перечень изданий, рекомендованных ВАК для публикации научных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата и

[Читать далее](#)

Отправить статью

Правила для авторов

Редакционная коллегия

Редакционный совет

Рецензирование

Этика публикаций

ТЕКУЩИЙ ВЫПУСК

Том 22, № 1 (2019)

Скачать выпуск PDF

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ОБ ОСОБЕННОСТЯХ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ ГОЛОГО ЗЕМЛЕКОПА

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

[PDF \(RUS\)](#)

5-12 4

[Аннотация](#)

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

А.А. Акеев, Е.А. Блинова, И.И. Долгушин

[PDF \(RUS\)](#)

13-23 1

[Аннотация](#)

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

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

[PDF \(RUS\)](#)

24-30

[Аннотация](#)

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

ПОПУЛЯРНЫЕ СТАТЬИ

ОБ ОСОБЕННОСТЯХ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ ГОЛОГО ЗЕМЛЕКОПА

Том 22, № 1 (2019)

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

Том 22, № 1 (2019)

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

Том 22, № 1 (2019)

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯТЫ КАНДИДАТНОЙ ДНК-ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИЧ-1 СУБТИПА А

Том 22, № 2-1 (2019)

ПРЕПАРАТЫ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ В ОНКОЛОГИИ

Том 22, № 2-1 (2019)

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

Том 22, № 2-1 (2019)

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

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

«Российский иммунологический журнал» входит в «Перечень российских рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК РФ, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук», а также в базу Russian Science Citation Index (RSCI), полностью интегрированную с платформой Web of Science

РОССИЙСКОЕ НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО ИММУНОЛОГОВ
(РНОИ)

РОССИЙСКИЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

июль-сентябрь

2020, том 23

№. 3

Основан в 1996 году

Главный редактор

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

Заместитель главного редактора

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

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

Редакционная коллегия

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Села Михаэль – профессор, Институт наук Вейцмана, Реховот, Израиль

Сенников Сергей Витальевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярной иммунологии НИИ фундаментальной и клинической иммунологии Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия

Симбирцев Андрей Семенович – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник ГосНИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

Сотникова Наталья Юрьевна – доктор медицинских наук, профессор Ивановской государственной медицинской академии, заведующая научно-практическим отделением клинической иммунологии Ивановского НИИ материнства и детства, Иваново, Россия

Стокингер Ганс – Венский медицинский университет, Центр патофизиологии, инфекционологии и иммунологии, Вена, Австрия

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

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

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

Ответственные секретари:

Ризопулу А.П., д.б.н. (Москва)

Ракитянская Н.В. (Санкт-Петербург)

E-mail: rusimmun@gmail.com

Редактор перевода:

Исаков Д.В., к.м.н. (Санкт-Петербург)

Редактор электронной версии:

Ерофеева В.С. (Санкт-Петербург)

Редакция: тел./факс (812) 233-08-58

Адрес для корреспонденции:

Редакция журнала «Российский иммунологический журнал»

197101, Санкт-Петербург, а/я 130

Электронная версия: www.rusimmun.ru

© – Российский иммунологический журнал

Журнал зарегистрирован Министерстве РФ по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций (свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ №77-11525 от 04.01.2002 г.)

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

Шварц Герберт – Школа медицины Йонг Лу Лин Национального университета Сингапура

Редакционный совет

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

Балмасова Ирина Петровна – доктор медицинских наук, профессор, Российский университет дружбы народов, кафедра аллергологии и иммунологии ФПК; Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова, заведующая лабораторией патогенеза и методов лечения инфекционных заболеваний, Москва, Россия

Гариб Фируз Юсупович – доктор медицинских наук, профессор, Российская медицинская академия последипломного образования, кафедра иммунологии; Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра иммунологии; Первый МГМУ имени С.М. Сеченова, кафедра клинической иммунологии и аллергологии, Москва, Россия

Глушков Андрей Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, директор Института экологии человека Федерального исследовательского Центра угля и углехимии СО РАН, Кемерово, Россия

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Спешиашвили Реваз Исмаилович – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, академик Академии наук Грузии, заведующий кафедрой аллергологии и иммунологии Российского университета дружбы народов, директор Института иммунофизиологии, Москва, Россия

Сизякина Людмила Петровна – доктор медицинских наук, профессор, директор НИИ клинической иммунологии Ростовского государственного медицинского университета Минздрава России, заведующая кафедрой клинической иммунологии и аллергологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов Ростовского государственного медицинского университета, Ростов-на-Дону, Россия

Топтыгина Анна Павловна – доктор медицинских наук, НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Н.И. Габричевского Роспотребнадзора, заведующая лабораторией цитокинов, ведущий научный сотрудник, Москва, Россия

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

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

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

Чекнёв Сергей Борисович – доктор медицинских наук, заместитель директора по научной работе ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава РФ, заведующий лабораторией межклеточных взаимодействий, Москва, Россия

Черешнева Маргарита Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник Института иммунологии и физиологии УРО РАН, Екатеринбург, Россия

Ширинский Валерий Степанович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией клинической иммунофармакологии НИИ фундаментальной и клинической иммунологии Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия

Шмагель Константин Владимирович – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией экологической иммунологии Института экологии и генетики микроорганизмов, профессор кафедры иммунологии Пермского государственного медицинского университета имени академика Е.А. Вагнера, Пермь, Россия

Издательство «Человек»

199004, Россия, Санкт-Петербург, Малый пр. В.О., 26, оф. 3.

E-mail: mail@mirmed.ru

Тел./факс: (812) 325-25-64.

Подписано в печать 14.09.2020 г. Формат 60 x 90 1/8. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 16,5. Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.)

Заказ № 182

Напечатано в ООО «АРТЕМИДА».

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

Тел.: (812) 950-10-99.

«Российский иммунологический журнал» входит в «Перечень российских рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК РФ, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук», а также в базу Russian Science Citation Index (RSCI), полностью интегрированную с платформой Web of Science

RUSSIAN SOCIETY OF IMMUNOLOGY
(RSI)

RUSSIAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY

ROSSIYSKIY IMMUNOLOGICHESKIY ZHURNAL

July-September

2020, volume 23

No. 3

Published since 1996

Editor-in-chief

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

Deputy Editor-in-Chief

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

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

Editorial board

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Editorial Council

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

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

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

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

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

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

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

Igor S. Gushchin – MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Natural Sciences, Head of the Department of Clinical Immunology and Allergy №80, State Scientific Center "Institute of Immunology", FMBA of Russia, Moscow, Russian Federation

Marina V. Degtyareva – MD, PhD, Professor, Department of Neonatology, chief, Pirogov Russian National Research Medical University (RNRMU), Moscow, Russian Federation

Edward V. Karamov – PhD, Professor, Head of the Laboratory of Immunochemistry, N. F. Gamaleya Institute of Epidemiology and Microbiology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russian Federation

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Managing Editors:

Anna Rizopulu, PhD (Biology) (Moscow)

Natalia Rakitianskaia, (St. Petersburg)

E-mail: rusimmun@gmail.com

Translation editor:

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

Online version editorial manager:

Vera S. Erofeeva (St. Petersburg)

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

Address for correspondence:

Editorial Office of the "Russian Journal of Immunology"
197101, St.Petersburg, post box 130

Electronic version: www.rusimmun.ru

© Russian Journal of Immunology

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

Chelovek Publishing House

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

E-mail: mail@mirmed.ru

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

Passed for printing 14.09.2020. Print format 60 x 90 1/8. Offset printing.
Printed sheets 16,5. Circulation 2000 copies. (1st edition – 1000 copies.)

Print in LLC «ARTEMIDA»

199178, Russian Federation, St. Petersburg, 8 line of Vasilevsky Island,
831-A

Phone: (812) 950-10-99

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

СОДЕРЖАНИЕ

Краткие сообщения

Комлева М.О., Смолягин А.И., Константинова О.Д., Комлева Н.В. ОЦЕНКА ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ С НАРУШЕНИЕМ МЕНСТРУАЛЬНОГО ЦИКЛА	243
Маркелова Е.В., Романчук А.Л., Шуматов В.Б., Красников В.Е., Демьяненко А.С., Джафаров Р.Н. СОСТОЯНИЕ МУКОЗАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ОДОНТОГЕННЫХ ФЛЕГМОНАХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИХ ТЯЖЕСТИ.....	249
Меремьянина Е.А., Свитич О.А., Алиева А.И., Соболев В.В. РОЛЬ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ В ГЕНАХ <i>TNF</i> , <i>NOS3</i> И <i>MMR9</i> В РИСКЕ РАЗВИТИЯ НЕОНАТАЛЬНЫХ ПНЕВМОНИЙ	257
Неевжжина Т.А., Кыш С.В., Чагина Е.А., Матюшкина Л.С., Умеренкова С.А. ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМЫ ИНТЕРФЕРОНОВ, МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ИХ ТКАНЕВЫХ ИНГИБИТОРОВ У ЖЕНЩИН С ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ В ПЕРИОД ПРЕГНАВИДАРНОЙ ПОДГОТОВКИ	263
Пашнина И.А., Криволапова И.М., Черешнева М.В. КОНЦЕНТРАЦИЯ IL-1 β И TNF α В СУПЕРНАТАНТАХ КУЛЬТУР КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ДЕТЕЙ С АУТОИММУННОЙ И ИНФЕКЦИОННОЙ ПАТОЛОГИЕЙ.....	271
Плотникова М.О., Снимщикова И.А., Афонина И.А., Кулакова А.С. ОЦЕНКА РОЛИ WIF-1 В ГЕНЕЗЕ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА	279
Сташкевич Д.С., Девальд И.В., Хромова Е.Б., Евдокимов А.В., Суслова Т.А. ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА 17A У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ	285
Сумеркина В.А., Телешева Л.Ф., Головнева Е.С., Туманов С.В. АССОЦИАЦИЯ СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА ЛИМФОЦИТОВ, МАРКЕРОВ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ И ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У МУЖЧИН С АБДОМИНАЛЬНЫМ ОЖИРЕНИЕМ И МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ	291
Фейзер А.А., Барило А.А., Смирнова С.В. СПЕКТР СЕНСИБИЛИЗАЦИИ К ПИЩЕВЫМ И ИНГАЛЯЦИОННЫМ АЛЛЕРГЕНАМ ДЕТЕЙ С ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНЫМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ АТОПИИ	299
Филиппова Ю.Ю., Бурмистрова А.Л. ХРОНИЧЕСКОЕ ВОСПАЛЕНИЕ И ГОРМОНЫ СТРЕСС-ОТВЕТА: ОБЩИЙ ПУТЬ КОГНИТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ ПРИ СТАРЕНИИ	303
Челакова Ю.А. ОСОБЕННОСТИ ИММУННОЙ РЕГУЛЯЦИИ И СПЕЦИФИЧЕСКОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ У ДЕТСКОГО НАСЕЛЕНИЯ СЕВЕРА СИБИРИ	309
Черешнев В.А., Пичугова С.В., Рыбина И.В., Бейкин Я.Б. РОЛЬ АНТИСПЕРМАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ В ФОРМИРОВАНИИ ИНФЕРТИЛЬНОСТИ ПРИ ВАРИКОЦЕЛЕ И БЕСПЛОДИИ	315
Абрамов К.С., Давыдова Е.В., Осиков М.В. ДИНАМИКА УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ ПРИ ИЗОЛИРОВАННОМ ПЕРЕЛОМЕ БЕДРЕННОЙ КОСТИ В УСЛОВИЯХ СИСТЕМНОЙ ОЗОНОТЕРАПИИ.....	323
Гетте И.Ф., Данилова И.Г. СОСТОЯНИЕ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ В УСЛОВИЯХ ГИПЕРГЛИКЕМИИ И ДЕЙСТВИЯ ИММУНОМОДУЛЯТОРА	329
Девальд И.В., Ходус Е.А., Хромова Е.Б., Мысливцова К.Ю., Бурмистрова А.Л. ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ГАММА-ГЛУТАМИЛГИДРОЛАЗЫ – ЕЩЕ ОДНА ИЗ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ПРЕДПОЛОЖИТЬ ОТВЕТ НА МЕТОТРЕКСАТ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ.....	335
Зенина А.А., Левман Р.А., Силаев А.А., Шуматов В.Б., Маркелова Е.В. РОЛЬ НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ В ПАТОГЕНЕЗЕ КОГНИТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ ПОСЛЕ АОРТОКОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ.....	341
Коркмазов М.Ю., Коркмазов А.М., Дубинец И.Д., Смирнов А.С., Корнова Н.В. ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ КАВИТАЦИИ НА ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ РИНОСИНУСИТОМ И ОБОСТРЕНИЕМ ХРОНИЧЕСКОГО ГНОЙНОГО СРЕДНЕГО ОТИТА	347
Кудревич Ю.В., Кузнецова Е.К., Щипачева О.В., Долгушин И.И., Зиганшин О.Р. ВЛИЯНИЕ ГИДРОЛИЗАТА ПЛАЦЕНТЫ НА НЕЙТРОФИЛЬНОЕ ЗВЕНО СИСТЕМНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ КОСМЕТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕДУРАХ	353
Сайдакова Е.В., Королевская Л.Б., Шмагель К.В. ХРОНИЧЕСКАЯ ИММУННАЯ АКТИВАЦИЯ СНИЖАЕТ ВОСПРИИМЧИВОСТЬ CD4 ⁺ T-ЛИМФОЦИТОВ К IL-7 У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ С НЕЭФФЕКТИВНЫМ ОТВЕТОМ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ НА АНТИРЕТРОВИРУСНУЮ ТЕРАПИЮ	359

Правила для авторов	365
---------------------------	-----

Авторский указатель	368
---------------------------	-----

Предметный указатель	368
----------------------------	-----

CONTENTS

Short communications

Komleva M.O., Smolyagin A.I., Konstantinova O.D., Komleva N.V. ASSESSING PHYSICAL DEVELOPMENT AND IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN ADOLESCENT GIRLS WITH ALTERED MENSTRUAL CYCLE	243
Markelova E.V., Romanchuk A.L., Shumatov V.B., Krasnikov V.E., Demyanenko A.S., Dzhafarov R.N. SEVERITY OF ODONTOGENIC PHLEGMONS AFFECTS LOCAL MUCOSAL IMMUNITY	249
Meremianina E.A., Svitich O.A., Alieva A.I., Sobolev V.V. A ROLE OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM IN <i>TNF</i> , <i>NOS3</i> AND <i>MMP9</i> GENES AT THE RISK OF DEVELOPING NEONATAL PNEUMONIA	257
Nevezhkina T.A., Knysh S.V., Chagina E.A., Matushkina L.S., Umerenkova S.A. PARAMETERS OF INTERFERON SYSTEM, MATRIX METALLOPROTEINASES AND RELATED TISSUE INHIBITORS IN WOMEN WITH PAPILLOMAVIRUS INFECTION DURING PRECONCEPTIONAL PREPARATION	263
Pashnina I.A., Krivolapova I.M., Cheresheva M.V. IL-1 β AND TNF α MEASURED IN SUPERNATANTS OF PERIPHERAL BLOOD CELL CULTURES FROM CHILDREN WITH AUTOIMMUNE AND INFECTIOUS PATHOLOGY	271
Plotnikova M.O., Snimshchikova I.A., Afonina I.A., Kulakova A.S. ASSESSMENT OF THE ROLE OF WIF-1 IN THE GENESIS OF ISCHEMIC HEART DISEASE	279
Stashkevich D.S., Devald I.V., Khromova E.B., Evdokimov A.V., Suslova T.A. INTERLEUKIN 17A GENE POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS	285
Sumerkina V.A., Telesheva L.F., Golovneva E.S., Tumanov S.V. ASSOCIATION BETWEEN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTE SUBSETS, INSULIN RESISTANCE AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN MALES WITH ABDOMINAL OBESITY AND METABOLIC SYNDROME	291
Feizer A.A., Barilo A.A., Smirnova S.V. FOOD AND INHALED ALLERGEN SENSITIZATION RANGE IN CHILDREN WITH ATOPY-RELATED GASTROINTESTINAL MANIFESTATIONS	299
Filippova Yu.Yu., Burmistrova A.L. CHRONIC INFLAMMATION AND STRESS-HORMONES: A COMMON PATHWAY OF COGNITIVE DISORDERS IN AGEING	303
Chelakova Yu.A. FEATURES OF IMMUNE REGULATION AND SPECIFIC SENSITIZATION IN CHILDREN OF THE NORTHERN SIBERIA	309
Cheresheva V.A., Pichugova S.V., Rybina I.V., Beikin Ya.B. ROLE OF ANTISPERM ANTIBODIES IN THE FORMATION OF INFERTILITY IN VARICOCELE AND INFERTILITY	315
Abramov K.S., Davydova E.V., Osikov M.V. DYNAMICS OF THE LEVEL OF CYTOKINES IN THE ISOLATED FEMORAL FRACTURE UNDER CONDITIONS OF SYSTEM OZONE THERAPY	323
Gette I.F., Danilova I.G. STATE OF HYPERGLYCEMIC AND IMMUNOMODULATOR-TREATED PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES	329
Devald I.V., Khodus E.A., Khromova E.B., Myslivtsova K.Yu., Burmistrova A.L. GAMMA-GLUTAMYL HYDROLASE GENE POLYMORPHISMS – ANOTHER WAY TO PREDICT METHOTREXATE EFFICACY IN RHEUMATOID ARTHRITIS	335
Zenina A.A., Levman R.A., Silaev A.A., Shumatov V.B., Markelova E.V. ROLE OF NEUROINFLAMMATION IN PATHOGENESIS OF COGNITIVE DISORDERS AFTER AORTOCORONARY BYPASS GRAFTING	341
Korkmazov M.Yu., Korkmazov A.M., Dubinets I.D., Smirnov A.A., Kornova N.V. EFFECT OF ULTRASONIC CAVITATION ON PROINFLAMMATORY CYTOKINE PROFILE IN COMPLEX THERAPY OF PATIENTS WITH ACUTE RHINOSINUSITIS AND EXACERBATION OF CHRONIC SUPPURATIVE OTITIS MEDIA	347
Kudrevich Yu.V., Kuznetsova E.K., Shchipacheva O.V., Dolgushin I.I., Ziganshin O.R. HUMAN PLACENTA HYDROLYZATE AFFECTS NEUTROPHILS OF SYSTEMIC IMMUNITY DURING COSMETIC PROCEDURES	353
Saidakova E.V., Korolevskaya L.B., Shmagel K.V. CHRONIC IMMUNE ACTIVATION REDUCES CD4 ⁺ T CELL SUSCEPTIBILITY TO IL-7 IN HIV-INFECTED PATIENTS THAT POORLY RESPOND TO ANTIRETROVIRAL THERAPY	359
Instructions to Authors	365
Author index	368
Subject index	368

ОЦЕНКА ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ДЕВОЧЕК- ПОДРОСТКОВ С НАРУШЕНИЕМ МЕНСТРУАЛЬНОГО ЦИКЛА

Комлева М.О.¹, Смолягин А.И.¹, Константинова О.Д.¹, Комлева Н.В.²

¹ ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

² ГАУЗ «Областная детская клиническая больница», г. Оренбург, Россия

Резюме. Одной из важных задач является исследование гинекологической заболеваемости, а именно становление менструальной функции, так как нарушения менструального цикла (НМЦ) являются лидирующей патологией среди девушек-подростков и рассматриваются как маркер неблагоприятного экологического воздействия на женский организм [1, 2, 3]. Известно, что серьезные экологические проблемы характерны для территорий Оренбургской области [4]. Авторы признают влияние антропогенной нагрузки на физическое развитие и здоровье детей: наиболее часто отклонения регистрируются у детей, проживающих на экологически неблагоприятных территориях [5]. В ранее опубликованных нами работах была дана характеристика структуры гинекологической заболеваемости девушек-подростков, проживающих в Оренбургской области на территориях с различной антропогенной нагрузкой, за 7 лет (с 2010 по 2016 год) [6]. В статье приведены результаты обследования девушек от 15 до 17 лет с нарушениями менструального цикла (НМЦ), проживающих в регионах Оренбургской области с различной антропогенной нагрузкой, с оценкой физического развития, иммунологических и гормональных показателей. В ходе работы был проведен анализ статистических данных по первичной гинекологической заболеваемости девушек, в период с 2010 по 2019 год, по годовым отчетам из районов Оренбургской области. У девушек из западного, центрального и восточного Оренбуржья оценены результаты исследований иммунного статуса, включающего определение показателей клеточного иммунитета, фагоцитарных показателей, уровень иммуноглобулинов классов А, М, G, а также циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Гормональный статус пациенток определялся путем оценки результатов исследования в сыворотке крови уровня тиреоидных и половых гормонов. Выявлено преобладание олигоменореи среди НМЦ, что сопровождалось тенденцией в физическом развитии к лептосомии, пахисомии. У обследованных девушек наибольшее количество изменений выявлено среди показателей относительного содержания CD3⁺, CD4⁺ и CD19⁺ лимфоцитов, фагоцитарного показателя, уровня IgM, эстрадиола, прогестерона, тестостерона, ЛГ, 17-ОН-прогестерона и кортизола. В результате исследования у девушек, проживающих на западе и востоке области, выявлено преобладание олигоменореи среди НМЦ, что сопровождалось тенденцией в фи-

Адрес для переписки:

Комлева Мария Олеговна
ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ
460000, Россия, г. Оренбург, ул. Советская, 6.
Тел.: 8 (905) 890-81-75.
E-mail: maria.orenburg@mail.ru, probllab.orenburg@mail.ru

Address for correspondence:

Komleva Mariya O.
Orenburg State Medical University
460000, Russian Federation, Orenburg, Sovetskaya str., 6.
Phone: 7 (905) 890-81-75.
E-mail: maria.orenburg@mail.ru, probllab.orenburg@mail.ru

Образец цитирования:

М.О. Комлева, А.И. Смолягин, О.Д. Константинова, Н.В. Комлева «Оценка физического развития и иммунологических показателей у девочек-подростков с нарушением менструального цикла» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 3. С. 243–248.
doi: 10.46235/1028-7221-394-APD
© Комлева М.О. и соавт., 2020

For citation:

M.O. Komleva, A.I. Smolyagin, O.D. Konstantinova, N.V. Komleva "Assessing physical development and immunological parameters in adolescent girls with altered menstrual cycle", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 3, pp. 243–248.
doi: 10.46235/1028-7221-394-APD
DOI: 10.46235/1028-7221-394-APD

зическом развитии к лептосомии и пахисомии. Оценка показателей физического развития девушек-подростков имеет важное значение и должна проводиться с целью диагностирования вероятного наличия у девушек нарушений менструального цикла. Результаты исследования показали значимость отрицательного влияния антропогенной нагрузки на репродуктивное здоровье девушек.

Ключевые слова: девочки-подростки, менструальный цикл, морфотип, иммунный статус, гормональный профиль

ASSESSING PHYSICAL DEVELOPMENT AND IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN ADOLESCENT GIRLS WITH ALTERED MENSTRUAL CYCLE

Komleva M.O.^a, Smolyagin A.I.^a, Konstantinova O.D.^a, Komleva N.V.^b

^a Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

^b Regional Children's Clinical Hospital, Orenburg, Russian Federation

Abstract. Gynecological morbidity particularly formation of menstrual function poses an important task because menstrual irregularities comprise a lead pathology among adolescent girls and considered as a marker of adverse environmental impact on female body [1, 2, 3]. The territories of the Orenburg Region [4] are known to be coupled to profound environmental and hygienic issues. We acknowledge the influence of anthropogenic stress on physical development and health in childhood by recording deviated physical development most frequently in children living in ecologically unfavorable territories [5]. Previously, we published the data on gynecological morbidity pattern in adolescent girls living in the Orenburg Region in territories with differed 7 year-monitored (from 2010 to 2016) anthropogenic stress [6]. Here we present the data on surveying girls aged 15-17 years with menstrual irregularities (MIs) living in the regions of the Orenburg region with varying anthropogenic stress assessed for their physical development, hormonal and immunological parameters. 2010-2019 primary gynecological morbidity data were assessed based on available annual reports for various territories of the Orenburg Region. Subjects residing in the Western, Central and Eastern territories of the Orenburg Region were assessed based immune status data such as parameters of cell-mediated immunity, phagocytic indices, serum immunoglobulin class A, M, G as well as circulating immune complex levels. Hormone status was analyzed by assessing serum level of thyroid and sex hormones. It was found that oligomenorrhea in MIs was prevalent that tended to result in leptosomy and pachisomy in physical development. Most changes in adolescent girls were found in relative frequency of peripheral blood CD3⁺, CD4⁺ and CD19⁺ lymphocytes, phagocytic index as well as IgM, estradiol, progesterone, testosterone levels, LH, 17-OH-progesterone and cortisol. Our study demonstrated that adolescent girls living in the West and East of the region were featured with dominant oligomenorrhea in MIs associated with physical development tended to leptosomy and pachisomy. Assessing parameters of physical development in adolescent girls is of great importance and should be performed to diagnose potential menstrual irregularities. Thus, our data underline importance of negative impact of anthropogenic burden on gynecological health in adolescent girls.

Keywords: adolescent girls, menstrual cycle, morphotype, immune status, hormonal panel

Введение

Согласно концепции демографической политики Российской Федерации до 2025 года, обеспечение и сохранение здоровья детей и подростков должны стать одними из наиболее значимых перспективных вкладов в репродуктивный, ин-

теллектуальный, политический, экономический и нравственный резерв общества. По данным литературы, в России 73% всего населения проживают в неблагоприятной санитарно-гигиенической обстановке. Одной из важных задач в этом направлении является исследование гинекологической заболеваемости, а именно становле-

ние менструальной функции, так как нарушения менструального цикла (НМЦ) являются лидирующей патологией среди девушек-подростков и рассматриваются как маркер неблагоприятного экологического воздействия на женский организм [1, 2, 3]. По данным авторов, наиболее часто НМЦ у девушек проявляются в виде гипоменструального синдрома [1, 2]. Известно, что серьезные эколого-гигиенические проблемы характерны для территорий Оренбургской области. Было показано, что экологическая ситуация наиболее напряжена в восточном регионе области [4]. Авторы единогласно признают влияние антропогенной нагрузки на физическое развитие и здоровье детей: наиболее часто отклонения регистрируются у детей, проживающих на экологически неблагоприятных территориях [5]. Ранее в опубликованных нами работах была дана характеристика структуры гинекологической заболеваемости девушек-подростков, проживающих в Оренбургской области на территориях с различной антропогенной нагрузкой, за 7 лет (с 2010 по 2016 год) [6]. Из литературы известно, что дефицит массы тела негативно влияет на возраст менархе, темпы становления и характер менструального цикла у девушек, а также длительность и характер менструации [7]. Учитывая высокую частоту НМЦ у пациенток подросткового возраста (15-17 лет) за последние годы, представляет интерес исследование данных о физическом развитии девушек-подростков с репродуктивными нарушениями в совокупности с иммунологическими и гормональными показателями.

Цель исследования — оценить степень физического развития, иммунный и гормональный статус у девушек-подростков с нарушениями менструальной функции, проживающих в районах Оренбургской области.

Материалы и методы

Представлены результаты исследования физического развития девушек-подростков по данным обращаемости на гинекологический прием в ГАУЗ «ОДКБ» города Оренбурга за 10 лет (с 2010 по 2019 год), параллельно определялись иммунологические и гормональные показатели. В ходе работы был проведен анализ статистических данных по первичной гинекологической заболеваемости девушек, в период с 2010 по 2019 год, по годовым отчетам с районов Оренбургской области. У девушек из западного, центрального и восточного Оренбуржья оценены результаты исследований иммунного статуса, включающего определение показателей клеточного имму-

нитета методом иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител фирмы «Сорбент» (Москва), фагоцитарных показателей по отношению к *St. Aureus* штамм 209p., уровень иммуноглобулинов классов А, М, G в реакции G. Mancini, а также циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в реакции преципитации с полиэтиленгликолем (МВ 6000). Гормональный статус пациенток определялся путем оценки результатов исследования в сыворотке крови уровня тиреоидных и половых гормонов методом ИФА с использованием наборов фирмы «Алкор-Био». Анализ данных осуществлялся при помощи программы Microsoft Excel 2013.

Результаты и обсуждение

Статистический анализ показал увеличение гинекологической заболеваемости в последние три года, при этом среднескользящий показатель первичной гинекологической заболеваемости у девочек-подростков в Оренбургской области за период 2010-2019 гг. составил 92,61‰. Выявлено, что на территории Оренбургской области в структуре первичной гинекологической заболеваемости у девушек-подростков преобладают НМЦ, включающие расстройства ритма менструаций (олигоменорея, вторичная аменорея, аномальные маточные кровотечения) и нарушения, связанные с менструальным циклом (дисменорея, предменструальный синдром).

В результате проведенного анализа физического развития девушек-подростков с НМЦ было установлено преобладание нормосомии в центральной (68,5%), в восточной (68,3%) и западной (53,6%) зонах Оренбургской области. Лептосомия у девушек преобладала на западе (26,8%) и составила 15,1% в центре и 12,2% на востоке области. Пахисомия наблюдалась у 14,6% девушек в западной зоне, 12,3% — в центральной, 9,7% — в восточной. Гипосомия у подростков отмечалась только в центральной (4,1%) и восточной (4,8%) зонах области. Гиперсомия зарегистрирована у 4,8% пациенток в западной зоне. У подростков со вторичной аменореей, проживающих в центральном (76,9%) и восточном (62,5%) Оренбуржье в физическом развитии преобладала нормосомия.

Наряду с этим, у 15% девушек центральной зоны с олигоменореей выявлена пахисомия. В восточной и западной зонах области, в 17,2% и 12,5% случаев соответственно, у пациенток с олигоменореей выявлялась лептосомия. У пациенток с олигоменореей во всех зонах преобладала нормосомия: в центре — 66,7%, на востоке — 71,8%, на западе области — 58,6%. Таким

образом, выявлено преобладание олигоменореи среди НМЦ, что сопровождалось тенденцией в физическом развитии к лептосомии, пахисомии. В подростковом возрасте важное значение имеет оценка показателей физического развития при гинекологических заболеваниях, что должно учитываться специалистами на профосмотрах.

Оценка показателей иммунного статуса у пациенток с НМЦ, которые проживают в различных регионах Оренбургской области, была проведена в сравнении с региональными нормативами. Чаще регистрировались однотипные отклонения показателей иммунного статуса у девушек-подростков с НМЦ, проживающих на различных территориях Оренбуржья: снижение относительного содержания $CD3^+$ и $CD4^+$ лимфоцитов, фагоцитарного показателя и увеличение относительного и абсолютного количества суммарных лимфоцитов, уровня IgM. Частотный анализ показал, что наиболее выраженные изменения показателей иммунного статуса наблюдались у девушек, проживающих на востоке области, что проявлялось в снижении уровня фагоцитарного показателя ($54,1 \pm 2,66\%$ при региональной норме $59,5 \pm 1,17\%$) и относительного содержания $CD4^+$ -клеток ($36,6 \pm 1,46\%$; норма $42,1 \pm 0,71\%$) и, напротив, повышении IgM ($2,1 \pm 0,18$ г/л; норма $1,4 \pm 0,04$ г/л) у девушек с НМЦ. У девушек-подростков западной зоны области отмечалось снижение относительного содержания $CD3^+$ -лимфоцитов ($55,2 \pm 1,85\%$; норма $62,6 \pm 0,74\%$) и увеличение абсолютного количества $CD19^+$ -клеток ($14,4 \pm 1,20 \times 10^9$ /л; норма $14,22 \pm 0,46 \times 10^9$ /л), относительного содержания $CD4^+$ -клеток ($37,6 \pm 2,06 \times 10^9$ /л; норма $42,1 \pm 0,17 \times 10^9$ /л), уровня ЦИК ($78,3 \pm 4,51$ ед. ОП; норма $68,0 \pm 1,16$ ед. ОП). Таким образом, наиболее значимые изменения параметров иммунного статуса у девушек с НМЦ выражались в снижении клеточных показателей и повышении уровня иммуноглобулинов.

При изучении результатов анализа гормональных показателей у девушек с НМЦ выявлено, что

содержание гормонов ТТГ и пролактина в крови достоверно повышено у пациенток в западном регионе ($2,8 \pm 0,45$ мкМЕ/л и $383,2 \pm 32,65$ мМЕ/л соответственно) в сравнении с центральным ($1,7 \pm 0,13$ мкМЕ/л и $311,8 \pm 15,99$ мМЕ/л соответственно). Уровни кортизола достоверно выше у девушек-подростков на востоке ($653,3 \pm 37,31$ нмоль/л), чем в центре ($476,9 \pm 24,6$ нмоль/л) области. Аналогично у девушек с НМЦ, проживающих в восточной зоне, по сравнению с пациентками из западного региона, отмечалась тенденция к повышению следующих показателей: ФСГ ($5,9 \pm 0,35 - 4,4 \pm 0,30$ мМЕ/л), ЛГ ($8,7 \pm 1,28 - 6,1 \pm 0,67$ мМЕ/л), тестостерона ($2,1 \pm 0,18 - 1,63 \pm 0,18$ нмоль/л) и 17-ОН-прогестерона ($0,9 \pm 0,09 - 1,6 \pm 0,20$ нг/мл).

Таким образом, у девушек, проживающих на западе и востоке области, выявлено преобладание олигоменореи среди НМЦ, что сопровождалось тенденцией в физическом развитии к лептосомии и пахисомии. Оценка показателей физического развития в подростковом возрасте имеет значение при диагностировании гинекологических заболеваний как вероятный фактор возникновения расстройств менструаций. У данных девушек также отмечены наиболее выраженные сдвиги иммунологических параметров. По литературным данным, повышение уровня некоторых гормонов (кортизола, лютеинизирующего гормона, пролактина) может свидетельствовать о влиянии неблагоприятной экологической ситуации на распространенность расстройств менструального цикла [8].

Изменение иммунологических и гормональных показателей свидетельствует о нарушениях гипоталамо-гипофизарной системы [9], которые являются звеном патогенеза в формировании НМЦ. Таким образом, дисбаланс в уровне гонадотропных гормонов, а также пролактина и кортизола определяет специфику нарушений репродуктивной системы.

Список литературы / References

1. Боев В.М. Здоровье населения и среда обитания Оренбургской области. 2-е изд., перераб. и доп. Оренбург: Димур, 2013. 328 с. [Boev V.M.. Health of the population and habitat of the Orenburg region. 2nd ed., revised and enlarged]. Orenburg: Dimour, 2013. 328 p.
2. Гуркин Ю.А., Рухляда Н.Н. Гинекология детского и подросткового возраста: руководство для врачей. М.: Медицинское информационное агенство, 2019. 392 с. [Gurkin Yu.A., Rukhlyada N.N. Gynecology in childhood and adolescence: a guide for doctors]. Moscow: Medical News Agency, 2019. 392 p.
3. Кадочникова Н.И., Хлыбова С.В. Состояние менструальной функции, уровень соматического и репродуктивного здоровья девушек 17-19 лет с разной длительностью менструального цикла // Медицинский альманах, 2008. № 4. [Kadochnikova N.I., Khlybova S.V. The state of menstrual function, the level of somatic and

reproductive health of girls 17-19 years old with different durations of the menstrual cycle. *Meditinskiy almanakh = Medical Almanac*, 2008, no. 4. (In Russ.)]

4. Комлева М.О., Комлева Н.В., Смолягин А.И. Характеристика иммунного и гормонального статуса девушек-подростков с нарушениями менструального цикла, проживающих на различных территориях Оренбургской области // Российский иммунологический журнал, 2019. Т. 13 (22), № 2. С. 317-319. [Komleva M.O., Komleva N.V., Smolyagin A.I. Characterization of the immune and hormonal status of adolescent girls with menstrual irregularities living in various territories of the Orenburg Region. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2019, Vol. 13 (22), no. 2, pp. 317-319. (In Russ.)]

5. Кулаков В.И. Репродуктивное здоровье женщин, проблемы и перспективы // Федеральный справочник здравоохранения России, 2008. Т. 8. С. 141-143. [Kulakov V.I. Reproductive health of women, problems and prospects. *Federalnyy spravochnik zdravookhraneniya Rossii = Federal Reference Book of Public Health Services of Russia*, 2008, Vol. 8, pp. 141-143. (In Russ.)]

6. Рахманин Ю.А., Михайлова Р.Н. Окружающая среда и здоровье: приоритеты профилактической медицины // Гигиена и санитария, 2014. Т. 93, № 5. С. 5-10. [Rakhmanin Yu.A., Mikhailova R.N. Environment and health: priorities for preventive medicine. *Gigiena i sanitariya = Hygiene and Sanitation*, 2014, Vol. 93, no. 5, pp. 5-10. (In Russ.)]

7. Студеникин М.Я. Экология и здоровье детей / Под ред. М.Я. Студеникина, А.А. Ефимовой. М.: Медицина, 1998. 384 с. [Studenikin M.Ya. Ecology and Children's Health. Ed. by M.Ya. Studenikin, A.A. Efimova]. Moscow: Medicine, 1998. 384 p.

8. Хамошина М.Б., Абдуллаева Р.Г., Хасханова Л.С., Шишкин Е.А. Особенности становления менструальной функции у девушек-подростков при дефиците массы тела // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина, 2009. № 5. С. 116-122. [Khamoshina M.B., Abdullaeva R.G., Khaskhanova L.S., Shishkin E.A. Features of the formation of menstrual function in adolescent girls with a deficit of body weight. *Vestnik Rossiyskogo universiteta druzhby narodov. Seriya: Meditsina = Bulletin of the Peoples' Friendship University of Russia. Series: Medicine*, 2009, no. 5, pp. 116-122. (In Russ.)]

9. Weller A., Weller L. Menstrual irregularity and menstrual symptoms. *Behav. Med.*, 2002, Vol. 27, no. 4, pp. 173-178.

Авторы:

Комлева М.О. — ординатор 2-го года по специальности «Акушерство и гинекология» ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

Смолягин А.И. — д.м.н., профессор, заведующий проблемной лабораторией по изучению механизмов естественного иммунитета ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

Authors:

Komleva M.O., 2nd year Intern in the Specialty “Obstetrics and Gynecology”, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

Smolyagin A.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Problem Laboratory for the Study of Mechanisms of Natural Immunity, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

Константинова О.Д. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

Konstantinova O.D., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Obstetrics and Gynecology, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

Комлева Н.В. — к.м.н., врач-гинеколог детского и подросткового возраста ГАУЗ «Областная детская клиническая больница», г. Оренбург, Россия

Komleva N.V., PhD (Medicine), Gynecologist for Children and Adolescents, Regional Children's Clinical Hospital, Orenburg, Russian Federation

Поступила 03.07.2020
Принята к печати 06.07.2020

Received 03.07.2020
Accepted 06.07.2020

СОСТОЯНИЕ МУКОЗАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ОДОНТОГЕННЫХ ФЛЕГМОНАХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИХ ТЯЖЕСТИ

Маркелова Е.В.¹, Романчук А.Л.^{1,2}, Шуматов В.Б.¹, Красников В.Е.¹,
Демьяненко А.С.¹, Джафаров Р.Н.¹

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

² ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2, г. Владивосток, Россия

Резюме. В настоящее время активно идет поиск безопасных методов исследования при флегмонах челюстно-лицевой области (ЧЛО). Для контроля развития этого воспалительного заболевания возможно определение концентрации цитокинов в смешанной нестимулированной слюне пациентов. В исследование были включены 102 человека с флегмоной челюстно-лицевой области в возрасте от 25 до 75 лет и 30 здоровых людей того же возраста. Проводилось определение концентрации цитокинов IL-1 β , TNF α , TNF β , IL-17, IFN γ , IL-4, IL-10, IL-22, TGF- β ₁ и TGF- β ₂ в смешанной нестимулированной слюне. В результате проведенного исследования было установлено достоверное увеличение концентрации практически всех цитокинов, кроме IFN γ , у пациентов с флегмоной ЧЛО по сравнению с контрольной группой. Дополнительно было проанализировано изменение цитокинового состава слюны у пациентов с флегмоной ЧЛО, разделенных по распространенности процесса. Было установлено, что содержание IL-1 β , TNF α , IL-17, IL-10, IL-22, TGF- β ₁ прямо коррелировало с распространенностью процесса, тогда как концентрация IL-4, IFN γ , TGF- β ₂, наоборот, уменьшалась при увеличении тяжести болезни.

Ключевые слова: флегмона челюстно-лицевой области, слюна, цитокины

SEVERITY OF ODONTOGENIC PHLEGMONS AFFECTS LOCAL MUCOSAL IMMUNITY

Markelova E.V.^a, Romanchuk A.L.^{a,b}, Shumatov V.B.^a, Krasnikov V.E.^a,
Demyanenko A.S.^a, Dzhafarov R.N.^a

^a Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

^b Regional Clinical Hospital No. 2, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. Safe methods for examining phlegmon of the maxillofacial area (MFA) have been extensively sought for, and assessing cytokine profile in the patient mixed unstimulated saliva may be used to control its development.

Адрес для переписки:

Маркелова Елена Владимировна
ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения РФ
690002, Россия, г. Владивосток, пр. Острякова, 2.
Тел.: 8 (914) 707-85-59.
E-mail: markev2010@mail.ru

Address for correspondence:

Markelova Elena V.
Pacific State Medical University
690002, Russian Federation, Vladivostok, Ostryakov ave., 2.
Phone: 7 (914) 707-85-59.
E-mail: markev2010@mail.ru

Образец цитирования:

Е.В. Маркелова, А.Л. Романчук, В.Б. Шуматов,
В.Е. Красников, А.С. Демьяненко, Р.Н. Джафаров
«Состояние мукозального иммунитета при
одонтогенных флегмонах в зависимости от их
тяжести» // Российский иммунологический журнал,
2020. Т. 23, № 3. С. 249–256.
doi: 10.46235/1028-7221-328-SOO
© Маркелова Е.В. и соавт., 2020

For citation:

E.V. Markelova, A.L. Romanchuk, V.B. Shumatov,
V.E. Krasnikov, A.S. Demyanenko, R.N. Dzhafarov
“Severity of odontogenic phlegmons affects local mucosal immunity”,
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 3, pp. 249–256.
doi: 10.46235/1028-7221-328-SOO

DOI: 10.46235/1028-7221-328-SOO

There were enrolled 102 patients with maxillofacial phlegmon aged 25 to 75 years as well as age-matched 30 healthy subjects. Concentration of IL-1 β , TNF α , TNF β , IL-17, IFN γ , IL-4, IL-10, IL-22, TGF- β_1 и TGF- β_2 in mixed unstimulated saliva was measured. We found that patients with MFA inflammation vs. control group had significantly increased level of almost all cytokines except IFN γ . Additionally, we analyzed changes in saliva cytokine profile of patients with maxillofacial phlegmon, subdivided into groups by age, gender, and spread of the disease. It allowed to find that amount of IL-1 β , TNF α , IL-17, IL-10, IL-22, TGF- β_1 directly correlated with spread of the process, whereas level of IL-4, IFN γ , TGF- β_2 , on the contrary, was decreased with aggravated disease severity.

Keywords: *phlegmon of the maxillofacial region, immune system, saliva, cytokine*

Введение

В последнее время приобретают актуальность клинико-лабораторные исследования слюны для диагностики многих заболеваний, в особенности челюстно-лицевой области (ЧЛО). Забор материала безболезненный для пациента и безопасный для медицинского персонала, неинвазивный, удобный и простой в осуществлении, поэтому возможно многократное получение проб. В связи с этим исследование слюны все шире используется при обследовании человека в клинической практике.

Слюна — это секрет, получаемый непосредственно из протоков слюнных желез и представляющий собой вязкую жидкость с pH 5,8–7,6. Вода является составным компонентом слюны примерно на 99,5%, а минеральные вещества и органические компоненты составляют около 0,5% [1]. Информативным является исследование белкового состава слюны, в том числе гликопротеинов, в которые входят цитокины — регуляторы развития воспалительного процесса. В ротовой полости источниками цитокинов являются лимфоциты и макрофаги, находящиеся в слизистой оболочке ротовой полости, а также эпителиальные клетки слизистой оболочки и слюнных желез. Также цитокины могут поступать из сыворотки крови в результате их трансудации, но содержание цитокинов в слюне не коррелирует с их уровнем в крови, что косвенно указывает на преобладание их местного синтеза [4, 6].

Цель исследования — выявить особенности уровня цитокинов IL-1 β , TNF α , TNF β , IL-17, IFN γ , IL-4, IL-10, IL-22, TGF- β_1 и TGF- β_2 в зависимости от распространенности процесса (от степени тяжести).

Материалы и методы

Обследовано 102 больных с диагнозом «одонтогенная флегмона челюстно-лицевой области» (ЧЛО) в возрасте от 25 до 75 лет, из них мужчин было 65 (64%), женщин — 37 (36%) человек. Пациенты были разделены на группы в зависимости от распространенности воспалительного процесса. Группа с флегмоной ЧЛО в 1 области составила 34 человека (33,3%), в 2–3 областях — 36

человек (35,3%), а с распространенным поражением — 32 человека (31,4%).

Группу сравнения составили 30 практически здоровых людей без заболеваний челюстно-лицевой области. Все пациенты прошли клинико-лабораторное исследование на базе ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2» г. Владивосток.

Материалом исследования являлась смешанная нестимулированная слюна, в которой определялась концентрация провоспалительных цитокинов (интерлейкин 1 β , фактор некроза опухоли- α , фактор некроза опухоли- β и интерлейкин 17) и противовоспалительных (интерлейкин 10, интерлейкин 22, трансформирующий ростовой фактор бета-1 и трансформирующий ростовой фактор бета-2), а также иммунорегуляторных цитокинов — интерлейкина 4 и интерферона гамма.

Концентрация цитокинов определялась методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. Для этого использовались специфические реактивы фирмы R&D Diagnostic Inc. (США), а для учета результатов — иммуноферментный анализатор “Multiscan” (Финляндия).

Обработка результатов проводилась с помощью стандартных методов описательной статистики. Нормальность распределения оценивалась критерием Шапиро–Уилка. При ненормальном распределении данные представлялись в виде медианы и 25–75 перцентилей. Достоверность между группами рассчитывалась с применением критерия Манна–Уитни–Вилкоксона, Стьюдента, Тьюки. Достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

Результаты

В настоящее время изучено большое количество цитокинов. Наиболее важными провоспалительными цитокинами являются интерлейкин 1 β (IL-1 β), фактор некроза опухоли- α (TNF α), фактор некроза опухоли- β (TNF β) и интерлейкин 17 (IL-17). К основным противовоспалительным цитокинам относятся интерлейкин 10 (IL-10), интерлейкин 22 (IL-22), трансформирующий ростовой фактор бета-1 (TGF- β_1) и трансформирующий ростовой фактор бета-2 (TGF- β_2).

В таблице 1 представлены результаты исследования провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Биологический эффект первых преимущественно заключается в индукции и усилении воспалительного процесса, вторых, напротив — в его ограничении.

При исследовании провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в слюне анализ показал, что у пациентов с флегмоной челюстно-лицевой области происходит значительное увеличение всех изучаемых медиаторов.

При сравнении содержания цитокинов в слюне пациентов, разделенных по распространенности воспалительного процесса, было установлено, что содержание IL-1 β , TNF α , IL-17, IL-10, IL-22, TGF- β_1 прямо зависело от распространенности процесса, а содержание IL-4, IFN γ , TGF- β_2 , наоборот, было тем меньше, чем больше была область воспаления (табл. 2). Исключением была концентрация TNF β в слюне. Его уровень, хотя и был повышен у пациентов всех клинических групп, однако максимальные значения зафиксированы у II группы (с распространенностью процесса в 2-3 областях).

Обсуждение

Анализ результатов проведенного нами исследования показал значительное увеличение всех

изучаемых провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в слюне пациентов с одонтогенной флегмоной (табл. 1).

Так, увеличение IL-1 β , продуцируемого клетками, относящимися к макрофагально-моноцитарной системе, зависит от содержания основных индукторов его синтеза — компонентов клеточных мембран бактерий (липополисахариды и пептидогликаны). Повышение концентрации IL-1 β в среднем в 40 раз может свидетельствовать как о большой бактериальной нагрузке, так и о выраженной активации клеток врожденного иммунитета в очаге поражения. Роль этого цитокина в воспалительном процессе заключается в активации защитных реакций на местном и системном уровне при первом контакте клеток-продуцентов с микроорганизмами, то есть местно в области повреждения слизистой оболочки полости рта. Но многократное его увеличение может способствовать развитию гиперергической воспалительной и иммунной реакции.

В то же время об адекватном функционировании защитных механизмов организма свидетельствует увеличение показателей TNF. Повышение TNF α в 5 раз говорит о развитии локального воспаления, стимуляции ответа острой фазы и гибели клеток в очаге поражения в ответ на действие флогенов на макрофаги. Так как эффект этого

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ ПРОВСПАЛИТЕЛЬНЫХ И ПРОТИВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В СЛЮНЕ ПАЦИЕНТОВ С ФЛЕГМОНОЙ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ И ГРУППЫ СРАВНЕНИЯ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. CONTENT OF PROINFLAMMATORY AND ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES IN SALIVA OF PATIENTS WITH MAXILLOFACIAL PHLEGMA AND COMPARISON GROUPS, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

№	Содержание Content	Группа сравнения Comparison group n = 30	Пациенты с флегмоной ЧЛО Patients with cellulitis of FACE n = 107
1	IL-1 β , пг/мл IL-1 β , pg/ml	1,82 (0,80-3,20)	42,40* (18,10-56,85)
2	TNF α , пг/мл TNF α , pg/ml	1,23 (1,00-1,90)	6,20* (3,00-10,20)
3	TNF β , пг/мл TNF β , pg/ml	1,02 (0,32-1,47)	17,30* (2,46-50,52)
4	IL-17, пг/мл IL-17, pg/ml	2,46 (0,46-4,10)	12,84* (3,80-17,56)
5	IL-10, пг/мл IL-10, pg/ml	11,52 (9,88-14,04)	70,00* (7,20-245,40)
6	IL-22, пг/мл IL-22, pg/ml	0,70 (0,60-0,76)	20,40* (9,12-32,60)
7	TGF- β_1 , нг/мл TGF- β_1 , ng/ml	2,40 (0,09-3,40)	36,70* (10,20-190,60)
8	TGF- β_2 , нг/мл TGF- β_2 , ng/ml	1,10 (0,70-1,41)	3,00* (1,26-4,36)

Примечание. Статистическая достоверность различий с группой практически здоровых людей * — $p < 0,001$.

Note. Statistical significance of differences with a group of practically healthy people *, $p < 0.001$.

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В СЛЮНЕ ПАЦИЕНТОВ С ФЛЕГМОНОЙ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ПРОЦЕССА, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

TABLE 2. CONTENT OF CYTOKINES IN THE SALIVA OF PATIENTS WITH MAXILLOFACIAL PHLEGM, DEPENDING ON THE PREVALENCE OF THE PROCESS, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

№	Содержание Content	Группы пациентов в зависимости от распространенности процесса Groups of patients depending on the prevalence of the process		
		1 область 1 area 1 группа 1 group n = 34	2-3 области 2-3 area 2 группа 2 group n = 36	Распространенные Common 3 группа 3 group n = 32
1	IL-1 β , пг/мл IL-1 β , pg/ml	18,36*** (17,00-26,80) $p_{1-2} < 0,01$	34,12*** (24,30-46,70) $p_{2-3} < 0,05$	68,40*** (30,42-78,00) $p_{1-3} < 0,001$
2	TNF α , пг/мл TNF α , pg/ml	3,63*** (2,92-4,95) $p_{1-2} < 0,05$	5,90*** (4,49-6,27) $p_{2-3} < 0,01$	8,00*** (4,39-12,62) $p_{1-3} < 0,01$
3	TNF β , пг/мл TNF β , pg/ml	5,10*** (2,37-10,18) $p_{1-2} < 0,001$	56,34*** (12,49-66,27) $p_{2-3} < 0,001$	4,03** (2,45-4,56) $p_{1-3} > 0,05$
4	IL-17, пг/мл IL-17, pg/ml	5,33** (3,41-8,84) $p_{1-2} < 0,05$	11,58*** (7,90-13,26) $p_{2-3} < 0,05$	15,44*** (13,50-18,36) $p_{1-3} < 0,001$
5	IFN γ , пг/мл IFN γ , pg/ml	18,46** (8,20-26,35) $p_{1-2} < 0,05$	12,60 (6,15-18,40) $p_{2-3} < 0,001$	2,40*** (0,60-7,35) $p_{1-3} < 0,001$
6	IL-10, пг/мл IL-10, pg/ml	8,78 (4,21-21,52) $p_{1-2} < 0,001$	70,21*** (19,25-117,33) $p_{2-3} < 0,001$	216,94*** (31,27-325,06) $p_{1-3} < 0,001$
7	IL-4, пг/мл IL-4, pg/ml	8,35*** (4,57-11,28) $p_{1-2} < 0,05$	5,23*** (4,12-7,33) $p_{2-3} < 0,001$	1,56 (0,76-2,18) $p_{1-3} < 0,001$
8	IL-22, пг/мл IL-22, pg/ml	9,00*** (8,00-12,30) $p_{1-2} < 0,001$	20,30*** (18,56-26,54) $p_{2-3} < 0,001$	30,40*** (26,50-34,80) $p_{1-3} < 0,001$
9	TGF- β_1 , нг/мл TGF- β_1 , ng/ml	8,06*** (4,00-23,33) $p_{1-2} < 0,001$	31,00*** (24,71-43,33) $p_{2-3} < 0,001$	99,69*** (45,89-219,65) $p_{1-3} < 0,001$
10	TGF- β_2 , нг/мл TGF- β_2 , ng/ml	4,07*** (3,08-4,36) $p_{1-2} < 0,05$	3,99*** (2,55-4,65) $p_{2-3} < 0,05$	1,95* (1,34-2,26) $p_{1-3} < 0,05$

Примечание. Статистическая достоверность различий с группой контроля: *** – $p < 0,001$; ** – $p < 0,01$; * – $p < 0,05$; $p_{1,2,3}$ – статистическая достоверность различий между группами пациентов.

Note. Statistical significance of differences with control group: ***, $p < 0.001$; **, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$; $p_{1,2,3}$, statistical significance of differences between groups of patients.

цитокина заключается в прямом цитотоксическом действии на пораженные клетки, а также в координации специфической дифференцировки Т-лимфоцитов и развитии гранулем в ответ на взаимодействие с патогеном. А увеличение $\text{TNF}\beta$ в среднем до 17,30 пг/мл (в группе сравнения 1,02 пг/мл) связано с усилением пролиферации и активации в очаге воспаления лимфоцитов, так как этот цитокин продуцируется только Т-лимфоцитами и В-лимфобластоидными клеточными линиями в ответ на активирующие стимулы [4].

Повышение концентрации IL-17 примерно в 5 раз, вероятно, свидетельствует об активном участии в процессе нейтрофилов. Основным источником этого интерлейкина являются Th-клетки 17, которые активирует IL-23, синтезируемый макрофагами в ответ на действие микробных липопептидов. Роль IL-17 в воспалительном процессе обусловлена способностью индуцировать образование хемокинов, других цитокинов и простагландинов различными клетками (фибробластами, эпителиальными и эндотелиальными клетками и макрофагами). Но стоит отметить, что существуют ограниченные рамки защитного действия некоторых IL-17, а именно IL-17A и IL-17F, от бактериальной инфекции. Поэтому значительное повышение этих цитокинов может утяжелить течение флегмон челюстно-лицевой области, а также способствовать развитию хронического воспаления.

Увеличение IL-10 примерно в 6 раз и IL-22 в 20 раз, в сравнении с пациентами без острых заболеваний и поражений ротовой полости, свидетельствует о раннем включении защитно-приспособительных процессов, ограничивающих гиперактивацию воспалительного процесса. Механизм действия IL-10 заключается в угнетении активации Th1-клеток макрофагами и моноцитами, снижении выработки цитокинов Th1-клетками, ингибировании синтеза воспалительных цитокинов и стимуляции образования других противовоспалительных белков. А эффект IL-22 проявляется в ингибировании продукции IL-4, следовательно, в подавлении активации Th2-клеток, а также увеличении экспрессии $\text{IFN}\gamma$, в результате должна происходить индукция образования Th1-клеток. Это свидетельствует о компенсаторном ограничении генерализации воспалительного процесса с одновременной стимуляцией клеточного иммунного ответа [9].

$\text{TGF-}\beta_1$ и $\text{TGF-}\beta_2$ — цитокины, изменяющие пролиферацию, дифференцировку и апоптоз клеток. Они ингибируют пролиферацию большинства клеток, кроме некоторых мезенхимальных, индуцируют формирование внеклеточного

матрикса, а также обладают иммуносупрессивным действием.

$\text{TGF-}\beta_1$ синтезируется практически всеми клетками организма человека, но в неактивном состоянии. Активацию этого цитокина вызывают процессы, происходящие при развитии воспаления в тканях. При этом $\text{TGF-}\beta_1$ начинает активно синтезироваться Т-регуляторами для контроля и предотвращения гиперергических иммунных реакций. В очаге воспалительного процесса $\text{TGF-}\beta_1$ способствует восстановлению пораженной ткани, но при избыточной его продукции — формированию фиброза. Учитывая повышенное содержание провоспалительных цитокинов у пациентов с флегмоной ЧЛО, свидетельствующих о выраженном воспалительном процессе, значительное увеличение содержания $\text{TGF-}\beta_1$ примерно в 20 раз может свидетельствовать об активации процессов восстановления межклеточного матрикса поврежденной ткани. Соответственно, можно сделать вывод, что повышение количества $\text{TGF-}\beta_1$ необходимо для контроля гиперергической реакции иммунной системы.

Биологическая роль $\text{TGF-}\beta_2$ состоит в регуляции клеточного цикла. Действуя через сигнальные пути, он способен остановить пролиферацию клетки, а затем активировать ее дифференцировку или апоптоз [7]. Содержание $\text{TGF-}\beta_2$ увеличено у пациентов с флегмоной ЧЛО в 3 раза. Это, вероятно, вызвано необходимостью активации апоптоза клеток в очаге воспалительного процесса.

$\text{IFN}\gamma$ и IL-4 являются Th1- и Th2-маркерными цитокинами, соответственно, и свидетельствуют о преобладании либо клеточного, либо гуморального иммунного ответа.

$\text{IFN}\gamma$ образуется в натуральных киллерах (NK-клетки) и Th1-лимфоцитах. Кроме этого, важной функцией $\text{IFN}\gamma$ является стимуляция дифференцировки Th1-клеток для развития клеточного иммунного ответа: повышения фагоцитирующей активности макрофагов и синтеза ими хемокинов, способствующих миграции Т-лимфоцитов в очаг поражения [5]. Тенденция к снижению содержания этого цитокина у пациентов с флегмоной ЧЛО (9,26 пг/мл, а у группы контроля — 10,42 пг/мл) свидетельствует о том, что в воспалительный процесс недостаточно вовлечены Th1-клетки, а возможно, и об их супрессии.

IL-4 (интерлейкин 4) — цитокин, который продуцируют в основном Th2-клетки, базофилы и тучные клетки. В небольшом количестве могут продуцироваться другими Т-лимфоцитами при их активации. Одним из главных биологических эффектов цитокина является способность усиливать пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов. Поэтому увеличение содержания

IL-4 в среднем до 4,20 пг/мл (в группе сравнения 1,00 пг/мл) свидетельствует о включении гуморального иммунного ответа.

Как уже отмечалось, IFN γ и IL-4 являются важными цитокинами, свидетельствующими о преобладании либо клеточного, либо гуморального иммунного ответа. В результате сравнения содержания IFN γ и IL-4 была установлена недостаточная локальная активность Th1-клеток. Это заключение подтверждается вычислением коэффициента соотношения IFN γ :IL-4, который составил 10,42 (5,7-19,6) в группе контроля, а в группе пациентов с флегмоной ЧЛО – 2,2 (1,3-2,4), $p < 0,001$.

Сравнение содержания цитокинов в слюне пациентов с флегмоной челюстно-лицевой области, в зависимости от распространенности процесса, позволило установить значительное увеличение содержания IL-1 β при распространенном воспалительном процессе (в среднем в 3,7 раза в сравнении с воспалением в 1 области и в 2 раза при сравнении с воспалением в 2-3 областях), что связано с большей бактериальной нагрузкой, выраженным воспалением и, соответственно, количеством и активностью макрофагов, чем при менее распространенном воспалительном процессе. Поэтому содержание цитокинов при воспалении в 2-3 областях больше примерно в 2 раза, чем у пациентов первой группы.

TNF α и IL-17 в большом количестве синтезируются в очаге поражения макрофагами в ответ на действие флогогенов. Поэтому значительное содержание их в слюне у пациентов с распространенным воспалительным процессом, так же как и увеличение IL-1 β , объясняется большой антигенной нагрузкой, гипоксией и метаболическим ацидозом в поврежденных тканях.

В отличие от предыдущих провоспалительных цитокинов содержание TNF β примерно в 11 раз больше при воспалительном процессе в 2-3 областях, чем при воспалении в 1 области, и в 14 раз, чем при распространенном процессе. Возможно, это связано с тем, что основными клетками, продуцирующими TNF β , являются Т-лимфоциты, которые более активны при воспалительных процессах в 2-3 областях, а при распространенных воспалительных процессах происходит их супрессия.

Это может подтвердить соотношение Th1- и Th2-маркерных цитокинов – IFN γ и IL-4. Коэффициент соотношения IFN γ :IL-4 в 1, 2 и 3 группе пациентов составил, соответственно, 2,2 (1,8-2,3), 2,4 (1,5-2,5) и 1,5 (0,8-3,4). Это свидетельствует о преобладании клеточного иммунного ответа при флегмоне ЧЛО в 1 области и постепенном снижении его активности при распространении воспалительного процесса. При этом

снижение продукции IL-4, возможно, связано с ингибированием его синтеза интерлейкином 22. Определено, что коэффициент корреляции этих цитокинов $R = -0,72$, $p < 0,01$.

Содержание противовоспалительного IL-22 повышается с увеличением области распространения воспалительного процесса. В среднем его концентрация выше у пациентов 3 группы в сравнении с пациентами 1 группы в 3,4 раза (табл. 2). Вероятно, это связано с необходимостью локализовать процесс, усиливая активность Th1-лимфоцитов и макрофагов.

Концентрация TGF- β_1 значительно выше у пациентов с распространенной флегмоной ЧЛО (99,69 нг/мл, против 8,06 нг/мл при флегмоне в 1 области и 31,00 нг/мл в 2-3 областях). Это можно расценить как защитно-компенсаторный процесс, направленный на контроль и предотвращение гиперергической иммунной реакции при значительной антигенной и токсической нагрузке в очаге поражения. В то же время содержание TGF- β_2 ниже у пациентов 3 группы в сравнении с 1 группой примерно в 2 раза. Уменьшение концентрации TGF- β_2 , вероятно, свидетельствует о генерализации воспалительного процесса [7]. Возможно, снижение количества TGF- β_2 может указывать на отсутствие в очаге активных восстановительных процессов, что связано с разрушением клеток в очаге поражения [11]. И, судя по активации выработки TGF- β_1 , снижение активности TGF- β_2 в последующем может привести к формированию фиброза.

Содержание противовоспалительного IL-10 в среднем в 24 раза выше у пациентов с распространенным воспалительным процессом, чем у пациентов с 1 областью поражения. Это связано с тем, что главными продуцентами этого цитокина являются макрофаги, активность которых больше при распространенном воспалительном процессе. Увеличение количества IL-10 необходимо для ограничения и купирования обширного воспалительного процесса, а также для подавления болевого ощущения [8]. Однако, учитывая его столь значительное раннее повышение, это может привести к иммуносупрессии и формированию синдрома иммунного паралича [10].

Таким образом, изучение слюны является информативным методом. С помощью анализа содержания цитокинов можно установить выраженность воспалительного процесса, оценить преобладание клеточного или гуморального звена иммунитета, а также определить адекватность иммунного ответа.

Выводы

1. Содержание провоспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF α , TNF β , IL-17) выше у паци-

ентов при любой распространенности флегмон в ЧЛО в сравнении с контрольной группой. Это связано с необходимостью адекватной активации защитных механизмов организма на альтерацию.

2. Концентрация противовоспалительных цитокинов повышается в ответ на увеличение содержания медиаторов, индуцирующих иммунный ответ. Это необходимо для ограничения и снижения возможной гиперактивной иммунной реакции. Содержание противовоспалительного IL-10 значительно повышается при распространенной флегмоне и выше группы контроля в среднем в 20 раз, при процессе в 2-3 областях – в 6 раз.

3. Содержание IL-4 во всех группах пациентов, в зависимости от распространенности процесса, выше контрольной группы, что свидетельствует об активации гуморального звена иммунной системы. В то же время концентрация другого Th-маркерного цитокина – IFN γ – превышает результаты контрольной группы только при флегмоне в 1 области, что связано с реализацией активации клеточного иммунного ответа. Но при распространенном процессе его содержание ниже в 4,3 раза, чем в контрольной группе, что свидетельствует о нарушении функциональной активности Th1-лимфоцитов у этой категории пациентов.

Список литературы / References

1. Еловикова Т.М., Григорьев С.С. Слюна как биологическая жидкость и ее роль в здоровье полости рта. Екатеринбург: ТИРАЖ, 2018. 69 с. [Elovikova T.M., Grigoriev S.S. Saliva as a biological fluid and its role in the health of the oral cavity]. Yekaterinburg: TIRAZH, 2018. 69 p.
2. Земсков А.М., Земсков В.М., Караулов А.В. Клиническая иммунология / Под ред. А.М. Земскова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 432 с. [Zemskov A.M., Zemskov V.M., Karaulov A.V. Clinical immunology. Ed. by A.M. Zemskov]. Moscow: GEOTAR-Media, 2008. 432 p.
3. Калинина О.Ю., Гайков С.Н. Диагностика и лечение абсцессов и флегмон челюстно-лицевой области: общепринятые правила и собственный опыт // Вестник Клинической больницы, 2016. Т. 2, № 51. С. 21-28. [Kalinina O.Yu., Gaikov S.N. Diagnostics and treatment of abscesses and phlegmon of the maxillofacial region: generally accepted rules and own experience. *Vestnik Klinicheskoy bolnitsy = Bulletin of the Clinical Hospital*, 2016, Vol. 2, no. 51, pp. 21-28. (In Russ.)]
4. Кетлинский С.С., Симбирцев А.С. Цитокины. М.: Фолиант, 2018. 552 с. [Ketlinsky S.S., Simbirtsev A.S. Cytokines]. Moscow: Folioant, 2018. 552 p.
5. Луцкий А.А., Жирков А.А., Лобзин Д.Ю., Рао М., Алексеева Л.А., Мейерер М., Лобзин Ю.В. Интерферон- γ : Биологическая функция и значение для диагностики клеточного иммунного ответа // Журнал инфектологии, 2015. № 7 (4). С. 10-22. [Lutsky A.A., Zhirkov A.A., Lobzin D.Yu., Rao M., Alekseeva L.A., Meyrer M., Lobzin Yu.V. Interferon- γ : Biological function and significance for the diagnosis of cellular immune response. *Zhurnal infektologii = Journal of Infectology*, 2015, no. 7 (4), pp. 10-22. (In Russ.)]
6. Малышев М.Е., Лобейко В.В., Иорданишвили А.К. Показатели секреторного иммунитета слюны у пациентов с различными заболеваниями слюнных желез // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье», 2015. № 1. С. 40-47. [Malyshev M.E., Lobeyko V.V., Iordanishvili A.K. Indicators of secretory immunity of saliva in patients with various diseases of the salivary glands. *Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik "Chelovek i ego zdorovye" = Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and his Health"*, 2015, no. 1, pp. 40-47. (In Russ.)]
7. Москалев А.В., Рудой А.С., Апчел А.В., Зуева В.О., Казымова О.Э. Особенности биологии трансформирующего ростового фактора β и иммунопатология // Вестник российской военно-медицинской академии, 2016, № 2 (54). С. 206-215. [Moskalev A.V., Rudoy A.S., Apchel A.V., Zueva V.O., Kazymova O.E. Features of the biology of transforming growth factor β and immunopathology. *Vestnik rossiyskoy voenno-meditsinskoy akademii = Bulletin of the Russian Military Medical Academy*, 2016, no. 2 (54), pp. 206-215. (In Russ.)]
8. Семинский И.Ж., Серебренникова С.Н., Гузовская Е.В. Роль цитокинов в патогенезе заболеваний // Сибирский медицинский журнал, 2015. № 1. С. 14-17. [Seminsky I.Zh., Serebrennikova S.N., Guzovskaya E.V. The role of cytokines in the pathogenesis of diseases. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal = Siberian Medical Journal*, 2015, no. 1, pp. 14-17. (In Russ.)]
9. Серебренникова С.Н., Семинский И.Ж., Семенов Н.В., Гузовская Е.В. Интерлейкин-1, интерлейкин-10 в регуляции воспалительного процесса // Сибирский медицинский журнал, 2012. № 8. С. 5-7. [Serebrennikova S.N., Seminsky I.Zh., Semenov N.V., Guzovskaya E.V. Interleukin-1, interleukin-10 in the regulation of the inflammatory process. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal = Siberian Medical Journal*, 2012, no. 8, pp. 5-7. (In Russ.)]
10. Черешнев В.А., Гусев Е.Ю., Зотова Н.В. Фундаментально-прикладные аспекты системного воспаления с позиции теории физиологических и типовых патологических процессов // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова, 2010. Т. 96, № 7. С. 696-707. [Chereshnev V.A., Gusev E.Yu., Zotova N.V. Fundamental and applied aspects of systemic inflammation from the perspective of the theory of physiological and

typical pathological processes. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova = Russian Journal of Physiology*, 2010, Vol. 96, no. 7, pp. 696-707. (In Russ.)]

11. Черных В.В., Коненков В.И., Орлов Н.Б., Ермакова О.В., Ходжаев Н.С., Трунов А.Н. Особенности содержания трансформирующих факторов роста – бета 1,2,3 (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3) во внутриглазной жидкости при первичной открытоугольной глаукоме // Офтальмохирургия, 2019. № 2. С. 13-17. [Chernykh V.V., Konenkov V.I., Orlov N.B., Ermakova O.V., Khodzhaev N.S., Trunov A.N. Features of the content of transforming growth factors-beta 1,2,3 (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3) in intraocular fluid in primary open-angle glaucoma. *Oftalmokhirurgiya = Ophthalmic Surgery*, 2019, no. 2, pp. 13-17. (In Russ.)]

Авторы:

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

Романчук А.Л. — ассистент института стоматологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; заведующий отделением челюстно-лицевой хирургии ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2, г. Владивосток, Россия

Шуматов В.Б. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой анестезиологии, реаниматологии, интенсивной терапии и скорой медицинской помощи, ректор ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Красников В.Е. — к.м.н., доцент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Демьяненко А.С. — студентка лечебного факультета ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Джафаров Р.Н. — студент лечебного факультета ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Authors:

Markelova E.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Normal and Pathological Physiology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Romanchuk A.L., Assistant at the Institute of Dentistry, Pacific State Medical University; Head of the Department of Maxillofacial Surgery, Regional Clinical Hospital No. 2, Vladivostok, Russian Federation

Shumatov V.B., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Anesthesiology, Reanimatology, Intensive Care and Emergency Medical Help, Rector, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Krasnikov V.E., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Normal and Pathological Physiology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Demyanenko A.S., Student of the Medical Faculty, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Dzhafarov R.N., Student of the Medical Faculty, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Поступила 09.06.2020
Принята к печати 28.07.2020

Received 09.06.2020
Accepted 28.07.2020

РОЛЬ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ В ГЕНАХ *TNF*, *NOS3* И *MMP9* В РИСКЕ РАЗВИТИЯ НЕОНАТАЛЬНЫХ ПНЕВМОНИЙ

Меремьянина Е.А.^{1,2}, Свитич О.А.^{1,3}, Алиева А.И.⁴, Соболев В.В.¹

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

² ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

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

⁴ ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия

Резюме. Неонатальные пневмонии являются одной из самых распространенных причин детской смертности. Вместе с тем диагностика данной патологии представляет собой непростую задачу и требует поиска дополнительных решений в клиническо-лабораторной практике. Одним из современных и перспективных направлений в диагностике является поиск предиктивных маркеров в генах факторов врожденного и адаптивного иммунитета, которые задействованы в процессах развития патологии. Для подбора генов, имеющих весомое значение в развитии неонатальных пневмоний, мы использовали биоинформационный анализ. Далее методом полимеразной цепной реакции в реальном времени была исследована пуповинная кровь от 234 новорожденных на девять полиморфных маркеров в генах *TNF*, *IL10*, *IL17A*, *IL17F*, *IL6*, *NOS3* и *MMP9*. Статистический анализ полученных результатов показал ассоциацию гетерозиготных генотипов в генах *MMP9* и *TNF* с риском развития ранней неонатальной пневмонии, а также протективную роль гомозигот AA в гене *MMP9* и GG в гене *TNF*. Поиск ассоциаций с риском развития внутриутробной пневмонии выявил неблагоприятную роль гетерозиготных генотипов в генах *NOS3* и *MMP9*. Таким образом, при трудностях в диагностике и новорожденным, находящимся в группе риска по развитию неонатальной пневмонии, в дополнение к классическим методам исследования можно рекомендовать сделать генетический анализ на исследование полиморфных маркеров в генах *MMP9* (rs17576), *TNF* (rs1800629) и *NOS3* (rs1549758).

Ключевые слова: врожденный иммунитет, адаптивный иммунитет, ранняя неонатальная пневмония, внутриутробная пневмония, полиморфные маркеры, биоинформационный анализ, полимеразная цепная реакция

Адрес для переписки:

Меремьянина Екатерина Андреевна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»
105064, Россия, Москва, Малый Казенный пер., 5а.
Тел.: 8 (926) 184-14-89.
E-mail: ekatterine@gmail.com

Address for correspondence:

Meremianina Ekaterina A.
I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera
105064, Russian Federation, Moscow, Maly Kazenny lane, 5a.
Phone: 7 (926) 184-14-89.
E-mail: ekatterine@gmail.com

Образец цитирования:

Е.А. Меремьянина, О.А. Свитич, А.И. Алиева,
В.В. Соболев «Роль полиморфных маркеров в генах
TNF, *NOS3* и *MMP9* в риске развития неонатальных
пневмоний» // Российский иммунологический журнал,
2020. Т. 23, № 3. С. 257-262.
doi: 10.46235/1028-7221-346-ARO
© Меремьянина Е.А. и соавт., 2020

For citation:

E.A. Meremianina, O.A. Svitich, A.I. Alieva, V.V. Sobolev
“A role of single nucleotide polymorphism in *TNF*, *NOS3* and
MMP9 genes at the risk of developing neonatal pneumonia”,
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 3, pp. 257-262.
doi: 10.46235/1028-7221-346-ARO
DOI: 10.46235/1028-7221-346-ARO

A ROLE OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM IN *TNF*, *NOS3* AND *MMP9* GENES AT THE RISK OF DEVELOPING NEONATAL PNEUMONIA

Meremianina E.A.^{a,b}, Svitich O.A.^{a,c}, Alieva A.I.^d, Sobolev V.V.^a

^a I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

^b Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation

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

^d Dagestan State Medical Academy, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russian Federation

Abstract. Neonatal pneumonia is one of the most common causes of infant mortality. Moreover, the diagnosis of this pathology represents a difficult task and requires to seek for additional solutions in clinical and laboratory practice. One of the current and promising ways to diagnose relies on search of predictive markers among the innate and adaptive immunity genes involved in disease pathogenesis. We used bioinformatics analysis to select genes playing essential role developing neonatal pneumonia. Next, cord blood samples collected from 234 newborns were examined by real-time polymerase chain reaction for nine polymorphic markers in the *TNF*, *IL10*, *IL17A*, *IL17F*, *IL6*, *NOS3*, and *MMP9* genes. The results of statistical analysis showed that heterozygous genotypes in the *MMP9* and *TNF* genes were associated with the risk of developing early neonatal pneumonia, and also the protective role of homozygotes AA in the *MMP9* gene and GG in the *TNF* gene. A search for associations with a risk of intrauterine pneumonia revealed an unfavorable role for heterozygous genotypes in the *NOS3* and *MMP9* genes. Thus, due to difficulties in diagnosis or in case of developing neonatal pneumonia, it may be recommended to add genetic analysis for assessing polymorphic markers in the *MMP9* (rs17576), *TNF* (rs1800629) and *NOS3* (rs1549758) genes along with standard test assays.

Keywords: innate immunity, adaptive immunity, neonatal pneumonia, congenital pneumonia, single nucleotide polymorphism, bioinformatic analysis, polymerase chain reaction

Введение

Одной из наиболее актуальных проблем современной неонатологии являются пневмонии новорожденных. Ежегодно во всем мире от пневмонии умирает до 500 000 детей в возрасте до 1 года [6]. Тяжесть и течение пневмонии зависят от множества факторов: срока гестации, веса новорожденного, инфекционного агента, наличия осложнений, произошло ли заражение внутриутробно или нет. Наиболее часто пневмония у преждевременно рожденных детей проявляется как системное ухудшение и сочетается с неинфекционными респираторными осложнениями недоношенности, что сильно усложняет проблему дифференциальной диагностики, определения типа пневмонии и тактики лечения. Для диагностики неонатальных пневмоний собирают клинические данные, проводят физикальное обследование, рентгенограмму, делают бактериологические посевы отделяемого из зева и трахеобронхиального аспирата, проводят гистологическое исследование плаценты, пуповины и плодных оболочек, а также выполняют ге-

матологические и серологические тесты. Однако не всегда возможно провести весь комплекс исследований вследствие особенностей строения новорожденного (наличие технических барьеров для отбора проб в нижних отделах дыхательных путей), более того, многие исследования имеют схожую картину при других патологиях (например, болезнь гиалиновых мембран имеет схожую клиническую и рентгенологическую картину), поэтому даже этого комплекса исследований бывает недостаточно, чтобы поставить точный диагноз.

Среди современных диагностических методов определенную нишу также занимают иммунологические анализы. Роль иммунных реакций в развитии неонатальных пневмоний была многократно продемонстрирована [2, 3]. В последнее время, наряду с классическими способами изучения факторов иммунитета, активно развивается направление генетических исследований, в частности изучение однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в генах цитокинов и других иммунных факторов, играющих ключевую роль в развитии иммунного ответа. Исследование «полиморфиз-

мов» в генах факторов врожденного и адаптивно-го иммунитета может помочь и найти дополнительный инструмент для диагностики патологии, и адекватно оценить риски развития пневмонии, когда пациент еще здоров. Таким образом, **целью настоящего исследования** явилась оценка генетического риска развития неонатальных пневмоний на основании изучения полиморфных маркеров врожденного и адаптивного иммунитета.

Материалы и методы

Для исследования было собрано 234 образца пуповинной крови у новорожденных Дагестанской популяции. Образцы были распределены по группам (ранняя неонатальная пневмония (РНП) — 100 образцов; внутриутробная пневмония (ВУП) — 48 образцов; контрольная группа — 86 образцов) в соответствии с общепринятой классификацией неонатальных пневмоний [1]. Биоинформационный анализ был проведен с использованием программы Pathway Studio® и реферативной базы данных ResNet® (Ariadne Genomics, США). Отобранные полиморфные маркеры изучались методом полимеразной цепной реакции в реальном времени при помощи коммерческих наборов (Синтол, РФ; Литех, РФ). *IL10* rs1800896 и *TNF* rs1800629 изучались при помощи специально синтезированных праймеров и реактивов из набора для проведения ПЦР-РВ (Синтол, РФ). Маркер rs2275913 в гене *IL17A* исследовался методом рестрикционного анализа. Статистический анализ был осуществлен посредством критерия χ^2 , отношения шансов и 95% доверительного интервала. Результаты с $p < 0,05$ считались статистически достоверными.

Результаты и обсуждение

При помощи биоинформационных технологий были обработаны научные труды, индексированные в Medline, и в результате установлены гены, чей вклад в развитие неонатальных пневмоний наиболее вероятен. Далее были изучены литературные данные и найдены полиморфные маркеры, потенциально имеющие наибольшее влияние на экспрессию отобранных генов: *TNF* (*G(-308)A* и *G4682A*), *IL10* (*A(-1082)G* и *A(-592)C*), *IL17A* (*G(-197)A*), *IL17F* (*C11139G*), *IL6* (*C174G*), *NOS3* (*C774T*) и *MMP9* (*G279A*). В ходе нашего исследования было выявлено, что существенную роль в развитии неонатальных пневмоний играют полиморфные маркеры *G279A* в гене *MMP9*, *G(-308)A* в гене *TNF* и *C774T* в гене *NOS3*.

Ген *MMP9* располагается на двадцатой хромосоме (20q13.12) и содержит тринадцать экзонов.

Не все выявленные на сегодняшний день однонуклеотидные замены в гене оказывают влияние на его экспрессию. Полиморфный маркер rs17576 является одним из значимых «полиморфизмов» в гене *MMP9*. Так, ранее уже было продемонстрировано его значение в риске развития таких патологий, как глаукома, рак предстательной железы и др. [11, 12], однако его ассоциация с риском развития неонатальных пневмоний показана впервые. Согласно литературным данным, распределение аллелей и генотипов полиморфного маркера rs17576 в гене *MMP9* может сильно варьировать в зависимости от популяции [9], в нашей выборке во всех исследуемых группах отмечалось незначительное преобладание аллеля А (РНП — 0,534; ВУП — 0,562; контрольная группа — 0,650). Статистический анализ также выявил, что у носителей гетерозиготного генотипа в 8,6 раза выше риск заболеть РНП ($\chi^2 = 14,25$; $p < 0,05$; OR = 8,63; 95%CI = 2,67-27,91) и в 3,8 раза — ВУП ($\chi^2 = 4,19$; $p < 0,05$; OR = 3,88; 95%CI = 1,21-12,47) по сравнению с контрольной группой. С другой стороны, носительство гомозиготы АА уменьшает риск развития РНП в 5,5 раз ($\chi^2 = 8,38$; $p < 0,05$; OR = 0,18; 95% CI = 0,05-0,61). Таким образом, полиморфный маркер *G279A* (rs17576) в гене *MMP9* является прогностическим при оценке риска развития неонатальных пневмоний.

Также в прогнозировании риска развития РНП, согласно данным нашего исследования, существенную роль играет полиморфный маркер *G(-308)A* (rs1800629) в гене *TNF*. Ген *TNF* локализован в сегменте 6p21.33, содержит четыре экзона и является достаточно хорошо изученным. Одним из самых значимых полиморфных маркеров, представленных в этом гене, является rs1800629. Существует огромная база литературных данных по его влиянию на риски развития самых разных заболеваний [8], в том числе и на восприимчивость к септическому шоку, вызванному пневмонией [5]. При изучении полиморфного маркера rs1800629 в гене *TNF* мы выявили преобладание аллеля G во всех исследуемых группах (РНП — 0,698; ВУП — 0,848; контрольная группа — 0,816), что сопоставимо с другими популяциями, согласно литературным обзорам [10]. Однако в группе с РНП аллель G встречался значительно реже, нежели аллель А, по сравнению с контрольной выборкой ($\chi^2 = 6,52$; $p < 0,05$; OR = 0,52; 95% CI = 0,31-0,86). Изучение распределения генотипов также показало, что носители гетерозиготы в 3,5 раза больше подвержены риску развития РНП ($\chi^2 = 15,58$; $p < 0,01$; OR = 3,55; 95%CI = 1,87-6,75), а носительство гомозиготы GG, наоборот,

Патология Pathology Полиморфный маркер Single nucleotide polymorphism	<i>MMP9</i> <i>G279A</i> (rs 17576)	<i>TNF</i> <i>G(-308)A</i> (rs 1800629)	<i>NOS3</i> <i>C774T</i> (rs 1549758)
Ранняя неонатальная пневмония (РНП) Early neonatal pneumonia	GA ↑ в 8,6 раза GA ↑ 8.6 times AA ↓ в 5,5 раз AA ↓ 5.5 times	аллель G ↓ в 1,9 раз GA ↑ в 3,5 раза GG ↓ в 3 раза Allele G ↓ 1.9 times GA ↑ 3.5 times GG ↓ 3 times	
Внутриутробная пневмония (ВУП) Congenital pneumonia	GA ↑ в 3,8 раза GA ↑ 3.8 times		CT ↑ в 3 раза CT ↑ 3 times

Рисунок 1. Ассоциация маркеров в генах цитокинов с риском развития неонатальных пневмоний

Figure 1. Association of markers in cytokine genes with a risk of developing neonatal pneumonia

уменьшает таковой риск в 3 раза ($\chi^2 = 12,42$; $p < 0,05$; OR = 0,33; 95%CI = 0,18-0,62). Таким образом, в оценке риска развития РНП играют существенную роль «полиморфизмы» в генах *TNF* (rs1800629) и *MMP9* (rs17576).

Третьим статистически значимым полиморфным маркером в нашем исследовании оказался *C774T* (rs1549758) в гене *NOS3*. Данный полиморфизм на данный момент мало изучен, и в базах данных представлено очень незначительное количество научных трудов его исследовавших. Так, например, Н.С. Фаттахов и соавт. продемонстрировали взаимосвязь гетерозиготного генотипа с риском развития метаболического синдрома [4], а J.W. Jeoung и соавт. показали отсутствие связи данного «полиморфизма» с глаукомой [7], однако остается огромное множество патологий, в риске развития которых роль данного полиморфного маркера еще предстоит изучить. В нашей научной работе мы выявили преобладание аллеля С во всех выборках (РНП – 0,764; ВУП – 0,646; контрольная группа – 0,722), а гомозигота *TT* встречалась только в контрольной группе и с наименьшей частотой (0,056). Также мы обнаружили, что гетерозиготный генотип *CT* увеличивает риск развития ВУП в 3 раза ($\chi^2 = 4,05$; $p < 0,05$;

OR = 3,04; 95%CI = 1,01-9,11). Таким образом, полиморфные маркеры *NOS3* rs1549758 и *MMP9* rs17576 ассоциированы с риском развития ВУП.

Заключение

Диагностика неонатальной пневмонии является трудоемкой задачей в силу физиологических особенностей новорожденного. Наряду с общепринятыми клиническими и инструментальными методами, врачам часто приходится искать дополнительные способы для дифференциальной диагностики. Оценка полиморфных маркеров в генах иммунологических факторов, играющих существенную роль в развитии и течении воспалительных процессов в легких, может служить еще одним вспомогательным инструментом при постановке диагноза. В нашем исследовании мы продемонстрировали ассоциацию полиморфных маркеров в генах *MMP9*, *TNF* и *NOS3* с риском развития неонатальных пневмоний (рис. 1), таким образом, предложив не только еще один вариант диагностического исследования у уже заболевших новорожденных, но и метод оценки риска заболеть неонатальной пневмонией, например, у здорового, но недоношенного ребенка.

Список литературы / References

1. Антонов А.Г., Арестова Н.Н., Байбарина Е.Н. Неонатология: национальное руководство / Под ред. Н.Н. Володина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 848 с. [Antonov A.G., Arestova N.N., Baybarina E.N. Neonatology: national guideline. Ed. by N.N. Volodin]. Moscow: GOETAR-Media, 2009. 848 p.
2. Журавлева Л.Н., Новикова В.И. Показатели врожденного иммунитета при пневмониях у новорожденных // Охрана материнства и детства, 2018. № 2 (32). С. 27-31. [Zhuravleva L.N., Novikova V.I. System of congenital immunity in pneumonia in newborns. *Okhrana materinstva i detstva = Maternal and Child Health*, 2018, no. 2 (32), pp. 27-31. (In Russ.)]
3. Bellanti J.A., Zelig B.J. Current concepts of immune interventions in children with respiratory diseases. *Respiration*, 1994, Vol. 61, no. 1, pp. 3-7.
4. Fattakhov N., Smirnova L., Atochin D., Parshukova D., Skuratovskaia D., Painter Q., Zatolokin P., Semke A., Litvinova L., Ivanova S. Haplotype analysis of endothelial nitric oxide synthase (NOS3) genetic variants and metabolic syndrome in healthy subjects and schizophrenia patients. *Int. J. Obes. (Lond)*, 2018, Vol. 42, no. 12, pp. 2036-2046.
5. Feng B., Mao Z-R, Pang K., Zhang S-L., Li L. Association of tumor necrosis factor α -308G/A and interleukin-6 -174G/C gene polymorphism with pneumonia-induced sepsis. *J. Crit. Care*, 2015, Vol. 30, no. 5, pp. 920-923.
6. GBD 2015 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*, 2016, Vol. 388, no. 10053, pp. 1459-1544.
7. Jeoung J.W., Kim D.M., Oh S., Lee J-S., Park S.S., Kim J.Y. The relation between endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and normal tension glaucoma. *J. Glaucoma*, 2017, Vol. 26, no. 11, pp. 1030-1035.
8. Qidwai T., Khan F. Tumour necrosis factor gene polymorphism and disease prevalence. *Scand. J. Immunol.*, 2011, Vol. 74, no. 6, pp. 522-547.
9. Wu M.Y., Wu Y., Zhang Y., Liu C.Y., Deng C.Y., Peng L., Zhou L. Associations between matrix metalloproteinase gene polymorphisms and glaucoma susceptibility: a meta-analysis. *BMC Ophthalmol.*, 2017, Vol. 17, no. 1, 48. doi: 10.1186/s12886-017-0442-2.
10. Zhang Y., Cao Y., Xin L., Gao N., Liu B. Association between rs1800629 polymorphism in tumor necrosis factor- α gene and dilated cardiomyopathy susceptibility: Evidence from case-control studies. *Medicine (Baltimore)*, 2018, Vol. 97, no. 50, e13386. doi: 10.1097/MD.00000000000013386.
11. Zhao F., Fan Z., Huang X. Role of matrix metalloproteinase-9 gene polymorphisms in glaucoma: a hospital-based study in chinese patients. *J. Clin. Lab. Anal.*, 2020, Vol. 34, no. 3, e23105. doi: 10.1002/jcla.23105.
12. Zhou H., Zhu X. Association between matrix-metalloproteinase polymorphisms and prostate cancer risk: a meta-analysis and systematic review. *Cancer Manag. Res.*, 2018, Vol. 10, pp. 5247-5259.

Авторы:

Меремьянина Е.А. — к.м.н., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»; старший преподаватель кафедры вирусологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Свитич О.А. — д.м.н., член-корреспондент РАН, профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет); директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Authors:

Meremianina E.A., PhD (Medicine), Junior Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera; Senior Lecturer, Department of Virology, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation

Svitich O.A., PhD, MD (Medicine), Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology, First Moscow State I. Sechenov Medical University (Sechenov University); Director, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Алиева А.И. — д.м.н., доцент, декан медико-профилактического факультета ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия

Соболев В.В. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Alieva A.I., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Dean, Faculty of Medicine and Prevention, Dagestan State Medical Academy, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russian Federation

Sobolev V.V., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Поступила 09.06.2020
Принята к печати 01.07.2020

Received 09.06.2020
Accepted 01.07.2020

ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМЫ ИНТЕРФЕРОНОВ, МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ИХ ТКАНЕВЫХ ИНГИБИТОРОВ У ЖЕНЩИН С ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ В ПЕРИОД ПРЕГРАВИДАРНОЙ ПОДГОТОВКИ

Невежкина Т.А., Кныш С.В., Чагина Е.А., Матюшкина Л.С.,
Умеренкова С.А.

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

Резюме. Прегравидарная подготовка, или прекоцепционная подготовка, является одним из важных аспектов подготовки к беременности и родам, которая включает в себя комплекс диагностических и лечебно-профилактических мероприятий, направленных на зачатие и рождение здорового ребенка. В настоящее время прегравидарная подготовка носит определяющий характер успешного зачатия как со стороны женщины, так и со стороны мужчины. Вирус-ассоциированная инфекция является одной из основных причин нарушения репродуктивной функции. Инфекционная патология урогенитального тракта клинически часто проявляется бактериальным вагинозом (БВ), что представляет собой идеальную среду для распространения воспалительного процесса восходящим путем, что приводит к нарушению репродукции. Иммунный ответ организма предопределяет тяжесть и продолжительность воспалительного процесса, что приводит к репродуктивным нарушениям.

В проведенном нами исследовании представлены уровни системы интерферонов, матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов у женщин с ИППП и папилломавирусной инфекцией и у женщин с ИППП без папилломавирусной инфекции.

Целью исследования явилась оценка уровня интерферонов, показателей системы матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов у женщин с папилломавирусной инфекцией в период прегравидарной подготовки.

Обследовано 73 пациентки на инфекции, передающиеся половым путем (ИППП), согласно стандартам обследования пациентов на ИППП. Пациенток разделили на 3 основных группы: I группа (n = 32) – ИППП с папилломавирусной инфекцией, II группа (n = 27) – ИППП без папилломавирусной инфекции и III группа – контрольная, 14 практически здоровых женщин-добровольцев. Средний возраст пациенток составил $26,3 \pm 3,2$ лет, средний возраст женщин контрольной группы был $29,5 \pm 2,2$ лет. Определение уровня ИФН, ММП и ТИМП в сыворотке крови проводили с помощью

Адрес для переписки:

Невежкина Татьяна Андреевна
ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ
690033, Россия, г. Владивосток, пр. 100-летия
Владивостоку, 62.
Тел.: 8 (914) 672-89-45.
E-mail: www.tanya.ru9292@mail.ru

Address for correspondence:

Nevezhkina Tatyana A.
Pacific State Medical University
690033, Russian Federation, Vladivostok, 100 years
Vladivostok ave., 62.
Phone: 7 (914) 672-89-45.
E-mail: www.tanya.ru9292@mail.ru

Образец цитирования:

Т.А. Невежкина, С.В. Кныш, Е.А. Чагина,
Л.С. Матюшкина, С.А. Умеренкова «Показатели
системы интерферонов, матриксных
металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов
у женщин с папилломавирусной инфекцией в
период прегравидарной подготовки» // Российский
иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 3. С. 263–270.
doi: 10.46235/1028-7221-334-POI

© Невежкина Т.А. и соавт., 2020

For citation:

T.A. Nevezhkina, S.V. Knysh, E.A. Chagina,
L.S. Matushkina, S.A. Umerenkova "Parameters of interferon
system, matrix metalloproteinases and related tissue inhibitors
in women with papillomavirus infection during preconceptual
preparation", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 3, pp. 263–270.
doi: 10.46235/1028-7221-334-POI

DOI: 10.46235/1028-7221-334-POI

специфических реактивов фирмы R&D Diagnostics Inc. (США) методом сэндвич-варианта твердо-фазного иммуноферментного анализа, согласно прилагаемым инструкциям. Учет результатов производили с помощью иммуноферментного анализатора Multiscan (Финляндия). Количество выражали в пг/мл и нг/мл. Статистическая обработка проведена с использованием программы SPSS v. 20 непараметрическими методами.

Выявлены нарушения в системе интерферонов 1, 2 и 3 типов у женщин с папилломавирусной инфекцией. Выявлено повышение ММП-2,8,9 и их тканевых ингибиторов ТИМП-1 и 3 типа у женщин с ПВИ. Длительная персистенция ВПЧ приводит к развитию хронического системного воспалительного ответа, что проявляется иммуновоспалительным синдромом, за счет чего происходят морфологические изменения тканей и беременность становится невозможной.

Ключевые слова: папилломавирусная инфекция, прегравидарная подготовка, интерфероны, матриксные металлопротеиназы, тканевые ингибиторы

PARAMETERS OF INTERFERON SYSTEM, MATRIX METALLOPROTEINASES AND RELATED TISSUE INHIBITORS IN WOMEN WITH PAPILLOMAVIRUS INFECTION DURING PRECONCEPTIONAL PREPARATION

Nevezhkina T.A., Knysh S.V., Chagina E.A., Matushkina L.S., Umerenkova S.A.

Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. Pregravid or preconceptional preparation comprises one of important aspects in planing pregnancy and labor that includes a set of diagnostics as well as vuvative and preventive measures aimed at ensuring conception and birth of healthy children. Currently, preconceptional preparation is viewed crucial for successful conception, both provided by a woman as well as a man. Virus-associated infection is one of the main causes resulting in impaired reproductive function. Host immune response in the urinary tract is often manifested as bacterial vaginosis (BV) underlying sufficient enviornment for developing ascending inflammatory process that accounts for its intensity and duration and lead to reproductive disorders.

Our study provides the data on interferon system, matrix metalloproteinases and related tissue inhibitors in women with STDs and/or papillomavirus infection.

The aim of the study was to assess level of interferons, components of matrix metalloproteinases and related tissue inhibitors in women with papillomavirus infection during preconceptional preparation.

There were examined 73 patients for infection with sexually transmitted diseases (STDs) in accordance with standard protocol. All patients were divided into three groups: Group I (n = 32) – STDs with papillomavirus infection (PVI); Group II (n = 27) – STDs without papillomavirus infection and Group III – Control, consisting of 14 apparently healthy female volunteers. The average age of the patients and control subjects was 26.3 ± 3.2 and 29.5 ± 2.2 years, respectively. Blood serum IFN, MMP and TIMP levels were measured by using specific reagents (R&D Diagnostics Inc., USA) with sandwich ELISA, according to the manufacturer's instructions, on Multiscan immunoassay analyzer (Finland), presented as pg/ml and ng/ml. SPSS v. 20 software was used for the statistical analysis with non-parametric method.

Disturbances in type 1, 2 and 3 interferons were found in women with papillomavirus infection. An increased amount of MMP-2,8,9 and related tissue inhibitors TIMP-1 and TIMP-3 in women with PVI was revealed. Long-term HPV persistence leads to developing chronic systemic inflammatory response manifested as immune-inflammatory syndrome accounting for tissue morphological changes making impossible onset of pregnancy.

Keywords: papillomavirus infection, pregravid preparation, interferons, matrix metalloproteinases, tissue inhibitors

Введение

Прегравидарная подготовка, или преконцепционная подготовка, является одним из важных аспектов подготовки к беременности и родам, которая включает в себя комплекс диагностических и лечебно-профилактических мероприятий, направленных на зачатие и рождение здорового ребенка [6].

В настоящее время прегравидарная подготовка у здоровой женщины состоит из 3-х этапов. На первом этапе проводится медико-генетическое консультирование, диагностика урогенитальных и TORCH-инфекций, оценка соматического здоровья женщины. На втором этапе, за несколько месяцев до предполагаемого оплодотворения, женщина применяет витаминно-минеральные комплексы и на третьем этапе проводят раннюю диагностику беременности в целях оптимального ведения беременности и выявления патологий беременности и плода на ранних сроках для своевременной коррекции патологических состояний как со стороны матери, так и со стороны плода [1].

Однако, в зависимости от соматического анамнеза женщины, этапы могут отличаться последовательностью, тем не менее обследование на ИППП бактериального и вирусного происхождения остается на первом месте в прегравидарный период. Инфекционные агенты урогенитального тракта, бактериальной и вирусной природы могут приводить к различным последствиям исхода беременности, начиная от десквамации эндометрия и экспульсии плодного яйца до патологических морфофункциональных изменений тканей и органов ребенка, приводящих к его инвалидизации в дальнейшем [2, 7, 10].

Инфекционная патология урогенитального тракта клинически часто проявляется бактериальным вагинозом (БВ), что представляет собой идеальную среду для распространения воспалительного процесса восходящим путем, что приводит к нарушению репродукции. Известно, что БВ в качестве моноинфекции встречается редко, большинство вагинальных неспецифических инфекций носит смешанный бактериально-вирусный характер. На фоне БВ возрастает риск активизации латентной вирусной инфекции, прежде всего вируса папилломы человека (ВПЧ) и вируса простого герпеса 1 и 2 типа (ВПГ) [5].

Состояние иммунной системы во многом определяет выраженность и продолжительность инфекционного процесса, влияя на клинические проявления. Клеточный иммунитет, как первая линия защиты, оказывает блокирующее действие

вирусной инфекции и в ряде случаев способствует спонтанному регрессу вирусного процесса, что подтверждает обнаружение большого количества CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитов в инфильтрате регрессирующих кондилом [8].

Папилломавирусная инфекция (ПВИ) является одной из самых распространенных вирусных инфекций, которые могут приводить к осложнениям беременности вплоть до ее потери. ПВИ, находясь внутриэпителиально, не распознается антигенпрезентирующими клетками. Репликация и сборка ВПЧ происходят в клетках, которые вскоре будут отторгнуты. Поэтому при инфицировании ВПЧ нет характерных для многих инфекций виремии, цитолиза и воспаления. Экспрессия белков Е6 и Е7 высокоонкогенных типов ВПЧ подавляет активацию антигенпрезентирующих клеток, блокирует активацию Th1 и цитотоксических Т-лимфоцитов. Таким образом, ВПЧ нарушает взаимодействие между Т-клетками и является индуктором иммунной толерантности, уклоняясь от иммунного ответа, запуская программу эвазии ВПЧ, развития воспалительных и деструктивных изменений урогенитального тракта [3].

Цель исследования — оценить уровень интерферонов, показателей системы матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов у женщин с папилломавирусной инфекцией в период прегравидарной подготовки.

Материалы и методы

Обследовано 73 пациентки на инфекции, передающиеся половым путем (ИППП), согласно стандартам обследования пациентов на ИППП. Пациенток разделили на 3 основных группы: I группа (n = 32) — ИППП с папилломавирусной инфекцией, II группа (n = 27) — ИППП без папилломавирусной инфекции и III группа — контрольная, 14 практически здоровых женщин-добровольцев. Средний возраст пациенток составил $26,3 \pm 3,2$ лет, средний возраст женщин контрольной группы был $29,5 \pm 2,2$ лет. Определение уровня ИФН, ММП и ТИМП в сыворотке крови проводили с помощью специфических реактивов фирмы R&D Diagnostics Inc. (США) методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа, согласно прилагаемым инструкциям. Учет результатов производили с помощью иммуноферментного анализатора "Multiscan" (Финляндия). Количество выражали в пг/мл и нг/мл. Статистическая обработка проведена с использованием программы SPSS v. 20 непараметрическими методами.

ТАБЛИЦА 1. УРОВЕНЬ ИНТЕРФЕРОНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ПАЦИЕНТОК

TABLE 1. LEVEL OF THE INTERFERONS IN PATIENTS BLOOD SERUM

n/n	Наименование показателя Name of the indicator	Обозначение Designation	Пациенты Patients		
			I группа Group I (n = 32)	II группа Group II (n = 27)	Группа контроля Control group (n = 14)
1	IFN β	пг/мл pg/ml (Me, Q _{0,25} -Q _{0,75}) (min-max)	7,09*** (4,9-10,58)	4,53*** (4,43-7,09)	21,32 (9,72-41,28)
2	IFN γ		2,9** (0,34-6,8)	11,9 (8,6-18,5)	10 (9,8-11,5)
3	IL-29 (IFN λ 1)		45,2* (6,9-92,3)	53,9 (12,32-102,75)	77,12 (38,58-86,71)
4	IL-28 (IFN λ 3)		318* (50,8-410,69)	187,8* (12,41-279,5)	231,2 (205,08-251,93)

Примечание. Статистическая достоверность различий показателей между группами с группой контроля: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Note. Statistical significance of differences in indicators between groups of patients with control group: *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$.

Результаты

Исследование уровня интерферонов показало дисбаланс их содержания у пациенток с выявленной папилломавирусной инфекцией (табл. 1).

Следует отметить, что уровень IFN β был снижен в сыворотке крови у женщин обеих основных групп ($p < 0,001$) в сравнении с группой контроля. Статистически значимого межгруппового различия не выявлено.

Определен дефицит IFN γ в группе с ПВИ ($p < 0,01$) по сравнению с группой контроля и с группой без ВПЧ ($p < 0,01$).

Выявлено достоверное снижение IFN λ 1 у женщин с ПВИ ($p < 0,05$). Тогда как содержание IFN λ 3, напротив, было снижено ($p < 0,05$) у пациенток II группы. В то время как у пациенток с ПВИ установлена статистически значимая активация продукции IFN λ 3 (табл. 1).

При анализе показателей системы матричных металлопротеиназ выявлен ряд закономерностей (табл. 2).

Уровни ММП-2, ММП-8 и ММП-9 повышались в сыворотке крови пациенток обеих основных групп ($p < 0,01$) в сравнении с группой контроля. При этом выявлено наибольшее повышение ММП-2 в группе с ПВИ ($p < 0,05$). Тогда как содержание ММП-8 было достоверно выше во II группе ($p < 0,01$). Концентрация ММП-9 в сыворотке крови была повышена по сравнению с контролем в 1,3 раза и между группами обследованных женщин с ИППП достоверно не отличалась.

Показатели ТИМП-1 в сыворотке крови повышались в обеих основных группах ($p < 0,01$) в сравнении с группой контроля, однако более высокий уровень ТИМП-1 зарегистрирован в группе с ПВИ ($p < 0,01$).

Значения показателей ТИМП-2 в сыворотке крови, напротив, снижались в обеих группах ($p < 0,05$) в сравнении с группой контроля.

Наиболее низкий уровень ТИМП-2 зарегистрирован в группе без ВПЧ ($p < 0,05$).

ТАБЛИЦА 2. УРОВЕНЬ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ИХ ТКАНЕВЫХ ИНГИБИТОРОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ

TABLE 2. LEVEL OF THE METALLOPROTEINASES AND THEIR TISSUE INHIBITORS IN PATIENTS BLOOD SERUM

n/n	Наименование показателя Name of the indicator	Обозначение Designation	Пациенты Patients		
			I группа Group I (n = 32)	II группа Group II (n = 27)	Группа контроля Control group (n = 14)
1	ММП-2 MMP-2	пг/мл pg/ml (Me, Q _{0,25} -Q _{0,75}) (min-max)	186,7** (132,2-246,9)	175,2* (114,5-195,6)	167 (145-182)
2	ММП-8 MMP-8		26,9** (18,4-36,7)	39,11** (18,06-71,1)	14,6 (10,05-20,2)
3	ММП-9 MMP-9		365,7** (309,7-411,5)	362,03** (242,3-443,12)	291,28 (168,44-305,1)
4	ТИМП-1 TIMP-1		324,8** (289,87-337,2)	310,7** (283,5-315,5)	205,08 (180,21-222,1)
5	ТИМП-2 TIMP-2		154* (148,6-163,2)	128,8* (122,63-138,06)	169,04 (73,06-227,66)
6	ТИМП-3 TIMP-3		12,8*** (7,1-14,8)	15,01*** (11,9-17,18)	1,21 (1,17-2,03)

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

ТИМП-3 был повышен в 10 раз в обеих обследуемых группах ($p < 0,001$) в сравнении с референсными данными. Наиболее высокий уровень был определен в группе без ВПЧ ($p < 0,05$)

Обсуждение

Выявлены нарушения в системе интерферонов 1, 2 и 3 типов у женщин с папилломавирусной инфекцией. Интерфероны 3 типа имели разнонаправленные изменения: при ПВИ определено снижение IFN λ 1 при статистически значимом увеличении IFN λ 3 в сыворотке крови. Снижение интерферонов в сыворотке крови у женщин свидетельствует о нарушении противовирусной

защиты в результате процессов их активного потребления и, вероятно, нарушения их продукции. Также полученные данные могут говорить о варианте компенсаторной защиты организма от инфекции, на фоне снижения интерферонов 1 и 2 типа. Так как особую роль IFN λ играет в реализации противовирусной активности слизистых оболочек, повышение уровня IFN λ 3, в сравнении с IFN λ 1, может быть связано с тем, что, несмотря на генетическое сходство, IFN- λ 3 биологически более активен, чем IFN λ 1 или IFN λ 2 [11]. И, вероятно, в снижение уровня IFN λ 1, который обладает прямой противовирусной активностью, приводит к компенсаторной индукции IFN λ 3.

Повышение ММП-2, ММП-8, ММП-9 и их тканевых ингибиторов ТИМП-1 и 3 типа у женщин с ПВИ в сыворотке крови может свидетельствовать о роли процессов повреждения межклеточного матрикса при вирусной и бактериальной инфекции с нарушением процессов репарации в тканях репродуктивного тракта, приводящих к апоптозу и амплификации иммунных дефектов [4, 9]. Дефицит ТИМП-2 в сыворотке крови у женщин основных групп, вероятно, отражает истощение механизмов регуляции в системе протеолиз — антипротеолиз, что усугубляет повреждение межклеточного матрикса.

Выводы

Таким образом, при анализе системы интерферонов, матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в сыворотке крови у пациенток в период прегравидарной подготовки выявлен наибольший дисбаланс в группе с ПВИ. Длительная персистенция ВПЧ приводит к развитию хронического системного воспали-

тельного ответа, что проявляется иммуновоспалительным синдромом, за счет чего происходят морфологические изменения тканей и беременность становится невозможной. Однако даже при наступлении беременности ПВИ может индуцировать дополнительную иммуносупрессию, что может привести к различным исходам от инфицирования трофобласта и в дальнейшем — к внутриутробному инфицированию плода, что повлечет за собой патологию развития и, возможно, приведет к самопроизвольному аборт или преждевременным родам.

Благодарности

Авторы выражают благодарность Маркеловой Е.В., д.м.н., профессору, заведующей кафедрой нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России; Чикалову И.В., к.х.н., доценту кафедры биоорганической химии и биотехнологии Школы естественных наук ДВФУ.

Список литературы / References

1. Бахарева И.В. Современная прегравидарная подготовка: комплексный подход // РМЖ. Мать и дитя, 2017. № 12. С. 889-893. [Bakhareva I.V. Modern pregravid preparation: an integrated approach. *RMZh. Mat i ditya = Russian Medical Journal. Mother and Baby*, 2017, no. 12, pp. 889-893. (In Russ.)]
2. Болатовна М.М., Ержанулы Р.А., Асалжанкызы Ш.А. Современные проблемы неразвивающейся беременности // Вестник Казахского национального медицинского университета, 2019. № 1. С. 26-28. [Bolatovna M.M., Erzhanuly R.A., Asylzhankyzy Sh.A. Modern problems of non-developing pregnancy. *Vestnik Kazakhskogo natsionalnogo meditsinskogo universiteta = Bulletin of the Kazakh National Medical University*, 2019, no. 1, pp. 26-28. (In Russ.)]
3. Макацария А.Д., Бицадзе В.О., Хизроева Д.Х., Викулов Г.Х., Гомберг М.А. Эффективность и безопасность глюкозаминилмурамилдипептида в лечении заболеваний, ассоциированных с вирусом папилломы человека: систематический обзор // Акушерство, гинекология и репродукция, 2019. Т. 13, № 2. С. 132-153. [Makatsariya A.D., Bitsadze V.O., Khizroeva J.K., Vikulov G.K., Gomberg M.A., Khryanin A.A. Efficacy and safety of glucosaminylmuramyl dipeptide in treatment of human papillomavirus-associated diseases: a systematic review. *Akusherstvo, ginekologiya i reproduksiya = Obstetrics, Gynecology and Reproduction*, 2019, Vol. 13, no. 2, pp. 132-153. (In Russ.)]
4. Маркелова Е.В., Здор В.В., Романчук А.Л., Бирко О.Н. Матриксные металлопротеиназы их зависимость с системой цитокинов, диагностический и прогностический потенциал // Иммунопатология, аллергология, инфектология, 2016. № 2. С. 11-22. [Markelova E.V., Zdor V.V., Romanchuk A.L., Birko O.N. Matrix metalloproteinases: relationship with cytokines system, diagnostic and prognostic potential. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya = Immunopathology, Allergology, Infectology*, 2016, no. 2, pp. 11-22. (In Russ.)]
5. Посисеева Л.В. Коррекция инфекционных заболеваний в прегравидарной подготовке супругов // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение, 2016. № 4. С. 131-134. [Posiseeva L.V. Correction of infectious diseases during pregravid preparation in couples. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie = Infectious Diseases: News, Opinions, Training*, 2016, no. 4, pp. 131-134. (In Russ.)]
6. Пустотина О.А. Прегравидарная подготовка // Медицинский совет, 2017. № 13. С. 64-70. [Pustotina O.A. Preconception preparation. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*, 2017, no. 13, pp. 64-70. (In Russ.)]

7. Сабдулаева Э.Х., Оламова А.О., Бебнева Т.Н., Павлович С.В., Роговская С.И. Прегравидарная подготовка женщин с папилломавирусной инфекцией гениталий // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина, 2011. № 6. С. 152-159. [Sabdulaeva E.Kh., Olamova A.O., Bebneva T.N., Pavlovich S.V., Rogovskaya S.I. Pregravidal training for women with HPV infection of genitals. *Vestnik Rossiyskogo universiteta druzhby narodov. Seriya: Meditsina = Bulletin of the Peoples' Friendship University of Russia. Series: Medicine*, 2011, no. 6, pp. 152-159. (In Russ.)]
8. Тихомиров А.Л., Сарсания С.И., Филатова Г.А. Вирус папилломы человека: от понимания иммунопатогенеза к рациональной тактике ведения // Гинекология, 2018. № 20 (3). С. 5-11. [Tikhomirov A.L., Sarsaniya S.I., Filatova G.A. Human papilloma virus: from understanding of immunopathogenesis to rational tactics of management. *Ginekologiya = Gynecology*, 2018, no. 20 (3), pp. 5-11. (In Russ.)]
9. Хохлова А.С., Маркелова Е.В., Филина Н.В., Овчинникова О.В., Ваева Т.Г., Кабиева А.А. Роль системы матриксных металлопротеиназ в прогрессировании первичной открытоугольной глаукомы // Тихоокеанский медицинский журнал, 2017. № 2. С. 32-34. [Khokhlova A.S., Markelova E.V., Filina N.V., Ovchinnikova O.V., Vaeva T.G., Kabieva A.A. The role of matrix metalloproteinase system in the primary open angle glaucoma patient. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2017, no. 2, pp. 32-34. (In Russ.)]
10. Чертовских М.Н., Кулинич С.И. Оптимизация прегравидарной подготовки больных с неудачными программами ВРТ при бесплодии // Acta Biomedica Scientifica, 2013. № 2 (2). С. 83-86. [Chertovskih M.N., Kulinich S.I. Optimization of the pregravidal examination of patients with unsuccessful programs of assisted reproductive technology (patients with infertility). *Acta Biomedica Scientifica*, 2013, no. 2 (2), pp. 83-86.
11. Lazear H.M., Nice T.J., Diamond M.S. Interferon- λ : immune functions at barrier surfaces and beyond. *Immunity*, 2015, Vol. 43, no. 1, pp. 15-28.

Авторы:

Невежкина Т.А. — ассистент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Кныш С.В. — ассистент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Authors:

Nevezhkina T.A., Assistant Professor, Normal and Pathological Physiology Department, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Knysh S.V., Assistant Professor, Normal and Pathological Physiology Department, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Чагина Е.А. — к.м.н., доцент, ассистент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Матюшкина Л.С. — к.м.н., доцент, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Умеренкова С.А. — студент ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Chagina E.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Assistant Professor, Normal and Pathological Physiology Department, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Matushkina L.S., PhD (Medicine), Associate Professor, Head, Obstetrics and Gynecology Department, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Umerenkova S.A. — Student, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Поступила 09.06.2020
Принята к печати 01.07.2020

Received 09.06.2020
Accepted 01.07.2020

КОНЦЕНТРАЦИЯ IL-1 β И TNF α В СУПЕРНАТАНТАХ КУЛЬТУР КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ДЕТЕЙ С АУТОИММУННОЙ И ИНФЕКЦИОННОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

Пашнина И.А.¹, Криволапова И.М.^{1, 2}, Черешнева М.В.²

¹ ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», г. Екатеринбург, Россия

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

Резюме. Цитокины представляют собой белки с малой молекулярной массой, участвующие в регуляции процессов воспаления, пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток, реализации их эффекторных функций. К числу наиболее мощных индукторов воспалительного ответа относят IL-1 β и TNF α . Продукция провоспалительных цитокинов является частью нормальной реакции организма на инфекцию и компонентом патогенеза различных аутоиммунных заболеваний, в том числе ревматических. Представляет интерес сравнение продукции цитокинов при аутоиммунной и инфекционной патологии, с целью выявления особенностей цитокинового профиля. В связи с этим целью настоящей работы явилась оценка синтеза провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF α клетками периферической крови детей с аутоиммунными и инфекционными заболеваниями.

Обследовано 194 ребенка от 2 до 17 лет: 99 пациентов с ювенильным идиопатическим артритом; 26 больных с неуточненной реактивной артропатией; 14 детей с системной красной волчанкой; 24 ребенка с хроническим вирусным гепатитом С; 33 условно здоровых ребенка. Образцы гепаринизированной крови разводили глутаминсодержащей средой RPMI-1640 (ПанЭко, Россия), готовили контрольный образец без стимулятора и образец, стимулированный фитогемагглютинином (Sigma). Образцы разведенной крови инкубировали в течение 24 часов (37 °С, 5% CO₂), затем центрифугировали. Супернатанты отбирали с помощью автоматического дозатора и однократно замораживали для хранения и дальнейшего исследования. Определение концентрации IL-1 β и TNF α в супернатантах культур клеток крови проводилось методом иммуноферментного анализа с использованием диагностических наборов фирмы АО «Вектор-Бест» (Россия).

Выявлено, что в группах пациентов с ревматическими заболеваниями (системной красной волчанкой, ювенильным идиопатическим артритом и неуточненной реактивной артропатией) спонтанная продукция IL-1 β и TNF α была выше контрольных значений, а стимулированный синтез IL-1 β — ниже. У пациентов с хроническим вирусным гепатитом С и клинически здоровых детей спонтанная концентрация обоих цитокинов и стимулированная концентрация IL-1 β не отличались. После сти-

Адрес для переписки:

Пашнина Ирина Александровна
ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница»
620149, Россия, г. Екатеринбург, ул. С. Дерябиной, 32.
Тел.: 8 (343) 231-91-39.
E-mail: irina_pashnina@list.ru

Address for correspondence:

Pashnina Irina A.
Regional Children's Clinical Hospital
620149, Russian Federation, Yekaterinburg,
S. Deryabina str., 32.
Phone: 7 (343) 231-91-39.
E-mail: irina_pashnina@list.ru

Образец цитирования:

И.А. Пашнина, И.М. Криволапова, М.В. Черешнева
«Концентрация IL-1 β и TNF α в супернатантах
культур клеток периферической крови у детей
с аутоиммунной и инфекционной патологией»
// Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23,
№ 3. С. 271–278.
doi: 10.46235/1028-7221-336-IAT

© Пашнина И.А. и соавт., 2020

For citation:

I.A. Pashnina, I.M. Krivolapova, M.V. Cheresheva "IL-1 β
and TNF α measured in supernatants of peripheral blood
cell cultures from children with autoimmune and infectious
pathology", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 3, pp. 271–278.
doi: 10.46235/1028-7221-336-IAT

DOI: 10.46235/1028-7221-336-IAT

муляции продукция $\text{TNF}\alpha$ у больных с ювенильным идиопатическим артритом, неуточненной реактивной артропатией и гепатитом С была существенно выше, чем в контрольной группе. Более интенсивная спонтанная продукция провоспалительных цитокинов IL-1 β и $\text{TNF}\alpha$ в группах больных с ревматическими заболеваниями указывает на предшествующую активацию иммунокомпетентных клеток. Снижение стимулированной концентрации IL-1 β является свидетельством истощения их функциональных возможностей в условиях такой активации.

Ключевые слова: аутоиммунные заболевания, инфекционные заболевания, системная красная волчанка, ювенильный идиопатический артрит, реактивная артропатия, гепатит С, дети, цитокины

IL-1 β AND $\text{TNF}\alpha$ MEASURED IN SUPERNATANTS OF PERIPHERAL BLOOD CELL CULTURES FROM CHILDREN WITH AUTOIMMUNE AND INFECTIOUS PATHOLOGY

Pashnina I.A.^a, Krivolapova I.M.^{a, b}, Cheresheva M.V.^b

^a Regional Children's Clinical Hospital, Yekaterinburg, Russian Federation

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

Abstract. Cytokines are small-molecular weight proteins involved in regulating inflammation, proliferation and differentiation of immunocompetent cells, as well as effector functions. IL-1 β and $\text{TNF}\alpha$ are among the most powerful inducers of the inflammatory response. Production of proinflammatory cytokines comprises normal response to infection and represents an arm of various autoimmune disease pathogenesis. It is worth comparing cytokine production in autoimmune and infectious diseases to determine features of cytokine profile. The aim of the study was to evaluate proinflammatory cytokines IL-1 β and $\text{TNF}\alpha$ produced by blood cells in children with autoimmune and infectious diseases.

194 children, aged 2–17 years, were examined: 99 patients with juvenile idiopathic arthritis; 26 patients with unspecified reactive arthropathy; 14 children with systemic lupus erythematosus; 24 children with chronic viral hepatitis C; 33 healthy children. Heparinized blood samples were diluted with a glutamine-containing culture medium RPMI-1640, samples with/without phytohemagglutinin stimulation were prepared as well. Samples of diluted blood were incubated for 24 hours (37 °C, 5% CO₂). The concentrations of IL-1 β and $\text{TNF}\alpha$ in the cell culture supernatants were determined by ELISA.

It was found that groups of patients with rheumatic diseases (systemic lupus erythematosus, juvenile idiopathic arthritis and unspecified reactive arthropathy) were featured with spontaneous production of IL-1 β and $\text{TNF}\alpha$ at higher level than in control, and the stimulated synthesis of IL-1 β was lower. In patients with chronic viral hepatitis C, the spontaneous concentration IL-1 β and $\text{TNF}\alpha$ and the stimulated concentration of IL-1 β did not differ those ones found in healthy children. Stimulated $\text{TNF}\alpha$ production in patients with juvenile idiopathic arthritis, unspecified reactive arthropathy, and hepatitis C was significantly higher than in control group. More intensive spontaneous production IL-1 β and $\text{TNF}\alpha$ in groups of patients with rheumatic diseases indicates previous activation of immunocompetent cells. Decreased stimulated IL-1 β production in groups with various diseases points at exhaustion of immunocompetent cell functional reserve due to chronic activation.

Keywords: autoimmune diseases, infection diseases, systemic lupus erythematosus, juvenile idiopathic arthritis, reactive arthropathy, hepatitis C, children, cytokines

Работа выполнена в рамках госзадания ИИФ УрО РАН (№ гос. регистрации 01201352044, тема «Иммунная система в регуляции физиологических функций в норме и при патологических процессах»).

Введение

Цитокины (ЦК) представляют собой белки с малой молекулярной массой, участвующие в регуляции процессов воспроизводства и дифференцировки иммунокомпетентных клеток, ре-

ализации их эффекторных функций. ЦК могут синтезироваться клетками не только иммунной системы, но и других тканей: эпителия, эндотелия, соединительной ткани и т.д. [9]. По преимущественному механизму действия в условиях развития воспалительных реакций ЦК разделяют на про- и противовоспалительные. От соотношения этих групп цитокинов зависит течение воспалительного процесса. К числу наиболее мощных индукторов воспалительного ответа относят IL-1 β и TNF α [1, 9]. Следует отметить, что TNF α находится на первом месте по количеству иммунобиологических препаратов, созданных для нейтрализации этого ЦК при аутоиммунных и других воспалительных процессах [3].

Поскольку ЦК участвуют в воспалительных процессах любой этиологии, их исследованию в сыворотке или плазме крови пациентов с различными заболеваниями посвящено огромное количество работ. Однако уровни ЦК в крови могут быть низкими или даже близкими к нулю в связи с тем, что эти белки являются короткоживущими молекулами и накапливаются в основном в очаге воспаления [12]. Кроме того, в сыворотке крови могут присутствовать растворимые рецепторы ЦК, антицитокиновые антитела и антагонисты рецепторов [10, 21]. Одним из подходов, позволяющих уменьшить влияние вышеперечисленных факторов, является исследование концентраций цитокинов в супернатантах культур клеток. Клетки периферической крови служат удобной моделью для таких исследований, в основном из-за их доступности [5, 10, 21]. Инкубацию клеток можно проводить в спонтанном и/или стимулированном вариантах — для оценки функционального резерва исследуемых клеток. В качестве неспецифических стимуляторов часто используют растительные митогенные лектины: фитогемагглютинин, конканавалин А, митоген лаконоса [9].

Продукция провоспалительных ЦК является частью нормальной реакции организма на инфекцию и компонентом патогенеза различных аутоиммунных заболеваний, в том числе заболеваний соединительной ткани (ревматических) [13]. Представляет интерес сравнение характера продукции ЦК при аутоиммунной и инфекционной патологии для выявления особенностей цитокинового профиля. В связи с этим **целью настоящей работы** явилась оценка синтеза цитокинов клетками периферической крови детей с аутоиммунными и инфекционными заболеваниями.

Материалы и методы

Обследовано 194 ребенка от 2 до 17 лет: 99 пациентов с ювенильным идиопатическим артритом (ЮИА); 26 больных с неуточненной реактивной артропатией (нРеА); 14 детей с системной красной волчанкой (СКВ); 24 ребенка с хроническим вирусным гепатитом С (ХВГС); 33 условно здоровых ребенка (УЗД) (контрольная группа). В результате проведенной в наших предварительных исследованиях оценки уровня спонтанной и стимулированной продукции провоспалительных ЦК у детей с различными вариантами ЮИА не было выявлено различий между группами [11]. Это послужило основанием для объединения больных с ЮИА в одну группу.

Пациенты с СКВ, ЮИА и нРеА проходили обследование и лечение у детских ревматологов консультативной поликлиники, дети с ХВГС были госпитализированы в гастроэнтерологическое отделение ГАУЗ СО «ОДКБ». Диагноз «ЮИА» устанавливался на основании критериев ILAR (Международной лиги ревматологических ассоциаций второго пересмотра в Edmonton, 2001); диагноз «СКВ» — в соответствии с критериями Американского колледжа ревматологов (ACR, 1997); для нРеА использованы критерии, принятые на IV Международном рабочем совещании по реактивным артритам (Берлин, 1999 г.). Все дети с ревматическими заболеваниями и контрольной группы на момент обследования не имели признаков острого или хронического инфекционного процесса. Критерием постановки диагноза «ХВГС» являлось обнаружение возбудителя и определение вирусной нагрузки.

Кровь забиралась в вакуумные гепаринизированные пробирки (Greiner, Австрия). Образцы крови разводили глутаминсодержащей средой RPMI-1640 (ПанЭко, Россия) в соотношении 1:9, готовили 2 образца с конечным объемом 500 мкл: контрольный образец без стимулятора; образец, стимулированный фитогемагглютинином (ФГА, Sigma), в конечной концентрации 20 мкг/мл. Образцы разведенной крови инкубировали в течение 24 часов (37 °C, 5% CO₂), затем центрифугировали 10 мин при 1500 об/мин. Супернатанты отбирали с помощью автоматического дозатора и однократно замораживали для хранения и дальнейшего исследования. Определение концентрации IL-1 β и TNF α в супернатантах клеточных культур проводили методом ИФА с использованием диагностических наборов фирмы АО «Вектор-Бест» (Россия).

ТАБЛИЦА 1. КОНЦЕНТРАЦИЯ IL-1 β И TNF α В СУПЕРНАТАНТАХ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР У ДЕТЕЙ С ЮИА, НРЕА, СКВ, ХВГС И УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. CONCENTRATION OF IL-1 β AND TNF α IN SUPERNATANTS OF BLOOD CELL CULTURES IN CHILDREN WITH JIA, NREA, SLE, CVHC AND IN HEALTHY CHILDREN, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Диагноз Diagnosis	Вариант инкубации Option of incubation	Цитокин, пг/мл Cytokines, pg/ml	
		IL-1 β	TNF α
СКВ SLE (n = 14)	Спонтанный Spontaneous	9,0** (4,0-17,0)	1,5** (1,0-11,0)
	ФГА PHA	290,0** (82,0-412,0)	187,5 (114,0-259,0)
ЮИА JIA (n = 78)	Спонтанный Spontaneous	8,0* (1,0-23)	3,0*** (1,0-5,0)
	ФГА PHA	333,0** (166,0-463,0)	306,0** (199,0-460,0)
нРеА nReA (n = 10)	Спонтанный Spontaneous	8,0 (0,0-13,0)	2,5* (1,0-8,0)
	ФГА PHA	182,0* (161,0-400,0)	405,0*** (299,0-463,0)
ХВГС CVHC (n = 24)	Спонтанный Spontaneous	3,5 (0,5-10,0)	0,0 (0,0-2,0)
	ФГА PHA	400,0 (377,5-424,5)	410,5*** (388,5-433,0)
Условно здоровые дети Healthy children (n = 33)	Спонтанный Spontaneous	2,0 (0,0-8,0)	0,4 (0,0-2,0)
	ФГА PHA	555,0 (263,0-670,0)	250,0 (186,0-290,0)

Примечание. Различия с группой условно здоровых детей: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Note. Differences with healthy children: *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$.

Для оценки значимости различий между группами использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Статистическая обработка выполнена с использованием программы Statistica 6.0.

Результаты

При оценке спонтанной продукции провоспалительных цитокинов в супернатантах культур цельной крови установлено, что у пациентов с СКВ, ЮИА и нРеА выработка IL-1 β и TNF α клетками крови была выше, чем у условно здоровых детей (табл. 1). При этом у больных с ХГС уровень этих белков оставался на уровне контрольного.

Продукция провоспалительных ЦК культурами клеток крови при стимуляции ФГА в несколько раз превосходила их спонтанную секрецию,

как у здоровых детей, так и у больных с различными заболеваниями (табл. 1). У детей с ЮИА, нРеА и ХВГС выявлено увеличение стимулированной концентрации TNF α в культуральной жидкости по сравнению со здоровыми детьми. Различий по стимулированной продукции этого ЦК между группой больных с СКВ и контролем выявлено не было. Обнаружено снижение ФГА-стимулированной продукции IL-1 β у больных с ЮИА, нРеА и СКВ по сравнению со здоровыми детьми, больные с ХВГС не отличались от контрольной группы по данному параметру (табл. 1).

Обсуждение

Цитокины, исследованные в настоящей работе, относятся к числу наиболее мощных провоспалительных медиаторов, при этом IL-1 β и TNF α входят в число основных патогенетически значи-

мых цитокинов при аутоиммунных заболеваниях [1, 6, 14, 18], наряду с IL-6 [1, 17, 18]. Однако IL-1 β и TNF α различаются по происхождению и механизмам действия.

Продукция IL-1 β осуществляется, главным образом, моноцитами и макрофагами. Этот ЦК является главным медиатором развития местной воспалительной реакции. IL-1 β стимулирует выход нейтрофилов из костного мозга, активируя их адгезию, хемотаксис, фагоцитоз, продукцию свободных форм кислорода, усиливает рост и дифференцировку лимфоцитов, активирует макрофаги, фибробласты и эндотелий, способен индуцировать синтез многих цитокинов, хемокинов и ферментов, принимающих участие в процессах воспаления [9].

TNF α вырабатывается преимущественно активированными Т-лимфоцитами, моноцитами и макрофагами, а также фибробластами, эндотелиальными и эпителиальными клетками, является индуктором продукции других провоспалительных цитокинов, включая IL-1 β , IL-6, IL-8 [5, 9]. Этот ЦК повышает продукцию белков острой фазы воспаления, вызывает лихорадку, является хемотактантом макрофагов и клеток Лангерганса, стимулятором ангиогенеза, активирует моноциты, а также фагоцитоз и продукцию свободных радикалов, участвует в регуляции апоптоза и межклеточного взаимодействия иммунокомпетентных клеток [9].

В нашем исследовании выявлено, что спонтанная продукция IL-1 β и TNF α клетками крови у детей с ревматическими заболеваниями (СКВ, ЮИА и нРеА) была выше, чем у здоровых детей, а в группе с ХВГС не отличалась от контроля. Следует отметить, что все вышеперечисленные заболевания имеют различные патогенетические механизмы. СКВ относят к классическим аутоиммунным заболеваниям [2]. ЮИА имеет смешанную аутоиммунно-аутовоспалительную природу [1]. В патогенезе нРеА предполагается участие как инфекционных агентов, так и собственной гиперреактивности иммунной системы [15]. Развитие ХВГС обусловлено присутствием вируса в организме, однако в хронической стадии могут присоединяться механизмы аутоиммунитета [4]. Таким образом, при ревматических заболеваниях, в патогенезе которых наиболее значимы аутоиммунные реакции (СКВ, ЮИА и нРеА), спонтанный уровень исследованных провоспалительных ЦК был повышен, а при вирусном гепатите не отличался от уровня у здоровых детей.

В доступных литературных источниках практически отсутствуют данные об изучении продукции IL-1 β и TNF α культурами клеток крови у детей при исследованных нами заболеваниях. В одной из немногочисленных работ, опубликованных по данной тематике, авторы не обнаружили различий между пациентами с ЮИА и здоровыми детьми по спонтанному уровню продукции IL-1 β и TNF α , а также при стимуляции клеток ФГА либо липополисахаридом *Escherichia coli* [25]. Другие авторы также не обнаружили различий между детьми с ЮИА и контрольной группой по стимулированной форбол-миристилацетатом и иономицином продукции TNF α , хотя концентрация IL-1 β после стимуляции у больных была повышена [26].

При исследовании сыворотки крови у детей с ЮИА рядом авторов выявлено повышение концентрации TNF α [19, 22] и IL-1 β [14, 28]. Однако другими авторами показано, что у лиц детского возраста с ЮИА уровень TNF α в сыворотке был ниже по сравнению с группой здоровых лиц [20]. У детей с постинфекционным реактивным артритом не выявлено различий по концентрации IL-1 β с контрольной группой [14]. В работе Журавлевой Ю.А. и соавт. (2017) показано, что у взрослых пациентов с СКВ, ревматоидным артритом, анкилозирующим спондилитом и РеА уровень TNF α в сыворотке крови был выше, чем у здоровых, при этом у больных с СКВ уровень этого ЦК был самым высоким [8]. В работах других авторов у взрослых больных с СКВ также обнаружены повышенные сывороточные концентрации TNF α [16, 27], выявлена положительная корреляция уровня этого ЦК с активностью заболевания по шкале SLEDAI [16, 24], пациенты с повышенным уровнем TNF α были более склонны к поражению почек [24]. Однако в другой работе сделано заключение, что у взрослых при СКВ увеличение синтеза TNF α является защитным фактором при волчаночном нефрите, и использование блокаторов этого цитокина может усугублять течение заболевания [23]. У пациентов детского и взрослого возраста с хроническими вирусными гепатитами С и В при исследовании сывороточных концентраций IL-1 β и TNF α выявлено повышение уровней этих белков по сравнению с контрольной группой [4, 7].

Резюмируя данные литературы, можно заключить, что в большинстве опубликованных работ выявлены повышенные концентрации IL-1 β и TNF α в сыворотке крови у детей и взрослых со всеми исследованными нами заболеваниями.

Полученные нами результаты относительно увеличения спонтанной продукции IL-1 β и TNF α клетками крови больных с СКВ, ЮИА и нРеА в целом согласуются с данными литературы.

Стимулированный синтез TNF α в исследованных нами группах с ЮИА, нРеА и ХВГС также был повышен. Для IL-1 β наблюдалась другая закономерность: у больных с СКВ, ЮИА и нРеА концентрация этого ЦК после стимуляции ФГА была ниже контрольной. Снижение стимулированной продукции IL-1 β , вероятно, является индикатором истощения функционального резерва клеток крови в условиях хронического воспалительного процесса.

Заключение

Таким образом, в группах детей с ревматическими заболеваниями, СКВ, ЮИА и нРеА, спонтанная продукция IL-1 β и TNF α была выше контрольных значений, а стимулированный син-

тез IL-1 β — ниже. У пациентов с хроническим вирусным гепатитом С и клинически здоровых детей спонтанная концентрация обоих ЦК и ФГА-индуцированная концентрация IL-1 β не отличались. Стимулированная продукция TNF α у больных с ЮИА, нРеА показателей группы и ХВГС была более интенсивной, чем в контрольной группе. Более интенсивная спонтанная продукция провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF α в группах больных с ревматическими заболеваниями указывает на предшествующую активацию иммунокомпетентных клеток, а снижение стимулированной концентрации IL-1 β является свидетельством истощения их функциональных возможностей в условиях такой активации.

Благодарности

Авторы искренне благодарят врачей ГАУЗ СО ОДКБ Козлову Е.С., Скоробогатову О.В., Салохину Е.Н. за подбор пациентов для исследования.

Список литературы / References

1. Алексеева Е.И. Ювенильный идиопатический артрит: клиническая картина, диагностика, лечение // Вопросы современной педиатрии, 2015. Т. 14, № 1. С. 78-94. [Alekseeva E.I. Juvenile idiopathic arthritis: Clinical picture, Diagnosis, Treatment. *Voprosy sovremennoy pediatrii = Current Pediatrics*, 2015, Vol. 14, no. 1, pp. 78-94. (In Russ.)]
2. Баранов А.А. Педиатрия: национальное руководство: краткое издание. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 768 с. [Baranov A.A. Pediatrics: national guide: short edition]. Moscow: GEOTAR-Media, 2014. 768 p.
3. Белов Б.С. Терапия генно-инженерными биологическими препаратами и инфекции у больных ревматоидным артритом: актуальность и перспективы // Научно-практическая ревматология, 2014. Т. 52, № 3. С. 322-330. [Belov B.S. Biological therapy and infections in patients with rheumatoid arthritis: relevance and prospects. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*, 2014, Vol. 52, no. 3, pp. 322-330. (In Russ.)]
4. Бударина Н.А. Цитокиновый профиль при остром вирусном гепатите В у детей // Педиатрия, 2004. № 6. С. 22-26. [Budarina N.A. Cytokine profile in acute viral hepatitis B in children. *Pediatriya = Pediatrics*, 2004, no. 6, pp. 22-26. (In Russ.)]
5. Демьянов А.В., Котов А.Ю., Симбирцев А.С. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике // Цитокины и воспаление, 2003. Т. 2, № 3. С. 20-35. [Demyanov A.V., Kotov A.Yu., Simbirtsev A.S. Diagnostic value of cytokine studies in clinical practice. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2003, Vol. 2, no. 3, pp. 20-35. (In Russ.)]
6. Дроздова Е.А., Ядыкина Е.В., Мезенцева Е.А., Никушина К.В. Изменение цитокинового профиля у детей с увеитом, ассоциированным с ювенильным идиопатическим артритом // Вестник офтальмологии, 2017. № 1. С. 27-31. [Drozdova E.A., Yadikina E.V., Mezentseva E.A., Nikushina K.V. Cytokine profile changes in children with juvenile idiopathic arthritis-associated uveitis. *Vestnik oftalmologii = Russian Annals of Ophthalmology*, 2017, no. 1, pp. 27-31. (In Russ.)]
7. Железникова Г.Ф., Горячева Л.Г., Шилова И.В., Монахова Н.Е. Продукция цитокинов при хронических вирусных гепатитах у детей разного возраста // Цитокины и воспаление, 2011. Т. 10, № 2. С. 15-21. [Zheleznikova G.F., Goryacheva L.G., Shilova I.V., Monakhova N.E. Production of the cytokines in chronic viral hepatitis in children of different ages. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2011, Vol. 10, no. 2, pp. 15-21. (In Russ.)]
8. Журавлева Ю.А., Соломатина Л.В., Гусев Е.Ю. Особенности цитокинемии при различных аутоиммунных заболеваниях // Российский иммунологический журнал, 2017. Т. 11, № 20 (2). С. 315-316.

[Zhuravleva Yu.A., Solomatina L.V., Gusev E.Yu. Characteristics of cytokinemia in various autoimmune diseases. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2017, Vol. 11, no. 20 (2), pp. 315-316.

9. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: Фолиант, 2008. 552 с. [Ketlinsky S.A., Simbirtsev A.S. Cytokines]. St. Petersburg: Foliant, 2008. 552 p.

10. Коненков В.И., Ракова И.Г., Авдошина В.В., Гельфгат Е.Л. Комплексная оценка уровня спонтанной продукции цитокинов в культуре мононуклеарных клеток периферической крови здорового человека // Цитокины и воспаление, 2005. № 2. С. 33-37. [Konenkov V.I., Rakova I.G., Avdoshina V.V., Gelfgat E.L. Complex evaluation of spontaneous cytokines production in the culture of peripheral blood mononuclear cells of healthy person. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2005, no. 2, pp. 33-37. (In Russ.)]

11. Криволапова И.М., Пашнина И.А., Черешнев В.А. Уровень провоспалительных цитокинов в супернатантах культур цельной крови у детей с ювенильным идиопатическим артритом // Вестник уральской медицинской академической науки, 2018. Т. 15, № 3. С. 421-431. [Krivolapova I.M., Pashnina I.A., Chereshevnev V.A. The level of proinflammatory cytokines in cells cultures supernatants in children with juvenile idiopathic arthritis. *Vestnik uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki = Journal of Ural Medical Academic Science*, 2018, Vol. 15, no. 3, pp. 421-431. (In Russ.)]

12. Новиков А.А., Александрова Е.Н., Диатроптова М.А., Насонов Е.Л. Роль цитокинов в патогенезе ревматоидного артрита // Научно-практическая ревматология, 2010. № 2. С. 71-82. [Novikov A.A., Aleksandrova E.N., Diatroptova M.A., Nasonov E.L. The role of cytokines in pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*, 2010, no. 2, pp. 71-82. (In Russ.)]

13. Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе инфекционных и неинфекционных заболеваний человека // Медицинский академический журнал, 2013. Т. 13, № 3. С. 18-41. [Simbirtsev A.S. Cytokines in the pathogenesis of infectious and noninfectious human diseases. *Meditsinskiy akademicheskij zhurnal = Medical Academic Journal*, 2013, Vol. 13, no. 3, pp. 18-41. (In Russ.)]

14. Спиваковская А.Ю., Спиваковский Ю.М., Черненко Ю.В. Анализ клинико-иммунологических показателей у детей с суставной патологией // Российский вестник перинатологии и педиатрии, 2018. Т. 63, № 6. С. 55-59. [Spivakovskaya A.Yu., Spivakovskiy Yu.M., Chernenkov Yu.V. Analysis of clinical and immunological parameters in children with joint pathology. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*, 2018, Vol. 63, no. 6, pp. 55-59. (In Russ.)]

15. Хрипунова И.Г., Журбина Н.В. Реактивные артриты. Методические рекомендации. Ставрополь: СГМА, 2003. 25 с. [Khripunova I.G., Zhurbina N.V. Reactive arthritis. Methodical recommendation]. Stavropol: Stavropol State Medical University, 2003. 25 p.

16. Arora V., Verma J., Marwah V., Kumar A., Anand D., Das N. Cytokine imbalance in systemic lupus erythematosus: a study on northern Indian subjects. *Lupus*, 2012, no. 21, pp. 596-603.

17. Bielak M., Husmann E., Weyandt N., Haas J.-P., Hügler B., Horneff G., Neudorf U., Lutz T., Lilientha E., Kallinich T., Tenbrock K., Berendes R., Niehues T., Wittkowski H., Weißbarth-Riedel E., Heubner G., Oommen P., Klotzsch J., Foell Dirk, Lainka E. IL-6 blockade in systemic juvenile idiopathic arthritis – achievement of inactive disease and remission (data from the German AID-registry). *Pediatr. Rheumatol. Online J.*, 2018, Vol. 16, no. 1, 22. doi: 10.1186/s12969-018-0236-y.

18. Funk R.S., Chan M.A., Becker M.L. Cytokine biomarkers of disease activity and therapeutic response after initiating methotrexate therapy in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Pharmacotherapy*, 2017, Vol. 37, no. 6, pp. 700-711.

19. Gorska A., Kowal-Bielecka O., Urban M., Pietrewicz E. Interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha levels in the serum and synovial fluid in relation to bone mineral density and turnover in children with juvenile idiopathic arthritis. *Clin. Immunol. Centr. Eur. J. Immunol.*, 2008, Vol. 33, no. 4, pp. 216-219.

20. Guo L., Lu M.P., Tang Y.M., Teng L.P., Xu Y.P., Zou L.X., Zheng R.J., Zheng Q. Serum cytokine levels in children with newly diagnosed active systemic juvenile idiopathic arthritis. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*, 2014, Vol. 16, no 12, pp. 1241-1244.

21. Heney D., Whicher T.J. Factors affecting the measurement of cytokines in biological fluids: implications for their clinical measurement. *Ann. Clin. Biochem*, 1995, no. 32, pp. 358-368.

22. Kaminiarczyk-Pyzalka D., Adamczak K., Mikos H., Klimecka I., Moczko J., Niedziela M. Proinflammatory cytokines in monitoring the course of disease and effectiveness of treatment with etanercept (ETN) of children with oligo- and polyarticular juvenile idiopathic arthritis (JIA). *Clin. Lab.*, 2014, Vol. 60, no. 9, pp. 1481-1490.

23. Lee H.-M., Sugino H., Nishimoto N. Cytokine networks in systemic lupus erythematosus. *J. Biomed. Biotechnol.*, 2010, Vol. 2010, 676284. doi: 10.1155/2010/676284.

24. McCarthy E.M., Smith S., Lee R.Z., Cunnane G., Doran M.F., Donnelly S., Howard D., O'Connell P., Kearns G., Ní Gabhann J., Jefferies C.A. The Association of cytokines with disease activity and damage scores in systemic lupus erythematosus patients. *Rheumatology (Oxford)*, 2014, Vol. 53, no. 9, pp. 1586-1594.

25. Muller K., Herner E.B., Stagg A., Bendtzen K., Woo P. Inflammatory cytokines and cytokine antagonists in whole blood cultures of patients with systemic juvenile chronic arthritis. *Br. J. Rheumatol.*, 1998, Vol. 37, no. 5, pp. 562-569.
26. Pascual V., Allantaz F., Arce E., Purano M. Role of interleukin-1(IL-1) in the pathogenesis in systemic onset juvenile idiopathic arthritis and clinical response to IL-1 blockade. *J. Exp. Med.*, 2005, no. 201, pp. 1479-1486.
27. Sabry A., Sheashaa H., El-Husseini A., Khaleed M., Khaleed F.E., Shahir K.G., Ehab A.-K., El-Shafey E.M., Hamdy A.-Z. Proinflammatory cytokines (TNF- α and IL-6) in Egyptian patients with SLE: its correlation with disease activity. *Cytokine*, 2006, Vol. 35, no. 3-4, pp. 148-153.
28. Yilmaz M., Kendirli, S.G., Altintas D., Bing G., Antmen B. Cytokine levels in serum of patients with juvenile rheumatoid arthritis. *Clin. Rheumatol.*, 2001, Vol. 20, no. 1, pp. 30-35.

Авторы:

Пашнина И.А. — д.б.н., заведующая клинко-диагностической лабораторией ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», г. Екатеринбург, Россия

Криволапова И.М. — биолог клинко-диагностической лаборатории ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница»; младший научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Черешнева М.В. — д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Authors:

Pashnina I.A., PhD, MD (Biology), Head, Clinical Diagnostic Laboratory, Regional Children's Clinical Hospital, Yekaterinburg, Russian Federation

Krivolapova I.M., Biologist, Clinical Diagnostic Laboratory, Regional Children's Clinical Hospital; Junior Research Associate, Laboratory of Immunology of Inflammation, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Chereshneva M.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Main Research Associate, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Поступила 09.06.2020
Принята к печати 01.07.2020

Received 09.06.2020
Accepted 01.07.2020

ОЦЕНКА РОЛИ WIF-1 В ГЕНЕЗЕ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Плотникова М.О.¹, Снимщикова И.А.¹, Афонина И.А.¹,
Кулакова А.С.²

¹ ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», г. Орел, Россия

² ГАУЗ «Брянская областная больница № 1», г. Брянск, Россия

Резюме. Ишемическая болезнь сердца является одной из наиболее серьезных угроз для здоровья человека, что приводит к огромным физическим и экономическим потерям во всем мире. Сигнальные пути WNT играют важную роль в кардиогенезе как в эмбриональном периоде, так и при заживлении тканей сердца после перенесенной ишемической атаки, что побудило нас к проведению данного исследования.

Целью исследования явилось изучение особенностей продукции WIF-1 у пациентов с ишемической болезнью сердца. В проводимое исследование вошли 60 пациентов с клинически установленным, документированным диагнозом «ИБС». Сывороточную концентрацию WIF-1 определяли методом иммуноферментного анализа. Данные представлены в виде абсолютного числа (n, %) или медианы, 1 и 3 квартилей — Me (Q_{0,25}–Q_{0,75}).

Анализ результатов проведенного исследования показал, что концентрация WIF-1 в сыворотке, крови пациентов с инфарктом миокарда составила 2890 (1700–3337,5) пг/мл, что в 7,97 раза выше чем у здоровых лиц (p < 0,001). При этом сывороточный уровень WIF-1 у пациентов со стенокардией составил 2170 (1493–2650) пг/мл и оказался в 6,14 раза выше показателей здоровых лиц (p < 0,001). Таким образом, получены данные об изменении концентрации WNT-ингибирующего фактора-1 у пациентов с ишемической болезнью сердца, которые расширяют представления о роли дисфункции компонентов WNT-сигнального пути в патогенезе воспалительного процесса при гипоксических повреждениях миокарда.

Ключевые слова: ингибиторы WNT, инфаркт миокарда, ишемическая болезнь сердца, регенерация сердца, WIF-1

ASSESSMENT OF THE ROLE OF WIF-1 IN THE GENESIS OF ISCHEMIC HEART DISEASE

Plotnikova M.O.^a, Snimshchikova I.A.^a, Afonina I.A.^a, Kulakova A.S.^b

^a I. Turgenev Oryol State University, Oryol, Russian Federation

^b Bryansk Regional Hospital No. 1, Bryansk, Russian Federation

Abstract. Coronary heart disease poses one of the most serious threats to human health resulting in enormous physical and economic losses worldwide. WNT signaling pathways play an important role in cardiogenesis both in embryogenesis and cardiac repair after previous ischemic attacks that motivated to conduct this study.

Адрес для переписки:

Плотникова Мария Олеговна
ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет
имени И.С. Тургенева»
302026, Россия, г. Орел, ул. Комсомольская, 95.
Тел.: 8 (905) 802-15-39.
E-mail: ekb-lem@mail.ru

Address for correspondence:

Plotnikova Maria O.
I. Turgenev Oryol State University
302026, Russian Federation, Oryol, Komsomolskaya str., 95.
Phone: 7 (905) 802-15-39.
E-mail: ekb-lem@mail.ru

Образец цитирования:

М.О. Плотникова, И.А. Снимщикова, И.А. Афонина,
А.С. Кулакова «Оценка роли WIF-1 в генезе
ишемической болезни сердца» // Российский
иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 3. С. 279–284.
doi: 10.46235/1028-7221-347-AOT
© Плотникова М.О. и соавт., 2020

For citation:

M.O. Plotnikova, I.A. Snimshchikova, I.A. Afonina,
A.S. Kulakova "Assessment of the role of WIF-1 in the genesis
of ischemic heart disease", Russian Journal of Immunology/
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 3,
pp. 279–284. doi: 10.46235/1028-7221-347-AOT
DOI: 10.46235/1028-7221-347-AOT

The aim of the study was to examine features of WIF-1 production in patients with coronary heart disease. There were enrolled 60 patients with a clinically verified and diagnosed coronary artery disease. WIF-1 serum concentration was measured by using enzyme-linked immunosorbent assay presenting data as absolute numbers (n, %) or medians, 1 and 3 quartiles — Me ($Q_{0.25}$ – $Q_{0.75}$). Analyzing study data showed that WIF-1 serum concentration in patients with myocardial infarction was 2890 (1700–3337.5) pg/ml being by 7.97-fold higher than that one in healthy individuals ($p < 0.001$), in agreement with previous studies. Moreover, in patients with angina pectoris WIF-1 serum level comprised 2170 (1493–2650) pg/ml, exceeding that one in healthy individuals by 6.14-fold ($p < 0.001$). Thus, the data obtained regarding changes in serum WNT-inhibiting factor-1 concentration in patients with coronary heart disease expand our understanding about an impact from affected WNT-signaling pathway components in pathogenesis of inflammatory process during hypoxic injuries.

Keywords: WNT inhibitors, myocardial infarction, coronary heart disease, heart regeneration, WIF-1

Введение

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) является одной из основных причин заболеваемости и смертности населения во всем мире [3]. Несмотря на хороший терапевтический эффект таких препаратов, как блокаторы адренорецепторов, антагонистов кальция и ингибиторов ренин-ангиотензиновой системы [7], прогрессирование ИБС и патологическое ремоделирование миокарда является все еще необратимым процессом. Недавние зарубежные исследования демонстрируют способность кардиомиоцитов взрослых млекопитающих к регенерации, но с очень ограниченной эффективностью [2]. Этот факт побуждает современных ученых к дальнейшим исследованиям по выявлению новых потенциально возможных кандидатов в лекарственные средства, направленные на уменьшение патологического ремоделирования и стимуляции регенерации тканей сердца.

WNT-сигнальные пути играют важную роль как в развитии сердца в эмбриональном периоде, так и при репаративных процессах в сердце взрослых людей при ишемических нарушениях [1, 9, 14]. Передача WNT-сигналов может быть охарактеризована как β -catenin-зависимый канонический путь или β -catenin-независимый неканонический путь. Канонический каскад передачи сигналов WNT необходим для нормального кардиогенеза [7]. В нормальных условиях WNT-сигналы в сердце взрослого человека находятся в неактивном состоянии, однако реактивируются после травмы сердца [10]. Исследования Pereira и соавт. (2008), Kim и соавт. (2012), Rauner и соавт. (2012) показали, что передача сигналов WNT индуцируется медиаторами воспаления, а внеклеточный антагонист WNT-сигнального пути WIF1, по-видимому, является жизненно важным модулятором адекватного воспалительного процесса после повреждения сердца [12]. Появляется все больше доказательств того, что реактивация канонического WNT-пути отрицательным образом влияет на заживление миокарда после

ишемического воздействия, вызывая гибель кардиомиоцитов и развитие фиброза сердечной мышцы [5]. При этом эффекты модуляции WNT-путей в контексте заживления миокарда остаются практически не изученными.

Недавние прорывы в исследованиях путей передачи WNT-сигналов выявили новые точки воздействия, которые могут являться лекарственными мишенями для соединений с малой молекулярной массой. Ингибиторы WNT-пути в первую очередь предназначены для лечения опухолей и были одобрены в клинических испытаниях [6, 11], однако протективное воздействие ингибиторов WNT-пути в области сердечных тканей привлекает постоянное внимание к возможности применения этих препаратов для лечения ишемии миокарда [6, 13, 15].

Это обусловило наш интерес к изучению особенностей регулирующих механизмов WNT-сигнальных путей у пациентов с ИБС. В данной работе мы рассматриваем один из основных ингибиторов WNT-пути (WNT ингибирующий фактор-1, WNT inhibitory factor 1, WIF-1).

WIF-1 представляет собой белок из 379 аминокислот, который ингибирует передачу сигналов путем связывания WNT-белков (Hsieh и соавт., 1999). Тем не менее до настоящего времени до конца неясно какой механизм действия требуется для регуляции передачи сигналов WNT (Cruciat and Niehrs, 2013).

Согласно данным Meyer I.S., Jungmann A. и соавт., отсутствие WNT-ингибирующего фактора-1 приводит к усилению воспалительной реакции, выработке большего количества моноцитов и, как следствие, неблагоприятному течению заболевания и ремоделированию миокарда, тогда как сверхэкспрессия кардиомиоцит-специфического WIF-1 ослабляет воспалительный ответ моноцитов и улучшает функцию сердца [12].

Вместе с тем, учитывая, что закономерности дисрегуляции продукции WNT-антагонистов при ИБС исследованы недостаточно и являются дискуссионными, **целью нашей работы** явилось

изучение особенностей продукции WIF-1 у пациентов с ишемической болезнью сердца.

Материалы и методы

В проводимое исследование вошли 60 пациентов с клинически установленным, документированным диагнозом «ИБС», которые находились на лечении в профильных отделениях Кардиология 1 и Кардиология 2 БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница». Диагностика ишемической болезни сердца проводилась на основании Национальных рекомендаций в актуальной на момент исследования редакции.

Длительность анамнеза ишемической болезни сердца варьировала от 0 до 12 лет.

Критерии включения в исследование: наличие у лиц молодого и среднего трудоспособного возраста ИБС, полученное информированное согласие пациента на использование результатов обследования в научных целях.

Критерии исключения пациентов из проводимого исследования: возраст моложе 25 лет и старше 60 лет, наличие тяжелой сопутствующей патологии (онкологические, аутоиммунные, острые инфекционные заболевания, нервно-психические расстройства, ревматологические заболевания, почечная и печеночная недостаточность), наличие патологии, влияющей на липидный обмен, беременность, период грудного вскармливания, отказ больного от проводимого исследования.

Всем пациентам было проведено комплексное обследование, включавшее определение и оценку клинических и биохимических показателей периферической крови (общий анализ крови, липидный спектр, уровень тропонинов, С-реактивный белок, коагулограмма, креатинин, концентрацию ионов K^+ , Na^+ , уровень глюкозы), электрокардиографию (ЭКГ) в динамике, эхокардиографию (ЭХО-КГ), при наличии показаний — коронароангиографию (КАГ). В соответствии с задачами исследования концентрацию WIF-1 в сыворотке крови пациентов определяли методом иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием наборов “Human WIF-1” (Sunlong Biotech Co., Ltd, Китай).

Пациенты, включенные в исследование, получали стандартную терапию: дезагреганты, ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, β -блокаторы, антагонисты кальция, гиполипидемические средства и др.

У 36 (60%) больных была выполнена хирургическая реваскуляризация миокарда с помощью баллонной ангиопластики со стентированием коронарных артерий.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программного комплек-

са Microsoft Excel XP, исследования корреляционной взаимосвязи между показателями выполнялись по Пирсону, различия между группами по количественным признакам рассчитаны с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни, для исследования нормальности распределения был использован критерий Колмогорова–Смирнова. Данные представлены в виде абсолютного числа (n, %) или медианы, 1 и 3 квартилей — Me ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$).

Протокол проведения исследования одобрен этическим комитетом ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева». Исследование выполнено в соответствии со стандартами клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации.

Результаты и обсуждение

Как отмечалось ранее, в генезе сердечно-сосудистой патологии в последние годы показана важная роль морфогенного белка WNT-сигнального пути WIF-1, в связи с чем нами было проведено исследование по определению его концентрации в сыворотке крови пациентов с ишемической болезнью сердца.

На основании установленного диагноза все пациенты с ИБС были разделены на 2 исследуемые группы: «Инфаркт миокарда» и «Стенокардия». Распределение пациентов по группам сравнения в зависимости от диагноза с учетом возраста и пола представлено в таблице 1.

На основании изменений ЭКГ у больных с инфарктом миокарда (ИМ) данные по его локализации распределились следующим образом: переднебоковая локализация выявлена у 6 (18,75%) пациентов; передне-перегородочная — 2 (6,25%); задняя — 12 (37,5%); заднебоковая — 4 (12,5%); нижне-диафрагмальная — 4 (12,5%); нижнебоковая — у 4 (12,5%) больных.

В соответствии с целью исследования проводилось определение показателя WNT-ингибирующего фактора-1 у пациентов с инфарктом миокарда и стенокардией. Кроме того, дополнительно были определены показатели WIF-1 в сыворотке крови 24 здоровых лиц (12 мужчин и 12 женщин), сопоставимых по полу и возрасту с больными исследуемых групп.

При изучении содержания WIF-1 в сыворотке крови здоровых лиц была установлена широкая вариабельность его значений (от 138,5 до 663 пг/мл), медиана которого составила 352 пг/мл и условно была принята нами за физиологическую норму (рис. 1).

Анализ результатов проведенного исследования показал, что концентрация WIF-1 в сыворотке крови пациентов с инфарктом миокарда со-

ТАБЛИЦА 1. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПАЦИЕНТОВ ПО ГРУППАМ СРАВНЕНИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДИАГНОЗА С УЧЕТОМ ВОЗРАСТА И ПОЛА (n = 60)

TABLE 1. DISTRIBUTION OF PATIENTS IN COMPARISON GROUPS DEPENDING ON THE DIAGNOSIS, TAKING INTO ACCOUNT AGE AND GENDER (n = 60)

Характеристика пациентов Patient characterization		Исследуемые группы Study groups	
		Инфаркт миокарда Myocardial infarction	Стенокардия Angina pectoris
Средний возраст (M±m лет) Average age (M±m years)		45,06±8,41	48,79±6.62
Кол-во пациентов Number of patients	n (%)	32 (53,33%)	28 (46,67%)
Пол Gender	муж male	32 (100%)	18 (64,29%)
	жен female	0	10 (35,71%)
Наличие хронической сопутствующей патологии Presence of chronic concomitant pathology	урогенитального тракта, n (%) urogenital tract, n (%)	0	6 (21,43%)
	желудочно-кишечного тракта, n (%) gastrointestinal tract n (%)	18 (56,25%)	26 (92,86%)
	респираторного тракта, n (%) respiratory tract, n (%)	2 (6,25%)	0
	эндокринной системы, n (%) endocrine system, n (%)	6 (18,75%)	4 (14,29%)
Ожирение, n (%) Obesity, n (%)		6 (18,75%)	10 (35,71%)
Атеросклероз, n (%) Atherosclerosis, n (%)		6 (18,75%)	6 (21,43%)

ставила 2890 (1700-3337,5) пг/мл, что в 7,97 раза выше, чем у здоровых лиц ($p < 0,001$) и согласуется с данными литературы [12].

При этом следует отметить, что у Q-позитивных пациентов с инфарктом миокарда уровень WIF-1 более чем на 20% был ниже показателей пациентов с не-Q ИМ ($p = 0,172$), что, вероятно, обусловлено связью продукции WNT-ингибирующего фактора-1 со степенью воспалительной реакции после перенесенной ишемической атаки.

При этом установлено, что сывороточный уровень WIF-1 у пациентов со стенокардией составил 2170 (1493-2650) пг/мл и в 6,14 раза выше относительно показателей здоровых лиц ($p < 0,001$).

Несколько иная динамика продукции WIF-1 наблюдалась у пациентов с неблагоприятным течением и исходом стенокардии. Так, у пациентов с постинфарктным кардиосклерозом в анамнезе ($n = 10$) ишемический процесс протекал на фоне как крайне высоких показателей WIF-1 (более 3000 пг/мл), так и низких концентраций (менее 1400 пг/мл).

Учитывая важность дифференциальной диагностики при остром коронарном синдроме, представляло интерес провести сравнительный анализ показателей продукции WIF-1 между пациентами групп «ИМ» и «Стенокардия». С этой целью был использован простой непараметрический U-критерий Манна–Уитни, согласно ко-

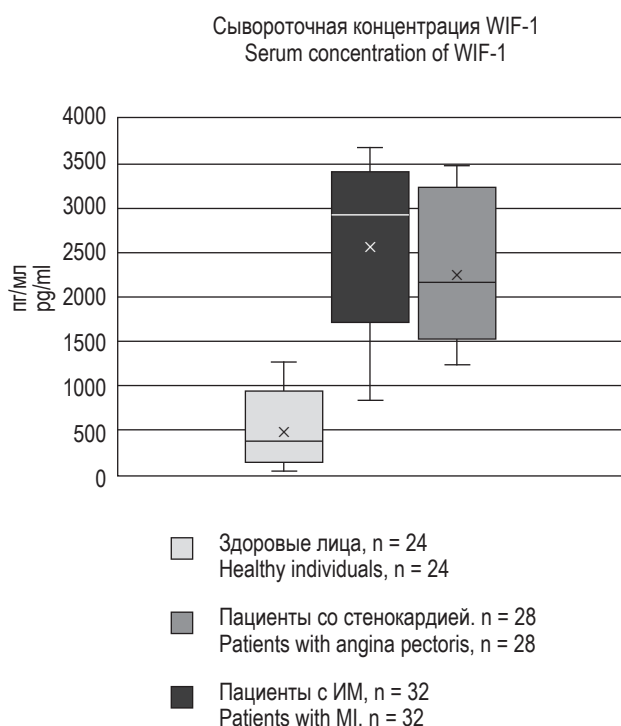


Рисунок 1. Концентрация WIF-1 в сыворотке крови (пг/мл)

Примечание. При распределениях, отличающихся от нормального, на рисунке 1 представлены Ме (медиана); среднее значение, верхний и нижний квартили $Q_{0,25}$, $Q_{0,75}$; минимальное и максимальное значения выборки

Figure 1. Concentration of WIF-1 in serum (pg/ml)

Note. For distributions other than normal, figure 1 shows Me (median); average value, upper and lower quartiles $Q_{0,25}$, $Q_{0,75}$; minimum and maximum sample values.

тому не было выявлено достоверных различий между исследуемыми группами ($p = 0,223$).

Учитывая данные ряда авторов о взаимосвязи WNT-ингибирующего фактора-1 со степенью

активности воспалительной реакции, заслуживают внимания данные о повышенном уровне лейкоцитов периферической крови у обследованных пациентов с ИБС. При этом лейкоцитоз умеренной степени ($10-15 \times 10^9/\text{л}$) выявлялся у 28 (46,67%) больных, выраженной степени ($15-20 \times 10^9/\text{л}$) — у 6 (10%) пациентов, что свидетельствует о важной роли воспаления в генезе ишемической болезни сердца.

Выводы

Результатами проведенных исследований установлена диагностическая роль и прогностическая значимость WIF-1 при ишемической болезни сердца.

Определены маркеры высокого риска развития Q-позитивного трансмурального инфаркта миокарда, при котором низкий уровень WIF-1 (ниже 2500 пг/мл) является неблагоприятным фактором течения ИМ.

Установлено, что прогностически неблагоприятными показателями WIF-1 при стенокардии являются как исходно высокие показатели (выше 2700 пг/мл), так и исходно низкие (менее 1400 пг/мл).

Таким образом, получены данные об изменении концентрации WNT-ингибирующего фактора-1 у пациентов с ишемической болезнью сердца, которые расширяют представления о роли дисфункции компонентов WNT-сигнального пути в патогенезе воспалительного процесса при гипоксических повреждениях миокарда.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Авторы выражают глубокую признательность врачу-кардиологу Т.В. Григорьевой за консультацию и помощь, оказанные при выполнении клинической части работы.

Список литературы / References

1. Плотникова М.О., Снимщикова И.А., Афонина И.А., Самойлова А.В., Кулакова А.С. Оценка показателей морфогенных белков WNT-сигнального пути (склеростина и β -катенина) у пациентов с ишемической болезнью сердца // Медико-фармацевтический журнал «Пульс», 2020. Т. 22, № 4. С. 88-94. [Plotnikova M.O., Snimshchikova I.A., Afonina I.A., Samoylova A.V., Kulakova A.S. Estimation of indicators of morphogenic proteins of wnt-signal way (sclerostin and β -catenin) in patients with coronary heart disease. *Mediko-farmatsevticheskiy zhurnal "Puls"* = *Medical and Pharmaceutical Journal "Pulse"* 2020, Vol. 22, no. 4, pp. 88-94. (In Russ.)]
2. Bassat E., Mutlak Y.E., Genzelinakh A., Shadrin I.Y., Baruch Umansky K., Yifa O., Kain D., Rajchman D., Leach J., Riabov Bassat D., Udi Y., Sarig R., Sagi I., Martin J.F., Bursac N., Cohen S., Tzahor E. The extracellular matrix protein agrin promotes heart regeneration in mice. *Nature*, 2017, Vol. 547, no. 7662, pp. 179-184.
3. Bastakoty D., Saraswati S., Joshi P., Atkinson J., Feoktistov I., Liu J., Harris J.L., Young P.P. Temporary, systemic Inhibition of the WNT/ β -Catenin pathway promotes regenerative cardiac repair following myocardial infarct. *Cell. Stem. Cells Regen. Med.*, 2016. Vol. 2, no. 2, 10. doi: 10.16966/2472-6990.111.
4. Carney R.M., Freedland K.E. Depression and coronary heart disease. *Nat. Rev. Cardiol.*, 2017, Vol. 14, pp. 145-155.

5. Daskalopoulos E.P., Hermans K.C.M., Janssen B.J.A., Blankesteyn W.M. Targeting the Wnt/frizzled signaling pathway after myocardial infarction: A new tool in the therapeutic toolbox? *Trends Cardiovasc. Med.*, 2013, Vol. 23, no. 4, pp. 121-127.
6. Duchartre Y., Kim Y.M., Kahn M. The Wnt signaling pathway in cancer. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 2016, Vol. 99, pp. 141-149.
7. Eisenberg L.M., Eisenberg C.A. Wnt signal transduction and the formation of the myocardium. *Dev. Biol.*, 200, Vol. 293, pp. 305-315.
8. Ezekowitz J.A., O'Meara E., McDonald M.A., Abrams H., Chan M., Ducharme A., Giannetti N., Grzeslo A., Hamilton P. G., Heckman G.A., Howlett J.G., Koshman Sh.L., Lepage S., McKelvie R.S., Moe G.W., Rajda M., Swiggum E., Virani S.A., Zieroth Sh., Al-Hesayen A., Cohen-Solal A., d'Astous M., De S., Estrella-Holder E., Fremes S., Green L., Haddad H., Harkness K., Hernandez A.F., Kouz S., LeBlanc M.H., Masoudi F.A., Ross H.J., Roussin A., Sussex B. Comprehensive update of the Canadian Cardiovascular Society Guidelines for the management of heart failure. *Can. J. Cardiol.*, 2017, Vol. 33, 1342. doi: 0.1016/j.cjca.2017.08.022.433.
9. Gessert S., Kühl M. The multiple phases and faces of Wnt signaling during cardiac differentiation and development. *Circ. Res.*, 2010, Vol. 107, pp. 186-199.
10. Koval A., Purvanov V., Egger Adam D., Katanaev V.L. Yellow submarine of the WNT/Frizzled signaling: submerging from the G protein harbor to the targets. *Biochem. Pharmacol.*, 2011, Vol. 82, pp. 1311-1319.
11. Krishnamurthy N., Kurzrock R. Targeting the Wnt/beta-catenin pathway in cancer: Update on effectors and inhibitors. *Cancer Treat Rev.*, 2017, Vol. 62, pp. 50-60.
12. Meyer I.S., Jungmann A., Dieterich C., Zhang M., Lasitschka F., Werkmeister S., Haas J., Müller O.J., Boutros M., Nahrendorf M., Katus H.A., Hardt S.E., Leuschner F. The cardiac microenvironment uses non-canonical WNT signaling to activate monocytes after myocardial infarction. *EMBO Mol. Med.*, 2017, Vol. 9, no. 9, pp. 1279-1293.
13. Moon J., Zhou H., Zhang L.S., Tan W., Liu Y., Zhang S., Morlock L.K., Bao X., Palecek S.P., Feng J.Q., Williams N.S., Amatruda J.F., Olson E.N., Bassel-Duby R., Lum L. Blockade to pathological remodeling of infarcted heart tissue using a porcupine antagonist. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2017, Vol. 114, pp. 1649-1654.
14. Ozhan G., Weidinger G. Wnt/ β -catenin signaling in heart regeneration. *Cell Regen. (Lond.)*, 2015, Vol. 4, no. 1, 3. doi: 10.1186/s13619-015-0017-8.
15. Yang D., Fu W., Li L., Xia X., Liao Q., Yue R., Chen H., Chen X., An S., Zeng C., Wang W.E. Therapeutic effect of a novel Wnt pathway inhibitor on cardiac regeneration after myocardial infarction. *Clin. Sci.*, 2017, Vol. 131, pp. 2919-2932.

Авторы:

Плотникова М.О. — старший преподаватель кафедры иммунологии и специализированных клинических дисциплин ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», г. Орел, Россия

Снимщикова И.А. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой иммунологии и специализированных клинических дисциплин, директор Медицинского института ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», г. Орел, Россия

Афонина И.А. — к.м.н., доцент кафедры иммунологии и специализированных клинических дисциплин ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», г. Орел, Россия

Кулакова А.С. — врач-гастроэнтеролог ГАУЗ «Брянская областная больница № 1», г. Брянск, Россия

Authors:

Plotnikova M.O., Senior Lecturer, Department of Immunology and Specialized Clinical Disciplines, I. Turgenev Oryol State University, Oryol, Russian Federation

Snimshchikova I.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Immunology and Specialized Clinical Disciplines, Director of Medical Institute, I. Turgenev Oryol State University, Oryol, Russian Federation

Afonina I.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Immunology and Specialized Clinical Disciplines, I. Turgenev Oryol State University, Oryol, Russian Federation

Kulakova A.S., Gastroenterologist, Bryansk Regional Hospital No. 1, Bryansk, Russian Federation

Поступила 11.06.2020

Принята к печати 06.07.2020

Received 11.06.2020

Accepted 06.07.2020

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА 17А У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Сташкевич Д.С.¹, Девальд И.В.^{1,2}, Хромова Е.Б.¹, Евдокимов А.В.¹,
Суслова Т.А.^{1,3}

¹ ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

² ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», г. Челябинск, Россия

³ ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови», г. Челябинск, Россия

Резюме. Интерлейкин 17 играет ключевую роль в иммунопатогенезе ревматоидного артрита (РА). Данный цитокин служит связующим звеном между активацией врожденного и приобретенного иммунитета, но повышение экспрессии IL-17A может выступать одной из причин неконтролируемого воспаления и формирования иммунопатологических реакций. Среди представителей семейства интерлейкина 17 наиболее изученным является IL-17A, который характеризуется наибольшей биологической активностью. IL-17A является одним из важных медиаторов иммунитета, способен индуцировать продукцию других провоспалительных цитокинов и хемокинов и способствовать рекрутированию воспалительных клеток, таких как моноциты и нейтрофилы, в воспаленный орган. В генетической структуре IL-17A присутствует ряд полиморфных сайтов, однонуклеотидные замены в которых могут влиять на уровень экспрессии гена *IL17A*, одной из которых является точка -197G/A гена *IL17A*. Данное исследование посвящено оценке вклада генетического полиморфизма в позиции -197G/A гена *IL17A*. Работа относится к ретроспективному типу исследований «случай – контроль». Методом аллель-специфической ПЦР был определен полиморфизм -197G/A гена *IL17A* в группах больных ревматоидным артритом и здоровых доноров русской этнической группы. Данное исследование является фрагментом работы по оценке иммуногенетической составляющей ревматоидного артрита у русских Челябинской области. Частоты встречаемости аллелей и генотипов, полученные в работе, соответствуют закону Харди–Вайнберга. Распределение частот встречаемости в выборке русских Челябинской области характеризуется достаточно высокой частотой аллеля с заменой (40%), что характерно для европеоидных популяций. Таким образом, установлено, что для данного полиморфизма характерны межпопуляционные различия. Показано, данный полиморфизм не ассоциирован с предрасположенностью к ревматоидному артритом у русских Челябинской области. В ходе исследования у женщин, больных РА, были установлены некоторые изменения в частотах встречаемости аллелей и генотипов, образованных в результате однонуклеотидной замены в точке -197G/A *IL17A*. Однако полученные особенности не могут рассматриваться как дополнительные факторы риска развития РА у женщин. Аллель -197*G, гомозиготный генотип -197G/G могут рассматриваться как маркеры позднего возраста первой атаки РА у женщин. Проведенный анализ распределения аллелей и генотипов SNP -197G/A гена *IL17A* показал, что данный полиморфизм является малоинформативным

Адрес для переписки:

Сташкевич Дарья Сергеевна
ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет»
454001, Россия, г. Челябинск,
ул. Братьев Кашириных, 129.
Тел.: 8 (908) 069-38-72.
E-mail: stashkevich_darya@mail.ru

Address for correspondence:

Stashkevich Daria S.
Chelyabinsk State University
454001, Russian Federation, Chelyabinsk,
Br. Kashirin str., 129.
Phone: 7 (908) 069-38-72.
E-mail: stashkevich_darya@mail.ru

Образец цитирования:

Д.С. Сташкевич, И.В. Девальд, Е.Б. Хромова,
А.В. Евдокимов, Т.А. Суслова «Полиморфизм
гена интерлейкина 17А у больных ревматоидным
артритом» // Российский иммунологический журнал,
2020. Т. 23, № 3. С. 285–290.
doi: 10.46235/1028-7221-382-IGP
© Сташкевич Д.С. и соавт., 2020

For citation:

D.S. Stashkevich, I.V. Devald, E.B. Khromova,
A.V. Evdokimov, T.A. Suslova “Interleukin 17A gene
polymorphism in patients with rheumatoid arthritis”, *Russian
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal*, 2020, Vol. 23, no. 3, pp. 285–290.
doi: 10.46235/1028-7221-382-IGP
DOI: 10.46235/1028-7221-382-IGP

показателем и, вероятно, в большей степени ассоциирован с некоторыми клиническими вариантами течения РА, но не с предрасположенностью.

Ключевые слова: интерлейкин 17, генетический полиморфизм, ревматоидный артрит

INTERLEUKIN 17A GENE POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

Stashkevich D.S.^a, Devald I.V.^{a,b}, Khromova E.B.^a, Evdokimov A.V.^a,
Suslova T.A.^{a,c}

^a Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

^b South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

^c Chelyabinsk Regional Blood Transfusion Station, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. Interleukin 17 plays a key role in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis (RA) and serves as a link between activation of innate and adaptive immune cells, whereas its increased expression may represent one of the causes for uncontrolled inflammation and formation of immunopathological reactions. Among members of the interleukin 17 family, most studied is IL-17A, which is characterized by peak biological activity. IL-17A is one of the important immune mediators able to induce production of other pro-inflammatory cytokines and chemokines and promote recruitment of inflammatory cells, such as monocytes and neutrophils, into inflamed organs. *IL17A* gene contains a number of polymorphic sites, wherein single-nucleotide substitutions particularly at position the -197G/A may affect its expression level. Here in case-control study we retrospectively examined contribution of genetic polymorphism at the -197G/A position within the *IL17A* gene. Allele-specific PCR was used to identify the -197G/A polymorphism in *IL17A* gene in groups of patients with rheumatoid arthritis and healthy donors of the Russian ethnic group. Our study was made within a framework on assessing immunogenetic component for rheumatoid arthritis in ethnic Russian subjects in the Chelyabinsk Region. Prevalence of *IL17A* gene alleles and genotypes obtained in the work is in agreement with the Hardy–Weinberg equilibrium, and is characterized by rather high frequency of allele replacement (40%), which is typical for Caucasoid populations. Thus, it was found that interpopulation differences are characteristic of such gene polymorphism shown not to be associated with predisposition to rheumatoid arthritis in ethnic Russian subjects in the Chelyabinsk Region. Women with RA in our study were found to display certain changes in frequencies of alleles and genotypes formed due to single-nucleotide substitution in *IL17A* gene at position -197G/A. However, in women such features cannot be considered as additional risk factors for developing RA. Allele -197*G, homozygous genotype -197G/G may be considered as markers of late-onset for the first RA attack in women. Analysis on distribution of SNP -197G/A alleles and genotypes within the *IL17A* gene showed that such polymorphism is of low value predictor likely being more associated with some RA clinical variants, but not with predisposition to RA development.

Keywords: interleukin 17, genetic polymorphism, rheumatoid arthritis

Введение

Интерлейкин 17A (IL-17A) — член большого семейства регуляторных и провоспалительных цитокинов, включающих шесть основных молекул: IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E и IL-17F, продуцируемых преимущественно Th17 [4, 5, 6]. Несмотря на сходство в строении, цитокины семейства IL-17 выполняют различ-

ные биологические функции. Наиболее изученными членами семейства являются IL-17A и IL-17F, которые могут существовать в виде гомодимеров или гетеродимера IL-17A/F [5, 6]. Функции данных белков похожи, однако IL-17A более активен, чем IL-17F, а гетеродимер IL-17A/F обладает промежуточной активностью. IL-17A является одним из важных медиаторов иммуни-

тета, способен индуцировать продукцию других провоспалительных цитокинов и хемокинов и способствовать рекрутированию воспалительных клеток, таких как моноциты и нейтрофилы, в воспаленный орган [4, 5, 6]. Данный цитокин служит связующим звеном между активацией врожденного и приобретенного иммунитета [5]. Однако повышение выработки IL-17A лежит в основе неконтролируемого воспаления и может служить причиной формирования иммунопатологических реакций [3, 4, 5]. Это ключевой цитокин, участвующий в патогенезе аутоиммунных заболеваний, одним из которых является ревматоидный артрит [6].

Ревматоидный артрит (РА) — тяжелое инвалидизирующее аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся хроническим эрозивным артритом и системным поражением внутренних органов [1, 2, 3, 7].

В настоящее время генетический компонент формирования предрасположенности к ревматоидному артриту включает целый комплекс генов-кандидатов, среди которых наиболее известные гены главного комплекса гистосовместимости (*HLA-DRBI*), фактора некроза опухолей (*TNFA*) и ряд других генов цитокинов и их рецепторов, матриксных металлопротеиназ [1, 3, 4, 5]. Одним из таких генов является ген *IL17A*, картируемый на коротком плече 6 хромосомы, на которой располагаются гены главного комплекса гистосовместимости I, II, III классов [1, 2]. В генетической структуре IL-17A присутствует ряд полиморфных сайтов, однонуклеотидные замены в которых могут влиять на уровень экспрессии гена *IL17A*, одной из которых является точка -197G/A гена *IL17A* [6].

Цель исследования — анализ ассоциации SNP -197G/A гена *IL17A* с предрасположенностью и вариабельностью течения ревматоидного артрита у русских Челябинской области.

Задачи исследования:

1. Изучить частоты встречаемости аллельных вариантов и генотипов полиморфизма -197G/A гена *IL17A* в исследуемых выборках.

2. Установить наличие или отсутствие ассоциации полиморфизма -197G/A гена *IL17A* с предрасположенностью и вариабельностью течения ревматоидного артрита у русской популяции ЧО.

Материалы и методы

Контрольная группа — потенциальные доноры стволовой клетки (113 человек, из них: женщины — 44, мужчины — 69, средний возраст

34,6±0,75 ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови») [1].

В работу включен 71 больной РА русской этнической группы (женщины — 60, мужчины — 11, средний возраст на момент обследования 51,7±1,3). Диагноз ставился врачами-ревматологами г. Челябинска [1]. Генотипирование *IL17A* (SNPs -197G/A) осуществлялось с использованием аллель-специфической ПЦР (ООО НПФ «Литех», Москва).

Статистическая обработка проводилась с использованием критериев Пирсона (χ^2), точного двустороннего критерия Фишера, OR с расчетом 95% ДИ [1]. Значимость различий между группами при $p \leq 0,05$, тенденция к различиям определялась для промежуточных значений p ($0,05 < p \leq 0,10$).

Результаты и обсуждение

Данное исследование является фрагментом работы по оценке иммуногенетической составляющей ревматоидного артрита у русских Челябинской области [1].

Наблюдаемые в исследовании частоты аллелей и генотипов SNP -197G/A гена *IL17A* в выборках больных РА и условно здоровых лиц соответствуют ожидаемым согласно равновесию Харди–Вайнберга. Распределение частот встречаемости в выборке русских Челябинской области характеризуется достаточно высокой частотой аллеля с заменой (40%), что характерно для европеоидных популяций [4, 5].

Результаты сравнительного анализа группы больных ревматоидным артритом и группы здоровых лиц показывают отсутствие ассоциации между однонуклеотидным полиморфизмом 197G/A гена *IL17A* и предрасположенностью к РА. В обеих группах наблюдалось преобладание гетерозиготного генотипа (42,3%, 49,6%; $\chi^2 = 0,9$, $p = 0,334$), среднее значение характерно для частот гомозиготного генотипа по предковому аллелю (38,3%, 36,3%; $\chi^2 = 0,06$, $p = 0,8$) и низкое — для генотипа гомозиготного по аллелю с заменой.

В связи с тем, что РА чаще поражает женщин, чем мужчин, и течение заболевания у женщин характеризуется большей тяжестью и редкими ремиссиями [7], была проведена оценка частот аллелей и генотипов SNP -197G/A гена *IL17A* в зависимости от пола.

В ходе исследования у женщин, больных РА, были установлены некоторые изменения в частотах встречаемости аллелей и генотипов, образованных в результате однонуклеотидной замены

ТАБЛИЦА 1. ЧАСТОТЫ АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ -197G/A ГЕНА IL17A У БОЛЬНЫХ РА И ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН РУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

TABLE 1. FREQUENCIES OF ALLELES AND GENOTYPES -197G/A OF THE IL17A GENE IN RA PATIENTS AND HEALTHY WOMEN OF THE RUSSIAN POPULATION

IL17A -197	Женщины, больные РА Women with RA		Здоровые женщины Healthy women		Достоверность Authenticity χ^2 , p
	количество number	%	количество number	%	
	120		88		
-197*A	53	44,17	40	45,45	0,034 p = 0,854
-197*G	67	55,83	48	54,55	
-197AA	14	23,33	7	15,91	0,352 p = 0,352
-197GA	25	41,67	26	59,09	3,084 p = 0,080
-197GG	21	35	11	25	1,192 p = 0,275

ТАБЛИЦА 2. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ ПОЛИМОРФИЗМА -197G/A ГЕНА IL17A ЖЕНЩИН У БОЛЬНЫХ РА С РАННИМ И ПОЗДНИМ ВОЗРАСТОМ НАЧАЛА ЗАБОЛЕВАНИЯ

TABLE 2. FREQUENCY DISTRIBUTION OF ALLELES AND GENOTYPES OF THE -197G/A POLYMORPHISM OF THE IL17A GENE IN RA WOMEN WITH EARLY AND LATE AGE OF DISEASE ONSET

IL17A -197	Женщины, больные РА Ранний возраст начала Women with RA Early-onset		Женщины, больные РА Поздний возраст начала Women with RA Late-onset		Достоверность Authenticity χ^2 , p
	количество number	%	количество number	%	
	54		50		
-197*A	29	53,7	15	30	5,98 p = 0,015
-197*G	25	46,3	35	70	
-197AA	8	26,6	4	16	1,36 p = 0,24
-197GA	13	48,2	7	28	2,23 p = 0,136
-197GG	6	22,2	14	56	6,26 p = 0,013

в точке -197G/A IL17A (данные представлены в таблице 1).

Как видно из таблицы 1, группа больных женщин характеризовалась снижением частоты ге-

нотипа G/A (на уровне тенденции, $\chi^2 = 3,084$, p = 0,080, OR = 0,50, 95% ДИ 0,2÷1,1). Критерий отношения шансов показал, что полученные различия в частотах не являются значимыми для

прогнозирования вероятности развития РА у женщин.

Сравнение групп больных РА и здоровых мужчин показало, что в группе мужчин больных РА отсутствовали носители гомозиготного генотипа по аллелю с заменой. Других особенностей в распределении частот аллелей и генотипов в выборках мужчин больных РА и здоровых не было установлено (данные не приводятся).

На следующем этапе мы оценили вклад SNP -197G/A гена *IL17A* в раннее или позднее начало заболевания.

Возраст начала ревматоидного артрита — показатель неоднозначный в плане тяжести и прогноза заболевания. В ряде исследований показано, что у пациентов с ранним началом развития РА (до 40 лет) чаще наступает спонтанная ремиссия, а течение позднего старта РА (после 40 лет) характеризуется большей активностью заболевания и большей деструкцией суставов по сравнению с лицами первой группы [7]. В связи с преобладанием в группе РА женщин, мы провели оценку распределения аллелей и генотипов в зависимости от возраста начала РА только у женщин.

Из таблицы 2 видно, у женщин, больных РА, с началом болезни после 40 лет наблюдалось: повышение частоты аллеля предкового типа -197*G (70% против 46,3%, $\chi^2 = 5,98$, $p = 0,015$, OR = 2,7, 95% ДИ 1,2÷6,06); повышение носительства гомозиготного по предковому аллелю генотипа (56% против 22,2%, $\chi^2 = 6,26$, $p = 0,013$, OR = 4,5,

95% ДИ 1,3÷14,8). Согласно критерию отношения шансов, вероятность возникновения заболевания после 40 лет для носителей гомозиготного генотипа G/G выше в 4,5 раза по сравнению с носительством других генотипов -197G/A гена *IL17A*.

Полученные в ходе исследования результаты согласуются с рядом работ [4, 5] об отсутствии значимой ассоциации между SNP -197G/A гена *IL17A* и предрасположенностью к ревматоидному артриту.

Результаты нашей работы об анализе возможной связи вариативности течения РА и носительства полиморфных вариантов гена *IL17A* соответствуют данным, полученным в исследованиях, проведенных Furuya Т. и соавт. в 2007 году [2].

Заключение

Несмотря на то, что первый член семейства IL-17 был открыт в 1993 году, исследований, посвященных вкладу всех представителей семейства IL-17 в иммунопатогенез ревматоидного артрита и оценке ассоциации генетического полиморфизма семейства их генов недостаточно, а имеющиеся результаты противоречивы.

Проведенный анализ распределения аллелей и генотипов SNP -197G/A гена *IL17A* показал, что данный полиморфизм является малоинформативным показателем и, вероятно, в большей степени ассоциирован с некоторыми клиническими вариантами течения РА, но не с предрасположенностью.

Список литературы / References

1. Бурмистрова А.Л., Сташкевич Д.С., Суслова Т.А., Девальд И.В., Исаканова А.О., Димчева О.Н. . Молекулярно-генетический анализ полиморфизмов генов цитокинов – интерлейкина-1 β , рецептора антагониста интерлейкина-1 и интерлейкина-4 у больных ревматоидным артритом башкирской этнической группы, проживающих в Челябинской области // Медицинская иммунология, 2007. Т. 9, № 6. С. 631-634. [Burmistrova A.L., Stashkevich D.S., Suslova T.A., Devald I.V., Issakanova A.O., Dimcheva O.N.. Molecular genetic analysis of polymorphisms of cytokine interleukin-1 β genes, interleukin-1 and interleukin-4 antagonist receptors in patients with rheumatoid arthritis of the Bashkir ethnic group living in the Chelyabinsk region. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2007, Vol. 9, no. 6, pp. 631-634. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2007-6-631-634.
2. Furuya T., Hakoda M., Ichikawa N., Higami K., Nanke Y., Yago T., Kamatani N., Kotake S. Associations between HLA-DRB1, RANK, RANKL, OPG, and IL-17 genotypes and disease severity phenotypes in Japanese patients with early rheumatoid arthritis. *Clin. Rheumatol.*, 2007, Vol. 26, no. 12, pp. 2137-2141.
3. Magyari L., Varszegi D., Kovessdi E., Interleukins and interleukin receptors in rheumatoid arthritis: Research, diagnostics and clinical implications. *World J. Orthop.*, 2014, Vol. 5, no. 4, pp. 516-536.
4. Nordang G.B., Viken M.K., Hollis-Moffatt J.E. Association analysis of the interleukin 17A gene in Caucasian rheumatoid arthritis patients from Norway and New Zealand. *Rheumatology*, 2009, Vol. 48, no. 4, pp. 367-370.
5. Pawlik A., Kotrych D., Malinowski D. IL17A and IL17F gene polymorphisms in patients with rheumatoid arthritis. *BMC Musculoskelet. Disord.*, 2016, Vol. 17, 208. doi: 10.1186/s12891-016-1064-1.

6. Rafiei A., Hosseini V., Janbabai G., Polymorphism in the interleukin-17A promoter contributes to gastric cancer. *World J. Gastroenterol.*, 2013, Vol. 19, no. 34, pp. 5693-5699.
7. Symmons D.P.M. Environmental factors and the outcome of rheumatoid arthritis. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.*, 2003, Vol. 17, no. 5, pp. 717-727.

Авторы:

Сташкевич Д.С. — к.б.н., декан биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Девальд И.В. — к.м.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет»; доцент кафедры терапии Института дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», г. Челябинск, Россия

Хромова Е.Б. — к.б.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Евдокимов А.В. — к.б.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Суслова Т.А. — к.м.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет»; заведующая отделом — врач клинической лабораторной диагностики отдела молекулярно-биологической диагностики ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови», г. Челябинск, Россия

Authors:

Stashkevich D.S., PhD (Biology), Dean, Biological Faculty, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Devald I.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Biological Faculty, Chelyabinsk State University; Associate Professor, Department of Therapy, Institute of Continuing Professional Education. South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Khromova E.B., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Biological Faculty, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Evdokimov A.V., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Biological Faculty, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Suslova T.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Biological Faculty, Chelyabinsk State University; Physician of Clinical Laboratory Diagnostics, Head, Department of Molecular Biological Diagnostics, Chelyabinsk Regional Blood Transfusion Station, Chelyabinsk, Russian Federation

Поступила 28.06.2020
Принята к печати 04.07.2020

Received 28.06.2020
Accepted 04.07.2020

АССОЦИАЦИЯ СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА ЛИМФОЦИТОВ, МАРКЕРОВ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ И ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У МУЖЧИН С АБДОМИНАЛЬНЫМ ОЖИРЕНИЕМ И МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Сумеркина В.А.¹, Телешева Л.Ф.¹, Головнева Е.С.¹, Туманов С.В.²

¹ ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

² ГБУЗ «Городская клиническая онкологическая больница № 1 Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

Резюме. Компоненты метаболического синдрома (МС) ассоциированы с повреждением эндотелия и иммунными нарушениями, однако литературные данные об особенностях клеточного иммунитета при абдоминальном ожирении (АО) и МС неоднозначны, а единой концепции о механизме формирования иммунных нарушений не предложено. В работе представлены данные о субпопуляциях лимфоцитов у мужчин с АО и МС, а также их взаимосвязь с маркерами инсулинорезистентности, дисфункции висцеральной жировой ткани и эндотелия. В работу включили 124 мужчины в возрасте 18–45 лет. Пациентов распределили на 4 группы: 1 группа — мужчины без АО и компонентов МС (группа сравнения); 2 группа — мужчины с АО; 3 группа — мужчины с АО и 1 компонентом МС; 4 группа — мужчины с МС. Определяли концентрацию лептина, адипонектина, TFPI, PAI-I, мочевой кислоты, гомоцистеина, ангиотензина II, эндотелина (1–21); рассчитывали индексы HOMA-IR, Тг/ЛПВП, TuG, VAI. Методом проточной цитометрии определяли субпопуляции лимфоцитов (Beckman Coulter, США).

Пациенты группы 2 не имели статистически значимых отличий изучаемых параметров от группы сравнения. В группе 3 было повышено число CD3⁺CD25⁺ и CD3⁺HLA-DR⁺Т-лимфоцитов, а индекс TuG был ассоциирован с числом Т-хелперов. У мужчин группы 4 установлено снижение относительного числа лимфоцитов, а также рост количества активированных лимфоцитов CD3⁺HLA-DR⁺ относительно группы сравнения. Была определена взаимосвязь между уровнем лептина и содержанием лимфоцитов. Индексы Тг/ЛПВП, TuG и VAI при МС были ассоциированы с количеством CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов. Наличие у пациента с МС артериальной гипертензии было взаимосвязано с содержанием NK-лимфоцитов.

Ключевые слова: абдоминальное ожирение, метаболический синдром, субпопуляционный состав лимфоцитов, инсулинорезистентность, адипокины, дисфункция эндотелия

Адрес для переписки:

Сумеркина Вероника Андреевна
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
454092, Россия, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.
Тел.: 8 (906) 866-33-50.
E-mail: veronika.sumerkina@mail.ru

Address for correspondence:

Sumerkina Veronika A.
South Ural State Medical University
454092, Russian Federation, Chelyabinsk, Vorovsky str., 64.
Phone: 7 (906) 866-33-50.
E-mail: veronika.sumerkina@mail.ru

Образец цитирования:

В.А. Сумеркина, Л.Ф. Телешева, Е.С. Головнева,
С.В. Туманов «Ассоциация субпопуляционного состава
лимфоцитов, маркеров инсулинорезистентности
и дисфункции эндотелия у мужчин с абдоминальным
ожирением и метаболическим синдромом»
// Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23,
№ 3. С. 291–298.
doi: 10.46235/1028-7221-323-ABP
© Сумеркина В.А. и соавт., 2020

For citation:

V.A. Sumerkina, L.F. Telesheva, E.S. Golovneva,
S.V. Tumanov "Association between peripheral blood
lymphocyte subsets, insulin resistance and endothelial
dysfunction in males with abdominal obesity and metabolic
syndrome", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 3, pp. 291–298.
doi: 10.46235/1028-7221-323-ABP
DOI: 10.46235/1028-7221-323-ABP

ASSOCIATION BETWEEN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTE SUBSETS, INSULIN RESISTANCE AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN MALES WITH ABDOMINAL OBESITY AND METABOLIC SYNDROME

Sumerkina V.A.^a, Telesheva L.F.^a, Golovneva E.S.^a, Tumanov S.V.^b

^a South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

^b Clinical Oncology Hospital No. 1, Moscow, Russian Federation

Abstract. The components of the metabolic syndrome are associated with endothelial dysfunction and immune disorders, but the features of cell immunity in abdominal obesity and metabolic syndrome remain ambiguous, and no unified concept regarding a mechanism for developing immune disorders has been proposed. Here we examined peripheral blood lymphocyte subset composition in males with abdominal obesity and metabolic syndrome as well as their relationship with insulin resistance, visceral adipose tissue dysfunction and endothelial dysfunction. There were enrolled 124 males aged 18–45 years. Patients were divided into 4 groups: 1 group – males without abdominal obesity and metabolic syndrome components; 2 group – males with abdominal obesity; 3 group – males with abdominal obesity and one metabolic syndrome component; 4 group – males with metabolic syndrome. The level of serum leptin, adiponectin, TFPI, PAI-I, uric acid, homocysteine, angiotensin II, and endothelin (1–21) was measured followed by calculating HOMA-IR, Tg/HDL, TyG, and VAI. Lymphocyte subset frequency was determined by flow cytometry (Beckman Coulter, USA). Group 2 vs Group 1 patients showed no significant differences in study parameters. In Group 3, count of CD3⁺CD25⁺ and CD3⁺HLA-DR⁺T lymphocytes was increased, whereas the TyG index was associated with percentage of T helper cells. In Group 4, males were found to have decreased percentage of lymphocytes as well as increased frequency of activated CD3⁺HLA-DR⁺ lymphocytes as compared to Group 1. A relationship between serum leptin level percentage of lymphocytes was found. Tg/HDL, TyG and VAI in metabolic syndrome were associated with count of CD3⁺CD4⁺ lymphocytes. Arterial hypertension co-found in patients with metabolic syndrome correlated with count of NK cells.

Keywords: abdominal obesity, metabolic syndrome, lymphocyte subpopulations, insulin resistance, adipokines, endothelial dysfunction

Введение

В настоящее время в мире предложено не менее 7 альтернативных диагностических шкал метаболического синдрома (МС) [8]. Обязательным компонентом МС является абдоминальное ожирение (АО). В качестве дополнительных критериев учитывают наличие у пациентов таких факторов кардиометаболического риска, как артериальная гипертензия, дислипидемия, гипергликемия в различных сочетаниях. Впервые определение МС было предложено в 1988 году G. Reaven. Автор доказал, что основным фактором патогенеза метаболического синдрома является инсулинорезистентность [12]. Вместе с тем в последние годы появились научные факты, свидетельствующие о важной роли висцеральной жировой ткани (ВЖТ) в регуляции метаболизма [8]. Доказана роль адипокинов (лептина и адипонектина) в развитии кардиометаболических и иммунных нарушений [3, 10]. Получены доказательства того, что увеличение объема ВЖТ не всегда приводит к изменению метабо-

лизма. В этой связи в качестве маркера нарушения функции и распределения жировой ткани предложено использовать индекс висцерального ожирения VAI (visceral adiposity index), учитывающий окружность талии (ОТ), индекс массы тела (ИМТ), концентрацию глюкозы и триглицеридов [1, 7]. Каждый из компонентов МС ассоциирован с повреждением эндотелия и иммунными нарушениями, однако литературные данные об особенностях клеточного иммунитета при АО и МС неоднозначны, а единой концепции о механизме формирования иммунных нарушений не предложено.

Представляется актуальным оценить взаимосвязь субпопуляционного состава лимфоцитов с показателями, характеризующими инсулинорезистентность, функцию висцеральной жировой ткани и эндотелия у мужчин с АО и МС.

Материалы и методы

Исследование выполнено на 124 мужчинах в возрасте с 18 по 45 лет. Пациенты были рас-

пределены на 4 группы: 1 группа (группа сравнения, $n = 31$) — мужчины без АО, избыточной массы тела и дополнительных компонентов МС; 2 группа (АО, $n = 13$) — мужчины с АО; 3 группа (АО+1, $n = 33$) — мужчины с сочетанием АО и одним из дополнительных компонентов МС; 4 группа (МС, $n = 47$) — мужчины с МС. АО и МС диагностировали в соответствии с Национальными рекомендациями «Диагностика и лечение метаболического синдрома» Российского кардиологического общества, 2009. В сыворотке крови определяли концентрацию глюкозы (Ольвекс Диагностикум, Россия), инсулина (Monobind, США), триглицеридов (Ольвекс Диагностикум, Россия), холестерина ЛПВП (Ольвекс Диагностикум, Россия), лептина (DVC, Канада), адипонектина (AssayPro, Чехия), мочевой кислоты (Ольвекс Диагностикум, Россия), TFPI (AssayPro, Чехия), PAI-I (Bender MedSystems, Австрия), гомоцистеина (Axis-Shield, Норвегия), ангиотензина II (RayBiotech, США), эндотелина (1-21) (Biomedica, Австрия). Рассчитывали индексы инсулинорезистентности НОМА-IR, Тг/ЛПВП и TyG [4]. Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов проводили в периферической крови, стабилизированной K_3 ЭДТА, методом проточной цитофлуориметрии на проточном цитометре Navios 2/6 (Beckman Coulter, США) с применением соответствующих конъюгатов моноклональных антител согласно рекомендациям производителя реагентов (Beckman Coulter, США). Были выделены и проанализированы следующие субпопуляции лимфоцитов: $CD3^+CD45^+$, $CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$, $CD3^+CD56^+$, $CD3^+CD56^+CD3^+CD19^+$. Анализировали активированный пул клеток с фенотипами $CD3^+CD25^+$ и $CD3^+HLA-DR^+$. Статистическую обработку полученных результатов выполняли с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 10 (StatSoft, Inc., 2011, США). Для всех видов анализа статистически значимыми считались значения $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

У мужчин с изолированным АО относительно группы сравнения не выявлено статистически значимых отличий в содержании адипокинов, маркеров инсулинорезистентности, дисфункции висцеральной жировой ткани и эндотелия (табл. 1).

У мужчин с сочетанием АО и 1 из компонентов МС концентрация лептина и соотношение лептин/адипонектин были выше, чем в группе 1. Индексы TyG и Тг/ЛПВП, которые являются параметрами, косвенно отражающими инсулинорезистентность, превышали значения у мужчин группы сравнения, причем Тг/ЛПВП также имел

отличия от группы 2. VAI, характеризующий дисфункцию висцеральной жировой ткани, был выше, чем в группе сравнения. Среди маркеров дисфункции эндотелия у мужчин группы 3 отмечено повышение уровня мочевой кислоты.

У мужчин с МС было установлено повышение концентрации лептина и снижение адипонектина относительно групп 1 и 2. Соотношение лептин/адипонектин при МС было выше, чем во всех других исследуемых группах. Индекс инсулинорезистентности НОМА-IR был выше, чем в группе 1, однако маркеры резистентности к инсулину Тг/ЛПВП и TyG при МС превышали значения в группах 1, 2, 3. Показатель дисфункции висцеральной жировой ткани VAI в 4 группе был выше, чем в других исследуемых группах. В соответствии с дизайном исследования у пациентов групп 3 и 4 была диагностирована артериальная гипертензия, однако при метаболическом синдроме она наблюдалась чаще. Нами было установлено повышение уровня мочевой кислоты у мужчин с МС относительно мужчин группы сравнения, концентрация ангиотензина II при МС была выше, чем в группах 1 и 2.

Субпопуляционный состав лимфоцитов у мужчин с АО и мужчин группы сравнения не имел статистически значимых отличий (табл. 2). Методом корреляционного анализа в группе 2 нами не было выявлено взаимосвязи между субпопуляционным составом лимфоцитов и индексами инсулинорезистентности, показателями, характеризующими дисфункцию висцеральной жировой ткани и эндотелия. Однако между концентрацией адипонектина, соотношением лептин/адипонектин и количеством Т-цитотоксических лимфоцитов была установлена связь ($r_s = -0,72$; $p = 0,030$; $r_s = 0,82$; $p = 0,007$ соответственно). Уровень лептина у мужчин группы 2 был ассоциирован с числом активированных лимфоцитов $CD3^+CD25^+$ ($r_s = 0,78$; $p = 0,013$). Ранее нами в эксперименте *in vitro* было показано, что при культивировании лимфоцитов пациентов без МС в присутствии высокой концентрации лептина происходит увеличение количества лимфоцитов $CD3^+CD25^+$ и $CD8^+CD25^+$ [5]. Известно, что Т-лимфоциты несут на своей поверхности рецептор к лептину Ob-R [10, 11], а взаимодействие лептина с рецептором вызывает активацию $CD25^+$ (рецептор к IL-2) на $CD4^+$ и $CD8^+$ лимфоцитах [2].

У мужчин с сочетанием АО и 1 из компонентов МС наблюдалось повышение абсолютного и относительного числа Т-лимфоцитов, экспрессирующих маркеры ранней и поздней активации ($CD3^+CD25^+$ и $CD3^+HLA-DR^+$). В группе 3 субпопуляционный состав лимфоцитов не был взаимосвязан с маркерами дисфункции эндоте-

ТАБЛИЦА 1. АДИПОКИНЫ, БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ, ДИСФУНКЦИИ ВИСЦЕРАЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ И ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У МУЖЧИН, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. ADIPOKINES, BIOCHEMICAL MARKERS OF INSULIN RESISTANCE, VISCERAL ADIPOSE TISSUE DYSFUNCTION AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN MEN, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатель Characteristics	Группа 1 (группа сравнения) Group 1 (comparison group) n = 31	Группа 2 (АО) Group 2 (AO) n = 13	Группа 3 (АО+1) Group 3 (AO+1) n = 33	Группа 4 (МС) Group 4 (MetS) n = 47	p
Лептин, нг/мл Leptin, ng/ml	5,10 (2,50-8,20)	8,10 (4,40-17,70)	11,70 (6,50-15,60)	17,40 (9,90-36,25)	p ₁₋₃ < 0,001 p ₁₋₄ < 0,001 p ₂₋₄ = 0,012 p ₃₋₄ = 0,043
Адипонектин, мкг/мл Adiponectin, µg/ml	7,8 (7,0-10,9)	8,9 (7,0-17,2)	7,4 (5,4-13,2)	6,9 (4,5-8,0)	p ₁₋₄ = 0,015 p ₂₋₄ = 0,024
Лептин/адипонектин, нг/мкг Leptin/adiponectin, ng/µg	0,69 (0,27-0,95)	0,88 (0,38-1,95)	1,55 (0,84-2,26)	3,26 (1,37-6,57)	p ₁₋₃ < 0,001 p ₁₋₄ < 0,001 p ₂₋₄ = 0,001 p ₃₋₄ = 0,004
НОМА-IR	2,1 (1,4-3,3)	2,4 (1,9-3,4)	2,9 (1,8-4,7)	4,7 (2,3-8,7)	p ₁₋₄ = 0,006
Tг/ЛПВП Tg/HDL	0,54 (0,32-0,77)	0,55 (0,36-0,80)	0,83 (0,53-1,15)	1,43 (1,00-2,33)	p ₁₋₃ = 0,001 p ₁₋₄ < 0,001 p ₂₋₃ = 0,037 p ₂₋₄ < 0,001 p ₃₋₄ < 0,001
TyG	4,32 (4,19-4,50)	4,44 (4,28-4,49)	4,42 (4,34-4,75)	4,86 (4,64-5,03)	p ₁₋₃ = 0,021 p ₁₋₄ < 0,001 p ₂₋₄ < 0,001 p ₃₋₄ < 0,001
VAI	0,74 (0,38-0,94)	0,79 (0,50-1,04)	1,16 (0,73-1,60)	1,92 (1,33-3,29)	p ₁₋₃ < 0,001 p ₁₋₄ < 0,001 p ₂₋₄ < 0,001 p ₃₋₄ < 0,001
Артериальная гипертензия, абс. (%) Hypertension, abs. (%)	—	—	9 (27%)	28 (60%)	p ₃₋₄ = 0,043
TFPI, нг/мл TFPI, ng/ml	100 (45-137)	84 (53-98)	99 (44-124)	118 (86-166)	
РАИ-1, нг/мл PAI-1, ng/ml	346,3 (264,7-492,6)	440,5 (280,9-621,0)	429,3 (256,2-593,2)	436,3 (309,5-625,9)	
Мочевая кислота, ммоль/л Uric acid, mmol/l	0,37±0,10	0,42±0,11	0,43±0,09	0,47±0,11	p ₁₋₃ = 0,006 p ₁₋₄ < 0,001
Гомоцистеин, мкмоль/л Homocystein, µmol/l	13,2 (11,8-16,5)	13,1 (10,5-15,1)	12,4 (10,8-16,1)	11,8 (9,3-15,3)	
Ангиотензин II, пг/мл Angiotensin II, pg/ml	8,20 (7,02-9,50)	6,36 (4,36-8,36)	8,66 (6,08-9,53)	8,85 (8,09-26,56)	p ₁₋₄ = 0,033 p ₂₋₄ < 0,001
Эндоотелин (1-21), фмоль/мл Endotelin (1-21), fmol/ml	0,57 (0,41-1,68)	0,50 (0,41-0,56)	0,41 (0,34-1,12)	0,45 (0,27-0,93)	
НОМА-IR = Глюкоза (ммоль/л) * Инсулин (мкМЕ/мл) / 22,5 HOMA-IR = Glucose (mmol/l) * Insulin (mcU/ml) / 22,5 TyG = Ln [Триглицериды (мг/дл) * Глюкоза (мг/дл) / 2] TyG = Ln [Triglyceride (mg/dl) * Glucose (mg/dl) / 2] VAI мужчины = (ОТ/39,68 + (1,88 * ИМТ)) * Тг/1,03 * 1,31/ЛПВП VAI men = (WC/39,68 + (1,88 * BMI)) * Tg/1,03 * 1,31/HDL					

ТАБЛИЦА 2. СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЛИМФОЦИТОВ, Ме ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

TABLE 2. SUBPOPULATION OF LYMPHOCYTES, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Показатель Characteristics	Группа 1 (группа сравнения) Group 1 (comparison group) n = 31	Группа 2 (АО) Group 2 (AO) n = 13	Группа 3 (АО+1) Group 3 (AO+1) n = 33	Группа 4 (МС) Group 4 (MetS) n = 47	p
Количество лимфоцитов, % Lymphocytes, %	39 (31-46)	34 (26-37)	36 (32-41)	33 (24-39)	$p_{1-4} = 0,017$
Количество лимфоцитов, $\times 10^9/л$ Lymphocytes, $\times 10^9/l$	2,3 (1,9-2,9)	2,2 (1,8-2,4)	2,3 (1,7-2,8)	2,2 (1,5-2,7)	
CD3 ⁺ CD45 ⁺ , %	74 (71-79)	77 (69-82)	76 (69-81)	76 (72-80)	
CD3 ⁺ CD45 ⁺ , кл/мкл CD3 ⁺ CD45 ⁺ , cell/ μl	1573 (1444-2085)	1698 (1441-1920)	1878 (1367-2056)	1785 (1536-2412)	
CD3 ⁺ CD4 ⁺ , %	44 (39-47)	41 (36-44)	40 (35-42)	42 (37-50)	
CD3 ⁺ CD4 ⁺ , кл/мкл CD3 ⁺ CD4 ⁺ , cell/ μl	998 (841-1314)	900 (766-998)	946 (744-1087)	1020 (798-1406)	
CD3 ⁺ CD8 ⁺ , %	27 (20-30)	33 (25-35)	29 (25-31)	26 (20-31)	
CD3 ⁺ CD8 ⁺ , кл/мкл CD3 ⁺ CD8 ⁺ , cell/ μl	562 (466-613)	694 (593-754)	645 (500-803)	578 (434-842)	
ИРИ IRI	1,6 (1,4-2,5)	1,3 (1,1-1,7)	1,4 (1,0-1,7)	1,7 (1,1-2,4)	
CD3 ⁺ CD56 ⁺ , %	3 (2-6)	3 (2-4)	4 (2-8)	4 (3-8)	
CD3 ⁺ CD56 ⁺ , кл/мкл CD3 ⁺ CD56 ⁺ , cell/ μl	80 (50-133)	66 (55-85)	108 (70-204)	121 (76-176)	
CD3 ⁺ CD56 ⁺ , %	9 (4-15)	7 (5-14)	9 (6-17)	9 (6-14)	
CD3 ⁺ CD56 ⁺ , кл/мкл CD3 ⁺ CD56 ⁺ , cell/ μl	223 (108-311)	157 (111-340)	223 (115-444)	214 (134-347)	
CD3 ⁺ CD19 ⁺ , %	9 (8-12)	8 (7-11)	10 (6-12)	10 (8-13)	
CD3 ⁺ CD19 ⁺ , кл/мкл CD3 ⁺ CD19 ⁺ , cell/ μl	216 (170-287)	207 (171-229)	228 (179-297)	241 (195-339)	
CD3 ⁺ CD25 ⁺ , %	2 (1-3)	1 (1-2)	3 (2-8)	3 (2-5)	$p_{1-3} = 0,027$ $p_{2-3} = 0,008$ $p_{2-4} = 0,013$
CD3 ⁺ CD25 ⁺ , кл/мкл CD3 ⁺ CD25 ⁺ , cell/ μl	43 (31-85)	31 (24-35)	84 (47-217)	71 (51-125)	$p_{1-3} = 0,013$ $p_{2-3} = 0,006$ $p_{2-4} = 0,010$
CD3 ⁺ HLADR ⁺ , %	1,0 (0,5-1,5)	0,9 (0,7-1,2)	1,4 (0,9-2,6)	1,5 (0,6-3,1)	$p_{1-3} = 0,018$ $p_{1-4} = 0,014$
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ , кл/мкл CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ , cell/ μl	22 (10-29)	15 (15-25)	35 (19-64)	43 (14-60)	$p_{1-3} = 0,009$ $p_{1-4} = 0,013$ $p_{2-3} = 0,020$

лия и висцеральной жировой ткани, однако индекс TyG был ассоциирован с числом Т-хелперов ($r_s = 0,58$; $p = 0,004$).

У мужчин с МС установлено снижение относительного числа лимфоцитов, а также рост количества активированных лимфоцитов $CD3^+HLA-DR^+$ относительно группы сравнения. Была определена взаимосвязь между уровнем лептина и содержанием лимфоцитов ($r_s = -0,40$; $p = 0,024$). Индексы $Tg/ЛПВП$, TyG и VAI при МС были ассоциированы с количеством $CD3^+CD4^+$ лимфоцитов ($r_s = 0,39$; $p = 0,022$, $r_s = 0,54$; $p = 0,001$ и $r_s = 0,42$; $p = 0,013$ соответственно). Наличие у пациента с МС артериальной гипертензии было взаимосвязано с содержанием НК-лимфоцитов ($r_s = -0,58$; $p < 0,001$).

По литературным данным, иммунные нарушения при МС могут носить разнонаправленный характер. Так, в нашем исследовании при МС обнаружено снижение относительного числа лимфоцитов, что соответствует результатам других исследователей [6], в то время как Bahadır A. и соавт. [9] отмечают увеличение лимфоцитов при МС.

Формирование МС представляется в следующей последовательности: избыток висцеральной жировой ткани (абдоминальное ожирение) →

формирование дисфункции висцеральной жировой ткани и инсулинорезистентности, изменение профиля адипокинов, появление одного из компонентов метаболического синдрома → нарастание дисфункции висцеральной жировой ткани и инсулинорезистентности, присоединение второго и последующих компонентов МС. Каждое патогенетическое звено является самостоятельным фактором кардиометаболического риска, ассоциировано с дисфункцией эндотелия и иммунными нарушениями. У пациентов с изолированным АО значимых метаболических изменений не регистрируется, в этой связи их рекомендовано считать лицами с метаболически здоровым ожирением [8], однако уровень лептина и число активированных лимфоцитов при АО взаимосвязано. При сочетании АО с 1 из компонентов МС регистрируется активация лимфоцитов, субпопуляция Т-хелперов находится во взаимосвязи с показателем инсулинорезистентности. У мужчин с диагностированным МС количество лимфоцитов ассоциировано с лептином, а субпопуляции Т-хелперов и НК-лимфоцитов взаимосвязаны с инсулинорезистентностью, дисфункцией висцеральной жировой ткани и артериальной гипертензией.

Список литературы / References

1. Либис Р.А., Исаева Е.Н. Возможность применения индекса висцерального ожирения в диагностике метаболического синдрома и прогнозировании риска его осложнений // Российский кардиологический журнал, 2014. Т. 113, № 9. С. 48-53. [Libis R.A., Isaeva E.N. Opportunities for the use of visceral obesity index in metabolic syndrome diagnostics and prognosis of its complication risk. *Rossiyskiy kardiologicheskii zhurnal = Russian Journal of Cardiology*, 2014, Vol. 113, no. 9, pp. 48-53. (In Russ.)]
2. Орлова Е.Г., Ширшев С.В. Роль лептина в контроле экспрессии активационных мембранных молекул разными субпопуляциями Т-лимфоцитов // Известия Российской академии наук. Серия биологическая, 2009. № 4. С. 401-405. [Orlova E.G., Shirshov S.V. The role of leptin in the control of the expression of activation membrane molecules by different T-cell subpopulations. *Izvestiya Rossiyskoy akademii nauk. Seriya biologicheskaya = Bulletin of the Russian Academy of Sciences. Biological Series*, 2009, no. 4, pp. 401-405. (In Russ.)]
3. Пальцев М.А., Кветной И.М., Ильницкий А.Н., Прошаев К.И., Кветная Т.В., Совенко Г.Н., Бессарабов В.И. Ожирение: молекулярные механизмы и оптимизация таргетной терапии // Молекулярная медицина, 2013. № 2. С. 3-12. [Paltsev M.A., Kvetnoy I.M., Ilnitsky A.N., Proshchayev K.I., Kvetnaya T.V., Sovenko G.N., Bessarabov V.I. The obesity: the molecular mechanisms and the optimization of target therapy. *Molekulyarnaya meditsina = Molecular Medicine*, 2013, no. 2, pp. 3-12. (In Russ.)]
4. Руюткина Л.А., Руюткин Д.С., Исхакова И.С. Возможности и варианты суррогатной оценки инсулинорезистентности // Ожирение и метаболизм, 2019. Т. 16, № 1. С. 27-32. [Ruyatkina L.A., Ruyatkin D.S., Iskhakova I.S. Opportunities and options for surrogate assessment of insulin resistance. *Ozhirenie i metabolism = Obesity and Metabolism*, 2019, Vol. 16, no. 1, pp. 27-32. (In Russ.)]
5. Сумеркина В.А., Телешева Л.Ф., Головнева Е.С., Батурина И.Л., Наймушина Ю.В. Субпопуляционный состав лимфоцитов у пациентов с метаболическим синдромом и его изменение под влиянием адипокинов в экспериментальных условиях // Российский иммунологический журнал, 2019. Т. 13 (22), № 2. С. 936-938. [Sumerkina V.A., Telesheva L.F., Golovneva E.S., Baturina I.L., Naimushina Yu.V. Lymphocyte subpopulation profile in patients with metabolic syndrome and its change under the influence of adipokins in experimental conditions. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal Of Immunology*, 2019, Vol. 13 (22), no. 2, pp. 936-938. (In Russ.)]

6. Трошина И.А., Гагина Т.А., Петров И.М., Медведева И.В. Метаболический синдром как проявление взаимосвязи нервной, эндокринной и иммунной систем // Вестник НГУ. Серия Биология, клиническая медицина, 2006. Т. 4, Вып. 3. С. 92-101. [Troshina I.A., Gagina T.A., Petrov I.M., Medvedeva I.V. Metabolic syndrome as a manifestation of the relationship of the nervous, endocrine and immune systems. *Vestnik NGU. Seriya Biologiya, klinicheskaya meditsina*. = *Bulletin of the Novosibirsk State University. Series: Biology, Clinical Medicine*, 2006, Vol. 4, Iss. 3, pp. 92-101. (In Russ.)]
7. Чумакова Г.А., Веселовская Н.Г., Гриценко О.В., Отт А.В. Метаболический синдром: сложные и нерешенные проблемы // Российский кардиологический журнал, 2014. Т. 107, № 3. С. 63-71. [Chumakova G.A., Veselovskaya N.G., Gritsenko O.V., Ott A.V. Metabolic syndrome: challenging and unresolved issues. *Rossiyskiy kardiologicheskiy zhurnal* = *Russian Journal of Cardiology*, 2014, Vol. 107, no. 3, pp. 63-71. (In Russ.)]
8. Шляхто Е.В., Недогода С.В., Конради А.О., Баранова Е.И., Фомин В.В., Верткин А.Л., Чумакова Г.А. Концепция новых национальных клинических рекомендаций по ожирению // Российский кардиологический журнал, 2016. Т. 132, № 4. С. 7-13. [Shlyakhto E.V., Nedogoda S.V., Konradi A.O., Baranova E.I., Fomin V.V., Vertkin A.L., Chumakova G.A. The concept of novel national clinical guidelines on obesity. *Rossiyskiy kardiologicheskiy zhurnal* = *Russian Journal of Cardiology*, 2016, Vol. 132, no. 4, pp. 7-13. (In Russ.)]
9. Bahadır A., Baltacı D., Türker Y., Türker Y., Iliev D., Öztürk S., Deler M.H., Sarıgöze Y.C. Is the neutrophil-to-lymphocyte ratio indicative of inflammatory state in patients with obesity and metabolic syndrome? *Anatol. J. Cardiol.*, 2015, Vol. 15, pp. 816-822.
10. de la Fuente M., de Castro N.M. Obesity as a model of premature immunosenescence. *Curr. Immunol. Rev.*, 2012, Vol. 8, no. 1, pp. 63-75.
11. Fujita Y., Murakami M., Ogawa M.Y., Masuzaki H., Tanaka M., Ozaki S., Nakao K., Mimori T. Leptin inhibits stress-induced apoptosis of T lymphocytes. *Clin. Exp. Immunol.*, 2002, Vol. 128, no. 1, pp. 21-26.
12. Reaven G.M. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, 1988, Vol. 37, no. 12, pp. 1595-1607.
13. Sánchez-Margalet V., Martín-Romero C., González-Yanes C., Goberna R., Najib S., Gonzalez-Yanes C. Leptin receptor (Ob-R) expression is induced in peripheral blood mononuclear cells by *in vitro* activation and *in vivo* in HIV-infected patients. *Clin. Exp. Immunol.*, 2002, Vol. 129, no. 1, pp. 119-124.

Авторы:

Сумеркина В.А. — к.м.н., ведущий научный сотрудник ЦНИЛ ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Телешева Л.Ф. — д.м.н., профессор, профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Authors:

Sumerkina V.A., PhD (Medicine), Leading Research Associate, Central Scientific Research Laboratory, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Telesheva L.F., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Головнева Е.С. — д.м.н., доцент, профессор
кафедры нормальной физиологии имени академика
Ю.М. Захарова ФГБОУ ВО «Южно-Уральский
государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск,
Россия

Golovneva E.S., PhD, MD (Medicine), Associate Professor,
Professor, Yu. Zakharov Department of Normal Physiology,
South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian
Federation

Туманов С.В. — врач-патологоанатом ГБУЗ
«Городская клиническая онкологическая больница № 1
Департамента здравоохранения города Москвы»,
Москва, Россия

Tumanov S.V., Pathologist, Clinical Oncology Hospital No. 1,
Moscow, Russian Federation

Поступила 08.06.2020
Принята к печати 11.07.2020

Received 08.06.2020
Accepted 11.07.2020

СПЕКТР СЕНСИБИЛИЗАЦИИ К ПИЩЕВЫМ И ИНГАЛЯЦИОННЫМ АЛЛЕРГЕНАМ ДЕТЕЙ С ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНЫМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ АТОПИИ

Фейзер А.А., Барило А.А., Смирнова С.В.

Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“, г. Красноярск, Россия

Резюме. Желудочно-кишечный тракт является барьером на пути проникновения аллергенов в организм и может быть одним из шоковых органов развития аллергического воспаления. Диагностике гастроинтестинальных проявлений аллергии не уделяется должного внимания, так как их клинические симптомы не являются патогномоничными, а идентичны заболеваниям желудочно-кишечного тракта различного генеза. Цель исследования — изучить особенности структурного и функционального состояния желудочно-кишечного тракта и спектра сенсibilизации к пищевым и ингаляционным аллергенам детей с гастроинтестинальными проявлениями атопии. Проведен анализ историй болезни детей с гастроинтестинальными проявлениями аллергии в возрасте от 1 до 18 лет ($n = 28$), проходивших лечение в Краевом детском аллергологическом центре г. Красноярска. Всем больным проведено специфическое аллергологическое обследование (аллергологический анамнез, определение концентрации общего IgE, специфических IgE к пищевым и ингаляционным аллергенам). Оценка состояния желудочно-кишечного тракта проводилась с учетом жалоб, данных анамнеза, объективного осмотра и результатов эзофагогастродуоденоскопии. Установлено, что гастроинтестинальные проявления атопии чаще всего сочетались с дерматореспираторными проявлениями аллергии в виде аллергического ринита, атопической бронхиальной астмы и атопического дерматита. Среди поражений желудочно-кишечного тракта с наибольшей частотой встречаемости определены изменения в характере стула (диарея, запор) и наличие симптомов воспаления желудочно-кишечного тракта — гастроэзофагального рефлюкса, гастрита, бульбита, дуоденита. По результатам эзофагогастродуоденоскопии наиболее часто определены гастрит и недостаточность кардии. По результатам анализа концентрации общего IgE в сыворотке крови повышенный уровень определен в 42,8% случаев, среднее значение общего IgE в сыворотке крови у больных с атопическим генезом аллергии — 140,9 МЕ/мл. Эти данные свидетельствуют о том, что в иммунопатологической основе запуска аллергического воспаления желудочно-кишечного тракта могут лежать не только атопические механизмы. По результатам анализа концентрации специфических IgE определены особенности спектра сенсibilизации к пищевым и ингаляционным аллергенам детей с гастроинтестинальными проявлениями атопии. Наиболее значимыми аллергенами являлись: пищевые — мучная смесь; пылевые — микст деревьев; бытовые — круглогодичный микст. Таким образом, при проведении специфического аллергологического обследования у детей с атопией, необходимо учитывать системность процесса и особое внимание уделять оценке состояния желудочно-кишечного тракта, как одного из шоковых органов развития аллергического воспаления.

Ключевые слова: дети, атопия, желудочно-кишечный тракт, гастроинтестинальные проявления, аллергены, эзофагогастродуоденоскопия

Адрес для переписки:

Фейзер Альбина Альбертовна
Научно-исследовательский институт медицинских
проблем Севера
660022, Россия, г. Красноярск,
ул. Партизана Железняка, 3г.
Тел.: 8 (983) 169-18-54.
E-mail: albinafeizer@yandex.ru

Address for correspondence:

Feizer Albina A.
Research Institute of Medical Problems of the North
660022, Russian Federation, Krasnoyarsk, Partizan
Zheleznyak str., 3g.
Phone: 7 (983) 169-18-54.
E-mail: albinafeizer@yandex.ru

Образец цитирования:

А.А. Фейзер, А.А. Барило, С.В. Смирнова «Спектр сенсibilизации к пищевым и ингаляционным аллергенам детей с гастроинтестинальными проявлениями атопии» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 3. С. 299–302.
doi: 10.46235/1028-7221-321-FAI
© Фейзер А.А. и соавт., 2020

For citation:

A.A. Feizer, A.A. Barilo, S.V. Smirnova "Food and inhaled allergen sensitization range in children with atopy-related gastrointestinal manifestations", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 3, pp. 299–302.
doi: 10.46235/1028-7221-321-FAI
DOI: 10.46235/1028-7221-321-FAI

FOOD AND INHALED ALLERGEN SENSITIZATION RANGE IN CHILDREN WITH ATOPY-RELATED GASTROINTESTINAL MANIFESTATIONS

Feizer A.A., Barilo A.A., Smirnova S.V.

Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Science Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

Abstract. The gastrointestinal tract is a barrier to the penetration of allergens into the organism and can be one of the shock organs of the development of allergic inflammation. The diagnosis of gastrointestinal manifestations of allergies is not given due attention, since their clinical symptoms are not pathognomonic, but are identical to diseases of the gastrointestinal tract of various genesis. The aim: to study the features of the structural and functional state of the gastrointestinal tract and the spectrum of sensitization to food and inhalation allergens of children with gastrointestinal manifestations of atopy. The analysis of medical histories of children with gastrointestinal manifestations of allergies aged from 1 to 18 years ($n = 28$), who were treated at the Regional children's allergological center in Krasnoyarsk, was performed. All patients underwent a specific allergological examination (allergological history, determination of the concentration of total IgE, specific IgE to food and inhalation allergens). The assessment of the state of the gastrointestinal tract was carried out taking into account complaints, anamnesis, objective examination and the results of esophagogastroduodenoscopy. It is established that gastrointestinal manifestations of atopy were most often combined with dermatorespiratory manifestations of allergy in the form of allergic rhinitis, atopic bronchial asthma and atopic dermatitis. Among the lesions of the gastrointestinal tract with the highest frequency of occurrence, changes in the nature of the stool (diarrhea, constipation) and the presence of symptoms of inflammation of the gastrointestinal tract—gastroesophageal reflux, gastritis, bulbitis, duodenitis, were determined. According to the results of esophagogastroduodenoscopy, gastritis and cardia insufficiency were most often determined. According to the results of the analysis of the concentration of total IgE in the blood serum, the increased level was determined in 42,8% of cases, the average value of total IgE in the blood serum in patients with atopic genesis of allergies was 140,9 IU/ml. These data evidence that the immunopathological basis for triggering allergic inflammation of the gastrointestinal tract may be based not only on atopic mechanisms. Based on the analysis of specific IgE concentrations, the characteristics of the spectrum of sensitization to food and inhalant allergens of children with gastrointestinal manifestations of atopy were determined. The most significant allergens were: food — flour mix; pollen — mixed of trees; domestic — perennial mixed. Thus, when conducting a specific allergological examination of children with atopy, it is necessary to take into account the systemic nature of the process and pay special attention to assessing the state of the gastrointestinal tract, as one of the shock organs in the development of allergic inflammation.

Keywords: children, atopy, gastrointestinal tract, gastrointestinal manifestations, allergens, esophagogastroduodenoscopy

Введение

Желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) является барьером на пути проникновения аллергенов в организм и может быть одним из шоковых органов развития аллергического воспаления [1]. При повреждении защитного барьера на фоне патологии ЖКТ происходит увеличение проницаемости для различных аллергенов с последующим расширением спектра сенсибилизации [2, 5]. Диагностика гастроинтестинальных проявлений аллергии не уделяется должного внимания, так как их клинические симптомы не являются патогномоничными, а идентичны заболеваниям ЖКТ различного генеза [3, 4]. Таким образом, при обследовании больных, предъявляющих жалобы со стороны ЖКТ, важно учитывать аллергическую природу заболеваний и проводить специфическое аллергологическое обследование с целью исключения гастроинтестинальных проявлений аллергии. Все эти факторы обуславливают актуальность изучения проблемы повреждения ЖКТ с позиции аллергологии.

Цель настоящего исследования — изучить особенности структурного и функционального состояния желудочно-кишечного тракта и спектра сенсибилизации к пищевым и ингаляционным аллергенам детей с гастроинтестинальными проявлениями атопии.

Материалы и методы

Проведен анализ историй болезни детей ($n = 28$, среди них мальчиков — 13, девочек — 15) с гастроинтестинальными проявлениями аллергии в возрасте от 1 до 18 лет (средний возраст $5,5 \pm 0,88$ лет), проходивших лечение в Краевом детском аллергологическом центре г. Красноярска. Тип исследования — ретроспективный. Период оценки: январь–декабрь 2019 года. Протокол обследования был утвержден комитетом биомедицинской этики ФИЦ КНЦ СО РАН. Получено письменное информированное согласие на проведение исследования.

Всем больным проведено специфическое аллергологическое обследование (аллергологический анамнез, определение концентрации общего IgE, специфических IgE к пищевым и

ингаляционным аллергенам). Уровень концентрации общего иммуноглобулина Е (IgE, МЕ/мл) в сыворотке крови оценивался методом иммуноферментного анализа. Спектр сенсibilизации к аллергенам в группе обследуемых определялся путем изучения анализа данных концентрации специфических IgE (Хема, Москва) к пищевым и ингаляционным аллергенам. Использованы панели аллергенов: пищевых — детский пищевой микст (яичный белок, коровье молоко, треска, арахис, соевые бобы, клубника, сельдерей), мучная смесь; пыльцевых — микст деревьев, микст сорных трав; бытовых — круглогодичный микст. Критерием сенсibilизации считается повышение уровня реактивности специфического IgE выше пороговых значений. Классификация уровней реактивности по результатам исследования специфических антител распределяется следующим образом: менее 0,10 МЕ/мл — реакция отсутствует или неопределяемый уровень; 0,10-0,34 МЕ/мл — очень низкий; менее 0,35-0,69 МЕ/мл — низкий; 0,70-3,49 — умеренный; 3,5-17,49 — высокий; 17,5-52,49, 52,5-99,99; более 100 — очень высокий уровень. Оценка состояния желудочно-кишечного тракта проводилась с учетом данных анамнеза, жалоб, объективного осмотра и результатов эзофагогастродуоденоскопии. Для статистического анализа применяли пакет прикладных программ Statistica 6.0. Статистическую обработку данных проводили методами вариационного анализа с использованием t-критерия для качественных признаков.

Результаты и обсуждение

В группе обследованных больных гастроинтестинальные проявления атопии чаще всего сочетались с дерматореспираторными проявлениями аллергии в виде аллергического ринита, бронхиальной астмы и атопического дерматита, которые отмечены в 28,5% (n = 8) случаев. Дерматоинтестинальные проявления аллергии (сочетание атопического дерматита и гастроинтестинальных проявлений) наблюдались в 7,1% (n = 2) случаев. Отягощенный наследственный аллергологический анамнез выявлен в 84% (n = 21/25) случаев.

При анализе данных анамнеза, жалоб со стороны желудочно-кишечного тракта и результатов объективного осмотра отмечены признаки поражения желудочно-кишечного тракта (табл. 1). Наиболее часто определены изменения в характере стула (диарея, запор) и наличие симптомов воспаления ЖКТ — гастроэзофагиального рефлюкса (ГЭР), гастрита, бульбита, дуоденита в 60,7% (n = 17) и 35,7% (n = 10) случаев соответственно.

Клинические признаки повреждения ЖКТ выявлены при проведении эзофагогастродуоденоскопии (ЭФГДС) (табл. 1). Наиболее часто определены гастрит и недостаточность кардии: 92,8% (n = 11/12) и 41,6% (n = 5/12) случаев соответственно. Таким образом, проведение ЭФГДС позволило установить структурные и функциональные изменения со стороны ЖКТ у детей с гастроинтестинальными проявлениями атопии.

Повышенная концентрация общего IgE в сыворотке крови определена в 42,8% (n = 12/28) случаев. Среднее значение общего IgE в сыворотке крови у больных в группе обследованных составило 3,75 МЕ/мл (1,3;12,1), у больных с атопическим генезом аллергии — 140,9 МЕ/мл (41; 240,3). Эти данные свидетельствуют о том, что в иммунопатологической основе запуска аллергического воспаления ЖКТ могут лежать и другие механизмы, не только атопические.

В группе больных с атопическим генезом аллергии проведен анализ концентрации специфических IgE к пищевым и ингаляционным аллергенам (табл. 2). Наиболее значимыми аллергенами являлись: пищевые — мучная смесь, сенсibilизация к которой установлена в 57,1% (n = 4/7) случаев; пыльцевые — микст деревьев в 57,1% (n = 4/7) случаев; бытовые — круглогодичный микст в 75% (n = 6/8) случаев.

ТАБЛИЦА 1. ПРИЗНАКИ ПОРАЖЕНИЯ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА У ДЕТЕЙ С ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНЫМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ АЛЛЕРГИИ, % (n)

TABLE 1. SIGNS OF A LESION OF THE GASTROINTESTINAL TRACT IN CHILDREN WITH GASTROINTESTINAL MANIFESTATIONS OF ALLERGY, % (n)

Признаки поражения желудочно-кишечного тракта в исследуемой группе Signs of a lesion of the gastrointestinal tract in the study group (n = 28)	
Орально-аллергический синдром Oral allergic syndrome	3,5% (1)
Диспепсические жалобы (тошнота, изжога, рвота) Dyspeptic complaints (nausea, heartburn, vomiting)	28,5% (8)
ГЭР, гастрит, бульбит, дуоденит Gastroesophageal reflux, gastritis, bulbitis, duodenitis	35,7% (10)
Изменения в стуле Changes in feces	60,7% (17)
Связь проявлений с употреблением определенного продукта The links of manifestations to the intake of a certain product	35,7% (10)
Данные эзофагогастродуоденоскопии Data of esophagogastroduodenoscopy (n = 12)	
Недостаточность кардии Incompetence of cardia	41,6% (5)
Гастроэзофагиальный рефлюкс Gastroesophageal reflux	33,3% (4)
Гастрит Gastritis	91,6% (11)
Бульбит Bulbitis	16,6% (2)
Дуоденит Duodenitis	16,6% (2)
Эрозивные поражения Erosive lesions	8,3% (1)

ТАБЛИЦА 2. СПЕКТР СЕНСИБИЛИЗАЦИИ К АЛЛЕРГЕНАМ ДЕТЕЙ С ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНЫМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ АТОПИИ, % (n)/N

TABLE 2. SPECTRUM OF SENSITIZATION FOR ALLERGENS IN CHILDREN WITH GASTROINTESTINAL MANIFESTATIONS OF ATOPY, % (n)/N

Наименование аллергена Name of the allergen	Исследуемая группа Study group
Пищевые аллергены / Food allergens	
Детский пищевой микст Children's food mix	33,3% (2)/6
Мучная смесь Flour mix	57,1% (4)/7
Пыльцевые аллергены / Pollen allergens	
Микст деревьев Mixed of trees	57,1% (4)/7
Микст сорных трав Mixed of weed grass	42,8% (3)/7
Бытовые аллергены / Domestic allergens	
Круглогодичный микст Perennial mixed	75% (6)/8

Примечание. % (n) – относительное и абсолютное количество сенсibilизированных больных; N – количество тестируемых больных.

Note. % (n), relative and absolute number of sensitized patients; N, number of tested patients.

Заключение

Таким образом, атопия носит системный характер, поражая различные органы и системы, чаще всего кожу, респираторный тракт, которые нередко сопровождаются повреждением желудочно-кишечного тракта. Проведенные исследования позволили выявить структурные и функциональные изменения в состоянии желудочно-кишечного тракта у детей с гастроинтестинальными проявлениями атопии. Наиболее часто определены гастрит и недостаточность кардии. По результатам анализа концентрации специфических IgE определены особенности спектра сенсibilизации к пищевым и ингаляционным аллергенам в группе больных с гастроинтестинальными проявлениями атопии. Наиболее значимыми аллергенами являлись: пищевые – мучная смесь; пыльцевые – микст деревьев; бытовые – круглогодичный микст. Следовательно, при проведении специфического аллергологического обследования детей с атопией необходимо учитывать системность процесса и особое внимание уделять оценке состояния желудочно-кишечного тракта как одного из шоковых органов развития аллергического воспаления.

Список литературы / References

1. Борисова И.В., Смирнова С.В. Пищевая аллергия у детей. Красноярск, 2011. 150 с. [Borisova I.V., Smirnova S.V. Food allergy in children]. Krasnoyarsk, 2011. 150 p.
2. Bischoff S.C., Barbara G., Buurman W., Ockhuizen T., Schulzke J.-D., Serino M., Tilg H., Watson A., Wells J.M. Intestinal permeability a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterol.*, 2014, Vol. 14, 189. doi: 10.1186/s12876-014-0189-7.
3. Capucilli P., Hill D.A. Allergic Comorbidity in eosinophilic esophagitis: Mechanistic relevance and clinical implications. *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, 2019, Vol. 57, no. 1, pp. 111-127.
4. König J., Wells J., Cani P.D., García-Ródenas C.L., MacDonald T., Mercenier A., Whyte J., Troost F., Brummer R. J. Human intestinal barrier function in health and disease. *Clin. Transl. Gastroenterol.*, 2016, Vol. 7, no. 10, e196. doi: 10.1038/ctg.2016.54.
5. Wasielewska Z., Dolińska A., Wilczyńska D., Szaflarska-Popławska A., Krogulska A. Prevalence of allergic diseases in children with inflammatory bowel disease. *Postepy Dermatol. Alergol.*, 2019, Vol. 36, no. 3, pp. 282-290.

Авторы:

Фейзер А.А. – аспирант, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера – обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», г. Красноярск, Россия

Барило А.А. – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера – обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», г. Красноярск, Россия

Смирнова С.В. – д.м.н., профессор, руководитель научного направления, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера – обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», г. Красноярск, Россия

Authors:

Feizer A.A., Postgraduate Student, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Science Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

Barilo A.A., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Clinical Pathophysiology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Science Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

Smirnova S.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Scientific Direction, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Science Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

Поступила 08.06.2020
Принята к печати 28.07.2020

Received 08.06.2020
Accepted 28.07.2020

ХРОНИЧЕСКОЕ ВОСПАЛЕНИЕ И ГОРМОНЫ СТРЕСС-ОТВЕТА: ОБЩИЙ ПУТЬ КОГНИТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ ПРИ СТАРЕНИИ

Филиппова Ю.Ю., Бурмистрова А.Л.

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

Резюме. В работе представлены результаты исследования сетевого взаимодействия между цитокиновой системой и гормонами стресс-ответа при сосудистой деменции у людей пожилого возраста. Проведена оценка системных уровней цитокинов: IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF α , IFN γ и стресс-гормонов: кортизола, адренокортикотропного гормона (АКТГ), адреналина, норадреналина и дофамина у 23 человек с сосудистой деменцией и 40 лиц без выраженных когнитивных нарушений. Обнаружено, что у пожилых людей с деменцией были значимо повышены концентрации IL-6, TNF α , адреналина и дофамина и снижены — IL-1 β , IL-10, АКТГ и норадреналина, по сравнению со здоровой старостью. Кроме того, при сосудистой деменции практически полностью отсутствовало сетевое взаимодействие между цитокиновой, симпатoadреналовой и гипоталамо-гипофизарной системами (ГГН-осью): нет значимых корреляций внутри цитокинов, одна положительная внутригормональная связь — кортизол-АКТГ — и две положительные связи между IFN γ и кортизолом/адреналином. В целом для сосудистой деменции характерна выраженная воспалительная реакция, чрезмерная активация гормонов стресс-ответа и разобщение сетевого взаимодействия между цитокинами, ГГН-осью и симпатoadреналовой медуллярной системой.

Ключевые слова: цитокины, адреналин, норадреналин, кортизол, сосудистая деменция, пожилые люди

CHRONIC INFLAMMATION AND STRESS-HORMONES: A COMMON PATHWAY OF COGNITIVE DISORDERS IN AGEING

Filippova Yu.Yu., Burmistrova A.L.

Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. Here we present the data on examining inter-connections cytokine network and stress hormones in senile vascular dementia by assessing systemic cytokine levels for IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF α , IFN γ as well

Адрес для переписки:

Филиппова Юлия Юрьевна
ФГБОУ ВО «Челябинский государственный
университет»
454001, Россия, г. Челябинск,
ул. Братьев Кашириных, 129.
Тел.: 8 (351) 799-71-76.
E-mail: julse@rambler.ru

Address for correspondence:

Filippova Yuliya Yu.
Chelyabinsk State University
454001, Russian Federation, Chelyabinsk,
Br. Kashirin str., 129.
Phone: 7 (351) 799-71-76.
E-mail: julse@rambler.ru

Образец цитирования:

Ю.Ю. Филиппова, А.Л. Бурмистрова «Хроническое
воспаление и гормоны стресс-ответа: общий
пути когнитивных расстройств при старении»
// Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23,
№ 3. С. 303-308.
doi: 10.46235/1028-7221-320-CIA

© Филиппова Ю.Ю., Бурмистрова А.Л., 2020

For citation:

Yu. Yu. Philippova, A. L. Burmistrova "Chronic inflammation
and stress-hormones: a common pathway of cognitive disorders
in ageing", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 3, pp. 303-308.
doi: 10.46235/1028-7221-320-CIA

DOI: 10.46235/1028-7221-320-CIA

as hormones cortisol, adrenocorticotrophic hormone (ACTH), epinephrine, norepinephrine and dopamine in 23 subjects with vascular dementia and 40 individuals without overt cognitive impairment. It was found, that the concentrations of IL-6, TNF α , epinephrine and dopamine were significantly increased, whereas those for IL-1 β , IL-10, ACTH and norepinephrine were decreased in elderly people with dementia compared to healthy aging. In addition, virtually no inter-connection between cytokine, sympathoadrenal and hypothalamic-pituitary (HPA-axis) axis was observed in vascular dementia highlighted by no significant correlation within the cytokine network. However, a single positive intrahormonal link for cortisol-ACTH and two positive links between IFN γ and cortisol/adrenaline level were detected. In general, vascular dementia was featured by marked inflammatory reaction, excessive activation of stress hormone production and disconnection of cytokine network, HPA-axis and the sympathoadrenal medullary system.

Keywords: cytokines, epinephrine, norepinephrine, cortisol, vascular dementia, elderly people

Введение

Нейровоспаление и изменения в работе гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (ГГН-оси) — постоянные явления при деменции (прежде всего, болезни Альцгеймера), но современных знаний недостаточно, чтобы утверждать, являются ли они причиной, триггером или просто следствием этого заболевания [6, 13, 16].

Системное хроническое низкоградуированное воспаление, характерное для старения, стимулирует увеличение уровня кортизола в плазме, изменяет активность норадренергических нейронов гипоталамуса и уменьшает концентрации норадреналина в селезенке, то есть приводит к активации систем стресс-ответа (ГГН-оси и симпатoadреналовой медуллярной системы) [5]. Кортизол легко пересекает гематоэнцефалический барьер и связывается со специфическими внутриклеточными рецепторами в головном мозге, особенно в областях, вовлеченных в когнитивные функции. Избыток глюкокортикоидов, наблюдаемый у пожилых людей, может иметь серьезные последствия как для структурной, так и функциональной целостности различных ключевых областей мозга, включая гиппокамп, миндалину, префронтальную кору, с последующим нарушением нормальной памяти, когнитивной функции и циклов сна [15]. Хотя общеизвестно, что кортизол проявляет противовоспалительные эффекты, высокие уровни этого гормона могут активировать воспалительные белки в нейронах гиппокампа, тем самым способствуя нейровоспалению и повреждению нейронов [16]. Кроме того, периферическое воспаление вызывает воспалительный ответ в центральной нервной системе, характеризующийся дополнительным синтезом и действием цитокинов в головном мозге [7].

Такое нарушение контроля над работой систем стресс-ответа и производством цитокинов на локальном уровне (в мозге) и в циркуляции может стать промотором нейродегенеративных процессов, прежде всего старческой деменции [1, 2]. Лучшее понимание взаимосвязей между воспалением, нарушением систем стресс-ответа и когнитивными функциями поможет разработке новых подходов к профилактике и терапии старческой деменции [12].

Цель работы — оценить сетевое взаимодействие между цитокиновой системой и гормонами стресс-ответа при сосудистой деменции у людей пожилого возраста.

Материалы и методы

В исследование были включены 63 человека пожилого возраста, постоянно проживающих в «Челябинском геронтологическом центре». Психическое и физическое состояние обследованных оценивалось терапевтом и психотерапевтом центра в ходе ежемесячного мониторинга с помощью теста Mini-Mental State Examination и индекса базовой функциональной активности Бартел (Barthel Index for Activities of Daily Living). По результатам оценки участники были разделены на две группы: 23 человека (6 мужчин и 17 женщин, средний возраст $81,4 \pm 2,0$ года) с выраженной когнитивной недостаточностью, проявляющейся сосудистой деменцией — группа «Сосудистая деменция»; и 40 человек (16 мужчин и 24 женщины, средний возраст: $79,3 \pm 1,1$ год), имеющих умеренные когнитивные нарушения — группа «Здоровая старость». Все пожилые люди на момент обследования имели типичные возраст-ассоциированные заболевания вне стадии обостре-

ния. Из исследования были исключены пожилые с ожирением, онкологическими заболеваниями, подтвержденными болезнью Паркинсона и Альцгеймера, неврологическими заболеваниями, поражающими центральную нервную систему. Работа одобрена этическим комитетом при Челябинском государственном университете (протокол № 1 от 16.05.2016 г.). Участниками исследования подписаны информированные согласия.

Концентрацию цитокинов IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF α , IFN γ (АО «Вектор Бест», г. Новосибирск) и стресс-гормонов кортизола (Хема, Москва), аденокортикотропного гормона (АКТГ, Biomerica, США), адреналина, норадреналина и дофамина (International GMBH, Германия) оценивали в плазме крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

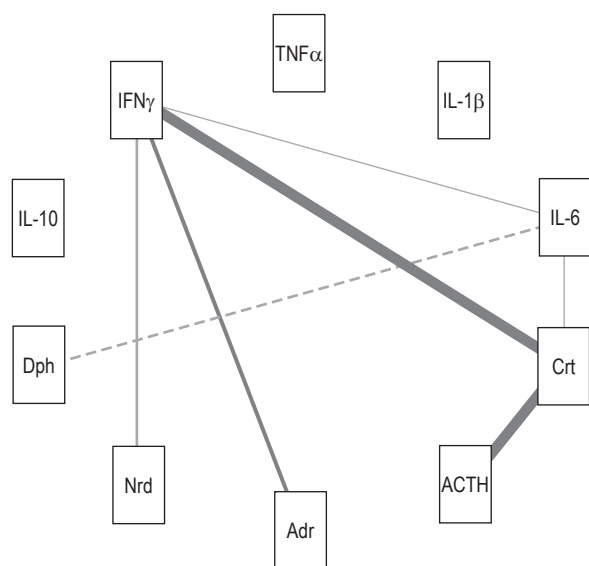
Для оценки значимости межгрупповых различий применяли критерий Стьюдента. Для обнаружения сетевого взаимодействия цитокиновой

системы с гормонами стресс-ответов у людей пожилого возраста с наличием/отсутствием деменции использовали коэффициент корреляции Спирмена (r). Во всех случаях различия и зависимости считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Расчеты и графические построения выполнены в программно-статистической среде R (v. 3.6.2, пакеты “stats” и “qgraph”).

Результаты

Обнаружено, что пожилые люди с сосудистой деменцией демонстрировали значимые отличия практически по всем исследуемым показателям (8 из 10) по сравнению с людьми пожилого возраста с умеренными когнитивными нарушениями (группа «Здоровая старость»). Системные уровни базовых провоспалительных цитокинов IL-6 и TNF α были выше, а IL-1 β и противовоспалительного цитокина IL-10 – ниже при со-

А (А)



Б (Б)

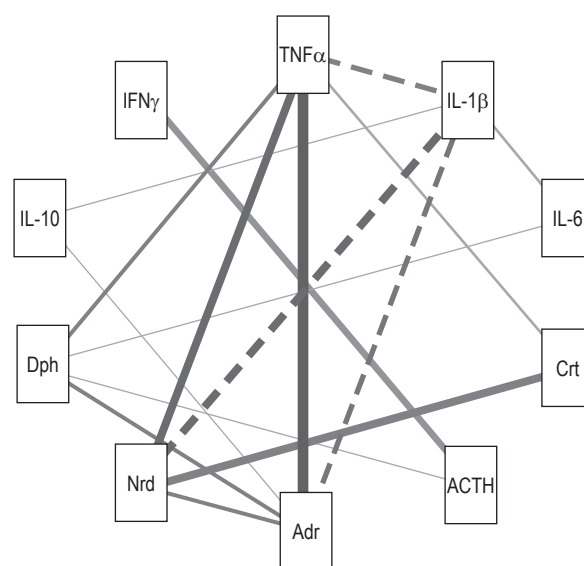


Рисунок 1. Сетевое взаимодействие цитокиновой системы и гормонов стресс-ответа при сосудистой деменции (А) и здоровом старении (Б)

Примечание. Положительные корреляции показаны сплошной линией; отрицательные корреляции – пунктирной. Сила связи условно показана толщиной линии (чем толще линия, тем сильнее связь). Dph – дофамин, Nrd – норадреналин, Adr – адреналин, АКТГ – аденокортикотропный гормон, Crt – кортизол.

Figure. Network interaction between the cytokine system and stress-hormones in vascular dementia (А) and healthy aging (Б)

Note. Positive correlations are shown by a solid line; negative correlations are shown by a dashed line. The strength of the bond is conventionally shown by the thickness of the line (the thicker the line, the stronger the bond). Dph, dopamine; Nrd, norepinephrine; Adr, epinephrine; АКТГ, adrenocorticotrophic hormone; Crt, cortisol.

судистой деменции. Концентрации гормонов стресс-ответа — адреналина и дофамина — были повышены, а норадреналина и АКТГ снижены, в плазме крови пожилых людей с деменцией по сравнению с индивидуумами группы «Здоровая старость». В уровнях IFN γ и кортизола статистически значимых различий не обнаружено (данные не показаны).

Для оценки сетевого взаимодействия цитокиновой системы с гормонами стресс-ответа при сосудистой деменции нами были определены корреляционные связи в каждой группе пожилых людей отдельно (рис. 1А, Б).

У пожилых людей с деменцией выявлено только 3 значимых корреляционных связи, которые были положительными: внутригормональная — кортизол/АКТГ ($r = 0,515$; $p = 0,012$) и межсистемные — IFN γ /кортизол ($r = 0,513$; $p = 0,012$), IFN γ /адреналин ($r = 0,473$; $p = 0,023$) (рис. 1А, Б).

В группе «Здоровая старость» обнаружено 10 значимых корреляционных связей: одна отрицательная внутрицитокиновая — TNF α /IL-1 β ($r = -0,350$; $p = 0,027$); три положительные внутри сети нейrogормонов — кортизол/норадреналин ($r = 0,428$; $p = 0,006$), адреналин/норадреналин ($r = 0,353$; $p = 0,025$), адреналин/дофамин ($r = 0,348$; $p = 0,028$); и шесть межсистемных — TNF α /адреналин ($r = 0,524$; $p = 0,001$), TNF α /норадреналин ($r = 0,498$; $p = 0,001$), TNF α /дофамин ($r = 0,357$; $p = 0,024$), IL-1 β /адреналин ($r = -0,394$; $p = 0,012$), IL-1 β /норадреналин ($r = -0,467$; $p = 0,002$) и IFN γ /АКТГ ($r = 0,382$; $p = 0,015$) (рис. 1А, Б).

Обсуждение

В работе проведена оценка комплексного взаимодействия между показателями цитокиновой системы и гормонами стресс-ответа на периферии при сосудистой деменции. Получены данные, согласующиеся с данными других исследований, о том, что пожилые люди с сосудистой деменцией имеют более выраженную системную воспалительную реакцию, по сравнению с лицами без значительных когнитивных нарушений [4, 13]. Нами обнаружено, что при старении периферические концентрации кортизола значимо возрастают (собственные данные), но не установлено различий по данному показателю между пожилыми людьми с деменцией и без нее, наблюдаемых рядом авторов [12, 14,

16]. Тем не менее низкие уровни АКТГ при высоком кортизоле у пожилых людей группы «Сосудистая деменция» могут свидетельствовать о выходе кортизола из-под контроля АКТГ. Кроме того, выявлено перераспределение содержания основных гормонов симпатoadреналовой медуллярной системы в циркуляции при сосудистой деменции: высокие концентрации адреналина и дофамина и низкие — норадреналина по сравнению с пожилыми индивидуумами без деменции. Известно, что при старческой деменции происходит снижение чувствительности иммунной и нервной системы к катехоламинам, особенно к норадреналину, что может приводить к компенсаторному повышению их уровней в циркуляции и совместно с высокими концентрациями кортизола способствовать чрезмерной активации систем стресс-ответа [11]. Потеря норадренэргических нейронов и низкие уровни норадреналина являются характерным признаком когнитивных нарушений [10].

Если говорить о сетевом взаимодействии систем, то у пожилых людей с умеренными когнитивными нарушениями (группа «Здоровая старость») сохранены важные для поддержания гомеостаза организма связи: внутри цитокиновой системы (между «сигналами тревоги» TNF α и IL-1 β), внутри симпатoadреналовой медуллярной системы (между адреналином и дофамином/норадреналином, как показатель конверсии катехоламинов) и положительная связь между норадреналином и кортизолом (свидетельство норадренэргической активации ГГН-оси [14]). Для здоровой старости было характерно выраженное сетевое взаимодействие между показателями цитокинов и нейrogормонов: цитокины находились под контролем симпатoadреналовой медуллярной системы. Корреляции между TNF α и адреналином, норадреналином, дофамином, возможно, отражали физиологические нейроиммунные взаимодействия при действии стрессоров. Отрицательные связи IL-1 β с катехоламинами могут быть объяснены их разнонаправленным действием на организм, в том числе на процессы обучения и памяти в мозге: IL-1 β в физиологических концентрациях может непосредственно способствовать регуляции гиппокамп-зависимой памяти, а в высоких дозах оказывать негативные эффекты; наоборот, высокие концентрации норадреналина улучшают пространственное обуче-

ние и память, а его дефицит способствует дефициту рабочей памяти [8, 9].

У пожилых людей с деменцией практически полностью отсутствовало сетевое взаимодействие между цитокиновой, симпатoadреналовой и гипоталамо-гипофизарной системами. В этой группе сохранена только положительная связь между гормонами ГГН-оси (кортизолом и АКТГ). В межсистемных взаимодействиях ведущую роль играл $IFN\gamma$, который демонстрировал две положительные связи с кортизолом и адреналином. Хорошо известно, что $IFN\gamma$ в физиологических

концентрациях принимает участие в экспрессии памяти и в нейрогенезе гиппокампа, а в высоких дозах может усиливать повреждающее действие кортизола и адреналина и способствовать прогрессии нейродегенеративных заболеваний [3, 4].

Таким образом, для пожилых людей с сосудистой деменцией характерна выраженная воспалительная реакция, чрезмерная активация гормонов стресс-ответа и разобщение сетевого взаимодействия между цитокинами, ГГН-осью и симпатoadреналовой медуллярной системой.

Список литературы / References

1. Филиппова Ю.Ю., Бурмистрова А.Л. Когнитивная ось старости: воспаление – микробиота тонкого кишечника // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2017. № 5. С. 3-9. [Filippova Yu.Yu., Burmistova A.L. Cognitive axis of ageing: inflammation – microbiota of small intestine. *Zhurnal mikrobiologii i epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2017, Vol. 5, pp. 3-9. (In Russ.)]
2. Archer T. BDNF integrity in ageing and stress. *MOJ Gerontology & Geriatrics*, 2017, Vol. 1, no. 6, pp. 155-158.
3. Baruch K., Deczkowska A., David E., Castellano J.M., Miller O., Kertser A., Berkutzki T., Barnett-Itzhaki Z., Bezalel D., Wyss-Coray T., Amit I., Schwartz M. Aging. Aging-induced type I interferon response at the choroid plexus negatively affects brain function. *Science*, 2014, Vol. 346, pp. 89-93.
4. Belkhef M., Rafa H., Medjeber O., Arroul-Lammali A., Behairi N., Abada-Bendib M., Makrelouf M., Belarbi S., Masmoudi A.N., Tazir M., Touil-Boukoffa C. $IFN-\gamma$ and $TNF-\alpha$ are involved during Alzheimer disease progression and correlate with nitric oxide production: a study in Algerian patients. *J. Interferon Cytokine Res.*, 2014, Vol. 34, no. 11, pp. 839-847.
5. Chrousos G.P. Stress, chronic inflammation, and emotional and physical well-being: concurrent effects and chronic sequelae. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2000, Vol. 106, pp. S275-S291.
6. Enciu A.M., Popescu B.O. Is there a causal link between inflammation and dementia? *Biomed. Res. Int.*, 2013, 316495. doi: 10.1155/2013/316495.
7. Galic M.A., Riazi K., Pittman Q.J. Cytokines and brain excitability. *Front. Neuroendocrinol.*, 2012, Vol. 33, no. 1, pp. 116-125.
8. Gannon M., Che P., Chen Y., Jiao K., Roberson E.D., Wang Q. Noradrenergic dysfunction in Alzheimer's disease. *Front. Neurosci.*, 2015, Vol. 9, 220. doi: 10.3389/fnins.2015.00220.
9. Goshen I., Kreisel T., Ounallah-Saad H., Renbaum P., Zalzstein Y., Ben-Hur T., Levy-Lahad E., Yirmiya R. A dual role for interleukin-1 in hippocampal-dependent memory processes. *Psychoneuroendocrinology*, 2007, Vol. 32, no. 8-10, pp. 1106-1115.
10. Herrmann N., Lanctôt K.L., Khan L.R. The role of norepinephrine in the behavioral and psychological symptoms of dementia. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.*, 2004, Vol. 16, no. 3, pp. 261-276.
11. Mausbach B.T., Aschbacher K., Mills P.J., Roepke S.K., von Känel R., Patterson T.L., Dimsdale J.E., Ziegler M.G., Ancoli-Israel S., Grant I. A 5-year longitudinal study of the relationships between stress, coping, and immune cell beta (2)-adrenergic receptor sensitivity. *Psychiatry Res.*, 2008, Vol. 160, pp. 247-255.
12. Ouanes S., Popp J. High Cortisol and the risk of dementia and Alzheimer's disease: a review of the literature. *Front. Aging Neurosci.*, 2019, Vol. 11, 43. doi: 10.3389/fnagi.2019.00043.
13. Scheiblich H., Trombly M., Ramirez A., Heneka M.T. Neuroimmune connections in aging and neurodegenerative diseases. *Trends Immunol.*, 2020, Vol. 41, no. 4, pp. 300-312.
14. Wang L.Y., Raskind M.A., Wilkinson C.W., Shofer J.B., Sikkema C., Szot P., Quinn J.F., Galasko D.R., Peskind E.R. Associations between CSF cortisol and CSF norepinephrine in cognitively normal controls and patients with amnesic MCI and AD dementia. *Int. J. Geriatr. Psychiatry*, 2018, Vol. 33, no. 5, pp. 763-768.

15. Yiallouris A., Tsioutis C., Agapidaki E., Zafeiri M., Agouridis A.P., Ntourakis D., Johnson E.O. Adrenal aging and its implications on stress responsiveness in humans. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, 2019, Vol. 10, 54. doi: 10.3389/fendo.2019.00054.
16. Zhang B, Zhang Y, Xu T, Yin Y., Huang R., Wang Y., Zhang J., Huang D., Li W. Chronic dexamethasone treatment results in hippocampal neurons injury due to activate NLRP1 inflammasome *in vitro*. *Int. Immunopharmacol.* 2017, Vol. 49, pp. 222-230.

Авторы:

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

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

Authors:

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

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

Поступила 08.06.2020
Принята к печати 01.07.2020

Received 08.06.2020
Accepted 01.07.2020

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОЙ РЕГУЛЯЦИИ И СПЕЦИФИЧЕСКОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ У ДЕТСКОГО НАСЕЛЕНИЯ СЕВЕРА СИБИРИ

Челакова Ю.А.

ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, Россия

Резюме. В работе представлены особенности показателей иммунной регуляции и специфической гиперчувствительности у детского населения севера Сибири, проживающего в условиях влияния экстремальных климатогеографических и экзогенных химических факторов риска. Выполнено иммунологическое диагностическое обследование 255 детей, постоянно проживающих в зоне влияния экзогенных гаптенов. Группу контроля составили 130 детей, проживающих на территории вне влияния экзогенных химических факторов. Определение сывороточных иммуноглобулинов G, A, M проводили при помощи реакции радиальной иммунодиффузии по Манчини. Определение содержания общего IgE, нейронспецифической энолазы и VEGF проводили с помощью ИФА-метода. Изменение содержания специфического IgG к фенолу и меди и специфического IgE к никелю и бенз(а)пирену определяли в аллергосорбентном тесте с ферментной меткой. Определение популяций и субпопуляций лимфоцитов проводили методом мембранной иммуофлюоресценции с использованием панели меченых моноклональных антител. Для качественного осуществления статистического анализа данных материал обрабатывался с использованием программы Microsoft® Office Excel 2003 и пакета прикладных программ Statistica 6.0. (StatSoft, США). Достоверность различий определяли по t-критерию Стьюдента, оценку зависимостей между признаками — с помощью корреляционно-регрессионного анализа, критерия Фишера. По результатам иммунологических исследований в группе наблюдения отмечаются достоверные изменения в показателях иммунограммы: повышение относительно контрольной группы уровня CD16⁺ клеток-эффекторов, повышение уровня CD19⁺ абсолютных и относительных лимфоцитов ($p \leq 0,05$), повышение уровня CD25⁺ абсолютных и относительных лимфоцитов ($p \leq 0,05$) и рост уровня CD95⁺Т-лимфоцитов относительно нормы и группы контроля ($p \leq 0,05$). Установлен повышенный уровень нейронспецифической энолазы и фактора роста эндотелия сосудов VEGF относительно контрольной группы ($p \leq 0,05$), что указывает на избыточную активность регуляторных медиаторов с вероятной картированностью в глии и сосудистой интима у детей группы наблюдения. Достоверно повышен уровень как общей (IgE общий), так и специфической сенсibilизации по критерию иммуноглобулина класса G к фенолу и по критерию иммуноглобулина класса E к никелю и бенз(а)пирену ($p < 0,05$). Достоверно измененные показатели программированной клеточной гибели с одновременной активацией процессов общей и специфической сенсibilизации формируют особенности иммунологического статуса детей, отличающиеся избыточным напряжением компартментов иммунной регуляции в условиях комбинированного влияния климатогеографических и экзогенных химических факторов риска.

Ключевые слова: иммунорегуляция, сенсibilизация, иммунограмма, детское население, химические факторы риска, Сибирь

Адрес для переписки:

Челакова Юлия Александровна
ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»
614045, Россия, г. Пермь, ул. Монастырская, 82.
Тел.: 8 (922) 380-03-38.
E-mail: ChelakovaYu@yandex.ru

Address for correspondence:

Chelakova Yulia A.
Federal Research Center for Medical and Preventive Health
Risk Management Technologies
614045, Russian Federation, Perm, Monastyrskaya str., 82.
Phone: 7 (922) 380-03-38.
E-mail: ChelakovaYu@yandex.ru

Образец цитирования:

Ю.А. Челакова «Особенности иммунной регуляции и специфической сенсibilизации у детского населения севера Сибири» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 3. С. 309-314.
doi: 10.46235/1028-7221-400-FOI
© Челакова Ю.А., 2020

For citation:

Yu.A. Chelakova "Features of immune regulation and specific sensitization in children of the Northern Siberia", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 3, pp. 309-314.
doi: 10.46235/1028-7221-400-FOI
DOI: 10.46235/1028-7221-400-FOI

FEATURES OF IMMUNE REGULATION AND SPECIFIC SENSITIZATION IN CHILDREN OF THE NORTHERN SIBERIA

Chelakova Yu.A.

Federal Research Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russian Federation

Abstract. This paper highlights the features of immune regulation and specific hypersensitivity in children residing in the Northern Siberia being exposed to the extreme climatic and exogenous chemical risk factors. An immunological diagnostic examination of 255 children permanently residing in the region of exogenous hapten exposure was conducted. The control group consisted of 130 children residing on the territory not being exposed to exogenous chemical factors. Level of serum class G, A, M immunoglobulins was assessed by using a Mancini radial immunodiffusion reaction. Amount of total serum IgE, neuron-specific enolase, and VEGF was measured by using the ELISA. Changes in level of IgG specific to phenol and copper as well as IgE specific to nickel and benz(a)pyrene were measured by using enzyme-linked allergosorbent test. Peripheral blood lymphocyte subsets were analyzed by using membrane-bound immunofluorescence with a panel of labeled specific monoclonal antibodies. High-quality statistical data analysis was performed by using Microsoft® Office Excel 2003 software as well as Statistica 6.0 application software package (StatSoft, USA). Statistical significance was determined by using Student's t-test. Relation between signs was estimated by using correlation and regression analysis as well as Fisher's test. Immunological study demonstrated that immunogram parameters were significantly changed in the observation group by containing increased percentage of CD16⁺ effector cells absolute and relative CD19⁺ cell count ($p \leq 0.05$), relative and absolute count of CD25⁺ lymphocytes ($p \leq 0.05$) as well as CD95⁺T cells as compared to the reference values and control group ($p \leq 0.05$). Moreover, level of neuron-specific enolase and VEGF (vascular endothelial growth factor) was increased compared to control group ($p \leq 0.05$). It points that regulatory mediators potentially mapped to the glia and vascular intima in children from the observation group were extremely activated. The level of both total (total IgE) and specific sensitization was significantly increased by assessing immunoglobulin G specific to phenol as well as immunoglobulin E specific to nickel and benz(a)pyrene ($p < 0.05$). Parameters of programmed cell death were significantly altered that was paralleled with simultaneous activation of general and specific sensitization highlighting features of the immunological status in children examined distinguished by excessive stress of immune regulatory arms in case of combined exposure to climate-geographic as well as exogenous chemical risk factors.

Keywords: immunoregulation, sensitization, immunogram, children, chemical risk factors, Siberia

Введение

Север Сибири — один из наиболее экономически развитых регионов страны. Гидроэнергетика, электроэнергетика на твердом топливе, добыча полезных ископаемых и цветная металлургия занимают лидирующие позиции в структуре промышленного производства [4]. Проблема комбинированного влияния экстремальных климатогеографических и экзогенных химических факторов риска на здоровье детского населения приводит к формированию патологических тенденций [1]. В связи с этим проявляются нарушения механизмов иммунной реактивности посредством токсического действия на иммунокомпетентные клетки, а также возникает развитие сенсibilизирующих эффектов и аллергических заболеваний [2, 5]. Система иммунной регуляции играет решающую роль в процессе адаптации к измененным условиям среды обитания [3]. Изучение особенностей иммунной реактивности у населения в условиях со-

четания экстремальных природных гаптенных и экзогенных факторов и выявление маркеров иммунных параметров для оценки состояния здоровья необходимо для мониторинга и профилактики развития иммуноопосредованных патологий [6].

Целью работы является оценка особенностей показателей иммунной регуляции и специфической гиперчувствительности у детского населения севера Сибири, проживающего в условиях комбинированного воздействия экстремальных климатогеографических и экзогенных химических факторов риска.

Материалы и методы

В ходе углубленного изучения состояния здоровья детского населения проведено иммунологическое диагностическое обследование 255 детей в возрасте 7-13 лет, постоянно проживающих в зоне влияния экстремальных климатических и экзогенных химических факторов риска. Контрольную группу составили 130 детей в

возрасте от 7 до 13 лет, проживающих вне влияния экзогенных химических факторов.

Определение иммуноглобулинов классов G, A и M в сыворотке крови проводили с помощью радиальной иммунодиффузной реакции по Манчини («Микроген», Россия). Метод основан на специфическом связывании антитела с антигеном.

Определение содержания общего иммуноглобулина E (IgE) проводили с помощью иммуноферментного анализа (ИФА).

Изменение содержания специфического иммуноглобулина класса G (IgG) к фенолу и меди, и специфического иммуноглобулина класса E (IgE) к никелю и бенз(а)пирену определяли в аллергосорбентном тесте с ферментной меткой. Идентифицировали специфические реагенты с использованием конъюгированных с пероксидазой антител.

Для определения популяций и субпопуляций лимфоцитов: CD25⁺, CD95⁺, CD16⁺ и CD19⁺ использовали метод проточной цитометрии. Сбор данных проводили на проточном цитометре FACSCalibur (Becton Dickinson).

Анализ на содержание онкомаркера-нейрон-специфическая энолаза, а также фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) определяли согласно протоколу производителя (АО «Вектор-Бест») методом иммуноферментного анализа (ИФА).

Материал был обработан с помощью программы Microsoft Office Excel 2003 и пакета программ Statistica 6.0 для высококачественного статистического анализа данных (StatSoft, США). Данные обрабатывались по методу вариационной статистики с вычислением среднего арифметического, его стандартной ошибки. Значимость различий определяли по критерию Стьюдента, оценку зависимости между признаками — с использованием корреляционного и регрессионного анализа, критерия Фишера. Качественные данные представлены в виде абсолютных или относительных (%) частот, количественные признаки представлены как $M \pm m$ (среднее арифметическое $\pm$ ошибка среднего). Значимость различий между группами считалась достоверной при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

По результатам иммунологических исследований в группе наблюдения установлены достоверные разнонаправленные изменения содержания сывороточных иммуноглобулинов классов A, M и G с преимущественным дефицитом иммуноглобулина класса A (IgA) по отношению к группе контроля в 1,3 раза ($p \leq 0,05$). При этом у 49,7% детей группы наблю-

дения наблюдается повышенное содержание IgM относительно группы контроля ($p \leq 0,05$).

Отмечаются достоверные изменения в показателях CD-иммунограммы: абсолютного и относительного содержания рецепторных маркеров различных фенотипов лимфоцитов. Группа наблюдения имела повышенный относительно контрольной группы уровень CD16⁺ клеток-эффекторов, абсолютных (выше в 2,5 раза) и относительных (выше в 1,5 раза) лимфоцитов, ответственных за противоопухолевый иммунитет; повышенный уровень CD19⁺ абсолютных (выше в 2 раза) и относительных (выше в 2 раза) лимфоцитов ($p \leq 0,05$).

Наблюдается повышенная экспрессия относительно контрольной группы CD25⁺ абсолютных (выше в 2,4 раза) и относительных (выше в 2,3 раза) лимфоцитов, отвечающих за эффективность клеточного ответа ($p \leq 0,05$).

Группа наблюдения характеризуется повышением уровня рецептора клеточной смерти относительных значений CD95⁺T-лимфоцитов, выходящих за пределы верхней границы референтного уровня у 69,2% детей ($p \leq 0,05$), при этом в группе наблюдения также имеется выраженный рост относительных (выше в 2,4 раза) и абсолютных (выше в 2,6 раз) лимфоцитов относительно контрольной группы ($p \leq 0,05$).

Уровень экспрессии неронспецифической энолазы в группе наблюдения оказался выше данного показателя в контрольной группе (в 1,16 раза) ($p \leq 0,05$), при этом значения показателя находились в пределах нормы.

Зафиксирован повышенный в 1,4 раза относительно контрольной группы уровень фактора роста эндотелия сосудов VEGF ($p \leq 0,05$), что указывает на формирование сосудистых нарушений у детей группы наблюдения (табл. 1).

Отмечается более высокий уровень общей сенсибилизации (IgE общий) в группе наблюдения по отношению к группе контроля в 1,5 раза ($p \leq 0,05$). При этом уровень IgE общего превышает показатель нормы у 54,7% детей группы наблюдения и у 33,1% детей контрольной группы ($p \leq 0,05$).

Достоверно повышен по отношению к норме уровень специфической сенсибилизации по критерию иммуноглобулина класса G к фенолу (у 66,4 % детей) и меди (у 67,1% детей) ($p < 0,05$). Достоверно повышен по отношению к контролю уровень специфической сенсибилизации по критерию иммуноглобулина класса E к никелю (выше в 1,6 раза), бенз(а)пирену (выше в 2,4 раза) и уровень специфической сенсибилизации по критерию иммуноглобулина класса G к

ТАБЛИЦА 1. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ДЕТСКОГО НАСЕЛЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ВЛИЯНИЯ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ РИСКА, М±m

TABLE 1. IMMUNOLOGICAL INDICATORS OF THE CHILD POPULATION UNDER THE INFLUENCE OF CHEMICAL RISK FACTORS, M±m

Показатель Indicator	Референтный уровень Reference level	Группа наблюдения Observation group (n = 255)	Контрольная группа Control group (n = 130)
IgM, г/дм³ IgM, g/dm ³	1,26-2,20	1,406±0,055**	1,268±0,102
IgA, г/дм³ IgA, g/dm ³	1,17-2,20	1,437±0,084**	1,872±0,177
CD16⁺CD56⁺ лимфоциты, отн., % CD16 ⁺ CD56 ⁺ lymphocytes, relative, %	5-27	23,500±2,914**	15,308±3,475
CD16⁺CD56⁺ лимфоциты, абс., 10⁹/дм³ CD16 ⁺ CD56 ⁺ lymphocytes, absolute, 10 ⁹ /dm ³	0,09-0,59	0,567±0,484**	0,395±0,111
CD3⁺CD19⁺ лимфоциты, отн., % CD3 ⁺ CD19 ⁺ lymphocytes, relative, %	6-25	14,308±3,015**	7,00±2,25
CD3⁺CD19⁺ лимфоциты, абс., 10⁹/дм³ CD3 ⁺ CD19 ⁺ lymphocytes, absolute, 10 ⁹ /dm ³	0,09-0,66	0,356±0,052**	0,174±0,072
CD3⁺CD25⁺ лимфоциты, отн., % CD3 ⁺ CD25 ⁺ lymphocytes, relative, %	5-12	6,846±1,278**	3,000±3,437
CD3⁺CD25⁺ лимфоциты, абс., 10⁹/дм³ CD3 ⁺ CD25 ⁺ lymphocytes, absolute, 10 ⁹ /dm ³	0,1-0,3	0,177±0,039**	0,074±0,087
CD3⁺CD95⁺ лимфоциты, отн., % CD3 ⁺ CD95 ⁺ lymphocytes, relative, %	15-25	31,692±5,398* **	13,250±8,848
CD3⁺CD95⁺ лимфоциты, абс., 10⁹/дм³ CD3 ⁺ CD95 ⁺ lymphocytes, absolute, 10 ⁹ /dm ³	0,4-0,7	0,840±0,205**	0,322±0,211
Нейронспецифическая энлаза, мкг/дм³ Neuron-specific enolase, mkg/dm ³	0-13	7,837±2,372**	6,762±0,400
VEGF, пг/мл VEGF, pg/ml	10-700	395,042±37,213**	273,423±57,336

Примечание. * – разница достоверна относительно референтного уровня ($p \leq 0,05$); ** – разница достоверна относительно контрольной группы ($p \leq 0,05$).

Note. *, the difference is significant relative to the reference level ($p \leq 0.05$); **, the difference is significant relative to the control group ($p \leq 0.05$).

ТАБЛИЦА 2. ОСОБЕННОСТИ ОБЩЕЙ И СПЕЦИФИЧЕСКОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ У ДЕТСКОГО НАСЕЛЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ВЛИЯНИЯ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ РИСКА, $M \pm m$

TABLE 2. FEATURES OF TOTAL AND SPECIFIC SENSITIZATION IN CHILDREN UNDER THE INFLUENCE OF CHEMICAL RISK FACTORS, $M \pm m$

Показатель Indicator	Референтный уровень Reference level	Группа наблюдения Observation group (n = 255)	Контрольная группа Control group (n = 130)
IgE общий, МЕ/см³ IgE total, ME/cm ³	0,0-99,9	239,3760±91,9558* **	164,443±49,485
IgG спец. к фенолу, у. е. IgG specific to phenol, с. u.	0,00-0,13	0,219±0,027* **	0,078±0,010
IgG спец. к меди, у. е. IgG specific to copper, с. u.	0,0-0,1	0,183±0,025* **	0,088±0,014
IgE спец. к никелю, МЕ/см³ IgE special to nickel, ME/cm ³	0,00-1,55	0,100±0,012**	0,064±0,014
IgE спец. к бенз(а)пирену, у. е. IgE special to benzo(a)pyrene, с. u.	0,0-0,3	0,198±0,029**	0,081±0,008

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

фенолу (выше в 2,8 раза) и меди (выше в 2,1 раза) ($p < 0,05$) (табл. 2).

Заключение

Таким образом, у детей Севера Сибири, проживающих в зоне влияния комбинации экстремальных природных и экзогенных гаптенных факторов риска, выявлена достоверная по отношению к группе контроля избыточная активация клеточного звена иммунитета, выражающаяся в повышении уровня CD16⁺ клеток-эффекторов, CD19⁺ лимфоцитов, CD25⁺ и рецептора клеточной смерти CD95⁺. Отмечается дефицит иммуноглобулинов класса

A на фоне повышенной общей и специфической к экзогенным гаптенам сенсibilизации организма. Достоверно повышенный уровень нейронспецифической энолазы и фактора роста эндотелия сосудов VEGF указывают на избыточную активность регуляторных медиаторов с последующим вероятным формированием нейроэндокринных и сердечно-сосудистых нарушений у детей. Особенности иммунологического статуса детского населения севера Сибири отличаются избыточным напряжением компартментов иммунной регуляции в условиях комбинированного влияния климатогеографических и экзогенных химических факторов риска.

Список литературы / References

1. Белоусова Н.А., Шибков А.А., Байгузин П.А. Анализ состояния здоровья детей и подростков, проживающих в условиях промышленного мегаполиса // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности, 2013. № 2. С. 38-43. [Belousova N.A., Shibkov A.A., Bayguzhin P.A. A medical examination of children and adolescents living in industrial cities. *Vestnik Rossiyskogo universiteta druzhby narodov. Seriya: Ekologiya i bezopasnost zhiznedeyatel'nosti* = *Bulletin of the Peoples' Friendship University of Russia. Series: Ecology and Life Safety*, 2013, no. 2, pp. 38-43. (In Russ.)]
2. Зайцева Н.В., Ланин Д.В., Черешнев В.А. Иммунная и нейроэндокринная регуляция в условиях воздействия химических факторов различного генеза. Пермь: Изд-во Перм. нац. исслед. политехн. ун-та, 2016. 236 с. [Zaitseva N.V., Lanin D.V., Chereshev V.A. The immune and neuroendocrine regulation in the conditions of influence of chemical factors of various origins]. Perm: Perm National Research Polytechnic University Press, 2016. 236 p.

3. Ланин Д.В., Зайцева Н.В., Землянова М.А., Долгих О.В., Дианова Д.Г. Характеристика регуляторных систем у детей при воздействии химических факторов среды обитания // Гигиена и санитария, 2014. № 93 (2). С. 23-26. [Lanin D.V., Zaitseva N.V., Zemlyanova M.A., Dolgih O.V., Dianova D.G. Characteristics of regulatory system in children exposed to the environmental chemical factors. *Gigiena i sanitariya = Hygiene and Sanitation*, 2014, no. 93 (2), pp. 23-26. (In Russ.)]
4. Современный Красноярский край [Электронный ресурс] // Красноярский край. Официальный портал. Режим доступа: <http://www.krskstate.ru/> (дата обращения: 24.05.2020). [Modern Krasnoyarsk territory [Electronic resource]. Krasnoyarsk region. Official portal. Access mode: <http://www.krskstate.ru/> (date of the application: 24.05.2020)].
5. Старкова К.Г., Аликина И.Н., Гусельников М.А., Никоношина Н.А., Кривцов А.В., Перминова И.В. и др. Изменение иммунных регуляторных показателей у детского населения в условиях промышленного загрязнения металлами // Российский иммунологический журнал, 2017. № 11 (3). С. 512-514. [Starkova K.G., Alikina I.N., Guselnikov M.A., Nikonoshina N.A., Krivtsov A.V., Perminova I.V. et al. Changes of immune regulatory markers in children's population under conditions of industrial pollution by metals. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2017, no. 11 (3), pp. 512-514. (In Russ.)]
6. MacGillivray D.M., Kollmann T.R. The role of environmental factors in modulating immune responses in early life. *Front. Immunol.*, 2014, no. 5, pp. 1-12.

Автор:

Челакова Ю.А. — младший научный сотрудник
лаборатории иммунологии и аллергологии
ФБУН «Федеральный научный центр медико-
профилактических технологий управления рисками
здоровью населения», г. Пермь, Россия

Author:

Chelakova Yu.A., Junior Research Associate, Laboratory
of Immunology and Allergology, Federal Research Center
for Medical and Preventive Health Risk Management
Technologies, Perm, Russian Federation

Поступила 07.07.2020

Принята к печати 01.08.2020

Received 07.07.2020

Accepted 01.08.2020

РОЛЬ АНТИСПЕРМАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ В ФОРМИРОВАНИИ ИНФЕРТИЛЬНОСТИ ПРИ ВАРИКОЦЕЛЕ И БЕСПЛОДИИ

Черешнев В.А.¹, Пичугова С.В.^{1,2}, Рыбина И.В.^{1,2}, Бейкин Я.Б.^{1,2}

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

² МАУ «Клинико-диагностический центр», г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Влияние антиспермальных антител (АСАТ) на репродуктивную функцию может быть реализовано несколькими путями. На современном этапе, несмотря на большое количество проводимых исследований, нет однозначного мнения о распространенности иммунологической формы бесплодия у инфертильных мужчин и у подростков с варикоцеле, имеющих высокую степень риска развития бесплодия в будущем. Поэтому в качестве одного из прогностических критериев бесплодия важно не только определение уровня (АСАТ) в сыворотке крови и эякуляте, но и оценка их уровня в динамике зависимости от степени варикоцеле, после оперативной коррекции. Цель исследования — определить роль АСАТ в формировании инфертильности у бесплодных мужчин активного репродуктивного возраста и у подростков с варикоцеле, оценить динамику уровня АСАТ в сыворотке крови в различных возрастных группах подростков, в зависимости от степени варикоцеле, после оперативной коррекции. Подросткам с левосторонним варикоцеле и без варикоцеле проводилось ежегодное определение уровня АСАТ в сыворотке крови за период от 14 до 17 лет, определение титра АСАТ в семенной жидкости в возрасте 17 лет. Сравнивали показатели уровня АСАТ в сыворотке крови в динамике между основной группой и группой сравнения, между группами по степеням варикоцеле, между группами до и после оперативной коррекции варикоцеле. Обследовано 100 бесплодных и 30 фертильных мужчин, которым было проведено однократное определение уровня АСАТ в сыворотке крови и эякуляте. Аутоиммунные реакции против сперматозоидов не являются ведущей причиной мужской инфертильности, поскольку ни в одной из обследованных групп с репродуктивной патологией не установлено повышение уровня АСАТ в сыворотке крови выше допустимой нормы. Наличие АСАТ в сыворотке крови в пределах референтного интервала свидетельствует о том, что гематотестикулярный барьер не является абсолютно непроницаемым, способствуя тем самым формированию иммунологической толерантности гамет. Степень варикоцеле и оперативная коррекция не провоцируют развитие аутоиммунных реакций к сперматозоидам. Одинаковые уровни АСАТ в сыворотке крови у бесплодных пациентов и пациентов с варикоцеле без тенденции к снижению у последних, наличие АСАТ в семенной жидкости требует дальнейшего наблюдения за такими пациентами для своевременной диагностики формирования иммунологической формы бесплодия.

Ключевые слова: подростки, варикоцеле, мужское бесплодие, антиспермальные антитела, сперматозоиды

Адрес для переписки:

Пичугова Светлана Владимировна
МАУ «Клинико-диагностический центр»
620144, Россия, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 78в.
Тел.: 8 (905) 802-15-39.
E-mail: ekb-lem@mail.ru

Address for correspondence:

Pichugova Svetlana V.
Clinical Diagnostic Center
620144, Russian Federation, Yekaterinburg, 8 March str., 78v.
Phone: 7 (905) 802-15-39.
E-mail: ekb-lem@mail.ru

Образец цитирования:

В.А. Черешнев, С.В. Пичугова, И.В. Рыбина, Я.Б. Бейкин «Роль антиспермальных антител в формировании инфертильности при варикоцеле и бесплодии» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 3. С. 315–322.
doi: 10.46235/1028-7221-338-ROA
© Черешнев В.А. и соавт., 2020

For citation:

V.A. Chereshev, S.V. Pichugova, I.V. Rybina, Ya.B. Beikin
“Role of antisperm antibodies in the formation of infertility in varicocele and infertility”, Russian Journal of Immunology/
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 3,
pp. 315–322.
doi: 10.46235/1028-7221-338-ROA
DOI: 10.46235/1028-7221-338-ROA

ROLE OF ANTISPERM ANTIBODIES IN THE FORMATION OF INFERTILITY IN VARICOCELE AND INFERTILITY

Chereshnev V.A.^a, Pichugova S.V.^{a, b}, Rybina I.V.^{a, b}, Beikin Ya.B.^{a, b}

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

^b Clinical Diagnostic Center, Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. An effect of ASA on reproductive function may be accomplished via several ways. At the present stage, despite the large number of available studies, there is no unequivocal understanding regarding prevalence of the immunological infertility in infertile males and adolescents with varicocele, who have a high risk of future infertility. Hence, it is necessary not only determining the serum and ejaculate level of antisperm antibodies (ASA) as one of prognostic infertility criteria, but also assessing their dynamic concentration depending on the degree of varicocele, after surgical correction. Objective of the study – to evaluate a role of ASA in developing infertility in infertile males of active reproductive age as well as adolescents with varicocele, to assess dynamics in serum ASA level in various age groups of adolescents, depending on the degree of varicocele, after surgical correction. For adolescents with left-sided varicocele and without varicocele, serum ASA level was measured annually at within age of subjects from 14 to 17 years, whereas ASA titer in seminal fluid was estimated at the age of 17 years. Dynamic levels of serum ACA were measured in the main vs. comparison group, between the groups based on degree of varicocele, between the groups before and after surgical correction of varicocele. 100 infertile and 30 fertile males were examined underwent a single measurement of serum and ejaculate ASA level. Anti-sperm autoimmune reactions are not the lead cause of male infertility, as none of the examined groups with reproductive pathology were highlighted by increased level of serum ASA found to be higher than the permissible normal limit. Detection of ASA in blood serum within the reference interval indicates that the hematotesticular barrier is not completely impenetrable, thereby contributing to developing immunological gamete tolerance. The degree of varicocele and surgical correction do not provoke development of autoimmune reactions against spermatozoa. Similar serum ASA levels in infertile patients and patients with varicocele without a tendency to decrease in the latter; the presence of ASA in seminal fluid requires further monitoring of such patients for timely diagnostics of developing immunological form of infertility.

Keywords: adolescents, varicocele, male infertility, anti-sperm antibodies, sperm

Работа выполнена в рамках госзадания ИИФ УрО РАН (тема № AAAA-A18-118020590108-7).

Введение

Демографические показатели многих стран мира отражают актуальность проблемы бесплодия и свидетельствуют об увеличении числа мужчин с нарушением фертильности, которая встречается у 30-50% бесплодных пар [5, 10]. Иммунная система играет немаловажную роль в репродукции человека, и любые изменения в этой сфере могут нарушить нормальный репродуктивный процесс, привести к бесплодию [1, 2, 5]. Аутоиммунные реакции против сперматозоидов с образованием антиспермальных антител (АСАТ), которые обнаруживаются в сыворотке крови или жидкостях репродуктивного тракта, выступают одним из иммунологических факторов бесплодия у мужчин [16, 17, 19, 24]. При иммунологическом варианте бесплодия степень нарушения фертильности будет определяться классом АСАТ, их количеством в секретах, плотностью покрытия ими

поверхности сперматозоидов и местом локализации на них, а влияние АСАТ на репродуктивную функцию может быть реализовано несколькими путями: нарушение сперматогенеза, снижение подвижности сперматозоидов в результате агглютинации, ухудшение проникновения через цервикальную слизь, нарушение акросомальной реакции и препятствие оплодотворению, отсутствие процесса имплантации эмбриона [5, 11, 13, 16, 17, 18, 25]. На сегодняшний день самой распространенной андрологической патологией является варикоцеле и в структуре мужского бесплодия его доля составляет 30-40% [3, 7, 11, 12, 16, 17, 25,]. Варикоцеле – это варикозное расширение вен семенного канатика, которое наиболее часто диагностируется в детском и подростковом возрасте и, являясь агрессивной формой орхопатии, имеет высокую степень риска нарушения сперматогенеза с последующим исходом в инфертильность [4, 8, 9, 21]. Существует несколько теорий, объясняющих возможность развития бесплодия при варикоцеле, таких как наличие

ретроградного кровотока венозной крови от почечной вены к яичку и ишемическое поражение его паренхимы, венозная гипертензия, повышение температуры в яичке, рефлюкс биологически активных веществ (катехоламинов) из почек и надпочечников в гонады, развитие оксидантного стресса, гипоандрогения [6, 12, 16, 17]. При варикоцеле одним из механизмов инфертильности рассматривается развитие иммунологической формы бесплодия, которая связана с нарушением целостности гематотестикулярного барьера и образованием АСАТ, определяемых в сыворотке крови и эякуляте у мужчин [10, 22, 23]. Повышенный уровень АСАТ часто выявляется у пациентов с варикоцеле, по данным разных источников — в 25-40% случаев [12, 16, 17]. Не являясь непосредственной причиной аутоиммунных реакций против сперматозоидов, варикоцеле выступает в качестве кофактора, существенно повышающего риск развития иммунологической формы бесплодия [16, 17]. Повреждение гематотестикулярного барьера при варикоцеле обусловлено гипертермией, ишемией тестикулярной ткани, приводящих к изменениям обменных процессов в яичке, нарушению транспорта воды, лактата и других веществ в клетках Сертоли [13, 14, 17]. Снижение экспрессии Е-кадгерина и альфа-катенина в местах соединения клеток Сертоли, зафиксированного при варикоцеле, может привести к повышению проницаемости гематотестикулярного барьера и выработке АСАТ [13].

Можно предположить, что при более тяжелой степени варикоцеле будут наблюдаться более значимые патологические изменения тестикулярной ткани и, следовательно, вероятность развития иммунологической формы бесплодия увеличится.

Вопрос о влиянии хирургической коррекции варикоцеле на уровень АСАТ остается открытым. Ряд авторов считают, что улучшение гемодинамики яичка в результате операции должно привести к уменьшению уровня АСАТ [12, 20]. Другие авторы придерживаются мнения, что операция на репродуктивных органах либо никак не влияет на уровень АСАТ, либо сама может спровоцировать развитие аутоиммунных реакций против сперматозоидов [4, 11, 15, 21, 24].

У бесплодных мужчин активного репродуктивного возраста наиболее распространенной причиной образования АСАТ рассматриваются инфекционные и воспалительные процессы репродуктивного тракта [3, 6, 7, 9, 11, 16, 17, 24, 25].

На современном этапе, несмотря на большое количество проводимых исследований, нет однозначного мнения о распространенности иммунологической формы бесплодия у инфертильных мужчин и у подростков с варикоцеле, имеющих

высокую степень риска развития бесплодия в будущем. Поэтому у подростков с варикоцеле в качестве одного из прогностических критериев возможного бесплодия важно не только определение уровня АСАТ в сыворотке крови, но и определение их уровня в динамике зависимости от степени варикоцеле, после оперативной коррекции.

Цель исследования — определить роль АСАТ в формировании инфертильности у бесплодных мужчин активного репродуктивного возраста и у подростков с варикоцеле, оценить динамику уровня АСАТ в сыворотке крови в различных возрастных группах подростков, в зависимости от степени варикоцеле, после оперативной коррекции.

Материалы и методы

Обследовано 92 подростка с левосторонним варикоцеле, которым ежегодно проводилось определение уровня АСАТ в сыворотке крови за период от 14 лет до достижения ими 17 лет. В возрасте 17 было проведено определение уровня АСАТ в эякуляте. Пациенты были разделены на две группы по 46 человек с II и III степенью варикоцеле. Определение уровня АСАТ до оперативного вмешательства с последующей варикоцелэктомией и динамическим наблюдением было выполнено 43 пациентам. У 49 подростков хирургическое вмешательство по коррекции варикоцеле было проведено в анамнезе за 1-2 года на момент начала обследования.

Группу сравнения в количестве 20 человек составили подростки, у которых было подтверждено отсутствие варикоцеле и других заболеваний репродуктивных органов. Обследование было проведено по аналогичной схеме.

Обследовано 100 мужчин с диагностированным бесплодием. Средний возраст пациентов этой группы составил 33,5 года (возрастной диапазон от 22 до 48 лет). Группу сравнения составили 30 фертильных мужчин. Средний возраст в этой группе составил 31, 9 года (возрастной диапазон от 25 до 42 лет). Обследуемым было однократно проведено определение уровня АСАТ в сыворотке крови и эякуляте.

Все пациенты и их законные представители дали информированное согласие на участие в исследовании.

Определение АСАТ в сыворотке крови проводилось методом количественного ИФА на диагностических наборах фирмы Bioserv. В исследовании определялась концентрация антител в МЕ/мл, положительным считался результат с концентрацией более 60 МЕ/мл. Оценка результатов исследования выполнена на фотометре "Multiscan Plus" фирмы Labsystems.

Антитела в семенной жидкости определялись с помощью метода латексной агглютинации. Данное исследование выполнялось на диагностических наборах фирмы Bioserv. В исследовании семенная плазма, полученная путем центрифугирования эякулята, разведенная буфером для разведения образцов смешивалась с суспензией латексных частиц. В случае наличия специфических антител в образце семенной плазмы, направленных против спермальных антигенов, латексные частицы, сорбированные антигеном, агглютинировали в течение 1-2 минут. Положительным считался тест на присутствие АСАТ, если агглютинация присутствовала при разведении образца начиная с 1:100. Проводилась визуальная оценка теста.

Статистический анализ результатов исследований проведен с использованием компьютерной программы Microsoft Excel XP с предварительной оценкой нормальности распределения. Вычислялись: среднее арифметическое значение (M), среднеквадратичное отклонение, средняя квадратичная ошибка среднего значения (m). При оценке достоверности различий (p) между признаками с нормальным распределением применялся коэффициент Стьюдента (t). Для установления корреляционных взаимосвязей ряда показателей использовался линейный коэффициент корреляции Пирсона (r). Различия результатов считали статистически достоверными при

уровне значимости $p < 0,05$. Анализ качественных признаков проводили с помощью критерия χ^2 .

Результаты

У пациентов основной группы и группы сравнения при сопоставлении показателей уровня АСАТ в динамике по возрастам были получены следующие данные, представленные в таблице 1.

Установлено, что у пациентов группы сравнения в возрасте 15 лет уровень АСАТ достоверно выше, чем у пациентов 15 лет при варикоцеле. Сравнивая динамику уровня АСАТ внутри каждой группы, было выявлено, что в основной группе статистически значимо уровень АСАТ увеличивается у подростков в 15 и 16 лет, а в группе сравнения такое увеличение зафиксировано только в 15 лет.

Проведенное исследование не выявило достоверно значимых различий в уровнях АСАТ в одинаковых возрастных группах при варикоцеле II и III степени и подростков группы сравнения, а также в динамическом наблюдении между разными возрастными категориями.

Группе подростков (43 человека) первичное определение уровня АСАТ в сыворотке крови было проведено до оперативной коррекции варикоцеле, поэтому оперативное вмешательство рассматривалось в качестве возможного пускового механизма возникновения аутоиммунных реакций, обусловленных повреждением гема-

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ УРОВНЯ АСАТ У ПАЦИЕНТОВ ОСНОВНОЙ ГРУППЫ И ГРУППЫ СРАВНЕНИЯ ЗА ПЕРИОД 14-17 ЛЕТ

TABLE 1. LEVELS OF ASA IN PATIENTS OF THE MAIN GROUP AND THE COMPARISON GROUP FOR THE PERIOD OF 14-17 YEARS

Возраст Age	Основная группа (варикоцеле) Main group (varicocele) n = 92	Группа сравнения (без варикоцеле) Comparison group (without varicocele) n = 20
Уровень АСАТ в сыворотке крови (Ед/мл) Serum ASA level (U/ml)		
14 лет 14 years old	10,76±6,57 ²	13,82±12,11 ⁴
15 лет 15 years old	23,96±11,34 ^{1, 2, 3}	28,74±9,77 ^{1, 4}
16 лет 16 years old	27,63±10,73 ³	29,09±8,64
17 лет 17 years old	29,25±11,59	26,77±8,90

Примечание. Достоверно значимые различия в уровне АСАТ ($p \leq 0,05$): ¹ – между пациентами в возрасте 15 лет в основной группе и в группе сравнения; ² – между пациентами в возрасте 14 и 15 лет в основной группе; ³ – между пациентами в возрасте 15 и 16 лет в основной группе; ⁴ – между пациентами в возрасте 14 и 15 лет в группе сравнения.

Note. Significant differences in the level of ASAT ($p \leq 0.05$): ¹, between patients aged 15 years in the main group and in the comparison group; ², between patients aged 14 and 15 years in the main group; ³, between patients aged 15 and 16 years in the main group; ⁴, between patients aged 14 and 15 years in the comparison group.

ТАБЛИЦА 2. УРОВНИ АСАТ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С БЕСПЛОДИЕМ, ВАРИКОЦЕЛЕ, ФЕРТИЛЬНЫХ МУЖЧИН И ПОДРОСТКОВ БЕЗ ВАРИКОЦЕЛЕ

TABLE 2. SERUM ASA LEVELS IN PATIENTS WITH INFERTILITY, VARICOCELE, FERTILE MEN AND ADOLESCENTS WITHOUT VARICOCELE

Показатель Index	Сравниваемые группы Compare groups			
	Мужчины с бесплодием Men with infertility n = 100	Подростки с варикоцеле 17 лет Adolescents with varicocele 17 years old n = 92	Фертильные мужчины Fertile men n = 30	Подростки без варикоцеле 17 лет Adolescents without varicocele 17 years old n = 20
Уровень АСАТ в сыворотке крови (Ед/мл) Serum ASA level (U/ml)	29,49±8,96 ¹	29,25±11,59 ²	26,34±5,19 ^{1,2}	26,77±8,90

Примечание. ¹ – достоверно значимые различия в уровне АСАТ между пациентами с диагностированным бесплодием и фертильными мужчинами ($p \leq 0,05$); ² – достоверно значимые различия в уровне АСАТ между пациентами с варикоцеле в возрасте 17 лет и фертильными мужчинами ($p \leq 0,05$).

Note. ¹, significant differences in the level of ASAT between patients with diagnosed infertility and fertile men ($p \leq 0.05$); ², significant differences in the level of ASA between patients with varicocele at the age of 17 years and fertile men ($p \leq 0.05$).

тотестикулярного барьера. У остальных 49 подростков операция была выполнена за 1-2 года до начала исследования, с последующей оценкой динамики уровня АСАТ. Условно пациенты были разделены на две группы: «до операции» и «после операции». Не зафиксировано достоверно значимых различий в показателях уровня АСАТ не только в сравниваемых группах одного возраста, но и в динамике между группами разных возрастов.

На заключительном этапе исследования было проведено сравнение уровня АСАТ в сыворотке крови у пациентов с диагностированным бесплодием, пациентов с варикоцеле в возрасте 17 лет, фертильных мужчин и подростков без варикоцеле. Результаты представлены в таблице 2.

Наиболее высокий уровень АСАТ из сравниваемых групп зафиксирован у пациентов с диагностированным бесплодием, а самый низкий — у фертильных мужчин, причем разница оказалась достоверно значимой. Отмечено, что у пациентов с диагностированной патологией репродуктивной системы уровень АСАТ имеет примерно одинаковое значение. Такая же тенденция отмечена и в группе обследуемых без патологии. В данном сравнении также выявлен достоверно более высокий уровень АСАТ у подростков с варикоцеле по сравнению с фертильными мужчинами. При этом, несмотря на то, что уровень АСАТ у фертильных мужчин и подростков без варикоцеле почти одинаковый, не выявлено достоверной разницы между уровнем АСАТ у подростков с варикоцеле и без него.

Также было проведено сравнение наличия АСАТ в семенной жидкости у пациентов с бесплодием, фертильных мужчин, подростков с варикоцеле и без варикоцеле, достигшим возраста 17 лет. У пациентов с бесплодием и фертильных мужчин АСАТ в семенной жидкости не были обнаружены. У подростков с варикоцеле в 77 случаях (83,7%) АСАТ не были обнаружены, а в 9 случаях (9,8%) определялся титр 1:50, который соответствовал допустимому референтному интервалу. Превышение нормативных значений зафиксировано в 6 случаях (6,5%), из которых у пяти пациентов (5,4%) титр составил 1:100, а у одного обследуемого (1,1%) был определен титр 1:200.

В группе подростков без варикоцеле из 20 человек только у трех (11,1%) обследуемых был определен титр АСАТ 1:50. У остальных АСАТ в семенной жидкости не были выявлены.

Обсуждение

Проведенное исследование показало, что у всех обследованных пациентов присутствуют АСАТ в сыворотке крови, но не зафиксировано увеличения их уровня выше референтного интервала, предусмотренного методикой. Определена различная динамика показателя для подростков с варикоцеле и без варикоцеле. У подростков в возрасте 14 лет в обеих группах диагностирован наименьший уровень АСАТ, а затем у подростков без варикоцеле происходит нарастание показателя и наибольшие значения уровня АСАТ отмечены в

возрасте 15-16 лет с последующим его снижением в 17 лет. У пациентов с варикоцеле также происходит нарастание уровня АСАТ, который достигает максимальных величин в возрасте 17 лет, но тенденции к снижению не наблюдается.

Гематотестикулярный барьер, сформированный плотными контактами между клетками Сертоли, образуется, когда первые зародышевые клетки герминативного эпителия вступают в фазу мейоза, и у человека этот период приходится преимущественно на возраст 15 лет [8]. Существует мнение, что проникновение небольшого количества спермальных антигенов через гематотестикулярный барьер имеет физиологическое значение, поскольку оно индуцирует иммунологическую толерантность к антигенам гамет. Возможно, в 14 лет у подростков определяется уровень АСАТ, обеспеченный еще не сформированным гематотестикулярным барьером. Выраженное увеличение уровня АСАТ, определяемое у подростков обеих групп в 15 лет, происходит в результате взаимодействия клеток крови с начинающими претерпевать изменения клетками герминативного эпителия на фоне еще не образовавшихся плотных контактов между клетками Сертоли. У пациентов без варикоцеле нет изменений ткани яичка, происходит физиологичное формирование гематотестикулярного барьера, что приводит к изоляции герминативного эпителия и последующей элиминации АСАТ из сыворотки крови. При варикоцеле вероятно, отмечается более позднее вступление гамет в фазу мейоза, а процесс формирования гематотестикулярного барьера несколько замедлен, о чем может свидетельствовать продолжающееся увеличение уровня АСАТ и отсутствие тенденции к снижению в 17 лет. Поэтому, несмотря на то, что в подростковом возрасте уровень АСАТ в сыворотке крови при варикоцеле был в пределах нормы, необходимо дальнейшее наблюдение за такими подростками, чтобы не упустить развития иммунологической формы бесплодия.

У пациентов с II и III степенью варикоцеле в сыворотке крови не выявило достоверно значимых различий в уровне АСАТ. Это, вероятно, связано с тем, что степень варикоцеле отражает клинические проявления заболевания, а не тяжесть повреждения тестикулярной ткани.

Исследование показало, что не происходит увеличения показателей АСАТ выше допустимого значения не только после оперативного вмешательства, но в отдаленном послеоперационном периоде. Можно предположить, что оперативная коррекция варикоцеле не привела к иницированию аутоиммунных реакций.

У мужчин с бесплодием выявлен самый высокий уровень АСАТ и он достоверно выше, чем

у фертильных мужчин. Примерно на таком же уровне находится уровень АСАТ у подростков с варикоцеле. Считается, что у инфертильных мужчин активного репродуктивного возраста основной причиной формирования аутоиммунных реакций к сперматозоидам являются воспалительные процессы урогенитального тракта, приводящие к развитию окислительного стресса и, как следствие, повреждению гематотестикулярного барьера [4, 16, 17, 24].

Сопоставление уровней АСАТ во всех исследуемых группах выявило одинаковые показатели у пациентов с патологией репродуктивного тракта, в то время как у фертильных мужчин и подростков без варикоцеле уровень АСАТ также приблизительно одинаковый и статистически более низкий. Очевидно, что патологические изменения в репродуктивном тракте сопровождаются повышением проницаемости гематотестикулярного барьера.

Следует отметить, что у 17-летних подростков с варикоцеле уровень АСАТ в сыворотке крови уже соответствует таковому у бесплодных мужчин. Кроме того, наличие повышенного титра АСАТ в семенной жидкости зафиксировано только у пациентов с варикоцеле. Поскольку варикоцеле выступает кофактором аутоиммунных реакций против сперматозоидов и на фоне данной патологии не исключается прогрессирование иммунологической формы бесплодия, необходимо дальнейшее наблюдение за такими пациентами.

Выводы

1. Аутоиммунные реакции против сперматозоидов не являются ведущей причиной мужской инфертильности, поскольку ни в одной из обследованных групп с репродуктивной патологией не установлено повышения уровня АСАТ в сыворотке крови выше допустимой нормы.

2. Наличие АСАТ в сыворотке крови в пределах референтного интервала свидетельствует о том, что гематотестикулярный барьер не является абсолютно непроницаемым, способствуя тем самым иммунологической толерантности гамет.

3. Степень варикоцеле не влияет на уровень АСАТ в сыворотке крови.

4. Оперативная коррекция варикоцеле не провоцирует развитие аутоиммунных реакций к сперматозоидам.

5. Одинаковые уровни АСАТ в сыворотке крови у бесплодных пациентов и подростков с варикоцеле без тенденции к снижению у последних, наличие АСАТ в семенной жидкости требует дальнейшего наблюдения за такими пациентами для своевременной диагностики формирования иммунологической формы бесплодия.

Список литературы / References

1. Божедомов В.А., Рохликов И.М., Третьяков А.А., Липатова Н.А., Виноградов И.В. Андрологические аспекты бездетного брака // Медицинский совет, 2013. № 8. С. 13-17. [Bozhedomov V.A., Rokhlikov I.M., Tretyakov A.A., Lipatova N.A., Vinogradov I.V. Andrological aspects of childless marriage. *Meditinskiy sovet = Medical Council*, 2013, no. 8, pp. 13-17. (In Russ.)]
2. Епанчинцева Е.А. Успехи современного естествознания // Медицинские науки, 2015. № 4. С. 24-27. [Epanchintseva E.A. The successes of modern science. *Meditinskie nauki = Medical Sciences*, 2015, no. 4, pp. 24-27. (In Russ.)]
3. Закаидзе С.И. Оптимизация лечебно-диагностического комплекса ведения детей и подростков с варикоцеле // Медицинский вестник Северного Кавказа, 2012. № 2. С. 83-84. [Zakaidze S.I. Optimization of the treatment and diagnostic complex for managing children and adolescents with varicocele. *Meditinskiy vestnik Severnogo Kavkaza = Medical Bulletin of the North Caucasus*, 2012, no. 2, pp. 83-84. (In Russ.)]
4. Каневская Т.А., Яцык С.П., Безлепкина О.Б. Гормональный статус и маркеры аутоиммунного нарушения сперматогенеза у подростков, перенесших хирургическое лечение по поводу варикоцеле // Педиатрическая фармакология, 2010. № 4 (7). С. 92-94. [Kanevskaya T.A., Yatsyk S.P., Bezlepkin O.B. Hormonal status and markers of autoimmune spermatogenesis disorder in adolescents undergoing surgical treatment for varicocele. *Pediatricheskaya farmakologiya = Pediatric Pharmacology*, 2010, no. 4 (7), pp. 92-94. (In Russ.)]
5. Кириленко Е.А., Оношко В.Ф. Окислительный стресс и мужская фертильность: современный взгляд на проблему // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН, 2017. № 2 (2). С. 102-108. [Kirilenko E.A., Onopko V.F. Oxidative stress and male fertility: a modern view of the problem. *Byulleten VSNTS SO RAMN = Bulletin of the East Siberian Scientific Center, Ural Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2017, no. 2 (2), pp. 102-108. (In Russ.)]
6. Комарова С.Ю., Цап Н.А. Пути снижения риска репродуктивных потерь у детей с варикоцеле // Медицинская наука и образование Урала, 2017. № 1. С. 98-101. [Komarova S.Yu., Tsap N.A. Ways to reduce the risk of reproductive loss in children with varicocele. *Meditinskaya nauka i obrazovanie Urala = Medical Science and Education of the Urals*, 2017, no. 1, pp. 98-101. (In Russ.)]
7. Неймарк А.И., Попов И.С., Газаматов А.В. Особенности микроциркуляции предстательной железы и гонад у юношей, страдающих изолированным варикоцеле и варикоцеле в сочетании с тазовой конгестией // Экспериментальная и клиническая урология, 2013. № 2. С. 56-60. [Neymark A.I., Popov I.S., Gazamatov A.V. Features of microcirculation of the prostate and gonads in young men suffering from isolated varicocele and varicocele in combination with pelvic congestion. *Ekspperimentalnaya i klinicheskaya urologiya = Experimental and Clinical Urology*, 2013, no. 2, pp. 56-60. (In Russ.)]
8. Нишлаг Э., Бере Г.М. Андрология. Мужское здоровье и дисфункция репродуктивной системы / под ред. Э. Нишлага и Г.М. Бере. М.: Медицинское информационное агентство, 2005. 551 с. [Nishlag E., Bere G.M. Andrology. Men's health and reproductive system dysfunction. Ed. by E. Nishlag and G.M. Bere]. Moscow: Medical News Agency, 2005. 551 p.
9. Попов И.С., Неймарк А.И., Газаматов А.В. Роль предстательной железы в развитии патоспермии при варикоцеле у подростков // Сибирский медицинский журнал, 2012. № 1. С. 44-47. [Popov I.S., Neymark A.I., Gazamatov A.V. The role of the prostate gland in the development of pathospermia with varicocele in adolescents. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal = Siberian Medical Journal*, 2012, no. 1, pp. 44-47. (In Russ.)]
10. Шевырин А.А. Современный взгляд на лечение нарушений мужской фертильной функции // РМЖ, Медицинское обозрение, 2018. № 12. С. 30-36. [Shevyrin A.A. A modern view of the treatment of disorders of male fertile function. *RMZh. Meditsinskoe obozrenie = Russian Medical Journal. Medical Review*, 2018, no. 12, pp. 30-36. (In Russ.)]
11. Яцык С.П., Каневская Т.А., Абрамов К.С., Шарков С.М., Фомин Д.К. Репродуктивное здоровье детей и подростков, перенесших хирургическую коррекцию в связи с андрологической патологией // Педиатрическая фармакология, 2009. № 1 (6). С. 15-22. [Yatsyk S.P., Kanevskaya T.A., Abramov K.S., Sharkov S.M., Fomin D.K. Reproductive health of children and adolescents who underwent surgical correction in connection with andrological pathology. *Pediatricheskaya farmakologiya = Pediatric Pharmacology*, 2009, no. 1 (6), pp. 15-22. (In Russ.)]
12. Al-Adl A.M., El-Karamany T., Issa H., Zaazaa M. The influence of antisperm antibodies, intratesticular haemodynamics and the surgical approach to varicocelectomy on seminal variables. *Arab. J. Urol.*, 2014, Vol. 12, no. 4, pp. 309-317.
13. Al-Daghistani H.I., Hamad A.W., Abdel-Dayem M., Al-Swaifi M., Abu Zaid M. Evaluation of Serum testosterone, progesterone, seminal antisperm antibody, and fructose levels among jordanian males with a history of infertility. *Biochem. Res. Int.*, 2010, Vol. 2010, 409640. doi: 10.1155/2010/409640.
14. Arena S., Arena F., Maisano D., Di Benedetto V., Romeo C., Nicotina P.A. Aquaporin-9 immunohistochemistry in varicocele testes as a consequence of hypoxia in the sperm production site. *Andrologia*, 2011, Vol. 1, no. 43, pp. 34-37.
15. Bonyadi M.R., Madaen S.K., Saghaifi M. Effects of varicocelectomy on anti-sperm antibody in patients with varicocele. *J. Reprod. Infertil.*, 2013, Vol. 2, no. 14, pp. 73-78.

16. Bozhedomov V.A., Lipatova N.A., Alexeev R.A., Alexandrova L.M., Nikolaeva M.A., Sukhikh G.T. The role of the antisperm antibodies in male infertility assessment after microsurgical varicocele. *Andrology*, 2014, Vol. 2, no. 6, pp. 847-855.
17. Bozhedomov V.A., Lipatova N.A., Rokhlikov I.M. Male fertility and varicocele: role of immune factors. *Andrology*, 2014, Vol. 2, no. 1, pp. 51-58.
18. Bozhedomov V.A., Teodorovich O.V. Epidemiology and causes of autoimmune male infertility. *Urologia*, 2005, no. 1, pp. 35-44.
19. Cui D., Han G., Shang Y., Liu C., Xia L., Li L., Yi S. Antisperm antibodies in infertile men and their effect on semen parameters: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Chim. Acta*, 2015, no. 15, pp. 29-36.
20. Djaladat H., Mehraei A., Rezazade M., Djaladat Y., Pourmand G. Varicocele and antisperm antibody: fact or fiction? *South Med. J.*, 2006, Vol. 1, no. 99, pp. 44-47.
21. Jensen C.F., Khan O., Nagras Z.G., Sønksen J., Fode M., Østergren P.B., Shah T., Ohl D.A. CopMich Collaborative Male infertility problems of patients with strict sperm morphology between 5-14% may be missed with the current WHO guidelines. *Scand. J. Urol.*, 2018, Vol. 52, no. 5-6, pp. 427-431.
22. Jiang H., Zhu W.J. Testicular microlithiasis is not a risk factor for the production of antisperm antibody in infertile males. *Andrologia*, 2013, Vol. 5, no. 45, pp. 305-309.
23. McLachlan R.I. Basis, diagnosis and treatment of immunological infertility in men. *J. Reprod. Immunol.*, 2002, Vol. 1-2, no. 57, pp. 35-45.
24. Yasin A.L., Basha W.S. The Epidemiology of anti-sperm antibodies among couples with unexplained infertility in North West Bank, Palestine. *J. Clin. Diagn. Res.*, 2016, Vol. 10, no. 3, pp. QC01-QC03.
25. Zhao Y., Zhao E., Zhang C., Zhang H. Study of the changes of acrosomal enzyme, nitric oxide synthase, and superoxide dismutase of infertile patients with positive antisperm antibody in seminal plasma. *Cell Biochem. Biophys.*, 2015, Vol. 73, no. 3, pp. 639-642.

Авторы:

Черешнев В.А. — д.м.н., профессор, академик РАН, главный научный сотрудник лаборатории иммунофизиологии и иммунофармакологии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Пичугова С.В. — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунопатофизиологии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук; врач лаборатории электронной микроскопии МАУ «Клинико-диагностический центр», г. Екатеринбург, Россия

Рыбина И.В. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунопатофизиологии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук; заведующая лабораторией генетики МАУ «Клинико-диагностический центр», г. Екатеринбург, Россия

Бейкин Я.Б. — д.м.н., профессор, заведующий лабораторией иммунопатофизиологии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук; главный врач МАУ «Клинико-диагностический центр», г. Екатеринбург, Россия

Authors:

Chereshnev V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Chief Research Associate, Laboratory of Immunophysiology and Immunopharmacology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Pichugova S.V., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Immunopathophysiology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Physician, Laboratory of Electron Microscopy, Clinical Diagnostic Center, Yekaterinburg, Russian Federation

Rybina I.V., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Immunopathophysiology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Head, Genetics Laboratory, Clinical Diagnostic Center, Yekaterinburg, Russian Federation

Beikin Ya.B., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Immunopathophysiology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Chief Physician, Clinical Diagnostic Center, Yekaterinburg, Russian Federation

ДИНАМИКА УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ ПРИ ИЗОЛИРОВАННОМ ПЕРЕЛОМЕ БЕДРЕННОЙ КОСТИ В УСЛОВИЯХ СИСТЕМНОЙ ОЗОНОТЕРАПИИ

Абрамов К.С., Давыдова Е.В., Осиков М.В.

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Резюме. Наличие тесной связи между процессами иммуно- и остеогенеза, влияние иммунной системы на репаративные процессы после травматического перелома бедренной кости, а также состояние повышенной афферентации от внутрикостных рецепторов и гиперстимуляция иммунных клеток в условиях травмы диктуют целесообразность применения эфферентных полимодальных методов терапии, на роль которых может претендовать медицинский озон. Целью исследования явилась оценка динамики болевого синдрома и уровня про- и противовоспалительных цитокинов при изолированном переломе бедренной кости в условиях системной озонотерапии.

Группу исследования составили 32 пациента мужского пола с изолированным переломом бедренной кости, средний возраст ($44,2 \pm 2,4$ года). Со вторых суток после оперативного лечения все пациенты получали стандартное лечение антикоагулянтами и антибиотикотерапию, 16 пациентов дополнительно получали озонотерапию в виде процедуры малой аутогемотерапии (МАГТ) на озонотерапевтической автоматической установке с деструктором озона УОТА-60-01 «Медозон» производства ООО «Медозон» (Москва). Концентрация озона в озонкислородной смеси составляла 20 мг/л, в объеме 10 мл. Курс 7-9 инъекций через день. Субъективную оценку уровня болевых ощущений во всех группах исследовали, используя визуальную аналоговую шкалу боли. Концентрации цитокинов IL-6 и IL-4 определяли с помощью стандартных тест-систем АО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Статистическая обработка результатов проводилась при помощи пакета программы Statistica 10.0.

Субъективный уровень боли до начала курса озонотерапии на 2 день после оперативного лечения был выше среднего, после окончания курса МАГТ уровень боли снизился до низкого уровня и значительно отличался от показателя до операции, что указывает на наличие анальгетического эффекта системной озонотерапии, связанного, вероятно, с окислительной модификацией медиаторов воспаления. Уровень провоспалительного цитокина IL-6 у пациентов с ИПБК на фоне системной озонотерапии значительно снизился, что свидетельствует о нормализующем эффекте озонотерапии на показатели секреторной активности иммуноцитов и препятствует реализации эффектов «цитокинового шторма». Концентрация IL-4 на фоне травматического повреждения бедренной кости не имела значимых различий среди групп пациентов, за исключением различий с показателем контрольной группы. Применение корреляционного анализа по Спирмену показало высокую степень зависимости интенсивности болевых ощущений от уровня провоспалительных цитокинов, применение озонотерапии приводило к уменьшению интенсивности боли в области повреждения и прямо коррелировало со снижением концентрации IL-6. Таким образом, применение озона в терапевтических концентрациях

Адрес для переписки:

Давыдова Евгения Валерьевна
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
454092, Россия, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.
Тел.: 8 (908) 060-92-06.
E-mail: dav-zhenya@yandex.ru

Address for correspondence:

Davydova Eugeniya V.
South Ural State Medical University
454092, Russian Federation, Chelyabinsk, Vorovsky str., 64.
Phone: 7 (908) 060-92-06.
E-mail: dav-zhenya@yandex.ru

Образец цитирования:

К.С. Абрамов, Е.В. Давыдова, М.В. Осиков
«Динамика уровня цитокинов при изолированном
переломе бедренной кости в условиях системной
озонотерапии» // Российский иммунологический
журнал, 2020. Т. 23, № 3. С. 323-328.
doi: 10.46235/1028-7221-261-DOT
© Абрамов К.С. и соавт., 2020

For citation:

K.S. Abramov, E.V. Davydova, M.V. Osikov "Dynamics of
the level of cytokines in the isolated femoral fracture under
conditions of system ozone therapy", Russian Journal of
Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020,
Vol. 23, no. 3, pp. 323-328.
doi: 10.46235/1028-7221-261-DOT
DOI: 10.46235/1028-7221-261-DOT

ограничивает избыточные реакции врожденного иммунитета, которые могут привести к массивному тканевому повреждению на ранних этапах посттравматического процесса.

Ключевые слова: перелом бедренной кости, цитокины, озонотерапия

DYNAMICS OF THE LEVEL OF CYTOKINES IN THE ISOLATED FEMORAL FRACTURE UNDER CONDITIONS OF SYSTEM OZONE THERAPY

Abramov K.S., Davydova E.V., Osikov M.V.

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. A close link between processes of immune-based and osteogenesis, influence of immune system on reparative processes after a traumatic femur fracture, as well as state of increased afferent signals emitted by intraosseous receptors and hyperstimulation of immune cells during trauma accounts for feasibility of using efferent multimodal therapy interventions, which may be accomplished by medical ozone. The aim of the study was to assess dynamic changes in pain syndrome and level of pro- and anti-inflammatory cytokines in isolated femur fracture treated with systemic ozone therapy.

The study group comprised 32 male patients with isolated femur fracture, average age 44.2 ± 2.4 years. Starting from day 2 after surgical treatment, all patients received standard anticoagulant treatment and antibiotic therapy, 16 patients additionally received ozone therapy applied as small autohemotherapy (MAGT) at ozone therapeutic unit by using ozone destructor UOTA-60-01 "Medozon" manufactured by Medozon LLC, Moscow. Ozone concentration in ozone-oxygen mixture was 20 mg/l, per 10 ml-volume, applied as 7-9 injections course every other day. Patient-provided assessment of pain level in all groups was investigated by using a visual analogue pain scale. Concentrations of IL-6 and IL-4 cytokines were measured by using standard test systems (purchased from Vector-Best JSC, Novosibirsk). Statistical data processing was carried out by using software package Statistica 10.0. The subjective pain level prior to the onset of the course ozone therapy and 2 days after surgical treatment was higher than average level after the end of MAGT course, pain level decreased to low level and significantly differed from that one before surgery, which indicates developed analgesic effect after systemic ozone therapy, likely associated with oxidative modification of inflammatory mediators. The level of pro-inflammatory cytokine IL-6 in patients with IPPK during systemic ozone therapy significantly decreased, which indicates some normalizing effect induced by ozone therapy on parameters of immunocyte secretory activity and prevents overt effects triggered by "cytokine storm". Concentration of IL-4 vs after traumatic femur damage did not significantly differ among patient groups, except for differences with control group. Spearman correlation analysis revealed high degree of dependence between pain intensity and level of pro-inflammatory cytokines, whereas ozone therapy led to decreased pain intensity in lesion site and directly correlated with decreased IL-6 concentration. Thus, use of ozone at therapeutic concentrations limits excessive reactions of innate immunity that can lead to massive tissue damage in early stages of the post-traumatic process.

Keywords: femoral fracture, cytokines, ozone therapy

Введение

Нейроиммуноэндокринные реакции, связанные с активацией симпатoadреналовой системы, в ответ на травматическое повреждение костей включают спектр нарушений сосудистого тонуса, расстройства микроциркуляции, изменение агрегатного состояния крови, формирование реактивного иммунодефицита, заключающегося в ингибировании хемотаксической и секреторной активности макрофагов [1]. Доказана достаточно тесная связь между процессами иммуно- и остеогенеза и влияние иммунной системы на репара-

тивные процессы в мягких и костной тканях, а также на весь характер течения послеоперационного периода [1, 2]. Ряд исследователей отмечают, что, помимо обеспечения стабильной фиксации костных отломков, необходимо проводить коррекцию нарушенных функций иммунной системы, стимуляцию остеогенеза.

Учитывая наличие воспалительных изменений в области мягких тканей и состояние повышенной афферентации от внутрикостных рецепторов, приводящее к формированию стойкого болевого синдрома, наряду с традиционными, обосновано применение эфферентных методов

терапии с мультифункциональным спектром терапевтического воздействия. На эту роль может претендовать медицинский озон в низких и средних терапевтических концентрациях, обладающий функциональным полиморфизмом. Широко известны его микробоцидные, метаболические, антигипоксические и иммуномодулирующие свойства [6]. Средние и низкие концентрации озона способны повышать гемотаксическую и секреторную активность фагоцитирующих клеток. Учитывая вышеизложенное, **целью исследования** является оценка динамики болевого синдрома и уровня про- и противовоспалительных цитокинов при изолированном переломе бедренной кости в условиях системной озонотерапии.

Материалы и методы

Настоящее исследование проведено в отделении травматологии и ортопедии № 2 ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница». Изучаемую группу составили 32 пациента мужского пола с изолированным переломом бедренной кости (ИПБК), средний возраст которых составил $44,2 \pm 2,4$ года. Исследование одобрено Этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России (протокол № 3 от 15.03.2019 г.).

Всем пациентам до начала хирургического лечения на 5 сутки после травмы производился забор венозной крови для иммунологического обследования, натошак (вторая группа, $n = 32$). Со вторых суток после оперативного лечения пациенты путем простой рандомизации были разделены на две равновеликие группы по 16 человек (3 и 4 группы). Пациенты 3 группы получали только стандартное лечение антикоагулянтами и антибиотикотерапию.

Озонотерапия

Пациенты четвертой группы, помимо стандартной терапии, получали озонотерапию в виде процедуры малой аутогемотерапии (МАГТ) на озонотерапевтической автоматической установке с деструктором озона УОТА-60-01 «Медозон» производства ООО «Медозон» (Москва). Концентрация озона в озонкислородной смеси составляла 20 мг/л, в объеме 10 мл. Объем венозной крови составлял 10 мл. Вводили внутримышечно, в ягодичную или бедренную область. Курс 7-9 инъекций через день. Сразу после окончания курса МАГТ производили контрольный забор венозной крови для повторного иммунологического тестирования (3 и 4 группы). Контрольную группу составили 30 условно здоровых мужчин, средний возраст $48,5 \pm 5,2$ года (первая группа).

Оценка боли

Для субъективной оценки уровня болевых ощущений во всех группах использовали визуаль-

ную аналоговую шкалу боли (ВАШ, visual analog scale (VAS)), на 5 сутки и после окончания курса МАГТ. ВАШ представляет собой прямую линию длиной 10 см. Пациенту предлагалось сделать на линии отметку, соответствующую интенсивности испытываемой им боли.

Определение концентрации цитокинов

Концентрации цитокинов IL-6 и IL-4 определяли с помощью стандартных тест-систем АО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Результаты выражали в пг/мл. Учет результатов проводили на планшетном фотометре «Multiscan plus» при соответствующей длине волны.

Статистическая обработка результатов проводилась при помощи пакета программы Statistica 10.0, с использованием непараметрического критерия Вилкоксона для связанных групп, различия считали достоверными при $p < 0,05$. Корреляционный анализ проводили, используя критерий Спирмена.

Результаты и обсуждение

Согласно Международной ассоциации по изучению боли (IASP), болевые ощущения пациента связаны как с истинным повреждением ткани, так с неприятным сенсорным и эмоциональным переживанием, отражающим измененное болью психическое состояние. В условиях ИПБК в основе болевых ощущений лежит гипералгезия ноцицептивного аппарата, вследствие действия медиаторов воспаления (провоспалительных цитокинов, хемокинов, брадикинина), а также эфферентных влияний симпатoadренальной оси. Субъективная оценка болевых ощущений в динамике проведения системной озонотерапии у больных с ИПБК представлена в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, субъективный уровень показателя интенсивности болевых ощущений до начала курса озонотерапии на 2 день после оперативного лечения был выше среднего, после стандартной терапии показатель ВАШ значимо не отличался от 2 группы, после окончания курса МАГТ уровень боли снизился до низкого уровня и значимо отличался от показателя 2 группы, что указывает на наличие аналгетического эффекта системной озонотерапии. Обезболивающий эффект озонотерапии может быть связан с окислительной модификацией медиаторов воспаления, участвующих в передаче ноцицептивного сигнала в ЦНС, восстановлением баланса про- и антиоксидантных систем, тем самым снижая количество токсичных молекулярных дериватов ПОЛ на клеточных мембранах и способствуя восстановлению продукции АТФ.

В то же время воспалительный процесс в зоне повреждения сопровождается активацией нейтрофилов, обусловленной комплексом

ТАБЛИЦА 1. УРОВЕНЬ БОЛЕВОГО СИНДРОМА В ДИНАМИКЕ У ПАЦИЕНТОВ С ИЗОЛИРОВАННЫМ ПЕРЕЛОМОМ БЕДРЕННОЙ КОСТИ НА ФОНЕ СИСТЕМНОЙ ОЗОНОТЕРАПИИ, Ме ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

TABLE 1. LEVEL OF PAIN SYNDROME IN DYNAMICS IN PATIENTS WITH ISOLATED FEMORAL FRACTURE ON THE BACKGROUND OF SYSTEMIC OZONE THERAPY, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Показатель визуальной аналоговой шкалы боли (ВАШ) Visual Analogue Pain Scale (VAS)	Группа 2 Пациенты с ИПБК до начала терапии Group 2 Patients with isolated femoral fracture before starting therapy n = 32	Группа 3 Пациенты с ИПБК после стандартного лечения Group 3 Patients with isolated femoral fracture after starting therapy n = 16	Группа 4 Пациенты с ИПБК после МАГТ Group 4 Patients with isolated femoral fracture after ozone therapy n = 16
Баллы Points	7,8 (6,6-8,3)	5,6 (4,8-6,4)	4,2 (3,2-5,1)
p			0,02-2,4

Примечание. p – достоверность различий показателей между группами пациентов до и после терапии рассчитана согласно непараметрическому критерию Вилкоксона, различия считаются достоверными и статистически значимыми при $p < 0,05$.

Note. p, significance of differences in indicators between groups of patients before and after therapy is calculated according to the non-parametric Wilcoxon test, the differences are considered reliable and statistically significant when $p < 0.05$.

ТАБЛИЦА 2. ДИНАМИКА КОНЦЕНТРАЦИИ ЦИТОКИНОВ У ПАЦИЕНТОВ С ИЗОЛИРОВАННЫМ ПЕРЕЛОМОМ БЕДРЕННОЙ КОСТИ НА ФОНЕ СИСТЕМНОЙ ОЗОНОТЕРАПИИ, Ме ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

TABLE 2. DYNAMICS OF THE CONCENTRATION OF CYTOKINES IN PATIENTS WITH AN ISOLATED FRACTURE OF THE FEMUR AGAINST THE BACKGROUND OF SYSTEMIC OZONE THERAPY, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Показатели Parameters	Группа 1 Контрольная Group 1 Control n = 30	Группа 2 Пациенты с ИПБК до начала терапии Group 2 Patients with isolated femoral fracture before starting therapy n = 32	Группа 3 Пациенты с ИПБК после стандартного лечения Group 3 Patients with isolated femoral fracture after starting therapy n = 16	Группа 4 Пациенты с ИПБК после МАГТ Group 4 Patients with isolated femoral fracture after ozone therapy n = 16
IL-6, пг/мл IL-6, pg/ml	1,85 (0,69-1,98)	156,3 (123,5-178,4) < 0,01 1-2	149 (128,7-154,9) < 0,013-1,4	98,0 (83,2-112,4) < 0,01 4-1,2,3
IL-4, пг/мл IL-4, pg/ml	2,23 (0,06-3,10)	45,8 (38,6-56,9) < 0,01 1-2	58,9 (42,5-62,9) < 0,01 1-3	56,0 (45,3-64,3) < 0,01 1-4

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

внутриклеточных посттравматических событий, которые некоторые авторы описывают как «генетический шторм» [9], опосредованный паттерн-распознающими рецепторами (TLRs, NLRs, RAGE, пуриnergические рецепторы) [5]. Про- и противовоспалительные эффекты нейтрофилов включают хемотаксис, секрецию цитокинов (IL-6, IL-8, IL-1ra, IL-10), генерацию активных форм кислорода, фагоцитоз, образо-

вание нейтрофильных ловушек [4, 8]. Локальные иммунные реакции после перелома бедра включают накопление в области повреждения нейтрофилов (очищение раны, секреция хемокинов для макрофагов – CCL2, IL-6), резидентных макрофагов-остеокластов, поляризованных в M1 провоспалительный фенотип (экспрессия iNOS, CCR7, HLA-DR), затем в M2-фенотип (экспрессия CD206, CD163, CCL1, CCL18, FIZZ1 и

др.), миграция и присутствие в очаге лимфоцитов обеспечивает секрецию провоспалительных цитокинов IL-1, IL-6, последующий синтез ряда медиаторов (ЦОГ-2, ПГЕ2 и др.) обеспечивает смену воспалительной фазы на репаративную [7]. Инфильтрация нейтрофилами и макрофагами зоны повреждения в ответ на хемокины, например IL-6 и CCL2, а также активация резидентных макрофагов в пери- и эндосте обеспечивает удаление погибших клеток и костных фрагментов и активацию фибробластов, остеопрогениторных клеток секреторными продуктами — IL-1, IL-6, TNF α , CCL2 и др. [7].

Показано, что смена цитокинового репертуара в динамике травмы позволяет модулировать изменения метаболизма в костной ткани. Так, провоспалительные цитокины (IL-1, IL-6, TNF α) обладают проостеокластогенной активностью, оказывают как прямой стимулирующий эффект на процессы резорбции костной ткани, так и опосредованный, через индукцию RANKL, направляющего терминальную дифференцировку прекурсоров остеокластов и стимулирующего резорбтивную активность зрелых остеокластов. Доказано, что IL-6 регулирует также дифференцировку остеокластических прекурсоров в зрелые остеокласты [3].

Согласно нашим исследованиям (табл. 2), уровни провоспалительного цитокина IL-6 у пациентов с ИПБК при поступлении (4-5 сутки после травмы) были значительно повышены в сравнении с контрольной группой. После стандартной терапии не отмечено значимого изменения содержания данного цитокина в крови. На фоне МАГТ, напротив, зафиксировано снижение показателя, в сравнении со 2 и 3 группой, что свидетельствует о нормализующем эффекте озонотерапии на показатели секреторной активности иммунных клеток и препятствует реализации эффектов «цитокинового шторма». Примечательно, что уровень IL-6 не снизился до значений контрольной группы, что вполне закономерно, учитывая фазу воспалительного ответа и процессы костной резорбции.

В то же время динамика противовоспалительного цитокина IL-4 на фоне травматического повреждения бедренной кости не имела значимых различий среди 2, 3, 4 групп пациентов, за исключением показателя концентрации цитокина в контрольной группе, где определялся низкий базовый уровень IL-4. Известно, что данный цитокин индуцирует хемотаксис остеобластов, способен напрямую стимулировать пролиферацию остеобластов на уровне костного мозга, предположительно через стимуляцию мезенхимальных стромальных клеток к дифференцировке в остеобластическом направлении, опосредованном индукцией BMP-2 [2].

Применение корреляционного анализа по Спирмену показало высокую степень зависимости интенсивности болевых ощущений от уровня провоспалительных цитокинов ($R = 0,84$, $p < 0,02$) у пациентов до хирургического лечения (2 группа). Напротив, применение озонотерапии приводило к уменьшению интенсивности боли в области повреждения и прямо коррелировало со снижением концентрации IL-6 ($R = 0,61$, $p < 0,04$) в 4 группе. Следовательно, можно предположить, что применение озона в терапевтических концентрациях ограничивает избыточные реакции врожденного иммунитета (синтез провоспалительных цитокинов, АФК, активацию комплемента), которые могут привести к массивному тканевому повреждению на ранних этапах посттравматического процесса.

Выводы

1. Применение системной озонотерапии в комплексном лечении изолированного перелома бедренной кости показало наличие выраженного анальгетического эффекта после окончания курса лечения.

2. Нормализующее действие озонотерапии в отношении уровней про- и противовоспалительных цитокинов препятствует реализации эффектов «цитокинового шторма».

Список литературы / References

1. Коршунова Е.Ю., Белохвостикова Т.С., Дмитриева Л.А. Иммунологический контроль гомеостаза костной ткани // Политравма, 2011. № 1. [Электронный ресурс]: сайт. Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/immunologicheskiy-kontrol-gomeostaza-kostnoy-tkani> (дата обращения: 10.04.2020). [Korshunova E.Yu., Belokhvoshtikova T.S., Dmitrieva L.A. Immunological control of bone tissue homeostasis. *Politravma = Politrauma*, 2011, no. 1. [Electronic resource]. Access mode: <https://cyberleninka.ru/article/n/immunologicheskiy-kontrol-gomeostaza-kostnoy-tkani> (date of the application: 10.04.2020).
2. Коршунова Е.Ю., Дмитриева Л.А., Лебедев В.Ф. Цитокиновая регуляция метаболизма костной ткани // Политравма. 2012. № 3. [Электронный ресурс]: сайт. Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/tsitokinovaya-regulyatsiya-metabolizma-kostnoy-tkani> (дата обращения: 10.04.2020). [Korshunova E.Yu., Dmitrieva L.A., Lebedev V.F. Cytokine regulation of bone metabolism. *Politravma = Politrauma*, 2012, no. 3.

[Electronic resource]. Access mode: <https://cyberleninka.ru/article/n/tsitokinovaya-regulyatsiya-metabolizma-kostnoy-tkani> (date of the application: 10.04.2020).

3. Панков И.О., Габдуллин М.М., Емелин А.Л. Исследование интерлейкина-6 у пациентов с тяжелой травмой нижних конечностей, осложненных синдромом жировой эмболии // Современные проблемы науки и образования, 2016. № 2. [Электронный ресурс]: сайт. Режим доступа: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24272> (дата обращения: 10.04.2020). [Pankov I.O., Gabdullin M.M., Emelin A.L. The study of interleukin-6 in patients with severe lower limb trauma complicated by fat embolism. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya* = *Modern Problems of Science and Education*, 2016, no. 2. [Electronic resource]. Access mode: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24272> (date of the application: 10.04.2020).

4. Bortolotti P., Faure E., Kipnis E. Inflammasomes in tissue damages and immune disorders after trauma. *Front. Immunol.*, 2018, no. 9, 1900. doi: 10.3389/fimmu.2018.01900.

5. Cekic, C., Linden, J. Purinergic regulation of the immune system. *Nat. Rev. Immunol.*, 2016, no. 16, pp. 177-192.

6. Galie M., Costanzo M., Nodari A., Boschi F., Calderan L., Mannucci S., Covi V., Tabaracci G., Malatesta M. Mild ozonisation activates antioxidant cell response by the Keap1/Nrf2 dependent pathway. *Free Radic. Biol. Med.*, 2018, Vol. 124, pp. 114-121.

7. Gibon E., Lu L.Y., Nathan K., Goodman S.B. Inflammation, ageing, and bone regeneration. *J. Orthop. Translat.*, 2017, no. 10, pp. 28-35.

8. Jorch S.K., Kubes P. An emerging role for neutrophil extracellular traps in noninfectious disease. *Nat. Med.*, 2017, no. 23, pp. 279-287.

9. Xiao W., Mindrinos M.N., Seok J. A genomic storm in critically injured humans. *J. Exp. Med.*, 2011, Vol. 208, no. 13, pp. 2581-2590.

Авторы:

Абрамов К.С. — ассистент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Давыдова Е.В. — д.м.н., профессор кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Осиков М.В. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Authors:

Abramov K.S., Assistant Professor, Department of Pathological Physiology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Davydova E.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Pathological Physiology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Osikov M.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Pathological Physiology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Поступила 01.06.2020
Принята к печати 08.07.2020

Received 01.06.2020
Accepted 08.07.2020

СОСТОЯНИЕ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ В УСЛОВИЯХ ГИПЕРГЛИКЕМИИ И ДЕЙСТВИЯ ИММУНОМОДУЛЯТОРА

Гетте И.Ф., Данилова И.Г.

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

Резюме. Количество лимфоцитов, их функциональная активность, в частности спектр выделяемых цитокинов, определяют выраженность аутоиммунного процесса при сахарном диабете (СД) в отношении как островковых β -клеток, так и других клеток организма. Поскольку продукция цитокинов координируется макрофагами, а также может зависеть от состояния нуклеиновых кислот в лимфоцитах, целью работы стало исследование содержания нуклеиновых кислот в лимфоцитах крови и продукции цитокинов у крыс с аллоксановым диабетом и при действии иммуномодулятора 3-аминофталгидрида (3-АФГ).

На крысах-самцах WISTAR моделировали СД 1 типа внутрибрюшинным введением аллоксана дозой 300 мг/кг. Доза 3-АФГ составляла 2 мг/кг, всего 20 внутримышечных инъекций.

Установлено, что моделирование СД сопровождается увеличением количества лимфоцитов в крови, их предшественников в костном мозге и содержания ДНК в лимфоцитах крови и сопряжено с повышенной продукцией цитокинов IL-6 и TNF α . Введение 3-АФГ диабетическим крысам способствует уменьшению количества лимфоцитов и содержания в них ДНК, что, вероятно, является причиной снижения уровня провоспалительного цитокина IL-6 в плазме крови и вносит вклад в коррекцию гипергликемии.

Ключевые слова: лимфоциты, аллоксановый диабет, иммуномодулятор, цитокины, нуклеиновые кислоты

STATE OF HYPERGLYCEMIC AND IMMUNOMODULATOR- TREATED PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES

Gette I.F., Danilova I.G.

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

Abstract. A level of peripheral blood lymphocytes, their functional activity and particularly produced range of secreted cytokines underlie severity of autoimmune process in diabetes mellitus (DM) against islet β -cells

Адрес для переписки:

Гетте Ирина Федоровна
ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии»
Уральского отделения Российской академии наук
620049, Россия, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106.
Тел.: 8 (909) 019-53-22.
E-mail: i.goette@yandex.ru

Address for correspondence:

Gette Irina F.
Institute of immunology and Physiology, Ural Branch,
Russian Academy of Sciences
620049, Russian Federation, Yekaterinburg,
Pervomayskaya str., 106.
Phone: 7 (909) 019-53-22.
E-mail: i.goette@yandex.ru

Образец цитирования:

И.Ф. Гетте, И.Г. Данилова «Состояние лимфоцитов периферической крови в условиях гипергликемии и действия иммуномодулятора» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 3. С. 329-334.
doi: 10.46235/1028-7221-269-SOH
© Гетте И.Ф., Данилова И.Г., 2020

For citation:

I.F. Gette, I.G. Danilova "State of hyperglycemic and immunomodulator-treated peripheral blood lymphocytes", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 3, pp. 329-334.
doi: 10.46235/1028-7221-269-SOH
DOI: 10.46235/1028-7221-269-SOH

and other body cells. Because cytokine production is coordinated by macrophages and may also depend on accessibility lymphocyte nucleic acids, we aimed at examining level of nucleic acids in blood lymphocytes as well as cytokine production in rats with alloxan-induced diabetes treated with immunomodulator 3-aminophthalhydrazide (3-APH).

Type 1 DM was modeled in male WISTAR rats by intraperitoneally administered alloxan at a dose of 300 mg/kg followed by inoculating 3-APH (2 mg/kg, in total 20 intramuscular injections). It was found that modeled diabetes was accompanied by increased number of peripheral blood lymphocytes and their bone marrow precursors, coupled to higher DNA amount in blood lymphocytes and associated with increased IL-6 and TNF α production. Administration of 3-APH to diabetic rats contributed to decreased number of peripheral blood lymphocytes and related DNA level likely resulting in decreased level of pro-inflammatory cytokine IL-6 in the blood serum and contributing to corrected hyperglycemia.

Keywords: lymphocytes, alloxan diabetes, immunomodulator, cytokines, nucleic acids

Работа выполнена в рамках гос. задания ИИФ УрО РАН, тема № АААА-А18-118020 590 1070.

Введение

Лимфоциты периферической крови принимают участие как в развитии сахарного диабета, так и в последующем поддержании аутоиммунных процессов, направленных на деструкцию не только островковых инсулинпродуцирующих клеток, но также других клеток организма [5, 6]. Количество лимфоцитов и их функциональная активность, в частности продукция цитокинов, определяют выраженность аутоиммунных реакций и иммунорезистентность у больных сахарным диабетом [7]. Патологические процессы при сахарном диабете (СД) 1 и 2 типа, прежде всего гипергликемия, оксидативный стресс и недостаточность антиоксидантной защиты, способствуют повреждению ядерной и митохондриальной ДНК лимфоцитов [2]. Нарушение структуры ДНК в лимфоцитах периферической крови часто исследуют в качестве модели повреждения других соматических клеток организма [4]. К наиболее часто выявляемым проявлениям генотоксичности при СД относятся фрагментация одной или двух нитей ДНК, мутации, снижение скорости репарации ДНК, изменения экспрессии генов, связанные с модификациями гистоновых белков; следствием увеличения разрывов ДНК является апоптоз клеток [4].

Деструкция ДНК при сахарном диабете, предположительно, должна сопровождаться уменьшением количества ДНК в лимфоцитах, а также снижением количества РНК, поскольку экспрессия генов при поврежденной ДНК также должна быть нарушена. Однако существуют единичные работы, оценивающие содержание нуклеиновых кислот в лимфоцитах [3].

Продукция цитокинов осуществляется преимущественно лимфоцитами, и этот процесс координируют макрофаги, способные также вырабатывать провоспалительные цитокины, противовоспалительные цитокины и факторы роста [7]. Действие иммуномодулятора макрофагов 3-аминофталгидразида (3-АФГ), как было показано ранее, снижает уровень гипергликемии при экспериментальном сахарном диабете, устраняя основной патогенетический фактор, вызывающий повреждение ДНК [5], но не нормализует количество гистоновых белков фракции Н_{2А}, Н₃, Н₄, регулирующих экспрессию провоспалительных факторов в лимфоцитах [1]. В то же время остается недостаточно исследованным вопрос о влиянии состояния лимфоцитов (количества клеток, содержания в них нуклеиновых кислот, продукции цитокинов) на выраженность гипергликемии в условиях аллоксанового диабета и действия иммуномодулятора макрофагов 3-АФГ.

Цель работы — исследовать содержание нуклеиновых кислот в лимфоцитах крови и продукцию цитокинов у крыс с аллоксановым диабетом и при действии иммуномодулятора 3-аминофталгидразида.

Материалы и методы

Эксперимент выполнен на 30 крысах-самцах Wistar массой 220-250 г. Содержание животных и все манипуляции соответствовали рекомендациям международного этического комитета (Директива Совета ЕС 2010/63/EU). Были выделены 3 группы по 10 крыс: 1 — интактная; 2 — СД; 3 — СД + 3-АФГ. Сахарный диабет 1 типа в группах 2 и 3 моделировали внутрибрюшинным введением аллоксана дозой 300 мг/кг по авторской методике [5]. Крысам группы 3 после 30 суток развития СД осуществляли внутримышеч-

ные инъекции 3-АФГ из расчета 2 мг/кг, всего 20 инъекций. Через 60 суток животных выводили из эксперимента передозировкой эфира. Содержание глюкозы определяли набором реактивов («Витал-диагностикс», Санкт-Петербург), гликированного гемоглобина (HbA1c) — набором «ГЛИКОГЕМОТЕСТ» (ЭЛТА, Москва). Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре DU-800 (Beckman, США). Методом ИФА в плазме крови определяли содержание инсулина набором Rat/Mouse Insuline (Millipore, США), цитокинов IL-6, TNF α и фактора роста IGF-1 наборами Thermo Scientific (США) на анализаторе «Lazurit Automated ELISA System» (США). Анализ периферической крови проводили на гематологическом анализаторе «Celly 70 Biocode Hysel». Подсчет клеток костного мозга производили на микроскопе Leica DM 2500. В лимфоцитах, выделенных из крови центрифугированием в смеси фиколл-верографин, определяли содержание свободных нуклеотидов, ДНК и РНК методом Маркушевой Л.И. и соавт. [3], основанном на гидролизе нуклеиновых кислот при различных значениях pH и дифференциальном центрифугировании выделяемых веществ, и выражали в мкг/млн лимфоцитов.

гировании выделяемых веществ, и выражали в мкг/млн лимфоцитов.

Статистический анализ материала проводили с помощью программ Statistica 6.0 (Stat.Soft.Inc.), программы Microsoft Excel 2003 и непараметрического критерия Манна–Уитни. Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ ошибка среднего. При проверке статистических гипотез использовался уровень значимости 5% ($p < 0,05$).

Результаты

Через 60 суток после моделирования аллоксанового диабета в крови крыс группы 2 отмечается достоверное увеличение содержания глюкозы, гликированного гемоглобина, цитокинов IL-6, TNF α и снижение уровня инсулина и IGF-1 по сравнению с соответствующими показателями интактных животных (табл. 1). На 60-е сутки, после 20 инъекций 3-АФГ, у крыс группы 3 концентрация глюкозы уменьшилась, нормализовалось содержание гликированного гемоглобина, инсулина, IGF-1 и IL-6, но количество TNF α осталось на прежнем уровне.

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ САХАРНОГО ДИАБЕТА И ЦИТОКИНЫ В КРОВИ КРЫС

TABLE 1. INDICATORS OF DIABETES MELLITUS AND CYTOKINES IN THE BLOOD OF RATS

Показатели Indicators	1 Интактные Intact	2 СД DM	3 СД + 3-АФГ DM + 3-APH
Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/l	5,92 $\pm$ 0,31	27,50 $\pm$ 3,02*	16,90 $\pm$ 2,98***
HbA1c, %	4,50 $\pm$ 0,22	9,17 $\pm$ 0,29*	4,12 $\pm$ 0,88**
Инсулин, мкг/мл Insulin, mcg/ml	1,25 $\pm$ 0,20	0,53 $\pm$ 0,07*	2,50 $\pm$ 0,63**
IGF-1, нг/мл IGF-1, ng/ml	981 $\pm$ 173	327 $\pm$ 66*	699 $\pm$ 111**
IL-6, пг/мл IL-6, pg/ml	43,8 $\pm$ 1,1	51,0 $\pm$ 2,5*	33,6 $\pm$ 3,8***
TNF α , пг/мл TNF α , pg/ml	51,1 $\pm$ 1,5	240,0 $\pm$ 5,7*	260,0 $\pm$ 4,0*

Примечание. * — различия с группой интактных животных достоверны при $p < 0,05$; ** — различия с группой 2 достоверны при $p < 0,05$.

Note. *, differences with the group of intact animals are significant at $p < 0.05$; **, differences with group 2 are significant at $p < 0.05$.

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ СВОБОДНЫХ НУКЛЕОТИДОВ, ДНК И РНК В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ, КОЛИЧЕСТВО ЛИМФОЦИТОВ В КРОВИ И ИХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ В КОСТНОМ МОЗГЕ

TABLE 2. CONTENT OF FREE NUCLEOTIDES, DNA AND RNA IN BLOOD LYMPHOCYTES, THE NUMBER OF LYMPHOCYTES IN THE BLOOD AND THEIR PRECURSORS IN THE BONE MARROW

Показатели Indicators	1 Интakтные Intact	2 СД DM	3 СД + 3-АФГ DM + 3-APH
Нуклеотиды, мкг/млн Nucleotides, mkg/million	0,468±0,056	1,230±0,092*	0,508±0,055**
РНК, мкг/млн RNA, mkg/million	0,156±0,014	0,184±0,020	0,185±0,037
ДНК, мкг/млн DNA, mkg/million	0,126±0,008	0,284±0,032*	0,157±0,005***
РНК/ДНК RNA/DNA	1,23±0,09	0,72±0,06*	1,24±0,20**
Лимфоциты в крови, тыс/мкл Blood lymphocytes, thousand/mkl	10,69±0,07	18,40±1,99*	7,32±0,48***
Лимфоциты в костном мозге, млн/100 г массы тела Bone marrow lymphocytes million/100 g of body weight	4,91±1,05	8,06±1,30*	3,13±0,29**

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

Установлено увеличение количества свободных нуклеотидов в лимфоцитах диабетических крыс группы 2 и нормализация показателя после действия иммуномодулятора в группе 3 (табл. 2). Содержание ДНК в лимфоцитах крови крыс группы 2 также достоверно возросло, а затем уменьшалось после инъекций 3-АФГ, оставаясь выше уровня показателя интактных крыс, но меньше, чем у крыс группы 2. Содержание РНК в лимфоцитах не имело достоверных отличий во всех исследованных группах. Изменение соотношения РНК/ДНК соответствовало обнаруженным изменениям количества ДНК: снижение показателя после моделирования СД и нормализация после действия 3-АФГ.

У диабетических крыс обнаружено увеличение количества лимфоцитов в периферической крови и предшественников лимфоцитов в костном мозге относительно показателей интактной группы (табл. 2). Инъекции иммуномодулятора

крысам группы 3 сопровождалось снижением лимфоцитарной фракции в крови и костном мозге.

Обсуждение

Обнаруженные изменения уровня глюкозы, HbA1c, инсулина и провоспалительных цитокинов в крови крыс группы 2 являются характерными для сахарного диабета 1 типа [5, 8], а снижение гипергликемии и улучшение баланса цитокинов в группе 3 подтверждают установленные ранее эффекты 3-АФГ [5, 7]. Увеличение содержания ДНК в лимфоцитах периферической крови диабетических крыс (почти в 2 раза относительно нормы) может быть следствием репликации с остановкой цитокинеза, что является компенсаторной реакцией, необходимой для увеличения количества функционирующих генов. Это предположение подтверждается увеличением концентрации IL-6 и TNFα в плазме крови и

обнаруженным ранее уменьшением количества гистоновых белков фракции $H_{2A}, H_{2B}, H_{2C}, H_{2D}$ [1]. Повышенное количество свободных нуклеотидов в лимфоцитах диабетических крыс, вероятно, необходимо для синтеза ДНК, поскольку содержание РНК остается на прежнем уровне. Возможно, компенсаторное увеличение количества ДНК в лимфоцитах является универсальной реакцией на действие патогена, так как образование полиплоидных, преимущественно тетраплоидных, лимфоцитов было обнаружено при вирусных инфекциях и действии различных токсикантов [4]. Повышение концентрации IL-6 и TNF α в плазме крови крыс группы 2 может происходить как за счет усиленной экспрессии цитокинов удвоенным количеством генов, так и за счет возросшего количества лимфоцитов. Действие иммуномодулятора макрофагов 3-АФГ сопровождается, с одной стороны, снижением количества лимфоцитов, с другой стороны — уменьшением содержания ДНК в лимфоцитах и увеличением концентрации фактора роста IGF-1 в плазме крови,

что, вероятно, связано с изменением фенотипа макрофагов с провоспалительного на противовоспалительный [7]. Нормализация количества лимфоцитов и снижение уровня провоспалительного цитокина IL-6 при действии 3-АФГ способствуют снижению гипергликемии у диабетических животных и повышению продукции инсулина за счет, как было показано ранее, сохранения жизнеспособности β -клеток [5].

Выводы

1. Повышенная продукция провоспалительных цитокинов при аллоксановом диабете происходит за счет увеличения количества лимфоцитов и содержания в них ДНК.
2. Действие иммуномодулятора макрофагов 3-АФГ способствует нормализации количества лимфоцитов и уменьшению содержания ДНК в лимфоцитах, что сопровождается уменьшением уровня IL-6 в плазме крови и снижением гипергликемии.

Список литературы / References

1. Гетте И.Ф. Содержание гистоновых белков в лимфоцитах крыс с аллоксановым диабетом в условиях модулирования активности макрофагов // Вестник уральской медицинской академической науки, 2014, № 3 (49). С. 18-19. [Gette I.F. Content of histone proteins in lymphocytes of rats with alloxan diabetes in terms of macrophage activity modulating. *Vestnik uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki* = *Bulletin of the Ural Medical Academic Science*, 2014, no. 3 (49), pp. 18-19. (In Russ.)]
2. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Коновалова Г.Г., Одинокова О.А., Дорощук Н.А., Чазова И.Е. Оксидативный и карбонильный стресс как факторы модификации белков и деструкции ДНК при сахарном диабете // Терапевтический архив, 2018, № 10. С. 46-50. [Lankin V.Z., Tikhaze A.K., Konovalova G.G., Odinokova O.A., Doroshchuk N.A., Chazova I.E. Oxidative and carbonyl stress as a factors of the modification of proteins and DNA destruction in diabetes. *Terapevticheskiy arkhiv* = *Therapeutic Archive*, 2018, Vol. 90, no. 10, pp. 46-50. (In Russ.)]
3. Маркушева Л.И., Савина М.И., Решина В.М., Тогузов Р.Т. Ядерные белки хроматина в оценке эффективности лечения больных псориазом // Клиническая лабораторная диагностика, 2000. № 7. С. 18-20. [Markusheva L.I., Savina M.I., Reshina V.M., Toguzov R.T. Chromatin nuclear proteins in evaluation of the effectiveness of treatment of patients with psoriasis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* = *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2000, no. 7, pp. 18-20. (In Russ.)]
4. Сычева Л.П. Биологическое значение, критерии определения и пределы варьирования полного спектра кариологических показателей при оценке цитогенетического статуса человека // Медицинская генетика, 2007. № 11. С. 3-11. [Sycheva L.P. Biological value, scoring criteria and limits of a variation of a full spectrum karyological indexes of exfoliated cells for estimation of human cytogenetic status. *Meditsinskaya genetika* = *Scientific and Practical Journal Medical Genetics*, 2007, no. 11, pp. 3-11. (In Russ.)]
5. Danilova I.G., Bulavintceva T.S., Gette I.F., Medvedeva S.Y., Emelyanov V.V., Abidov M.T. Partial recovery from alloxan-induced diabetes by sodium phthalhydrazide in rats. *Biomed. Pharmacother.*, 2017, Vol. 95, pp. 103-110.
6. Ferreira R.C., Simons H.Z., Thompson W.S., Cutler A.J., Dopico X.C., Smyth D.J., Mashar M., Schuilenburg H., Walker N.M., Dunger D.B., Wallace C., Todd J.A., Wicker L.S., Pekalski M.L. IL-21 production by CD4⁺ effector T cells and frequency of circulating follicular helper T cells are increased in type 1 diabetes patients. *Diabetologia*, 2015, Vol. 58, no. 4, pp. 781-790.

7. Jukić T., Abidov M., Ihan A. A tetrahydrophthalazine derivative 'sodium nucleinate' exerts a potent suppressive effect upon LPS-stimulated mononuclear cells *in vitro* and *in vivo*. *Collegium Antropologicum*, 2011, Vol. 35, no. 4, pp. 1219-1223.

8. Zargari Samani O., Mahmoodnia L., Izad M., Shirzad H., Jamshidian A., Ghatrehsamani M., Kheiri S., Sadeghian L., Soltani A., Sarmadi A., Kaohsiung J. Alteration in CD8(+) T cell subsets in enterovirus-infected patients: An alarming factor for type 1 diabetes mellitus. *Med. Sci.*, 2018, Vol. 34, no. 5, pp. 274-280.

Авторы:

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

Данилова И.Г. — д.б.н., доцент, заместитель директора ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Authors:

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

Danilova I.G., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Deputy Director, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Поступила 03.06.2020
Принята к печати 01.07.2020

Received 03.06.2020
Accepted 01.07.2020

ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНА ГАММА-ГЛУТАМИЛГИДРОЛАЗЫ – ЕЩЕ ОДНА ИЗ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ПРЕДПОЛОЖИТЬ ОТВЕТ НА МЕТОТРЕКСАТ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ

Девальд И.В.^{1,2}, Ходус Е.А.², Хромова Е.Б.², Мысливцова К.Ю.³,
Бурмистрова А.Л.²

¹ ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения
РФ, г. Челябинск, Россия

² ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

³ Клиника профессора Кинзерского, г. Челябинск, Россия

Резюме. Современная стратегия лечения ревматоидного артрита сформулирована в рамках концепции Европейской антиревматической лиги (European League Against Rheumatism, EULAR) «Лечение до достижения цели». Препаратом первой линии, позволяющим достичь ремиссии и предупредить деструктивные изменения в суставах, признан метотрексат, назначаемый как можно раньше при постановке диагноза ревматоидного артрита. Многолетний клинический опыт работы с метотрексатом позволил прийти к выводу, что практически треть больных ревматоидным артритом оказываются резистентны к проводимому лечению, что вынуждает менять базисную противовоспалительную терапию, прибегать к таргетным или генно-инженерным биологическим препаратам, при этом время для предупреждения прогрессирования болезни может быть необратимо упущено. В последнее десятилетие набирает обороты генетическое прогнозирование эффективности лекарственной терапии, базирующееся на индивидуальных особенностях функционирования ферментативных систем, регулирующих различные этапы биотрансформации лекарственных средств. На сегодняшний день для внедрения персонализированного подхода к лечению ревматоидного артрита исследуются более десятка однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphism – SNP) генов фолатного цикла, ответственных за метаболизм и механизм действия метотрексата. В нашей работе предпринята попытка установить взаимосвязь терапевтического ответа (эффективность и резистентность) на метотрексат с SNP гена *GGH* (gamma-glutamyl hydrolase) -401C>T (rs 3758149), координирующего процессы внеклеточного транспорта метотрексата. Группа исследуемых пациентов состояла из 85 больных с диагнозом «ревматоидный артрит», «наивных» по базисной противовоспалительной терапии, которым было инициировано лечение метотрексатом в дозе от 10 до 17,5 мг в неделю с последующей оценкой его терапевтической эффективности через 6 месяцев по динамике индекса DAS28, что позволило выделить группы «ответчиков» и «неответчиков». Далее всем пациентам выделенных групп проводилось молекулярно-генетическое типирование SNP *GGH* -401C>T методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. На основании проведенного исследования установлено преобладание частоты встречаемости гомозиготного генотипа ТТ (OR = 5,09; 95% CI 1,11–23,3; p = 0,037) у «неответчиков» на метотрексат, в отличие от «ответчиков», где наметилась тенденция (OR = 0,54;

Адрес для переписки:

Мысливцова Кристина Юрьевна
Клиника профессора Кинзерского
454045, Россия, г. Челябинск, ул. Блюхера, 53а.
Тел.: 8 (950) 743-09-07.
E-mail: myslivtsova@gmail.com

Address for correspondence:

Myslivtsova Kristina Yu.
Clinic of Professor Kinsersky
454092, Russian Federation, Chelyabinsk, Blyukher str., 53a.
Phone: 7 (950) 743-09-07.
E-mail: myslivtsova@gmail.com

Образец цитирования:

И.В. Девальд, Е.А. Ходус, Е.Б. Хромова, К.Ю. Мысливцова, А.Л. Бурмистрова «Полиморфизмы гена гамма-глутамилгидролазы – еще одна из возможностей предположить ответ на метотрексат при ревматоидном артрите» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 3. С. 335–340.
doi: 10.46235/1028-7221-333-GHG

© Девальд И.В. и соавт., 2020

For citation:

I.V. Devald, E.A. Khodus, E.B. Khromova, K. Yu. Myslivtsova, A.L. Burmistrova "Gamma-glutamyl hydrolase gene polymorphisms – another way to predict methotrexate efficacy in rheumatoid arthritis", Russian Journal of Immunology/ Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 3, pp. 335–340.
doi: 10.46235/1028-7221-333-GHG

DOI: 10.46235/1028-7221-333-GHG

95% CI 0,27-1,01; $p = 0,087$) к превалированию частоты аллеля С, что позволило идентифицировать их генетическими предикторами терапевтического ответа на метотрексат при ревматоидном артрите.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, метотрексат, терапевтический ответ, однонуклеотидный полиморфизм, гамма-глутамилгидролаза

GAMMA-GLUTAMYL HYDROLASE GENE POLYMORPHISMS – ANOTHER WAY TO PREDICT METHOTREXATE EFFICACY IN RHEUMATOID ARTHRITIS

Devald I.V.^{a, b}, Khodus E.A.^b, Khromova E.B.^b, Myslivtsova K.Yu.^c,
Burmistrova A.L.^b

^a South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

^b Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

^c Clinic of Professor Kinsersky, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. The current treatment strategy for rheumatoid arthritis has been formulated within the framework of the European League Against Rheumatism (EULAR) concept “Treatment to achieve the goal”. Methotrexate prescribed as soon as possible after verifying rheumatoid arthritis is recognized as a first-line drug that allows to achieve disease remission and prevent destructive changes in the joints. Long-term clinical experience of using methotrexate allowed to conclude that almost 30% patients with rheumatoid arthritis turn out to be resistant to such treatment, enforcing to change the basal anti-inflammatory therapy, shift to using targeted or genetically engineered biological drugs, so that timeframe to prevent disease progression can be irreversibly lost. In the last decade, genetic testing for drug therapy effectiveness has been gaining momentum based on individual features in functioning of enzyme systems which regulate various stages of drug biotransformation. To date, a personalized approach to treatment of rheumatoid arthritis may be implemented after examining more than a dozen of single nucleotide polymorphisms (SNPs) within the folate cycle genes responsible for metabolizing methotrexate as well as its mechanism of action. In our work, we attempted to test a relationship between therapeutic response (efficacy and resistance) to methotrexate and -401C>T (rs 3758149) SNP in the *GGH* (gamma-glutamyl hydrolase) gene, which coordinates the processes of extracellular methotrexate transport. A groups patients consisted of 85 basic anti-inflammatory therapy-na ve patients diagnosed with rheumatoid arthritis, who were initially treated with methotrexate at a dose of 10 to 17.5 mg per week, with subsequently assessed therapeutic efficacy 6 months after the treatment onset based on dynamics in DAS28 index that allowed to identify groups of “responders” and “non-responders”. Next, all patients from select groups underwent molecular genetic typing for *GGH*-401C>T SNP by using real-time polymerase chain reaction. Our study allowed to find that prevalence of the TT homozygous genotype (OR = 5.09; 95% CI 1.11-23.3; $p = 0.037$) dominated in “methotrexate non-responders”, whereas “methotrexate responders” tended to have higher C allele frequency (OR = 0.54; 95% CI 0.27-1.01; $p = 0.087$), which allowed to identify them by genetic predictors of methotrexate therapeutic response in rheumatoid arthritis.

Keywords: rheumatoid arthritis, methotrexate, therapeutic response, single nucleotide polymorphism, γ -glutamyl hydrolase

Введение

Ревматоидный артрит (РА) — иммуновоспалительное (аутоиммунное) ревматическое заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся эрозивным артритом и системным поражением внутренних органов, приводящее к ранней инвалидности и сокращению продолжительности жизни пациентов. РА — одно из самых частых и тяжелых иммуновоспалительных заболеваний человека, что определяет большое меди-

цинское и социально-экономическое значение патологии. Распространенность РА среди взрослого населения в разных географических зонах мира колеблется от 0,5 до 2%. По данным официальной статистики, в России зарегистрировано около 200 тыс. пациентов с РА, в то время как по данным Российского эпидемиологического исследования, им страдают около 800 тыс. человек, что соответствует распространенности болезни в большинстве стран Европы [2].

Согласно последним рекомендациям Европейской антиревматической лиги (European League Against Rheumatism, EULAR), метотрексат (MT) представляет собой препарат «первой линии» базисной противовоспалительной терапии (БПВТ) РА, цель которой — достижение длительной ремиссии или низкой активности заболевания для предупреждения вышеуказанных социально-экономических последствий [13]. Базируясь на клиническом опыте, в действительности, 30-40% больных оказываются резистентны к MT, что побуждает к длительному, не всегда удачному, поиску новых путей лечения РА при потере сроков своевременного предупреждения прогрессирования болезни [7].

Как известно, терапевтический ответ организма человека на лекарственные средства (ЛС) может быть обусловлен влиянием различных генетических факторов, в том числе полиморфизмов генов, кодирующих белки ферментных систем, регулирующих этапы фармакокинетики и фармакодинамики ЛС [3].

Касаемо пути биотрансформации MT, доказано участие в нем транспортных белков (*reduced folate carrier* — RFC1, *multidrug resistance* — MDR1), ферментов, катализирующих процессы образования и расщепления активных полиглутамированных форм (*folylpolyglutamate synthase* — FPGS, *gamma-glutamyl hydrolase* — GGH) и обеспечивающих непосредственный механизм действия препарата (*thymidylate synthetase* — TS, *methylenetetrahydrofolate reductase* — MTHFR) [11].

В данной статье остановимся на изучении взаимосвязи терапевтического ответа на MT с SNP *GGH* -401C>T (rs 3758149). По анализу литературы исследование ферментативной активности GGH ведется более 20-ти лет. В 1993 году Rhee и соавт. на культуре клеток крысиной гепатомы исследовали каталитическую активность GGH и установили взаимосвязь высокой активности гидролазы с устойчивостью к MT [11]. В 2003 году Chave и соавт. выполнили работу по распознаванию полиморфизмов человеческой GGH на модели лейкозных клеток и ткани рака молочной железы и идентифицировали 6 SNP, которые увеличивают ее ферментативную функцию с развитием резистентности к MT. Одним из выделенных полиморфизмов стал SNP -401C>T, представленный заменой цитозина (C) на тимин (T) в промоторной области гена *GGH* [5]. В 2004 году Dervieux и соавт. установили взаимосвязь снижения эффективности MT у больных РА с носительством гомозиготного генотипа TT и объяснили это высокой ферментативной активностью GGH с ускоренным отщеплением глутаминовых остатков от «активных» метаболитов MT [6].

Цель нашего исследования — установить взаимосвязь терапевтического ответа на MT с SNP *GGH* -401C>T (rs 3758149) при РА.

Материалы и методы

Группа исследуемых пациентов состояла из 85 больных с достоверным диагнозом «РА», установленным в соответствии с классификационными критериями ACR/EULAR 2010 г. [4], «наивных» по БПВТ, которым впервые был назначен MT в стартовой дозе 10 мг в неделю с последующей постепенной эскалацией до 17,5 мг в неделю, в зависимости от индивидуальной переносимости и эффективности. Набор больных проводился с 2013 по 2015 год, срок оценки терапевтического эффекта MT составил 6 месяцев. Инструментом для оценки результативности лечения стала динамика индекса DAS28.

Пациенты с онкологическими, гематологическими и аутоиммунными заболеваниями были исключены из исследования.

Пол, возраст, рентгенологическая стадия заболевания и изначальная степень активности болезни по индексу DAS28 не влияли на критерии отбора.

Клиническая характеристика пациентов

В исследовании приняли участие 67 женщин (78,8%) и 18 мужчин (21,2%) в возрасте от 25 до 77 лет. Средний возраст больных составил $54,6 \pm 11,3$ лет, возраст дебюта заболевания — $49,8 \pm 13,2$ лет.

Преимущественное число больных (41 — 48,2%) имели II рентгенологическую стадию РА, остальные стадии болезни: 0, I, III, IV распределились примерно равным образом — 15 (17,6%), 10 (11,8%), 9 (10,6%), 10 (11,8%) соответственно. Большинство больных были серопозитивны по ревматоидному фактору (72 — 84,7%) и антителам к циклическому цитруллинированному пептиду (66 — 77,6%). Изначальная степень активности РА по индексу DAS28 была следующая: низкая ($DAS\ 28 \leq 3,2$) — у 17 (20%), умеренная ($3,2 < DAS28 \leq 5,1$) — у 29 (34,1%) и высокая ($DAS28 > 5,1$) — у 39 (45,9%) больных.

С целью купирования болевого синдрома и снижения воспалительной активности заболевания (до наступления лечебного эффекта MT) 36 (42,3%) из 85 больных РА получали глюкокортикоиды *per os* в дозе от 5 до 15 мг в сутки, эквивалентной преднизолону, остальные 49 (57,7%) пациентов получали нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) и локальную терапию глюкокортикоидами, что не оказывало влияния на ход исследования.

Амплификация полиморфизма -401 C>T гена *GGH* проводилась на базе отдела молекулярно-биологической диагностики ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови» с

ТАБЛИЦА 1. ЧАСТОТА АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ SNP *GGH* -401C>T В ГРУППАХ «ОТВЕТЧИКОВ» И «НЕОТВЕТЧИКОВ» НА ТЕРАПИЮ МТ

TABLE 1. FREQUENCY OF ALLELES AND GENOTYPES OF SNP *GGH* -401C>T IN THE GROUPS OF "RESPONDERS" AND "NON-RESPONDERS" TO MT THERAPY

SNP <i>GGH</i> -401C>T	«НЕОТВЕТЧИКИ» “non-responders”		«ОТВЕТЧИКИ» “responders”		p	OR (95 CI)
	n	%	n	%		
Аллели Alleles						
C	29	60,4	90	73,8	0,087**	0,54 (0,27-1,01)
T	19	39,6	32	26,2		
Генотипы Genotypes						
CC	10	41,7	32	52,5	0,370	0,65 (0,25-1,68)
CT	9	37,5	26	42,6	0,852	0,81 (0,31-2,13)
TT	5	20,8	3	4,9	0,037*	5,09 (1,11-23,3)

Примечание: * – различия статистически значимы при $p < 0,05$; ** – различия находятся на уровне тенденции при $0,05 < p \leq 0,1$.

Note: *, differences statistically significant when $p < 0.05$; **, differences are at the trend level when $0.05 < p \leq 0.1$.

аллель-специфическими праймерами методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (PCR-RFLP) по методике Dervieux и соавт. [6].

Статистический анализ результатов исследований проведен с применением программ Statistica 10.0 для Windows и программы Ms Excel пакета Ms Office.

Для оценки достоверности (p) различий применяли критерий χ^2 Пирсона для четырехпольных таблиц, критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса и точный двусторонний критерий Фишера.

При $p \leq 0,05$ различия являлись статистически значимыми, незначимыми при $p > 0,1$; промежуточные значения p ($0,05 < p \leq 0,1$) принимали за тенденцию к различиям.

Сила ассоциации признаков оценивалась по показателю отношения шансов (OR – odds ratio) – отношение шансов события в одной группе к шансам этого же события в другой группе, с расчетом 95%-го доверительного интервала (95% Confidence Interval – 95% CI) [1].

Результаты и обсуждение

На первом этапе нашей работы мы оценивали эффективность МТ у пациентов с РА. Динамика индекса DAS28 в ходе 6 месяцев лечения позволила нам выделить группы больных с различным терапевтическим ответом на МТ. Так, положительный результат лечения достигнут у 61 (71,8%) пациента с РА («ответчики»), среди которых у 41 (67,2%) больного зарегистрирована ремиссия за-

болевание ($\text{DAS28} < 2,6$), у 12 (19,7%) активность болезни стала низкая ($2,6 \leq \text{DAS28} \leq 3,2$) или значимо регрессировала до умеренной ($3,2 < \text{DAS28} \leq 5,1$) у 8 (13,1%) больных. При этом практически треть больных исследуемой группы – 24 (28,2%) – продемонстрировала отсутствие ответа на терапию МТ («неответчики»), что заключалось в сохраняющейся у них высокой ($\text{DAS28} > 5,1$) и умеренной ($3,2 \leq \text{DAS28} \leq 5,1$) активности болезни в 8 (33%) и 14 (58,4%) случаев соответственно, при низких значениях индекса активности ($\text{DAS28} \leq 3,2$) лишь у 2 (8,3%) пациентов.

Вторым этапом нашего исследования стала оценка зависимости терапевтического ответа на МТ с полиморфизмом гена *GGH* -401C>T (rs 3758149). Результаты представлены в таблице 1.

По результатам анализа распределения частот аллелей и генотипов SNP *GGH* -401C>T у «ответчиков» и «неответчиков» на МТ мы констатировали, что у больных, резистентных к проводимому лечению, достоверно преобладает частота встречаемости гомозиготного генотипа ТТ (OR = 5,09; 95% CI 1,11-23,3; $p = 0,037$), в то время как у пациентов с положительным результатом лечения наметилась тенденция к преобладанию частоты аллеля С (OR = 0,54; 95% CI 0,27-1,01; $p = 0,087$), что позволяет нам приравнять генотип *GGH* -401ТТ к генетическому маркеру неэффективности, а аллель *GGH* -401С – к возможному предиктору эффективности терапии МТ при РА.

В последнее десятилетие во всем мире идет активный поиск генетических предикторов эффек-

тивности и переносимости МТ при РА. Несмотря на это, литературные данные по изучению взаимосвязи результативности МТ у больных РА с SNP *GGH* -401C>T немногочисленны и неоднозначны. В одной из последних работ индийских исследователей (Muralidharan и соавт.) продемонстрирована достоверная корреляция генотипа *GGH* -401TT с высокой концентрацией активных полиглутамирированных форм МТ в эритроцитах больных РА, что могло бы, в отличие от наших данных, объяснить эффективность, а не резистентность к терапии в данной группе больных. При этом авторы таких выводов не обнаруживают, а рекомендуют проведение дальнейших работ в этом направлении с оценкой расовых и этнических особенностей больных [10]. В свою очередь другие индийские авторы (Sandhu и соавт.) не обнаружили взаимосвязи концентрации полиглутаматов МТ с SNP *GGH* -401C>T, а в качестве возможного предиктора эффективности лечения отметили другой полиморфизм гена *GGH* - 452C>T, генотип CC [12]. Японцы также

не обнаружили корреляции эффективности МТ при РА с SNP *GGH* -401C>T, но отметили, что полученные ими данные могут отличаться от европейской популяции [14]. Malic и Ranganathan в своей обзорной статье по фармакогенетике МТ подтверждают противоречивость итогов работ разных авторов по влиянию SNP *GGH* -401C>T на эффективность терапии РА, при этом частью исследователей отмечен не изолированный вклад SNP *GGH* -401C>T на результат лечения, а в комплексе с полиморфизмом транспортера RFC1 80 A>G [9]. Полученные же нами данные о потенциальной корреляции эффективности терапии МТ с аллелем *GGH* -401C совпадают с итогами работы Lima и соавт. [8].

Таким образом, полученные нами результаты диктуют необходимость дальнейших разработок в области персонифицированного подхода к базисной терапии МТ, в частности предварительного генотипирования больных РА на носительство полиморфных вариантов гена *GGH* -401C>T с учетом популяционных особенностей.

Список литературы / References

1. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. 3-е изд. М.: МедиаСфера, 2006. 312 с. [Rebrova O.Yu. Statistical analysis of medical data. Application of the application package STATISTICA. 3rd ed]. Moscow: MediaSphere, 2006. 312 p.
2. Российские клинические рекомендации. Ревматология / под ред. Е.Л. Насонова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. 448 с. [Russian clinical guidelines. Rheumatology. Ed. by E.L. Nasonov]. Moscow: GEOTAR-Media, 2020. 448 p.
3. Сычев Д.А., Муслимова О.В., Гаврисюк Е.В., Косовская А.В., Кукес В.Г. Фармакогенетические технологии персонализированной медицины: оптимизация применения лекарственных средств // Terra medica, 2011. Т. 64, № 1. С. 4-9. [Sychev D.A., Muslimova O.V., Gavrisyuk E.V., Kosovo A.V., Kukes V.G. Pharmacogenetic technologies of personalized medicine: optimization of drug use. *Terra Medica*, 2011, Vol. 64, no. 1, pp. 4-9. (In Russ.)]
4. Aletaha D., Neogi T., Silman A.J., Funovits J., Felson D.T., Bingham C.O. 3rd., Birnbaum N.S., Burmester G.R., Bykerk V.P., Cohen M.D., Combe B., Costenbader K.H., Dougados M., Emery P., Ferraccioli G., Hazes J.M., Hobbs K., Huizinga T.W., Kavanaugh A., Kay J., Kvien T.K., Laing T., Mease P., Ménard H.A., Moreland L.W., Naden R.L., Pincus T., Smolen J.S., Stanislawski-Biernat E., Symmons D., Tak P.P., Upchurch K.S., Vencovsky J., Wolfe F., Hawker G. Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann. Rheum. Dis.*, 2010, Vol. 62, no. 9, pp. 2569-2581.
5. Chave K.J., Ryan T.J., Chmura S.E., Galivan J. Identification of single nucleotide polymorphisms in the human gamma-glutamyl hydrolase gene and characterization of promoter polymorphisms. *Gene*, 2003, Vol. 319, pp. 167-175.
6. Dervieux T., Kremer J., Lein D.O., Capps R., Barham R., Meyer G., Smith K., Caldwell J., Furst D.E. Contribution of common polymorphisms in reduced folate carrier and gamma-glutamylhydrolase to methotrexate polyglutamate levels in patients with rheumatoid arthritis. *Pharmacogenetics*, 2004, Vol. 14, no. 11, pp. 733-739.
7. Halilova K.I., Brown E.E., Morgan S.L., Bridges S.L. Jr, Hwang M.H., Arnett D.K., Danila M.I. Markers of treatment response to methotrexate in rheumatoid arthritis: where do we stand? *Int. J. Rheumatol.*, 2012, Vol. 2012, 978396. doi: 10.1155/2012/978396.
8. Lima A., Bernardes M., Azevedo R., Seabra V., Medeiros R. Moving toward personalized medicine in rheumatoid arthritis: SNPs in methotrexate intracellular pathways are associated with methotrexate therapeutic outcome. *Pharmacogenomics*, 2016, Vol. 17, no. 15, pp. 1649-1674.
9. Malik F., Ranganathan P. Methotrexate pharmacogenetics in rheumatoid arthritis: a status report. *Pharmacogenomics*, 2013, Vol. 14, no. 3, pp. 305-314.
10. Muralidharan N., Sundaram R., Kodidela S., Chengappa K.G., Mariaselvam C.M., Misra D.P., Negi V.S. Folylpolylglutamate synthetase (FPGS) gene polymorphisms may influence methotrexate adverse events in South Indian Tamil Rheumatoid Arthritis patients. *Pharmacogenomics J.*, 2019, Vol. 20, pp. 342-349.

11. Rhee M.S., Wang Y., Nair M.G., Galivan J. Acquisition of resistance to antifolates caused by enhanced gamma-glutamyl hydrolase activity. *AACR*, 1993, Vol. 15, no. 53, pp. 2227-2230.
12. Sandhu A., Ahmad S., Kaur J., Bhatnagar A., Dhawan V., Dhir V. Do SNPs in folate pharmacokinetic pathway alter levels of intracellular methotrexate polyglutamates and affect response? A prospective study in Indian patients. *Clin. Rheumatol.*, 2018, Vol. 37, pp. 3221-3228.
13. Smolen J.S., Landewé R., Bijlsma J., Burmester G., Chatzidionysiou K., Dougados M., Nam J., Ramiro S., Voshaar M., van Vollenhoven R., Aletaha D., Aringer M., Boers M., Buckley C.D., Buttgerit F., Bykerk V., Cardiel M., Combe B., Cutolo M., van Eijk-Hustings Y., Emery P., Finckh A., Gabay C., Gomez-Reino J., Gossec L., Gottenberg J.E., Hazes J.M.W., Huizinga T., Jani M., Karateev D., Kouloumas M., Kvien T., Li Z., Mariette X., McInnes I., Mysler E., Nash P., Pavelka K., Poór G., Richez C., van Riel P., Rubbert-Roth A., Saag K., da Silva J., Stamm T., Takeuchi T., Westhovens R., de Wit M., van der Heijde D. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2016 update. *Ann. Rheum. Dis.*, 2017, Vol. 76, no. 6, pp. 960-977.
14. Yamamoto T., Shikano K., Nanki T., Kawai S. Folylpolyglutamate synthase is a major determinant of intracellular methotrexate polyglutamates in patients with rheumatoid arthritis. *Sci. Rep.*, 2016, Vol. 6, 35615. doi: 10.1038/srep35615.

Авторы:

Девальд И.В. — к.м.н., доцент кафедры терапии ИДПО ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»; доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Ходус Е.А. — старший лаборант лаборатории учебных дисциплин кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Хромова Е.Б. — к.б.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Мысливцова К.Ю. — врач-ревматолог, Клиника профессора Кинзерского, г. Челябинск, Россия

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

Authors:

Devald I.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Therapy, Institute of Continuing Professional Education, South Ural State Medical University; Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Khodus E.A., Senior Laboratory Assistant, Laboratory of Academic Disciplines, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Khromova E.B., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Myslivtsova K. Yu., Rheumatologist, Clinic of Professor Kinsersky, Chelyabinsk, Russian Federation

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

Поступила 09.06.2020

Отправлена на доработку 12.07.2020

Принята к печати 01.08.2020

Received 09.06.2020

Revision received 12.07.2020

Accepted 01.08.2020

РОЛЬ НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ В ПАТОГЕНЕЗЕ КОГНИТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ ПОСЛЕ АОРТОКОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ

Зенина А.А.^{1,2}, Левман Р.А.¹, Силаев А.А.², Шуматов В.Б.¹,
Маркелова Е.В.¹

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

² ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», г. Владивосток, Россия

Резюме. Целью исследования явилось выявление количественных изменений NSE, NGF, IL-1 β , IL-10, IL-6 у больных с послеоперационной когнитивной дисфункцией после аортокоронарного шунтирования в динамике. В исследовании участвовали 44 пациента от 62 до 75 лет после аортокоронарного шунтирования. На основании результатов МоСА-теста выделили две группы: I группа – 22 пациента с изменением результатов МоСА-теста до операции и на 7-е сутки после операции менее 36 – это пациенты без послеоперационной когнитивной дисфункции; II группа – 22 пациента с ухудшением показателя МоСА-теста более 36 – это группа с послеоперационной когнитивной дисфункцией. Показатели NSE, NGF, IL-1 β , IL-10, IL-6 определялись методом твердофазного иммуноферментного анализа (R&D Systems, США) в динамике 4 раза: до операции, после операции, через 24 часа после операции и на 7-е сутки после операции. Для сравнения средних значений использовался непараметрический критерий Манна–Уитни. Статистически значимым считалось $p < 0,05$. У пациентов с послеоперационной когнитивной дисфункцией выявлено более высокое содержание NSE до операции, после операции и через 24 часа после операции, что свидетельствует о роли нейрон-специфической енолазы в патогенезе развития ранних послеоперационных когнитивных осложнений. Выявлено выраженное повышение уровня фактора роста нервов у пациентов II группы через 24 часа после операции и его более высокая концентрация у этой группы на 7-е сутки после операции, что может быть связано с компенсаторными процессами в ответ на действие повреждающих факторов. У пациентов II группы отмечался более выраженный и длительный провоспалительный ответ, что подтверждается динамикой изменений IL-6 в наших исследованиях, при одновременном повышении IL-10. Возможно, это связано с проявлением у IL-10 некоторых провоспалительных свойств или же более интенсивной реакцией на выраженный провоспалительный ответ. Выявлена сопряженность повышения уровня NSE и IL-10. Интерес вызывают результаты исследования IL-1 β , плавное снижение которого наблюдается на всех этапах у пациентов II группы, что, возможно, отражает дефицит противовоспалительной реакции, несмотря на то, что IL-1 β является провоспалительным цитоки-

Адрес для переписки:

Зенина Александра Александровна
ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
690002, Россия, г. Владивосток, пр. Острякова, 2.
Тел.: 8 (914) 707-26-52.
E-mail: zenina.aa@dyfu.ru

Address for correspondence:

Zenina Alexandra A.
Pacific State Medical University
690002, Russian Federation, Vladivostok, Ostryakov ave., 2.
Phone: 7 (914) 707-26-52.
E-mail: zenina.aa@dyfu.ru

Образец цитирования:

А.А. Зенина, Р.А. Левман, А.А. Силаев, В.Б. Шуматов, Е.В. Маркелова «Роль нейровоспаления в патогенезе когнитивных расстройств после аортокоронарного шунтирования» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 3. С. 341–346.
doi: 10.46235/1028-7221-313-RON
© Зенина А.А. и соавт., 2020

For citation:

A.A. Zenina, R.A. Levman, A.A. Silaev, V.B. Shumatov, E.V. Markelova “Role of neuroinflammation in pathogenesis of cognitive disorders after aortocoronary bypass grafting”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 3, pp. 341–346.
doi: 10.46235/1028-7221-313-RON
DOI: 10.46235/1028-7221-313-RON

ном, или же его недостаток способствует развитию послеоперационных когнитивных расстройств, вследствие нарушения нейронной пластичности и функционирования гиппокампа.

Ключевые слова: нейропептиды, интерлейкины, послеоперационные когнитивные расстройства, аортокоронарное шунтирование

ROLE OF NEUROINFLAMMATION IN PATHOGENESIS OF COGNITIVE DISORDERS AFTER AORTOCORONARY BYPASS GRAFTING

Zenina A.A.^{a, b}, Levman R.A.^a, Silaev A.A.^b, Shumatov V.B.^a, Markelova E.V.^a

^a Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

^b Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. Here we present the study aimed to identify dynamic quantitative changes in NSE, NGF, IL-1 β , IL-10, IL-6 in patients with postoperative cognitive dysfunction after coronary artery bypass grafting. There were enrolled 44 patients aged 62 to 75 years after coronary artery bypass grafting. MoCA test data allowed to subdivide patients into two groups: group I – 22 patients with MoCA test data changed by less than 3b score before surgery and on day 7 after surgery, no postoperative cognitive dysfunction; Group II – 22 patients with deteriorated MoCA test score by more than 3b, with postoperative cognitive dysfunction. Level of NSE, NGF, IL-1 β , IL-10, IL-6 was measured by using enzyme-linked immunosorbent assay (R&D Systems, USA) at four time points: before surgery, after surgery, 24 hours and 7t day after surgery. Mean values were compared by using non-parametric Mann–Whitney test. Significance level was set at $p < 0.05$. It was found that patients with postoperative cognitive disorders contained higher level of serum NSE before surgery, immediately post-surgery and 24 hours after surgery, evidences about a role for neuron-specific enolase in the pathogenesis of early postoperative cognitive complications. A pronouncedly increased level of serum nerve growth factor in patients from group II was revealed 24 hours after surgery and elevated concentration on day 7 after surgery, which may be related to compensatory processes in response to damaging factors. Patients from group II were noted to have more marked and prolonged pro-inflammatory response confirmed by dynamic changes in IL-6 level paralleled with elevated amount of serum IL-10. It might be linked to some IL-10-mediated pro-inflammatory properties or more extensive reaction to pronounced pro-inflammatory response. The association between increased NSE and IL-10 levels was revealed. Of interest, the level of IL-1 β smoothly declined at all stages in group II patients potentially reflecting impaired anti-inflammatory response, despite the fact that IL-1 β is a pro-inflammatory interleukin, or its lack contributes to developing postoperative cognitive disorders, due to disturbed neural plasticity and hippocampus functioning.

Keywords: neuropeptides, interleukins, postoperative cognitive impairment, coronary artery bypass grafting

Введение

В данной статье освещены актуальные вопросы поиска универсальных маркеров, которые могли бы свидетельствовать об органических изменениях при когнитивных расстройствах, в частности возникающих после аортокоронарного шунтирования. Послеоперационная когнитивная дисфункция (ПОКД) — одно из часто встречающихся осложнений после кардиохирургических операций, в том числе аортокоронарного шунтирования — 5-86% случаев [1, 7]. Поражения головного мозга разного генеза вызывают значительное снижение уровня жизни и имеют высокую степень инвалидизации. Существует три основных фактора повреждения головного мозга у пациентов, перенесших аортокоронарное шунтирование: системная воспалительная реакция, эмболия и гипоперфузия. Действие этих факторов способствует развитию нейровоспале-

гических операций, в том числе аортокоронарного шунтирования — 5-86% случаев [1, 7]. Поражения головного мозга разного генеза вызывают значительное снижение уровня жизни и имеют высокую степень инвалидизации. Существует три основных фактора повреждения головного мозга у пациентов, перенесших аортокоронарное шунтирование: системная воспалительная реакция, эмболия и гипоперфузия. Действие этих факторов способствует развитию нейровоспале-

ния и нейрогуморальных изменений [4, 6], которые проходят две фазы — провоспалительную и противовоспалительную. В первой фазе происходит выделение провоспалительных цитокинов, а во второй — противовоспалительных [5].

Множество неврологических нарушений, возникающих вследствие данных процессов, обуславливают необходимость своевременной диагностики и прогнозирования их возникновения. В нашем исследовании в качестве биологического маркера ПОКД мы рассматриваем NSE (Нейрон-специфическая енолаза) и NGF (Фактор роста нервов). Нейрон-специфическая енолаза в качестве индикатора поражения нейронов используется при ведении пациентов с болезнью Паркинсона и эпилепсией, а также известна ее роль при оценке степени поражения нейронов при острых нарушениях мозгового кровообращения [3], при которых установлен факт повышения концентрации NSE в сыворотке крови и выявлена корреляционная зависимость от степени тяжести патологического процесса. Нейротрофические факторы, в частности фактор роста нервов, напротив, играют роль в синаптогенезе и выживаемости нейронов головного мозга, а также в процессах адаптации к внешним воздействиям [2].

Целью настоящего исследования является выявление количественных изменений NSE, NGF, IL-1 β , IL-10, IL-6 у больных ПОКД после АКШ в динамике.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 44 пациента обоего пола в возрасте от 62 до 75 лет после аортокоронарного шунтирования. Методом оценки когнитивных нарушений являлась Монреальская когнитивная шкала — “MoCA”. Оценивалась динамика до операции и на 7-е сутки после операции. На основании результата тестирования MoCA выделили две группы. В первую группу вошли 22 пациента с изменением результатов MoCA-теста до операции и на 7-е сутки после операции менее 36 — это пациенты без ПОКД. Во вторую включены 22 пациента с ухудшением показателя MoCA-теста более 36 от дооперационного уровня — это группа с ПОКД. Значения NSE, NGF, IL-1 β , IL-10, IL-6 определялись в динамике 4 раза: до операции, после операции, через 24 часа после операции и на 7-е сутки после операции. Показатели нейропептидов и интерлейкинов определены методом твердофазного иммуноферментного анализа (R&D Systems,

США). Результаты представлялись в виде: нижний квартиль, средний квартиль (медиана) и верхний квартиль для NSE в нг/мл; для NGF, IL-1 β , IL-10, IL-6 в пг/мл. Для сравнения средних значений использовался непараметрический критерий Манна–Уитни. Статистически значимым считалось $p < 0,05$.

Результаты

Концентрация нейрон-специфической енолазы в I группе до операции составляла 3,48 (3,14–4,95) нг/мл, что ниже в сравнении со II группой — 4,93 (4,3–5,86) нг/мл, $p < 0,05$. После операции показатель увеличился в обеих группах ($p < 0,05$), однако концентрация NSE во II группе — 6,37 (5,84–6,96) нг/мл была выше, чем в I — 5,30 (4,1–5,96) нг/мл ($p < 0,05$). Спустя 24 ч после операции содержание этого белка не отличалось от дооперационного уровня в обеих группах ($p > 0,05$) и составило в I группе 3,64 (3,44–4,59) нг/мл, что ниже чем во II группе — 5,24 (4,22–5,74) нг/мл ($p < 0,05$). На 7-е сутки после операции концентрация этого нейропептида в I группе 4,56 (3,64–5,28) нг/мл статистически значимо не отличалась от II группы 4,3 (2,83–5,98) нг/мл ($p > 0,05$). Однако показатели I группы на 7-е сутки после операции превышали дооперационные значения ($p < 0,05$), но были ниже, полученных сразу после операции ($p < 0,05$). Показатели II группы в этот же период исследования продолжали снижаться и стали ниже полученных до операции значений ($p < 0,05$).

Показатели NGF до операции значимо не отличались в обеих группах: 4,34 (3,75–5,59) пг/мл для I и 4,8 (3,73–8,60) пг/мл для II группы, $p > 0,05$. В период после операции концентрация фактора роста нервов как I, так и II групп возросла ($p < 0,05$), достигнув значений 6,15 (4,77–7,87) пг/мл для I и 6,1 (4,09–7,50) пг/мл для II группы соответственно, но значимо не отличалась между группами ($p > 0,05$). Через 24 ч после операции концентрация этого нейропептида продолжала увеличиваться и составила в I группе 7,09 (5,22–7,80) пг/мл, что ниже, чем во II 8,87 (6,83–11,11) пг/мл ($p < 0,05$). На 7-е сутки после операции содержание NGF снижалось в обеих группах, но в I группе 5,67 (4,5–6,66) пг/мл значения оказались ниже, чем во II группе 7,09 (5,58–11,49) пг/мл ($p < 0,05$). При этом содержание этого белка в обеих группах в этот период исследования оставалось выше, чем до операции, но ниже показателей после операции в этой же группе ($p < 0,05$).

Содержание IL-1 β в период до операции значительно не отличалось между группами (в I группе — 1,07 (0,6-1,24) пг/мл и во II группе — 1,03 (0,42-1,72) пг/мл). Концентрация этого цитокина у пациентов без послеоперационной когнитивной дисфункции незначительно повышалась после операции — 1,24 (0,98-1,45) пг/мл ($p > 0,05$) и в дальнейшем снижалась ниже дооперационного периода через 24 часа после операции — 0,98 (0,88-1,42) пг/мл и 7-е сутки после операции — 0,56 (0,47-0,78) пг/мл, ($p < 0,05$). У пациентов с послеоперационной когнитивной дисфункцией происходило статистически незначимое ($p > 0,05$) постоянное снижение содержания IL-1 β на протяжении всего послеоперационного периода и составило после операции 0,84 (0,76-1,44) пг/мл, через 24 часа после операции 0,81 (0,51-0,9) пг/мл, 7-е сутки после операции 0,8 (0,6-1,13) пг/мл. Следует отметить, что на 7-е сутки после операции концентрация этого цитокина во II группе оказалась выше, чем в этот период в I группе, но ниже чем в I группе через 24 часа после операции ($p < 0,05$).

Концентрация IL-6 до операции была примерно равнозначной в обеих группах: в I группе 1,0 (0,1-3,0) пг/мл, II группе 1,1 (0,2-5,6) пг/мл, ($p > 0,05$). После операции отмечено существенное повышение этого показателя, но его значение статистически значимо не отличается между I группой — 178,6 (154,8-266,8) пг/мл и II группой — 169,9 (145,5-247,8) пг/мл, ($p > 0,05$). В дальнейшем, через 24 часа после операции, зафиксировано снижение этого показателя, но его концентрация оставалась выше у пациентов с ПОКД 51,4 (46,61-54,7) пг/мл, чем у пациентов без послеоперационных когнитивных расстройств — 32,4 (14,8-47,8) пг/мл ($p < 0,05$). На 7-е сутки после операции в I группе его концентрация значительно снизилась — 14,9 (12,82-30,24) пг/мл ($p < 0,01$), а во II группе она, напротив, повышалась — 69,92 (45,52-89,81) пг/мл ($p < 0,05$).

Содержание IL-10 до операции сравнительно не отличалось между группами и составило в I группе 8,39 (5,03-11,38) пг/мл, а во II группе 9,04 (6,64-10,02) пг/мл ($p > 0,05$). В период после операции получено выраженное повышение этого цитокина в двух группах ($p < 0,01$), но у пациентов с ПОКД его содержание оказалось выше (426,63 (270,17-679,87) пг/мл), чем в группе без ПОКД (305,11 (207,17-428,21)) пг/мл, ($p < 0,05$). Через 24 часа после операции значение IL-10 снижалось в двух группах и было в I группе 20,24 (15,26-26,38) пг/мл, а во II группе — 20,44 (16,40-22,3) пг/мл,

($p > 0,05$). На 7-е сутки после операции концентрация этого цитокина продолжала снижаться в обеих группах, однако у пациентов без послеоперационных когнитивных нарушений (10,44 (6,18-13,02)) пг/мл она оказалась ниже, чем у исследуемых с послеоперационными когнитивными расстройствами 15,16 (12,9-20,4) пг/мл, ($p < 0,05$).

Обсуждение

У пациентов с послеоперационной когнитивной дисфункцией выявлено более высокое содержание NSE до операции, после операции и через 24 часа после операции, что свидетельствует о роли нейрон-специфической енолазы в патогенезе развития ранних послеоперационных когнитивных осложнений. Повышение нейрон-специфической енолазы может свидетельствовать о более выраженной гибели нейронов и выходе фермента в экстрацеллюлярное пространство [2]. У пациентов, перенесших аортокоронарное шунтирование, вне зависимости от ПОКД наблюдалось повышение в сыворотке крови уровня фактора роста нервов (NGF) по отношению к дооперационному значению. Такая динамика может характеризовать возникающие процессы миелинизации, дифференцировки симпатических и сенсорных нейронов, синаптогенез посредством связи с LNGFR и TrkA — рецепторами [2]. Более значительное увеличение этого показателя у пациентов с ПОКД через 24 часа после операции и его более высокая концентрация у этой группы на 7-е сутки после операции могут быть связаны с компенсаторными процессами в ответ на действие повреждающих факторов.

У пациентов с ПОКД отмечался более выраженный и длительный поздний провоспалительный ответ, что подтверждается динамикой изменений IL-6 в наших исследованиях, при одновременном нарастании уровня IL-10. Возможно, это связано с проявлением у IL-10 некоторых провоспалительных свойств или же более интенсивной реакцией на выраженный провоспалительный ответ. Выявлена сопряженность повышения уровня NSE и IL-10. Интерес вызывают результаты исследования IL-1 β , плавное снижение которого наблюдалось на всех этапах обследования у пациентов II группы. Возможно, в развитии ПОКД этот интерлейкин отражает дефицит противовоспалительной реакции, несмотря на то, что является провоспалительным цитокином, или же его дефицит способствует развитию когнитивных нарушений, вследствие

нарушения нейронной пластичности и функционирования гиппокампа.

Заключение

У пациентов с ПОКД отмечено значительное повреждение нейронов, что показано динами-

кой NSE в раннем послеоперационном периоде, с последующим выраженным включением компенсаторных процессов синаптогенеза в более позднем послеоперационном периоде. Зарегистрирован более длительный и значительный провоспалительный ответ с недостаточностью противовоспалительной реакции.

Список литературы / References

1. Алексеевич Г.Ю., Родиков М.В., Петрова М.М., Еремина О.В., Алексеевич Г.В. Сравнительная оценка тяжести когнитивной дисфункции у больных с ишемической болезнью сердца после аортокоронарного шунтирования в зависимости от способа оперативного вмешательства // Сибирский медицинский журнал, 2015. Т. 136, № 5. С. 77-81. [Alekseevich G.Yu., Rodikov M.V., Petrova M.M., Eremina O.V., Alekseevich G.V. Comparative assessment of the severity of cognitive dysfunction in patients with coronary heart disease after coronary artery bypass grafting depending on the possibilities of surgical intervention. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal = Siberian Medical Journal*, 2015, Vol. 136, no. 5, pp. 77-81. (In Russ.)]
2. Жукова И.А., Алифирова В.М., Жукова Н.Г. Нейронспецифическая енолаза как неспецифический маркер нейродегенеративного процесса // Бюллетень сибирской медицины, 2011. Т. 10, № 2. С. 15-19. [Zhukova I.A., Alifirova V.M., Zhukova N.G. Neuron-specific enolase as a non-specific marker of the neurodegenerative process. *Byulleten sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine*, 2011, Vol. 10, no. 2, pp. 15-19. (In Russ.)]
3. Кадырова И.А. Нейронспецифические сывороточные маркеры GFAP, MMP-9, NSE у пациентов с метаболическим синдромом // Современные проблемы науки и образования, 2017. № 5. С. 2-7. [Kadyrova I.A. Neuron-specific serum markers GFAP, MMP-9, NSE in patients with metabolic syndrome. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*, 2017, no. 5, pp. 2-7. (In Russ.)]
4. Овезов А.М., Пантелеева М.В., Князев А.В., Луговой А.В. Когнитивная дисфункция и общая анестезия: от патогенеза к профилактике и коррекции // Неврология и психиатрия, психосоматика, 2016. № 8 (3). С. 101-105. [Ovezov A.M., Panteleeva M.V., Knyazev A.V., Lugovoy A.V. Cognitive dysfunction and general anesthesia: from pathogenesis to prevention and correction. *Nevrologiya i psikhiatriya, psikhosomatika = Neurology and Psychiatry, Psychosomatics*, 2016, no. 8 (3), pp. 101-105. (In Russ.)]
5. Овчинников Д.А., Амосов Д.Д., Воробьев Е.А., Гарнюк В.В. Когнитивная дисфункция и содержание в крови маркеров воспалительного ответа у пациентов, перенесших аортокоронарное шунтирование // Журнал неврологии и психиатрии, 2017. № 4. С. 5-10. [Ovchinnikov D.A., Amosov D.D., Vorobyev E.A. Cognitive dysfunction and blood circulation of the markers of inflammatory response in patient after CABG. *Zhurnal nevrologii i psikhiatrii = Neurology and Psychiatry Journal*, 2017, no. 4, pp. 5-10. (In Russ.)]
6. Хатинский А.С., Фурсов А.А. Применение севофлурана в перфузионном периоде при операциях на открытом сердце // Тихоокеанский медицинский журнал, 2012. № 4. С. 29-31. [Khatinsky A.S., Fursov A.A. The Administration of sevofluran in perfused period at open heart surgery. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2012, no. 4, pp. 29-31. (In Russ.)]
7. Pappa M., Theodosiadis N.V., Tsounis A., Sarafis P. Pathogenesis and treatment of post-operative cognitive dysfunction. *Electron. Physician*, 2017, Vol. 9, no. 2, pp. 3768-3775.

Авторы:

Зенина А.А. — аспирант кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; врач анестезиолог-реаниматолог, отделение анестезиологии и реанимации ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», г. Владивосток, Россия

Левман Р.А. — студент лечебного факультета ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Authors:

Zenina A.A., Postgraduate Student, Department of Normal and Pathological Physiology, Pacific State Medical University; Anesthesiologist-Resuscitator, Department of Anesthesiology and Intensive Care, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

Levman R.A., Student of the Medical Faculty, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Силаев А.А. — к.м.н., заведующий отделением анестезиологии и реанимации ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», г. Владивосток, Россия

Шуматов В.Б. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой анестезиологии, реанимации, интенсивной терапии и скорой медицинской помощи 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

Silaev A.A., PhD (Medicine), Head, Department of Anesthesiology and Intensive Care, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

Shumatov V.B., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Anesthesiology, Resuscitation, Intensive Care and Emergency Medical Care, 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

Поступила 08.06.2020
Отправлена на доработку 12.07.2020
Принята к печати 01.08.2020

Received 08.06.2020
Revision received 12.07.2020
Accepted 01.08.2020

ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ КАВИТАЦИИ НА ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ РИНОСИНУСИТОМ И ОБОСТРЕНИЕМ ХРОНИЧЕСКОГО ГНОЙНОГО СРЕДНЕГО ОТИТА

**Коркмазов М.Ю., Коркмазов А.М., Дубинец И.Д., Смирнов А.С.,
Корнова Н.В.**

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения
РФ, г. Челябинск, Россия

Резюме. Обращение пациентов к оториноларингологу с обострением хронического гнойного среднего отита, возникшего при заболевании пациентов острым риносинуситом, остается частым явлением. Проведенный литературный обзор показал, что большое внимание уделяется улучшению консервативной терапии этих пациентов, а немедикаментозные методики остаются маловостребованными. В этом контексте, на основе детального изучения биофизических характеристик, обоснована возможность использования в комплексной терапии низкочастотной ультразвуковой кавитации для повышения локальной иммунологической резистентности слизистых оболочек полостей ЛОР органов.

Цель — повысить эффективность лечения острого риносинусита и обострения хронического гнойного среднего отита на основе изучения времени нормализации провоспалительного цитокинового профиля при использовании низкочастотной ультразвуковой кавитации в комплексной терапии.

В исследование были включены 63 пациента. Из них контрольную группу ($n = 15$) составили здоровые добровольцы, а основную — 48 пациентов с диагнозом «острый риносинусит и обострение хронического гнойного среднего отита», которые были разделены на 2 подгруппы: первая ($n = 20$) — пациенты, получившие общепринятые методы лечения (элиминационная, разгрузочная, местная и системная антибактериальная терапия, пункционное и противовоспалительное лечение), и вторая ($n = 28$) — пациенты, которым в комплексной терапии проводилась низкочастотная ультразвуковая кавитация (частота 29 кГц, амплитуда 25 мкМ). В полученных с поверхности слизистых оболочек полости носа и носоглотки смывах определяли уровни IL-1 β , IL-2, IL-8, IL-10, TNF α , IFN γ до лечения и на 2, 7, 10 сутки и через один месяц после лечения.

Применение низкочастотной ультразвуковой кавитации в комплексной терапии у пациентов с острым риносинуситом и обострением на этом фоне хронического гнойного среднего отита, сопровождается ранним восстановлением баланса провоспалительных цитокинов в сравнении с общепринятыми методами лечения. Анализ показал, что у 11 (56,2%) пациентов первой и у 22 (78,2%) второй

Адрес для переписки:

Коркмазов Мусос Юсуфович
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
454092, Россия, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.
Тел.: 8 (932) 010-00-06.
E-mail: Korkmazov74@gmail.com

Address for correspondence:

Korkmazov Musos Yu.
South Ural State Medical University
454092, Russian Federation, Chelyabinsk, Vorovsky str., 64.
Phone: 7 (932) 010-00-06.
E-mail: Korkmazov74@gmail.com

Образец цитирования:

М.Ю. Коркмазов, А.М. Коркмазов, И.Д. Дубинец,
А.С. Смирнов, Н.В. Корнова «Влияние ультразвуковой
кавитации на провоспалительный цитокиновый
профиль в комплексной терапии пациентов с острым
риносинуситом и обострением хронического гнойного
среднего отита культур клеток периферической крови
у детей с аутоиммунной и инфекционной патологией»
// Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23,
№ 3. С. 347-352.
doi: 10.46235/1028-7221-339-EOU

© Коркмазов М.Ю. и соавт., 2020

For citation:

M. Yu. Korkmazov, A. M. Korkmazov, I. D. Dubinets,
A. A. Smirnov, N. V. Kornova "Effect of ultrasonic cavitation
on pro-inflammatory cytokine profile in complex therapy of
patients with acute rhinosinusitis and exacerbation of chronic
suppurative otitis media", Russian Journal of Immunology/
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 3,
pp. 347-352.
doi: 10.46235/1028-7221-339-EOU

DOI: 10.46235/1028-7221-339-EOU

подгрупп результат лечения был оценен как положительный. Удовлетворительный результат отмечен у 7 (36,2%) пациентов первой и у 6 (21,8%) второй подгруппы. У двух пациентов первой подгруппы результат отмечен как неудовлетворительный.

Раннее восстановление баланса провоспалительных цитокинов, улучшение клинического результата и сокращение сроков лечения наблюдается при использовании низкочастотной ультразвуковой кавитации в комплексной терапии у пациентов с острым риносинуситом и обострением хронического гнойного отита. Полученные результаты могут служить обоснованием внедрения низкочастотной ультразвуковой кавитации в комплексную консервативную терапию инфицированных полостей носа и среднего уха как эффективный и неинвазивный метод.

Ключевые слова: риносинусит, хронический гнойный отит, цитокины, физиотерапия, низкочастотная ультразвуковая кавитация

EFFECT OF ULTRASONIC CAVITATION ON PRO-INFLAMMATORY CYTOKINE PROFILE IN COMPLEX THERAPY OF PATIENTS WITH ACUTE RHINOSINUSITIS AND EXACERBATION OF CHRONIC SUPPURATIVE OTITIS MEDIA

Korkmazov M.Yu., Korkmazov A.M., Dubinets I.D., Smirnov A.A., Kornova N.V.

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. Patients with exacerbated chronic suppurative otitis media occurring in subjects with acute rhinosinusitis often consulted by ENT spacialists. A literature review has shown that much attention is paid to improving conservative therapy for such patients, and non-drug techniques remain applied rarely. In this context, based on a detailed study of biophysical characteristics, an opportunity of using low-frequency ultrasonic cavitation in combination therapy to increase local immunological resistance of mucous membranes in ENT organ cavities is justified. The aim of the study was to increase clinical therapeutic effectiveness of acute rhinosinusitis and exacerbated chronic suppurative otitis media based on examining timeframe necessary for normalization of pro-inflammatory cytokine profile after using low-frequency ultrasonic cavitation in combination therapy. 63 patients were enrolled to the study. The control group (n = 15) consisted of healthy volunteers, whereas main group had 48 patients with acute rhinosinusitis and exacerbated chronic suppurative otitis media, subdivided into 2 subgroups: subgroup 1 (n = 20) – patients receiving conventional treatment methods (elimination, unloading, local and systemic antibacterial therapy, puncture and anti-inflammatory treatment), subgroup 2 (n = 28) – patients underwent low-frequency ultrasonic cavitation (frequency 29 kHz, amplitude 25 μ m) in combination therapy. Washouts from the surface mucous membranes of nasal cavity and nasopharynx were examined for level of IL-1 β , IL-2, IL-8, IL-10, TNF α , IFN γ levels before treatment, at day 2, 7, 10 days and in one month after treatment.

Application of low-frequency ultrasonic cavitation in combination therapy in patients with acute rhinosinusitis associated with exacerbated chronic suppurative otitis media is accompanied by early recovery of balance in pro-inflammatory cytokines comparewd with conventional treatment methods. Data analysis showed that positive and satisfactory treatment result was achieved in 11 (56.2%) and 22 (78.2%) as well as 7 (36.2%) and 6 (21.8%) patients from subgroup 1 and 2, respectively. In two patients from subgroup 1 the result was noted as unsatisfactory.

Early recovery in balance of pro-inflammatory cytokines, improvement of clinical results and shortened treatment duration were observed after using low-frequency ultrasonic cavitation in combination therapy of patients with acute rhinosinusitis and exacerbated chronic purulent otitis. The data obtained may serve to justify introduction of low-frequency ultrasonic cavitation into combination conservative therapy of infected nasal and middle ear cavities as an effective and non-invasive approach.

Keywords: rhinosinusitis, chronic suppurative otitis, cytokines, physiotherapy, low-frequency ultrasonic cavitation

Введение

Являясь одним из распространенных заболеваний (до 2% населения) и занимая второе место в структуре ЛОР-патологических состояний, хро-

нический гнойный средний отит (ХГСО) остается одной из актуальных проблем практической оториноларингологии. Об этом свидетельствует 31,5% мировая статистическая доля заболеваемо-

сти среднего уха и из них 27% составляет ХГСО [1, 11]. В регионах России процент распространенности заболевания достигает от 0,8 до 4 и составляет 39,2 случая на 1000 взрослого населения [2, 3]. Нередко приобретаая затяжной, вялотекущий характер течения, в виду этиопатогенетических особенностей формирования болезни, ХГСО приводит к прогрессирующей тугоухости, повышает риск возникновения внутричерепных осложнений, пареза лицевого нерва, лабиринтита и т.д. [3, 9, 12]. Основным путем проникновения инфекции в полость среднего уха является тубарная дисфункция (туботит), возникающая чаще всего при острых риносинуситах. Под определением острый риносинусит (ОРС) понимают воспаление слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух (ОНП) длительностью заболевания менее 12 недель, который проявляется заложенностью либо выделениями из носа и сопровождается цефалгиями и гипосмией [6]. По эпидемиологии ОРС встречаются чаще чем ушная патология. Достигая до 15% взрослого населения и во многом являясь причиной хронизации и обострений ХГСО, ОРС значительно снижает индекс качества жизни пациентов [1, 8]. Респираторная вирусная инфекция (риновирусы, аденовирусы, вирусы гриппа, парагриппа, коронавирусы), являясь основной причиной возникновения ОРС, приводит к угнетению мукоцилиарного клиренса слизистой оболочки полости носа и ОНП, повреждает мерцательный эпителий, угнетает функциональную активность бокаловидных клеток, а возникший отек полостей носа приводит к закрытию выводных протоков ОНП, в том числе и слуховой трубы. Возникшее вследствие нарушения аэрации и вентиляции ОНП, затруднение эвакуации патологического содержимого несомненно приводит бактериальной контаминации, где ключевое место занимают *Streptococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenza* [9, 10]. Как правило, нерациональное использование антибактериальных препаратов, в подобной ситуации приводит к формированию биопленок микроорганизмами, антибиотикорезистентности и суперантигенной стимуляции иммунной системы. Иммунодефицитные состояния и нередко встречающиеся нарушения архитектоники полости носа в виде деформации носовой перегородки, гипертрофии и буллы носовых раковин *Concha bullosa* ускоряют переход ОРС в хронические формы, возникновению полипозов носа, что, в свою очередь, затрудняет лечение ХГСО [7, 8, 10]. Как правило, обострения ХГСО при полипозных риносинуситах протекают с большим повышением содержания IL-1 β , IL-2, IL-8, IL-10, уровней TNF α , IFN γ , IgE и Th1-поляризованным характером воспалительного процесса и могут потенцировать образование полипов в барабанной полости и ухудшить прогноз заболевания. Нарушение проходимости слуховых труб, сни-

жение секреции бокаловидных клеток приводят к сгущению патологического содержимого на поверхности слизистой оболочки, затруднению мукоцилиарного транспорта, повышению содержания N₂O, pH-дисбалансу, привлечению нейтрофилов и других иммунокомпетентных клеток. В этом контексте возможно повысить эффективность лечения обострений ХГСО при остром риносинусите регулированием уровня продукции провоспалительных цитокинов, с применением в комплексной терапии низкочастотной ультразвуковой (НУЗ) кавитации. В настоящее время существует ряд современных рекомендаций лечения указанных заболеваний, но у большинства оториноларингологов отсутствует единое мнение об их эффективности. Ограниченное количество рациональных и понятных методов лечения, а, следовательно, и результатов не позволяет получить полную картину и оценить преимущества разных немедикаментозных технологий в комплексной терапии обострений ХГСО при остром риносинусите.

Целью настоящего исследования явилось повышение эффективности лечения острого риносинусита и обострения хронического гнойного среднего отита, на основе изучения времени нормализации провоспалительного цитокинового профиля при использовании в комплексной терапии низкочастотной ультразвуковой кавитации.

Материалы и методы

Исследования проведены на клинических базах ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Челябинск). Исследование проводилось с соблюдением критериев включения и исключения. Критерии включения в исследование: пациенты обоего пола в возрасте от 18 до 60 лет с острым риносинуситом и обострением хронического гнойного среднего отита. В своем исследовании мы ограничили пациентами с верифицированным диагнозом по МКБ-10: H66.1 «Хронический туботимпанальный гнойный средний отит». У пациентов с этой формой отита, как правило, отсутствует кариес височной кости, холестеатома и им показана консервативная терапия. Критерии исключения: пациенты с аллергическим ринитом; беременные и кормящие женщины; возраст до 18 лет; сопутствующая патология, прямо или косвенно влияющая на репаративные процессы организма. Критериями прекращения исследования были ухудшение общего состояния пациента, несоблюдение схем лечения. Все пациенты групп исследования предъявляли жалобы на затрудненное носовое дыхание, ринорею, лицевые боли, слизисто-гнойное отделяемое из уха/ушей, снижение слуха, быструю утомляемость. Другими жалобами были подъ-

емы артериального давления, частые простудные заболевания, храп и нарушение сна, снижение обоняния и шум в ушах. Диагноз выставлялся на основании жалоб пациента, анамнеза заболевания, результатов оториноларингологического осмотра, эндоскопической риноскопии, лучевых и лабораторных методов исследования.

Всего в исследовании приняло участие 63 человека. Из них контрольную группу составили 15 добровольцев. Критериями отбора являлись: отсутствие в анамнезе заболеваний отитами и риносинуситами, без искривления перегородки носа, вторичных изменений носовых раковин, отсутствие заболеваний ЛОР-органов, субъективное ощущение свободного носового дыхания. Основную группу составили 48 пациентов с диагнозом «острый риносинусит и обострение хронического гнойного среднего отита», которые были сформированы в 2 подгруппы: первая ($n = 20$) пациенты, получившие общепринятые методы лечения (элиминационная, разгрузочная, местная и системная антибактериальная терапия, пункционное и противовоспалительное лечение, согласно клиническим рекомендациям и вторая ($n = 28$) — пациенты, в лечении которых, помимо комплексной терапии, использовалась низкочастотная ультразвуковая кавитация аппаратом УЗОЛ-01 «Ч» КАВИТАР, «Фотохром» (частота 29 кГц, амплитуда 25 мкм, плотность мощности излучения — 50 мВт). В качестве лекарственного раствора использовали 0,9% NaCl.

Применение НУЗ кавитации позволяет получить определенный бактерицидный эффект, механически разрушать биопленки, существенно улучшить гемодинамику и микроциркуляцию крови, снизить антибиотикорезистентность микроорганизмов [4, 5, 7]. Достигаются эти эффекты благодаря образованию пузырьков с полыми пространствами «полости кавитации», возникающими при прохождении через сопло наконечника, излучающего ультразвуковые волны частотой 29 кГц и амплитудой 25 мкм жидкости, которые, «захлопываясь», образуют так называемые ударные волны, вызывающие тепловое и разрушающее механическое воздействие на мембраны клеток. Кавитированный раствор легко проникает через клеточные мембраны благодаря физическим преобразованиям, переменному звуковому давлению, кавитации раствора, акустическим течениям, катализирует биохимические и иммунологические процессы, проявляет бактерицидный эффект и напрямую зависит от интенсивности и мощности излучения, возникающих ультразвуковых волн при прохождении сквозь жидкость и т. д. [4, 5, 7].

Для исследования профиля провоспалительных цитокинов забор материала (смывов) проводили с поверхности слизистых оболочек полости носа и носоглотки, поскольку причиной обострения ХГСО чаще всего является дисфункция слу-

ховой трубы. На полученных в назальных смывах с поверхности слизистых оболочек полости носа и носоглотки определяли содержание IL-1 β , IL-2, IL-8, IL-10, уровни TNF α , IFN γ до лечения на 2, 7, 10 сутки. Изучение микрофлоры полостей среднего уха и носоглотки не являлось целью нашего исследования, хотя было выполнено всем пациентам группы исследования.

Определение уровня цитокинов в назальных смывах проводили в НИИ иммунологии Южно-Уральского государственного медицинского университета на полуавтоматическом ИФА-анализаторе Personal LAB (Италия) с использованием сертифицированных тест-систем АО «ВекторБест» (Россия). Исследование проводилось в диапазоне концентраций: для IL-1 β — 5-250 пг/мл, TNF α — 0-250 пг/мл, IL-8 — 0-1000 пг/мл, IL-10 — 5-250 пг/мл, IFN γ — 5-250 пг/мл. Содержание цитокинов определяли количественно и выражали в пг/мл. Учитывая, что для исследования был взят назальный смыв, содержащий назальный секрет, клеточные элементы и белковые фракции, муцин, продукты клеточного дебриса, концентрацию цитокинов мы вычисляли методом перерасчета на 1 г белка с учетом общего белка, определяемого микробиуретовым способом в бесклеточных фракциях назального смыва, полученного путем центрифугирования при 400 оборотах в минуту.

Статистика

Весь цифровой материал подвергался статистической обработке. Статистические исследования проведены с использованием лицензионной статистической программы Statistica 6.0 for Windows. Определяли среднее арифметическое (M), ошибку среднего арифметического (m). Проверку на нормальность распределения количественных показателей проводили с использованием критерия Колмогорова—Смирнова. Достоверность различий при отсутствии нормального распределения определяли с применением критерия Манна—Уитни, сравнение процентного соотношения признаков в группах проводили с помощью Z-критерия (Петри А., 2009).

Результаты и обсуждение

Общеизвестно, что цитокины играют основную роль в реализации воспалительного ответа. Локальное высвобождение цитокинов — IL-1 β , IL-10, IL-8, TNF α — координирует и индуцирует хемотаксис нейтрофилов в зону воспаления. Другими медиаторами, регулирующими локальное воспаление, активацию тучных и эндотелиальных клеток, фибробластов и фагоцитов, являются цитокины семейства IL-1: IL-1 α , IL-1 β .

На момент первичного обращения и начала лечения содержание IL-1 β составило: в первой подгруппе — $1,59 \pm 0,03$ пг/мл, во второй подгруп-

пе — $1,88 \pm 0,04$ пг/мл. Через 48 часов от начала лечения содержание IL-1 β повысилось в первой подгруппе в 2,21 раза, во второй подгруппе — в 1,86 раза. На 7-е сутки содержание IL-1 β продолжало увеличиваться в обеих подгруппах. На 10-е сутки во второй подгруппе уровень IL-1 β нормализовался.

У пациентов группы исследования до лечения содержание IL-8 составило: в первой подгруппе — $0,90 \pm 0,09$ пг/мл, во второй подгруппе — $0,96 \pm 0,01$ пг/мл. Через 48 часов после начала лечения содержание IL-8 повысилось в обеих подгруппах. По-видимому, высвобождение провоспалительных цитокинов — IL-1 β , TNF α — выполняющих в том числе и хемоаттрактантную функцию, приводит к увеличению синтеза IL-8. Снижение уровня IL-8 у пациентов зарегистрировано на 7-е сутки во второй подгруппе — $0,90 \pm 0,01$ пг/мл, что достоверно не отличалось от показателей контроля ($p \geq 0,05$). Повышение уровня провоспалительных цитокинов на 2-е сутки после начала терапии с рекрутированием из маргинального пула на периферию большого количества клеток-продуцентов провоспалительных цитокинов — макрофагов, НГ, реализующих защитную и репаративную функции.

У пациентов группы исследования содержание IL-10 составило: в первой подгруппе — $8,41 \pm 0,09$ пг/мл, во второй — $8,76 \pm 0,08$ пг/мл. Снижение линии тренда IL-10 ниже порогового уровня на вторые сутки после начала терапии является показателем недостаточности иммунного ответа на воспалительный стресс, а регистрация факта отсутствия нормализации уровня IL-10, реализующего репаративные функции, может быть предиктором дальнейшего нарушения процессов репарации. На 7-е сутки содержание IL-10 повысилось во второй подгруппе до $10,32$ пг/мл, на 10-е сутки наблюдений нормализовалось до значений группы контроля; аналогичных изменений содержания IL-10 в первой подгруппе не отмечено ($p \geq 0,05$).

У пациентов группы исследования до лечения содержание IFN γ , одного из регуляторов иммунного гомеостаза, составило: в первой подгруппе — $0,33 \pm 0,05$ пг/мл, во второй подгруппе — $0,34 \pm 0,01$ пг/мл. Через 48 часов после начала терапии содержание IFN γ снизилось в первой подгруппе в $1,83 \pm 0,35$ раза, во второй подгруппе — в $1,70 \pm 0,17$ раза. Восстановление уровня IFN γ наступало во второй подгруппе на 10-й день.

У пациентов группы исследования до проведения лечения содержание IL-2 составило: в первой подгруппе — $0,33 \pm 0,12$ пг/мл, во второй подгруппе — $0,35 \pm 0,12$ пг/мл. На 7-е сутки после начала терапии содержание IL-2 снизилось в первой подгруппе в 1,83 раза, во второй подгруппе — в 1,45 раза. Одной из причин такого снижения концентрации IL-2 может быть усиление индукции растворимого рецептора для IL-2 (IL-2R), одного из сильных ингибиторов IL-2. IL-2R появляется на 2-й день после операции и достигает пика примерно на 3-й день после лечения. К этому сроку наблюдается и максимальное падение способности лимфоцитов продуцировать IL-2.

Таким образом, проведенный анализ исследования показал, что у 11 (56,2%) пациентов первой и у 22 (78,2%) второй подгрупп результат лечения был оценен как положительный. Удовлетворительный результат отмечен у 7 (36,2%) пациентов первой и у 6 (21,8%) второй подгруппы. У двух пациентов первой подгруппы результат отмечен как неудовлетворительный.

Выводы

Использование в дополнение к комплексной терапии острого риносинусита и обострения хронического гнойного среднего отита низкочастотной ультразвуковой кавитации позволяет на ранних сроках заболевания нормализовать содержание цитокинов: повысить IFN γ , IL-2, IL-10, снизить IL-1 β , IL-10, IL-8, TNF α до показателей контрольной группы.

Список литературы / References

1. Агалар С.А. Определение пациентом качества жизни при хроническом среднем отите // СМБ, 2014. № 4-1 (46). С. 15-19. [Agalar S.A. Patient's determination of quality of life in chronic middle otitis. SMB = World of Medicine and Biology, 2014, no. 4-1 (46), pp. 15-19. (In Russ.)]
2. Дубинец И.Д., Коркмазов М.Ю., Коркмазов А.М., Смирнов А.А., Горбунов А.В. Сравнительный анализ характера и динамики хирургического лечения пациентов с хроническим средним отитом по данным ЛОР отделения города Челябинска // Вестник оториноларингологии, 2017. Т. 82, № S5. С. 64-65. [Dubinets I.D., Korkmazov M.Yu., Korkmazov A.M., Smirnov A.A., Gorbunov A.V. The comparative analysis of character and dynamics of surgical treatment of patients with chronic average otitis by data the ENT of office of the city of Chelyabinsk. Vestnik otorinolaringologii = Bulletin of Otorhinolaryngology, 2017, Vol. 82, no. S5, pp. 64-65. (In Russ.)]
3. Коркмазов М.Ю., Крюков А.И., Дубинец И.Д., Тюхайз М.В., Учайев А.А., Маркелов А.В. Классификация структурных изменений костной ткани при хроническом гнойном среднем отите // Вестник оториноларингологии, 2019. Т. 84. № 1. С. 12-17. [Korkmazov M.Yu., Kryukov A.I., Dubinets I.D., Tyukhayz M.V., Uchayev A.A., Markelov A.V. Classification of structural changes of a bone tissue at chronic purulent average otitis. Vestnik otorinolaringologii = Bulletin of Otorhinolaryngology, 2019, Vol. 84, no. 1, pp. 12-17. (In Russ.)]

4. Коркмазов М.Ю., Коркмазов А.М. Методы коррекции функциональных нарушений фагоцитов и локальных проявлений окислительного стресса в слизистой оболочке полости носа с использованием ультразвуковой кавитации // Российский иммунологический журнал, 2018. Т. 12 (21). № 3. С. 325-328. [Korkmazov M.Yu., Korkmazov A.M. Methods of correction of functional disorders of phagocytes and local manifestations of oxidative stress in the nasal cavity mucosa using ultrasonic cavitation. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2018, Vol. 12, Iss. 21, no. 3, pp. 325-328. (In Russ.)]
5. Коркмазов М.Ю., Ленгина М.А., Коркмазов А.М. Биохимические показатели характера оксидативного стресса в зависимости от проводимой послеоперационной терапии у пациентов, перенесших внутриносовые хирургические вмешательства // Вестник оториноларингологии, 2016. Т. 81, № S5. С. 33-35. [Korkmazov M.Yu., Lengina M.A., Korkmazov A.M. Biochemical indicators of the nature of oxidative stress depending on the performed postoperative therapy in patients who have undergone intra-nasal surgery. *Vestnik otorinolaringologii = Bulletin of Otorhinolaryngology*, 2016, Vol. 81, no. S5, pp. 33-35. (In Russ.)]
6. Лопатин А.С., Варвянская А.В. Острый и хронический Риносинусит: Принципы терапии // Медицинский совет, 2014. № 3. С. 24-27. [Lopatin A.S., Varvyanskaya A.V. Acute and chronic rhinosinusitis: principles of therapy. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*, 2014, no. 3, pp. 24-27. (In Russ.)]
7. Маркова Ю.А. Современная низкочастотная ультразвуковая терапия в лечении острых синуситов у детей // Практическая медицина, 2015. № 7. С. 62-65. [Markova Yu.A. Modern low-frequency ultrasound therapy in the treatment of acute sinusitis in children. *Prakticheskaya meditsina = Practical Medicine*, 2015, no. 7, pp. 62-65. (In Russ.)]
8. Шишева А.К., Коркмазов М.Ю. Социально-экономические аспекты оптимизации госпитальной помощи больным с патологией носа и околоносовых пазух в условиях крупного промышленного города // Вестник Южно-Уральского государственного университета, 2011. № 26 (243). С. 62-66. [Shisheva A.K., Korkmazov M.Yu. Socio-economic aspects hospital help optimization for patient with pathology of nose and paranasal sinuses in the large industrial city conditions. *Vestnik Yuzhno-Uralskogo gosudarstvennogo universiteta = Bulletin of the South Ural State University*, 2011, no. 26 (243), pp. 62-66. (In Russ.)]
9. Янов Ю.К., Страчунский Л.С. Антибактериальная терапия синусита у взрослых пациентов // Consilium medicum, 2002. № 9. С. 448-455. [Yanov Yu.K., Strachunsky L.S. Antibacterial therapy of sinusitis in adult patients. *Consilium medicum*, 2002, no. 9, pp. 448-455. (In Russ.)]
10. Acuin J. Chronic suppurative otitis media. *BMJ Clin. Evid.*, 2007, Vol. 2007, 0507.
11. Kameswaran M. Chronic ear diseases in the developing world. *J. Laryng. & Otol.*, Vol. 130, Iss. S3, pp. 76-77.
12. Nadol J.B. Jr., Staeker H., Gliklich R.E. Outcomes assessment for chronic otitis media: The Chronic ear survey. *Laryngoscope*, Vol. 110, Iss. S94, pp. 32-35.

Авторы:

Коркмазов М.Ю. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой оториноларингологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Коркмазов А.М. — к.м.н., ассистент кафедры оториноларингологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Дубинец И.Д. — к.м.н., доцент кафедры оториноларингологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Смирнов А.А. — ассистент кафедры оториноларингологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Корнова Н.В. — к.м.н., доцент кафедры оториноларингологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Authors:

Korkmazov M. Yu., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Otorhinolaryngology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Korkmazov A.M., PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Otorhinolaryngology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Dubinets I.D., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Otorhinolaryngology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Smirnov A.A., Assistant Professor, Department of Otorhinolaryngology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Kornova N.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Otorhinolaryngology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Поступила 09.06.2020
Принята к печати 01.07.2020

Received 09.06.2020
Accepted 01.07.2020

ВЛИЯНИЕ ГИДРОЛИЗАТА ПЛАЦЕНТЫ НА НЕЙТРОФИЛЬНОЕ ЗВЕНО СИСТЕМНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ КОСМЕТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕДУРАХ

Кудревич Ю.В.¹, Кузнецова Е.К.², Щипачева О.В.³, Долгушин И.И.¹,
Зиганшин О.Р.¹

¹ ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

² ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

³ ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Резюме. В косметологии применяются разного рода процедуры с разным механизмом действия, в том числе с достаточно агрессивным. В литературе мало доказательных данных о влиянии этих процедур на кожу и организм в целом. Цель — определить реакцию нейтрофильного звена системного иммунитета, на введение гидролизата плаценты, сравнить эффективность и безопасность косметических методов, влияющих на качество кожи. В исследовании участвовали здоровые женщины, которые были разделены на три группы по 25 человек в каждой. Первой группе пациенток проводился курс внутримышечных инъекций гидролизата плаценты человека. Второй группе проводилась процедура фракционного фототермолиза кожи лица с использованием эрбиевого лазера. Третьей группе пациенток проводилась аналогичная процедура фракционного фототермолиза, но после предварительного курса внутримышечного введения препарата гидролизата плаценты. У всех пациенток забиралась кровь из периферической вены до процедуры для оценки первоначального состояния иммунной системы и на 8, 14 и 24 сутки после процедуры. Наиболее выраженные изменения показателей системного иммунитета касались фагоцитоза нейтрофилов и НСТ-теста нейтрофилов.

Показатели фагоцитоза и НСТ-тест нейтрофилов снижались практически в два раза после процедуры фракционного фототермолиза. Такого изменения не происходило в группе пациенток, которые перед фракционным фототермолизом предварительно прошли курс внутримышечного введения экстракта плаценты. Фагоцитоз нейтрофилов и спонтанный НСТ-тест практически не изменялись по сравнению с первоначальными показателями до процедуры, а индуцированный НСТ-тест снизился, но значительно меньше по сравнению с группой, которая получила только фракционный фототермолиз.

Введение гидролизата плаценты способствует более быстрому реабилитационному периоду после агрессивных процедур, профилактирует развитие нежелательных явлений.

Ключевые слова: фракционный фототермолиз, экстракт плаценты, фагоцитоз нейтрофилов

Адрес для переписки:

Кудревич Юлия Валерьевна
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
454092, Россия, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.
Тел.: 8 (951) 237-77-45.
E-mail: cyton@mail.ru

Address for correspondence:

Kudrevich Yuliya V.
South Ural State Medical University
454092, Russian Federation, Chelyabinsk, Vorovsky str., 64.
Phone: 7 (951) 237-77-45.
E-mail: cyton@mail.ru

Образец цитирования:

Ю.В. Кудревич, Е.К. Кузнецова, О.В. Щипачева,
И.И. Долгушин, О.Р. Зиганшин «Влияние гидролизата
плаценты на нейтрофильное звено системного
иммунитета при косметологических процедурах»
// Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23,
№ 3. С. 353-358.
doi: 10.46235/1028-7221-325-HPH

© Кудревич Ю.В. и соавт., 2020

For citation:

Yu.V. Kudrevich, E.K. Kuznetsova, O.V. Shchipacheva,
I.I. Dolgushin, O.R. Ziganshin "Human placenta hydrolyzate
affects neutrophils of systemic immunity during cosmetic
procedures", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 3, pp. 353-358.
doi: 10.46235/1028-7221-325-HPH

DOI: 10.46235/1028-7221-325-HPH

HUMAN PLACENTA HYDROLYZATE AFFECTS NEUTROPHILS OF SYSTEMIC IMMUNITY DURING COSMETIC PROCEDURES

Kudrevich Yu.V.^a, Kuznetsova E.K.^b, Shchipacheva O.V.^c,
Dolgushin I.I.^a, Ziganshin O.R.^a

^a South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

^b Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

^c Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation

Abstract. In cosmetology, various types of procedures acting via varying mechanisms are used, including those based on rather aggressive mode of action. Few evidences have been collected so far regarding an effect of such procedures on human skin and entire body. Aim: to determine response of neutrophil arm of systemic immunity to injected placental hydrolyzate, compare effectiveness and safety of cosmetic methods affecting quality of skin layers. There were enrolled 75 healthy women subdivided into three groups with 25 subjects in each group. Patients in Group 1 underwent a course of intramuscular injections with human placental hydrolysate; Group 2 – fractional photothermolysis of facial skin layers with erbium laser; Group 3 – fractional photothermolysis procedure pre-treated with course of intramuscular injected human placental hydrolyzate. Samples of peripheral blood were collected from all patients for assessing baseline state of the immune system before interventions and on day 8, 14 and 24 after the onset. It was shown that level of neutrophil phagocytosis and neutrophil NBT-assay were most markedly changed after interventions. It was found that level of neutrophil phagocytosis and neutrophil NBT-assay were virtually decreased by 2-fold after fractional photothermolysis, but not in patients pre-treated with injected placental hydrolysate followed by fractional photothermolysis. Neutrophil phagocytosis and spontaneous neutrophil NBT-assay data in treated vs. baseline patients did not change, whereas level of induced NBT-assay was decreased, but to much lower extent compared to control group solely treated with fractional photothermolysis. Conclusions: introduction of placental hydrolyzate contributes to accelerated rehabilitation period after applying aggressive medical interventions, and prevents development of adverse events.

Keywords: fractional photothermolysis, placenta extract, neutrophil phagocytosis

Введение

Лекарственные препараты плаценты человека давно вызывают интерес у исследователей. Плацента является источником очень многих и очень активных компонентов, оказывающих положительное воздействие на регенерацию тканей, на неоангиогенез, она оказывает мощное иммуностимулирующее действие, в странах востока, таких как Япония, Корея, Китай, препараты плаценты активно применяются для лечения многих заболеваний.

Так как плацента является уникальной по своему составу и действию, она давно вызывает интерес у исследователей. Так, в 1984 году Р. Воб и соавт. опубликовали исследование на мышах, которым вводился экстракт плаценты, и были сделаны выводы о том, что изогенные продукты плаценты, как полезный физиологический материал, способны модулировать ксеногенные иммунные ответы, а также аллогенные системы [3].

Следом в 1985 году S. Uren и W. Boyle опубликовали статью, где было показано, что пла-

цента обеспечивает богатый источник класса II-положительных макрофагов [10].

В современной научной литературе есть достаточно много статей, посвященных эффектам плацентарных препаратов. Youn Son Kim и соавт. пишут об иммунорегуляторных эффектах экстракта плаценты и факторах, происходящих из плаценты, при контактном аллергическом дерматите у мышей. Авторы указывают на значительное снижение количества CD4⁺T-клеток в периферической крови, уменьшение инфильтрирующих ткань лимфоцитов, подавление тяжести процесса [6]. Подобные эффекты при контактном дерматите у мышей отмечали Jae Hyeok Neo и соавт. Они отмечают, что местное применение продуктов плаценты резко облегчало как местные, так и системные воспалительные реакции, в присутствии компонентов плаценты уровни аллерген-специфических сывороточных IgE значительно снижались. Более того, антиоксидантная активность плаценты наблюдалась как *in vitro*, так и *in vivo*, что приводило к ослаблению воспалительных реакций, а длительное лечение сильно ин-

гибировало продукцию DNCB-индуцированных активных форм кислорода (ROS) и впоследствии предотвращало окислительное расщепление гиалуроновой кислоты [5].

Многие авторы исследовали плацентарные препараты человека в лечении таких заболеваний, как артрит коленного сустава [9], острая печеночная недостаточность и воспаление ткани печени [2, 7]. Все они отмечают положительные эффекты плацентарных препаратов при лечении данных заболеваний.

Некоторые работы посвящены хроническому стрессу и синдрому хронической усталости. При этих состояниях препараты плаценты оказывают антистрессовое действие посредством регуляции синтазы оксида азота (NO) и антиоксидантной активности в мозге, что может быть полезно при лечении заболеваний, связанных со стрессом, таких как синдром хронической усталости. Также авторы демонстрируют, что плацента и ее составляющие регулируют вызванную РЕМ-усталость посредством повышения уровня иммунитета и снижения факторов, связанных с утомляемостью [4, 8].

Целью нашего исследования явилось определить реакцию нейтрофильного звена системного иммунитета на введение гидролизата плаценты, а также сравнить эффективность и безопасность косметических методов, влияющих на качество кожи.

Материалы и методы

В исследовании участвовали здоровые женщины, средний возраст составил 47 ± 5 лет. Женщины были разделены на три группы по 25 человек в каждой. Первой группе пациенток проводился курс внутримышечных инъекций гидролизата плаценты человека в мышцы лица по акупунктурным точкам в количестве 2 мл на одну процедуру 1 раз в 5 дней, всего 5 инъекций (группа «Плацента»). Второй группе проводилась процедура фракционного фототермолиза кожи лица с использованием эрбиевого лазера (Er:YAG, группа «Лазер»). Мощность лазерного излучения составила 96 Дж/см², процедура выполнялась однократно под местной кремовой анестезией. Третьей группе пациенток проводилась аналогичная процедура фракционного фототермолиза, но после предварительного курса внутримышечного введения препарата гидролизата плаценты (курс гидролизата плаценты такой же как и в первой группе. Процедура фототермолиза проводилась практически сразу после последней пятой инъекции препарата).

У всех пациенток забиралась кровь из периферической вены до процедуры для оценки первоначального состояния иммунной системы

и на 8, 14 и 24 сутки после процедуры для оценки влияния косметологического воздействия на системный иммунитет. До и после процедур определялись такие показатели иммунной системы, как абсолютное содержание и процентное соотношение нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов базофилов, НСТ спонтанная и индуцированная активность нейтрофилов, интенсивность спонтанного фагоцитоза нейтрофилов, фагоцитарное число нейтрофилов, спонтанная и индуцированная активность моноцитов, фагоцитарное число моноцитов, абсолютное и относительное число (CD3⁺CD19), (CD3⁺CD4), (CD3⁺CD8), иммунорегуляторный индекс Тх/Тс, абсолютное и относительное число (CD3⁺CD16⁺CD56), (CD3⁻CD16⁺CD56⁺), (CD3⁻CD19⁺), также количество CD 45⁺, CD63⁺, иммуноглобулины А, М, G, интерлейкины IL-2, IL-4, IL-8, IL-10, IL-17A, IL-18. Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью электронных таблиц Microsoft Excel, вычисляли среднюю арифметическую (М), ошибку средней арифметической (m); критерии Стьюдента (t) и достоверности различий (p).

Результаты и обсуждение

На первом этапе мы оценивали только часть показателей. Так, при оценке фагоцитарной активности нейтрофилов в группе получивших процедуру фракционного фототермолиза в монотерапии и группе получивших процедуру фототермолиза после курса препарата гидролизата плаценты 112 мг/2 мл мы получили следующие данные. До процедуры активность фагоцитоза нейтрофилов составляла $54,88 \pm 6,43$. После процедуры фракционного фототермолиза, которая по сути является процедурой, в результате которой происходит контролируемая термическая травма кожи, уровень этого показателя значительно снизился и стал составлять $44,4 \pm 4,43$ (данные статистически значимые). Этот же показатель в группе, пациентки которой перед процедурой фракционного фототермолиза получили курс внутримышечного введения гидролизата плаценты 112 мг/2 мл, оказывающего системное действие, практически не изменился и составил $58,33 \pm 6,42$ (табл. 1).

Наибольшие изменения наблюдались на 8 сутки после процедуры. Эти показатели практически восстанавливались к 24 суткам после процедуры.

При оценке следующего показателя — НСТ-теста нейтрофилов — мы обнаружили подобную закономерность. Следует пояснить, что спонтанный НСТ-тест показывает выраженность базовой защитной функции иммунной системы, то есть условия, когда в организме человека нет

ТАБЛИЦА 1. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АКТИВНОСТИ И ИНТЕНСИВНОСТИ ФАГОЦИТОЗА НЕЙТРОФИЛОВ

TABLE 1. COMPARATIVE ANALYSIS OF THE ACTIVITY AND INTENSITY OF PHAGOCYTOSIS OF NEUTROPHILS

	Фагоцитоз НФ Активность Phagocytosis of NPh Activity	Фагоцитоз НФ Интенсивность Phagocytosis of NPh Intensity
До процедуры Before the procedure	54,88±6,43	3,92±0,90
Лазер на 8 сутки Laser for 8 th day	44,40±4,43*	2,34±0,73*
Лазер + Плацента на 8 сутки Laser + Placenta for 8 th day	58,33±6,42	2,72±0,73*

Примечание. * p – достоверность различий между показателями рассчитана согласно параметрическому критерию Стьюдента, различия считали достоверными и статистически значимыми при p < 0,05.

Note. * p, significance of differences between indicators is calculated according to the parametric Student's criterion, the differences are considered reliable and statistically significant when p < 0.05.

ТАБЛИЦА 2. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЗНАЧЕНИЙ НСТ-ТЕСТА НЕЙТРОФИЛОВ

TABLE 2. COMPARATIVE ANALYSIS OF THE VALUES OF THE HST TEST OF NEUTROPHILS

	Спонтанный НСТ-тест НФ Активность Spontaneous NBT-assay of NPh Activity	Спонтанный НСТ-тест НФ Интенсивность Spontaneous NBT-assay of NPh Intensity	Индукцированный НСТ-тест НФ Активность Induced NBT-assay of NPh Activity	Индукцированный НСТ-тест НФ Интенсивность Induced NBT-assay of NPh Intensity
До процедуры Before the procedure	30,94±4,34	0,49±0,07	37,56±7,01	0,56±0,13
Лазер на 8 сутки Laser for 8 th day	17,36±3,98*	0,24±0,06*	24,45±2,21*	0,33±0,03*
Лазер + Плацента на 8 сутки Laser + Placenta for 8 th day	32,12±5,09	0,45±0,08	27,25±3,44	0,41±0,08

Примечание. * См. примечание к таблице 1.

Note. * As for Table 1.

чужеродных, бактериальных агентов или атипичных клеток, когда иммунная система работает в режиме иммунологического гомеостаза, индуцированный НСТ-тест – это показатель работы иммунной системы, когда ее задача защитить организм человека от патогенных агентов.

Так, активность спонтанного НСТ-теста нейтрофилов до процедуры у пациентов составляла 30,94±4,34, после процедуры фракционного фототермолиза этот показатель значительно снизился и стал составлять 17,36±3,98 (данные статистически значимые). В группе пациенток, которые предварительно получили курс внутримышечного введения гидролизата плаценты, этот показатель практически не изменился и составил

32,12±5,09. Оценивая интенсивность спонтанного НСТ-теста, мы получили аналогичные данные: до процедуры у пациентов этот показатель равнялся 0,49±0,07, в группе фракционного фототермолиза он снизился в два раза до значения 0,24±0,06, а в группе, получившей предварительно курс гидролизата плаценты, этот показатель не изменился по сравнению с первоначальным и составил 0,45±0,08.

При оценке активности индуцированного НСТ-теста мы получили снижение этого показателя в обеих группах, по сравнению с группой контроля, но в группе, получавшей препарат плаценты, снижение было меньше. Так, до процедуры значение активности индуцированного

НСТ-теста было $37,56 \pm 7,01$, в группе «Лазер» он снизился до значений $24,45 \pm 2,21$, а в группе «Лазер + Плацента» он составил $27,25 \pm 3,44$. Аналогично вела себя интенсивность индуцированного НСТ-теста. До процедуры цифра была $0,56 \pm 0,13$, в группе «Лазер» показатель снизился до $0,33 \pm 0,03$, а в группе «Лазер + Плацента» он снизился до $0,41 \pm 0,08$ (табл. 2).

Обсуждение

При оценке иммунологических показателей крови наиболее выраженные изменения были в таких тестах, как: активность и интенсивность фагоцитарной активности нейтрофилов, активность и интенсивность спонтанного и индуцированного НСТ-теста нейтрофилов. По этим показателям оценивается функция нейтрофилов, а именно способность вырабатывать активные радикалы кислорода для борьбы с микробными агентами, атипичными клетками, чужеродным веществом, попавшим в организм человека, степень воспалительной реакции организма, а также оценивается способность клеток иммунной системы фагоцитировать и элиминировать из организма человека патогенных агентов, то есть оценивается выраженность защитной способности иммунной системы. Функция нейтрофилов практически сохранялась при проведении фракционного фототермолиза после предварительного внутримышечного курса экстракта плаценты, тогда как у пациентов, не получавших предварительно этот курс, функция нейтрофилов существенно снижалась. Подобные измене-

ния, касаемые индуцированного НСТ-теста, еще раз подтверждают благотворное стимулирующее влияние гидролизата плаценты, особенно перед агрессивным воздействием. Эти же выводы подтверждают литературные источники, в которых описываются положительные эффекты гидролизата плаценты 112 мг/2 мл при подготовке пациентов к пластическим операциям и более быстрый и легкий реабилитационный период после оперативного вмешательства [1].

Фракционный фототермолиз, как и любая термическая травма, вызывает снижение функции системного иммунитета, что может привести к развитию таких нежелательных явлений, как дерматит, присоединение вторичной инфекции, длительный и сложный реабилитационный период, замедленная регенерация кожи после воздействия. При предварительном курсе гидролизата плаценты изменений показателей системного иммунитета не происходит, следовательно риск развития подобных явлений значительно снижается, реабилитационный период проходит значительно легче и быстрее..

Заключение

Так как процедура фракционного фототермолиза является достаточно агрессивной, то следует проводить тщательную подготовку пациента к данной процедуре, оптимальным методом является курс внутримышечного введения гидролизата плаценты человека, который способствует более безопасному реабилитационному периоду.

Список литературы / References

1. Диброва Е.А. Применение плацентарного препарата Лаеннек для подготовки к пластической операции и реабилитации после пластической операции. Патент на изобретение № 2599034, дата регистрации 25.10.2017 г, дата публикации 10.10.2016. [Dibrova E.A. The use of the placental preparation Laennec to prepare for plastic surgery and rehabilitation after plastic surgery. Patent for invention № 2599034, registration date 10.25.2017, publication date 10.10.2016.
2. Bak D.-H., Na J., Choi M.J., Lee B.C., Oh C.T., Kim J.-Y., Han H.J., Kim M.J., Kim T.H., Kim B.J. Anti-apoptotic effects of human placental hydrolysate against hepatocyte toxicity *in vivo* and *in vitro*. *Int. J. Mol. Med.*, 2018, Vol. 42, no. 5, pp. 2569-2583.
3. Bobé P., Dorić M., Kinsky R.G., Voisin G.A. Modulation of mouse anti-SRBC antibody response by placental extracts. *Cell. Immunol.*, 1984, Vol. 89, no. 2, pp. 355-364.
4. Han N.-R., Kim K.-Y., Kim M.-J., Kim M.-H., Kim H.-M., Jeong H.-J. Porcine placenta mitigates protein-energy malnutrition-induced fatigue. *Nutrition*, 2013, Vol. 29, no. 11-12, pp. 1381-1387.
5. Heo J.H., Heo Y., Lee H.J., Kim M., Shin H.Y. Topical anti-inflammatory and anti-oxidative effects of porcine placenta extracts on 2,4-dinitrochlorobenzene-induced contact dermatitis. *Altern. Med.*, 2018, Vol. 18, no. 1, 331. doi: 10.1186/s12906-018-2396-1.
6. Kim Y.S., Park J.J., Sakoda Y., Zhao Y., Hisamichi K., Kaku T., Tamada K. Preventive and therapeutic potential of placental extract in contact hypersensitivity. *Int. Immunopharmacol.*, 2010, Vol. 10, no. 10, pp. 1177-1184.

7. Lee T.H., Park D.S., Jang J.Y., Lee I., Kim J.M., Choi G.S., Oh C.T., Kim J.Y., Han H.J., Han B.S., Joh J.W. Human Placenta hydrolysate promotes liver regeneration via activation of the cytokine/growth factor-mediated pathway and anti-oxidative effect. *Biol. Pharm. Bull.*, 2019, Vol. 42, no. 4, pp. 607-616.
8. Park H.-J., Shim H.S., Lee S., Hahm D.H., Lee H., Oh C.T., Han H.J., Ji H.J., Shim I. Anti-stress effects of human placenta extract: Possible involvement of the oxidative stress system in rats. *Altern. Med.*, 2018, Vol. 18, no. 1, 149. doi: 10.1186/s12906-018-2193-x.
9. Park K.M., Cho T.H. Therapeutic effect of acupuncture point injection with placental extract in knee osteoarthritis. *J. Integr. Med.*, 2017, Vol. 15, no. 2, pp. 135-141.
10. Uren S., Boyle W. Isolation of macrophages from human placenta. *J. Immunol. Methods*, 1985, Vol. 78, no. 1, pp. 25-34.

Авторы:

Кудревич Ю.В. — к.м.н., доцент кафедры дерматовенерологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Кузнецова Е.К. — к.м.н., доцент кафедры дерматовенерологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

Щипачева О.В. — аспирант ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Долгушин И.И. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Зиганшин О.Р. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой дерматовенерологии ГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Authors:

Kudrevich Yu.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Dermatovenereology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Kuznetsova E.K., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Dermatovenereology, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

Schipacheva O.V., Postgraduate Student, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation

Dolgushin I.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Ziganshin O.R., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Dermatovenereology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Поступила 09.06.2020
Принята к печати 28.07.2020

Received 09.06.2020
Accepted 28.07.2020

ХРОНИЧЕСКАЯ ИММУННАЯ АКТИВАЦИЯ СНИЖАЕТ ВОСПРИИМЧИВОСТЬ CD4⁺T-ЛИМФОЦИТОВ К IL-7 У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ С НЕЭФФЕКТИВНЫМ ОТВЕТОМ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ НА АНТИРЕТРОВИРУСНУЮ ТЕРАПИЮ

Сайдакова Е.В., Королевская Л.Б., Шмагель К.В.

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

Резюме. Приблизительно у 30% ВИЧ-инфицированных пациентов с подавленной на фоне антиретровирусной терапии вирусной нагрузкой не происходит восстановления числа периферических CD4⁺T-лимфоцитов. Причина этого феномена, названного иммунологическим неответом на лечение, на сегодняшний день остается неизвестной. У ВИЧ-позитивных пациентов, получающих лечение, ключевую роль в увеличении числа и поддержании жизнеспособности CD4⁺T-лимфоцитов играет интерлейкин 7. Мы предположили, что хроническая иммунная активация, развивающаяся на фоне иммунологического неответа на терапию, может снижать чувствительность CD4⁺T-клеток ВИЧ-позитивных больных к интерлейкину 7. Обследовано 38 ВИЧ-инфицированных иммунологических неответчиков на терапию; 42 зараженных ВИЧ пациента со стандартным ответом на лечение; 19 неинфицированных добровольцев. В периферической крови обследованных лиц определено содержание CD4⁺, CD4⁺CD127⁺ и активированных HLA-DR⁺CD38⁺T-лимфоцитов; установлена концентрация интерлейкина 7. В результате исследований было показано, что концентрация интерлейкина 7 в плазме крови ВИЧ-позитивных иммунологических неответчиков на лечение не отличается от соответствующих значений пациентов, давших стандартный ответ на антиретровирусную терапию. Вместе с тем иммунологические неответчики на лечение по сравнению с представителями двух контрольных групп характеризовались наличием дефицита как абсолютного, так и относительного количества CD4⁺CD127⁺T-клеток, способных отвечать на интерлейкин 7. Более того, на CD4⁺T-лимфоцитах иммунологических неответчиков на терапию был снижен уровень экспрессии рецептора для интерлейкина 7. Плотность экспрессии CD127⁺ была тем ниже, чем выше была доля активированных CD4⁺T-лимфоцитов. Следует отметить, что исключение из анализа данных, полученных от больных, коинфицированных ВИЧ и вирусом гепатита С, которые, как известно, характеризуются значительно более высокими уровнями хронической иммунной активации и системного воспаления, нивелировало различия в экспрессии рецептора для интерлейкина 7 между ВИЧ-позитивными пациентами с различной эффективностью иммунологического ответа на лечение. Таким образом, в на-

Адрес для переписки:

Сайдакова Евгения Владимировна
Институт экологии и генетики микроорганизмов
Уральского отделения Российской академии наук
614081, Россия, г. Пермь, ул. Голева, 13.
Тел.: 8 (905) 861-16-75.
E-mail: radimira@list.ru

Address for correspondence:

Saidakova Evgeniya V.
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural
Branch, Russian Academy of Sciences
614081, Russian Federation, Perm, Golev str., 13.
Phone: 7 (905) 861-16-75.
E-mail: radimira@list.ru

Образец цитирования:

Е.В. Сайдакова, Л.Б. Королевская, К.В. Шмагель
«Хроническая иммунная активация снижает
восприимчивость CD4⁺T-лимфоцитов к IL-7
у ВИЧ-инфицированных пациентов с неэффективным
ответом иммунной системы на антиретровирусную
терапию» // Российский иммунологический журнал,
2020. Т. 23, № 3. С. 359-364.
doi: 10.46235/1028-7221-332-CIA
© Сайдакова Е.В. и соавт., 2020

For citation:

E.V. Saidakova, L.B. Korolevskaya, K.V. Shmagel "Chronic
immune activation reduces CD4⁺T cell susceptibility to IL-7
in HIV-infected patients that poorly respond to antiretroviral
therapy", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 3, pp. 359-364.
doi: 10.46235/1028-7221-332-CIA
DOI: 10.46235/1028-7221-332-CIA

стоящем исследовании мы показали, что при ВИЧ-инфекции неэффективное восстановление числа CD4⁺T-лимфоцитов в ответ на антиретровирусную терапию ассоциировано со снижением количества CD4⁺ CD127⁺T-клеток. Более того, увеличение уровня хронической иммунной активации связано с уменьшением плотности экспрессии цитокинового рецептора на CD4⁺T-лимфоцитах.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, высокоактивная антиретровирусная терапия, CD4⁺T-лимфоциты, IL-7, CD127, иммунная активация и воспаление

CHRONIC IMMUNE ACTIVATION REDUCES CD4⁺T CELL SUSCEPTIBILITY TO IL-7 IN HIV-INFECTED PATIENTS THAT POORLY RESPOND TO ANTIRETROVIRAL THERAPY

Saidakova E.V., Korolevskaya L.B., Shmagel K.V.

Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Branch of Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Abstract. Approximately 30 % of HIV-infected patients with viral load being suppressed during the course of antiretroviral therapy do not recover their peripheral CD4⁺T-lymphocyte counts. The reason for this phenomenon, named immunological non-response to treatment, remains unknown. In HIV-positive subjects receiving treatment, interleukin 7 plays a key role in increasing the number and supporting the viability of CD4⁺T-lymphocytes. We hypothesized that chronic immune activation, which develops in response to immunological failure during the therapy course, may reduce the susceptibility of CD4⁺T-cells to interleukin 7 in HIV-positive subjects. We examined 38 HIV-infected immunological non-responders to therapy; 42 HIV-positive patients with a standard response to treatment; 19 uninfected volunteers. The content of CD4⁺, CD4⁺CD127⁺ and activated HLA-DR⁺CD38⁺T-lymphocytes was determined in the peripheral blood of the examined individuals; the concentration of interleukin 7 was established. As a result, it was shown that interleukin 7 concentrations in the blood plasma of HIV positive immunological non-responders to treatment does not differ from the corresponding values of patients who gave a standard response to antiretroviral therapy. At the same time, immunological non-responders to treatment compared with subjects of both control groups were characterized by a deficiency of absolute and relative CD4⁺CD127⁺T-cell counts capable of responding to interleukin 7. Moreover, the interleukin 7 receptor expression level was reduced on CD4⁺T-lymphocytes of immunological non-responders. The higher was the frequency of activated CD4⁺T-lymphocytes; the lower was the CD127⁺ expression density. It should be noted that after excluding the data obtained from patients coinfecting with HIV and hepatitis C virus, which are known to have significantly higher levels of chronic immune activation and systemic inflammation, we found no differences in CD127 expression between HIV-positive patients with distinct effectiveness of the immunological response to treatment. Thus, in the present study, we showed that in HIV-infection, poor immunologic response to antiretroviral therapy is associated with a decrease in the CD4⁺CD127⁺T-cell counts. Moreover, an increase in the level of chronic immune activation is associated with a decrease in CD127 expression density on CD4⁺T-lymphocytes.

Keywords: HIV infections, highly active antiretroviral therapy, T lymphocytes helper-inducer, IL-7, receptors, inflammation

Работа выполнена в рамках государственного задания «Механизмы регуляции иммунной системы», номер гос. регистрации темы АААА-А19-119112290007-7.

Введение

Антиретровирусная терапия (АРТ) подавляет репликацию ВИЧ, чем способствует росту числа CD4⁺T-лимфоцитов, увеличению про-

должительности и улучшению качества жизни больных. Вместе с тем по неизвестной причине у 10-30% ВИЧ-позитивных лиц снижение вирусной нагрузки не приводит к повышению количества CD4⁺T-клеток, что увеличивает риск заболеваемости и смертности пациентов от СПИД-ассоциированных болезней и заболеваний, не ассоциированных со СПИД [4]. Характерным признаком таких субъектов, называемых

иммунологическими неответчиками на лечение, является высокий уровень хронической иммунной активации, постепенно нарушающей гомеостаз CD4⁺T-лимфоцитов [7].

Ключевую роль в поддержании гомеостаза T-клеток играют цитокины с общей гамма-цепью, среди которых наибольшим значением для CD4⁺T-лимфоцитов обладает интерлейкин 7 (IL-7). Этот цитокин участвует в созревании тимоцитов, увеличивает жизнеспособность зрелых T-клеток и поддерживает их гомеостатическую пролиферацию [5, 8]. Было показано, что у ВИЧ-инфицированных больных, получающих АРТ, IL-7 вовлечен в процесс восстановления числа CD4⁺T-лимфоцитов [2]. Важно отметить, что в крови иммунологических неответчиков на АРТ концентрация IL-7 чаще всего повышена [6], что позволяет исключить дефицит этого цитокина из перечня возможных причин неэффективности восстановления иммунной системы в процессе лечения. Вместе с тем ранее мы установили, что в пуле CD4⁺T-лимфоцитов иммунологических неответчиков на терапию отмечается дефицит CD127-позитивных клеток, способных отвечать на IL-7 [1]. Однако причина описанного феномена остается малопонятной. **Целью настоящей работы** было установление связи между хронической иммунной активацией и экспрессией CD127 на CD4⁺T-клетках ВИЧ-инфицированных иммунологических неответчиков на АРТ.

План работы был одобрен этическим комитетом № IRB00008964. Каждый участник предоставил письменное информированное согласие. Обследовано три группы (табл. 1):

1) ВИЧ-позитивные пациенты с числом CD4⁺T-клеток менее 350/мкл после двух лет непрерывного лечения (иммунологические неответчики – ИН; n = 38);

2) ВИЧ-инфицированные субъекты с количеством CD4⁺T-лимфоцитов более 350/мкл через два года терапии (иммунологические ответчики – ИО; n = 42);

3) неинфицированные добровольцы (контрольная группа – К; n = 19).

В пуле мононуклеарных лейкоцитов периферической крови обследованных лиц анализировали количество CD4⁺T-лимфоцитов, CD4⁺CD127⁺T-клеток и активированных CD4⁺CD38⁺HLA-DR⁺T-лимфоцитов, которые идентифицировали методом многоцветной проточной цитометрии. Границы клеточных субпопуляций устанавливали на основе данных, полученных от изотипических контролей. Плотность экспрессии молекулы CD127⁺ оценивали по показателю MFI (от англ. median fluorescence intensity – средняя интенсивность флуоресценции). Концентрацию IL-7 в плазме крови опре-

деляли методом иммуноферментного анализа наборами R&D Systems согласно инструкции производителя.

В выборке рассчитывали медиану и интерквартильный размах (25-75 перцентиль). Корреляционный анализ выполняли методом ранговой корреляции Спирмена. Статистическую значимость различий устанавливали на основе U-критерия Манна–Уитни (Statistica 6.0).

ИН не отличались от ИО по возрасту, пути передачи ВИЧ, продолжительности ВИЧ-инфекции, длительности лечения, а также наличию коинфекции вирусом гепатита С (ВГС; табл. 1). Несмотря на то, что вирусная нагрузка ВИЧ была подавлена (ниже порога детекции использованной тест-системы), абсолютное количество CD4⁺T-лимфоцитов в периферической крови ИН было существенно снижено по сравнению с их численностью у ИО и К ($P < 0,001$). Также были выявлены отличия в содержании активированных клеток среди CD4⁺T-лимфоцитов в трех обследованных группах: ИН – 12,1 %; ИО – 7,4 %; К – 4,7 % ($P_{\text{ИН-ИО}} < 0,05$; $P_{\text{ИН-К}} < 0,001$; $P_{\text{ИО-К}} < 0,01$).

Концентрация IL-7 в плазме крови ИН, ИО и К составила, соответственно, 7,3 пг/мл; 6,8 пг/мл и 8,0 пг/мл ($P_{\text{ИО-К}} < 0,05$). Хотя содержание гомеостатического цитокина не отличалось между группами ИН и ИО, у пациентов были выявлены различия в численности CD4⁺CD127⁺T-лимфоцитов, способных отвечать на действие IL-7: ИН – 210,5/мкл; ИО – 410,4/мкл; К – 974,9/мкл ($P_{\text{ИН-ИО}} < 0,001$; $P_{\text{ИН-К}} < 0,001$; $P_{\text{ИО-К}} < 0,001$). Примечательно, что процентное содержание CD4⁺CD127⁺T-лимфоцитов было снижено в группе ИН, но не среди ИО (рис. 1А). При этом экспрессия CD127 на CD4⁺T-клетках была подавлена у всех ВИЧ-инфицированных больных (рис. 1Б), а наименьшая плотность IL-7R была выявлена у пациентов группы ИН. У ВИЧ-инфицированных больных уровень экспрессии CD127 на CD4⁺T-лимфоцитах был негативно ассоциирован с долей активированных CD4⁺CD38⁺HLA-DR⁺T-лимфоцитов ($R = -0,375$; $P < 0,001$) и позитивно – с численностью периферических CD4⁺T-клеток ($R = 0,305$; $P < 0,01$).

Таким образом, мы показали, что в крови ИН снижено содержание CD4⁺CD127⁺T-лимфоцитов, а на самих иммунных клетках подавлена экспрессия IL-7R. Известно, что уровень экспрессии CD127⁺ на CD4⁺T-клетках снижается при неконтролируемом течении ВИЧ-инфекции, а эффективность восстановления иммунной системы на фоне АРТ ассоциирована со способностью клеток восстанавливать экспрессию этого рецептора [3]. Более того, мы установили, что плотность экспрессии CD127⁺ на CD4⁺T-

ТАБЛИЦА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ АНТИРЕТРОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ

TABLE 1. CHARACTERISTICS OF HIV-INFECTED PATIENTS WITH DIFFERENT EFFICACY OF IMMUNE SYSTEM RESTORATION DURING THE COURSE OF ANTIRETROVIRAL THERAPY

Показатели Indicators	ИН INR (n = 38)	ИО IR (n = 42)	К HC (n = 19)
Мужчины, % Men, %	55,3*	33,3	40
Возраст, лет Age, years	36* (32-38)	34 (30-39)	31 (26-35)
Заражение ВИЧ половым путем, % Sexual HIV transmission route, %	44,7	57,1	–
Коинфицирование вирусом гепатита С, % Hepatitis C virus coinfection, %	57,9	50,0	0
Продолжительность ВИЧ-инфекции, лет HIV-infection duration, years	10 (6-11)	10 (7-11)	–
Длительность антиретровирусной терапии, лет Antiretroviral therapy duration, years	3 (3-4)	4 (3-5)	–
Вирусная нагрузка ВИЧ, копий/мл HIV viral load, copies/ml	< 50	< 50	–
CD4 ⁺ Т-лимфоциты, клеток/мкл CD4 ⁺ T lymphocytes, cells/ μ l	260**** (200-310)	490### (418-593)	1054 (666-1269)

Примечание. Указаны медианы значений и их интерквартильные размахи. ИН – иммунологические неответчики на лечение; ИО – иммунологические ответчики на терапию; К – здоровые добровольцы. * – данные достоверны по сравнению с группой ИО ($p < 0,05$, U-критерий Манна–Уитни); *** – данные достоверны по сравнению с группой ИО ($p < 0,001$, U-критерий Манна–Уитни); # – данные достоверны по сравнению с группой К ($p < 0,05$, U-критерий Манна–Уитни); ### – данные достоверны по сравнению с группой К ($p < 0,001$, U-критерий Манна–Уитни).

Note. Medians and their interquartile ranges are shown. INR, immunological non-responders to therapy; IR, immunologic responders to therapy; HC, healthy controls. *, data are reliable compared with the IR group ($p < 0,05$, Mann–Whitney U test); ***, data are reliable compared with the IR group ($p < 0,001$, Mann–Whitney U test); #, data are reliable compared with the HC group ($p < 0,05$, Mann–Whitney U test); ###, data are reliable compared with the HC group ($p < 0,001$, Mann–Whitney U test).

лимфоцитах снижается с увеличением доли активированных CD4⁺Т-лимфоцитов в крови ВИЧ-позитивных больных, получающих АРТ. Ранее рядом авторов было показано, что в условиях *in vitro* присутствие провоспалительных цитокинов приводит к уменьшению количества мРНК CD127⁺ и отменяет позитивные эффекты IL-7 на жизнеспособность CD4⁺Т-клеток, полученных от здоровых добровольцев [9].

Важно отметить, что уровень иммунной активации и системного воспаления повышены у ВИЧ/ВГС-коинфицированных больных по сравнению с ВИЧ-моноинфицированными пациентами [10]. В рамках настоящей работы исключение из анализа данных, полученных от ВГС-позитивных больных, нивелировало различия в процентном содержании CD4⁺CD127⁺Т-клеток и уровне экспрессии IL-7R между группами ИН и ИО. Так, доля CD4⁺CD127⁺Т-

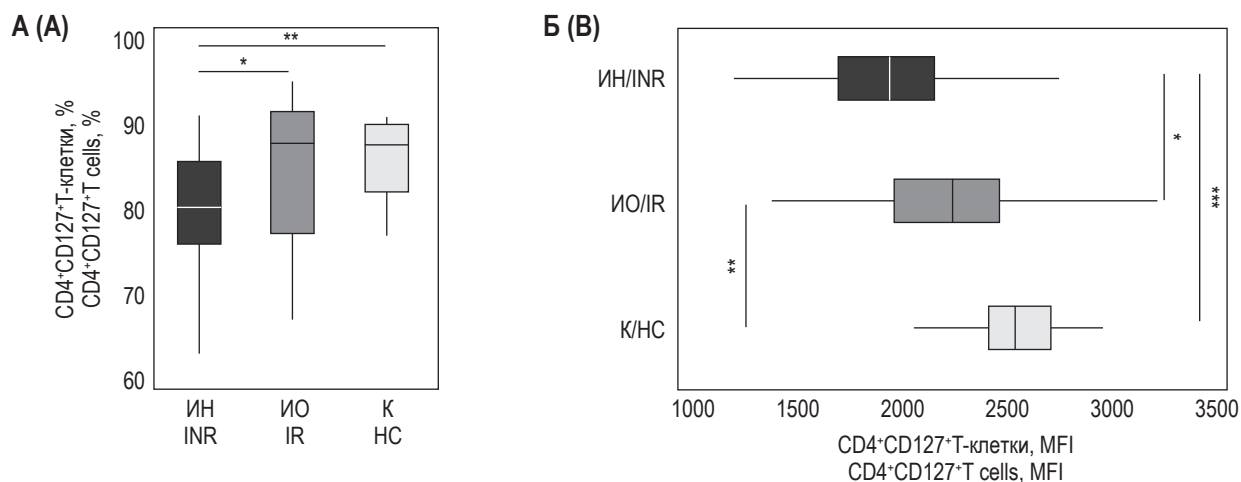


Рисунок 1. Экспрессия CD127⁺ на CD4⁺T-лимфоцитах ВИЧ-инфицированных пациентов с различной эффективностью восстановления иммунной системы на фоне антиретровирусной терапии

Примечание. А – процентное содержание CD127-позитивных клеток среди CD4⁺T-лимфоцитов. Б – средний уровень экспрессии CD127 на CD4⁺T-клетках. ИН – иммунологические неответчики на терапию; ИО – иммунологические ответчики на лечение; К – контроль; MFI – средняя интенсивность флуоресценции. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ (U-критерий Манна-Уитни).

Figure 1. CD127⁺ expression on CD4⁺T lymphocytes of HIV-infected patients with different efficacy of immune system restoration during the course of antiretroviral therapy

Note. A, frequencies of CD127-positive cells among CD4⁺T lymphocytes. B, median fluorescence values (MFI) of CD127 on CD4⁺T cells. INR, immunological non-responders; IR, immunological responders; HC, healthy controls. *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$ (Mann-Whitney U test).

лимфоцитов в крови ИН, как и прежде, оставалась ниже соответствующего значения здоровых лиц ($p < 0,01$), при этом группы ИО и ИН не отличались между собой ($p > 0,05$). Плотность экспрессии CD127⁺ на CD4⁺T-лимфоцитах также оставалась ниже у всех ВИЧ-позитивных пациентов по сравнению со здоровыми субъектами ($p < 0,01$), но различия не проявились при сравнении групп ИН и ИО ($p > 0,05$).

Таким образом, в настоящем исследовании мы показали, что при ВИЧ-инфекции неэффективное восстановление числа CD4⁺T-лимфоцитов в ответ на антиретровирусную терапию ассоциировано со снижением количества CD4⁺CD127⁺T-клеток. Более того увеличение уровня хронической иммунной активации связано с уменьшением плотности экспрессии IL-7R на CD4⁺T-лимфоцитах.

Список литературы / References

1. Сайдакова Е.В., Королевская Л.Б., Шмагель Н.Г., Шмагель К.В., Черешнев В.А. Роль интерлейкина 7 и его клеточного рецептора в нарушении восстановления численности Т-лимфоцитов CD4⁺ при лечении ВИЧ-инфицированных пациентов // Доклады Академии наук, 2014. Т. 458, № 2. С. 236-238. [Saidakova E.V., Korolevskaya L.B., Shmagel N.G., Shmagel K.V., Chereshev V.A. The role of interleukin 7 and its cell receptor in a poor recovery of CD4⁺ T-cells in HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy. *Doklady Akademii nauk = Reports of the Academy of Sciences*, 2014, Vol. 458, no. 2, pp. 236-238. (In Russ.)]
2. Anthony K.B., Yoder C., Metcalf J.A., DerSimonian R., Orenstein J.M., Stevens R.A. Incomplete CD4 T cell recovery in HIV-1 infection after 12 months of highly active antiretroviral therapy is associated with ongoing increased CD4 T cell activation and turnover. *JAIDS*, 2003, Vol. 33, no. 2, pp. 125-133.
3. Benito J.M., Lopez M., Lozano S., Gonzalez-Lahoz J., Soriano V. Down-regulation of interleukin-7 receptor (CD127) in HIV infection is associated with T cell activation and is a main factor influencing restoration of CD4(+) cells after antiretroviral therapy. *J. Infect. Dis.*, 2008, Vol. 198, no. 10, pp. 1466-1473.
4. Gutierrez F., Padilla S., Masia M., Iribarren J.A., Moreno S., Viciano P. Clinical outcome of HIV-infected patients with sustained virologic response to antiretroviral therapy: long-term follow-up of a multicenter cohort. *PLoS ONE*, 2006, Vol. 1, e89. doi: 10.1371/journal.pone.0000089.
5. Kondrack R.M., Harbertson J., Tan J.T., McBreen M.E., Surh C.D., Bradley L.M. Interleukin 7 regulates the survival and generation of memory CD4 cells. *J. Exp. Med.*, 2003, Vol. 198, no. 12, pp. 1797-1806.

6. Marchetti G., Gori A., Casabianca A., Magnani M., Franzetti F., Clerici M. Comparative analysis of T-cell turnover and homeostatic parameters in HIV-infected patients with discordant immune-virological responses to HAART. *AIDS*, 2006, Vol. 20, no. 13, pp. 1727-1736.
7. Massanella M., Negredo E., Perez-Alvarez N., Puig J., Ruiz-Hernandez R., Bofill M. CD4 T-cell hyperactivation and susceptibility to cell death determine poor CD4 T-cell recovery during suppressive HAART. *AIDS*, 2010, Vol. 24, no. 7, pp. 959-968.
8. Puel A., Ziegler S.F., Buckley R.H., Leonard W.J. Defective IL7R expression in T(-)B(+)NK(+) severe combined immunodeficiency. *Nat. Genet.*, 1998, Vol. 20, no. 4, pp. 394-397.
9. Shive C.L., Mudd J.C., Funderburg N.T., Sieg S.F., Kyi B., Bazdar D.A. Inflammatory cytokines drive CD4⁺ T-cell cycling and impaired responsiveness to interleukin 7: implications for immune failure in HIV disease. *J. Infect. Dis.*, 2014, Vol. 210, no. 4, pp. 619-629.
10. Shmagel K.V., Saidakova E.V., Shmagel N.G., Korolevskaya L.B., Chereshev V.A., Robinson J. Systemic inflammation and liver damage in HIV/hepatitis C virus coinfection. *HIV Med.*, 2016, Vol. 17, no. 8, pp. 581-589.

Авторы:

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

Королёвская Л.Б. — к.м.н., научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь, Россия

Шмагель К.В. — д.м.н., заведующий лабораторией экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь, Россия

Authors:

Saidakova E.V., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Environmental Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Branch of Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Korolevskaya L.B., PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Environmental Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Branch of Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Shmagel K.V., PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory of Environmental Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Branch of Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Поступила 09.06.2020
Принята к печати 11.07.2020

Received 09.06.2020
Accepted 11.07.2020

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Статьи представляются в редакцию через систему электронного издательства (<http://rusimmun.ru>) в соответствии с требованиями журнала «Российский иммунологический журнал» и «Инструкцией по подготовке и отправке статьи», представленной на сайте.

В журнал принимаются следующие виды публикаций:

Оригинальная статья

Статья должна описывать результаты законченного исследования. Допускается объем статьи до 20 машинописных страниц, включая рисунки, таблицы. Статья должна содержать: 1) введение; 2) материалы и методы; 3) результаты исследований; 4) обсуждение результатов; 5) благодарности.

- **Введение** содержит обоснование цели и задач проведенного исследования.
- **Материалы и методы** могут излагаться в виде отдельных фрагментов с короткими подзаголовками.
- Все нетрадиционные модификации методов должны быть описаны с достаточной степенью подробности. Для всех используемых в работе реактивов, животных, клеточных культур и т.д. необходимо точно указывать производителей и/или источники получения (с названиями страны, фирмы, института).
- **Результаты** описываются в логической последовательности в виде отдельных фрагментов, разделенных подзаголовками, без элементов обсуждения, без повторения методических подробностей, без дублирования цифровых данных, приведенных в таблицах и рисунках.
- В **обсуждении** проводится детальный анализ полученных данных в сопоставлении с данными литературы, что служит обоснованием выводов и заключений авторов.
- Раздел «**Благодарности**» не является обязательным, но крайне желателен. В этом разделе авторы могут выразить признательность организации, субсидировавшей проведение исследований, коллегам, консультировавшим работу в процессе ее выполнения и/или написания, а также техническому персоналу за помощь в выполнении исследований. Благодарности за предоставление специфических реактивов или оборудования, как правило, помещаются в разделе «Материалы и методы».

Краткие сообщения

Журнал публикует небольшие по объему статьи, которые имеют безусловную новизну и значимость. Эти статьи проходят ускоренное рецензирование и публикуются в короткие сроки. Общий объем краткого сообщения ограничен 8 машинописными страницами, количество рисунков и/или таблиц не может быть более 3, а список использованных литературных источников не должен превышать 15. Титульный лист оформляется, как описано выше. Разделы краткого сообщения аналогичны вышеописанным разделам оригинальной статьи, но не выделяются заголовками и подзаголовками, результаты могут быть изложены вместе с обсуждением.

Обзорные статьи и лекции

Обзорные статьи и лекции в основном заказываются редакцией или могут быть рекомендованы одним из членов редколлегии. Более подробную

информацию о правилах оформления этих статей можно узнать в редакции

Библиографические стандарты описания цитируемых публикаций

Описание статьи из журнала:

Варюшина Е.А., Александров Г.В., Сазонова Т.А., Симбирцев А.С. Изучение влияния местного применения рекомбинантного человеческого интерлейкина-1β на репарацию язвенных повреждений слизистой оболочки желудка // Цитокины и воспаление, 2012. Т. 11, № 1. С. 64–69. [Varyushina E.A., Alexandrov G.V., Sazonova T.A., Simbirtsev A.S. Study of the effect of local application of recombinant human interleukin-1β in the repair of ulcerative lesions of gastric mucosa. Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation, 2012, Vol. 11, no. 1, pp. 64–69. (In Russ.)]

Описание статьи из книги (монографии):

Соколова Г.Н., Потапова В.Б. Клинико-патогенетические аспекты язвенной болезни желудка. М.: Анахарсис, 2009. 328 с. [Sokolova G.N., Potapova V.B. Clinical and pathogenetic aspects of gastric ulcer. Moscow: Anacharsis, 2009. 328 p.]

Примеры правильного оформления англоязычных ссылок:

Wells S.M., Kantor A.B., Stall A.M. CD43(S7) expression identifies peripheral B-cell subsets. *J. Immunol.*, 1994, Vol. 153, no. 12, pp. 5503–5515.

Goodman J.W., Parslow T.G. Immunoglobulin proteins. Basic and Clinical Immunology. Ed. Stites D.P., Terr A.I., Parslow T.G., Appleton & Lange, 1994, pp. 66–79.

Ссылки на литературные источники в тексте статьи, в рисунках и таблицах обозначаются арабскими цифрами в квадратных скобках [1, 2, 3,...]. не допускаются ссылки на диссертации, авторефераты диссертаций, публикации в сборниках, методические документы местного уровня. Количество источников не ограничено. В каждой ссылке приводятся все авторы работы. Неопубликованные статьи в список не включаются.

Обозначения, сокращения и единицы измерения

Для сложных терминов или названий, наиболее часто используемых в тексте статьи, можно ввести (в круглых скобках после первого упоминания полного названия термина) не более 3–5 нетрадиционных сокращений. Установленные международными номенклатурами сокращения используются в соответствующей транскрипции. Например, для термина «интерлейкин» используется сокращение «IL», а не русскоязычный вариант «ИЛ»; аналогично этому используются сокращения: «TNF», а не «ТНФ» или «ФНО»; «CD», а не «СД». Названия микроорганизмов приводятся в оригинальной транскрипции с использованием курсива (*E. coli*, *Streptococcus pyogenes*). Единицы измерения приводятся без точкой после их сокращенного обозначения (с, ч, см, мл, мг, kDa и т.д.), регламентированного международными правилами.

Оформление иллюстративного материала

Иллюстративный материал должен быть оригинальным, то есть ранее нигде не опубликованным. Общее количество иллюстраций (таблиц и рисунков) не должно превышать восьми. При большем

количестве иллюстраций их публикация оплачивается автором. Публикация цветных иллюстраций (независимо от их количества) также оплачивается автором. Весь иллюстративный материал присылается в двух экземплярах и на диске в виде отдельных файлов.

Размеры иллюстраций:

- максимальная высота — 210 мм
- максимальная ширина для 1 столбца — 82 мм, для 2 столбцов — 170 мм

Таблицы. Каждая таблица печатается на отдельном листе (в отдельном файле на диске) через 2 интервала. Нумерация таблиц дается арабскими цифрами отдельно от нумерации рисунков (графиков и фотографий). Название печатается над таблицей. Весь текст на русском языке, содержащийся в таблице, включая единицы измерения, должен быть переведен на английский язык; при этом перевод следует помещать в ячейку с соответствующим русским текстом отдельной строкой. Название таблицы и текст примечания к ней также должны быть переведены на английский язык и приведены под русским текстом с новой строки. Для пометок в таблицах следует использовать одну или несколько (*). Пояснения печатаются после соответствующего количества (*) под таблицей. Единицы измерения, при необходимости, включаются в заголовки строк или столбцов.

Рисунки (графики и фотографии). В тексте статьи названия рисунков (графиков, фотографий) и таблиц размещаются сразу после абзаца, где на них дается первая ссылка. Все рисунки нумеруются последовательно арабскими цифрами по мере их использования в тексте статьи. Названия рисунков и подписи к ним выносятся в виде списка на отдельную страницу. В списке указываются: номер рисунка, название (с большой буквы), текст примечаний (для микрофотографий должно быть указано увеличение). Подписи к рисункам даются краткие, но достаточно информативные. Названия рисунков и примечаний к ним, нарицательные подписи, текст легенды должны быть переведены на английский язык и размещены под соответствующим текстом с новой строки. Рисунки могут быть представлены в графических форматах с расширением .tiff (разрешение не менее 300 dpi при 100% масштабе), .eps или .ai. Изображения, встроенные в документы Word, не принимаются. Графики и диаграммы предоставляются вместе с таблицами, на основе которых они были созданы, или с численными обозначениями показателей, отображаемых соответствующими графическими элементами (столбиками, секторами и т.п.) в виде файлов с расширениями .doc или, предпочтительнее, .xls.

Плата за публикацию статей

При соблюдении правил публикация статей в журнале «Российский иммунологический журнал» является бесплатной для авторов и учреждений, в которых они работают. Редакция может потребовать оплату в следующих случаях: 1) за публикацию цветных иллюстраций; 2) при большом количестве иллюстративного материала (свыше 8 иллюстраций).

Подготовка статей

Для представления статьи авторы должны подтвердить нижеследующие пункты. Рукопись может быть возвращена авторам, если она им не соответствует.

1. Направляя статью в журнал, авторы гарантируют, что поданные материалы не были ранее опубликованы полностью или по частям, в любой форме, в любом месте или на любом языке. Так же авторы гарантируют, что статья не представлена для рассмотрения и публикации в другом журнале. С момента принятия статьи к печати в журнале «Российский иммунологический журнал» приведенный в ней материал не может быть опубликован авторами полностью или по частям в любой форме, в любом месте и на любом языке без согласования с руководством журнала. Исключением может являться: 1) предварительная или последующая публикация материалов статьи в виде тезисов или короткого резюме; 2) использование материалов статьи как части лекции или обзора; 3) использование автором представленных в журнал материалов при написании диссертации, книги или монографии.

Воспроизведение всего издания или части любым способом запрещается без письменного разрешения издателей. Нарушение закона будет преследоваться в судебном порядке. Охраняется Законом РФ № 5351-1 «Об авторском праве и смежных правах» от 09.07.93 г.

2. Файл отправляемой статьи представлен в формате .doc, .docx, .rtf.

3. Помимо файла со статьей, предоставлены следующие файлы:

1) Файл с метаданными (при загрузке в систему ему присваивается имя «Метаданные»):

- Фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность автора, ответственного за дальнейшую переписку с редакцией (на русском и английском языках).
- Название учреждения, где работает ответственный автор (в русском и официально принятом английском вариантах).
- Почтовый адрес для переписки с указанием почтового индекса (на русском и английском языках).
- Телефон, факс (с указанием кода страны и города), e-mail.
- Фамилия и инициалы остальных соавторов, их ученые степени, ученые звания, должности.
- Полное название статьи, направляемой в редакцию.

- Количество страниц текста, количество рисунков, количество таблиц.

- Указать, для какого раздела журнала предназначена работа: оригинальные статьи, лекции, обзоры, «точка зрения», краткие сообщения, новые иммунологические методы, случаи из практики, дневник иммунолога, книжное обозрение.
- Дата отправления работы.

2) Отсканированная копия файла с метаданными подписанная всеми авторами (при загрузке в систему ему присваивается имя «Подписи авторов»)

3) Титульный лист (при загрузке в систему ему присваивается имя «Титульный лист»), по форме:

- название статьи (без использования каких-либо сокращений, на русском и английском языках);
- Фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность каждого из соавторов статьи (полностью, на русском и английском языках);
- подразделение и учреждение, в котором выполнялась работа (В случае, если авторами статьи являются сотрудники разных учреждений, то последние нумеруются по порядку, начиная с единицы, и соответствующая цифра размещается после фамилии автора, представляющего данное

учреждение. Для маркировки авторов в англоязычной части статьи вместо цифр используются латинские буквы (a, b, c, d и т.д.);

- сокращенное название статьи для верхнего колонтитула (не более 35 символов, включая пробелы и знаки препинания, на русском и английском языках);
- не менее 6 ключевых слов на русском и английском языках (на русском и английском языках);
- адрес для переписки с указанием телефона, номера факса и адреса e-mail.

4) Резюме (при загрузке в систему ему присваивается имя «Резюме»). Предоставляется в виде одного абзаца без ссылок и специфических сокращений. Объем — не менее 300 слов. Резюме в полном объеме представляется также в переводе на английский язык. В отдельных случаях, по решению редакционной коллегии, может быть затребован развернутый вариант резюме на английском языке.

5) Рисунки, если они есть — каждый отдельным файлом (при загрузке в систему каждому рисунку присваивается имя «Рисунок_Порядковый номер рисунка. Название рисунка»).

6) Файл в формате .doc, .docx, .rtf, с названиями рисунков

7) Таблицы, если они есть — каждая отдельным файлом (Название каждой таблицы должно быть приведено заголовком в файле с самой таблицей)

8) Файл с цитируемой литературой (при загрузке в систему ему присваивается имя «Литература»), по следующей форме: таблица из четырех столбцов (альбомная ориентация), где:

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи
Размещаются в таблице в алфавитном порядке, в начале русскоязычные, затем на языках с латинской графикой	Указывать по библиографическому стандарту, представленному выше	Официальное англоязычное название публикации и источника, где она опубликована — для русскоязычных статей. В редких случаях, когда не существует официальных англоязычных названий (это возможно для таких типов публикаций, как тезисы, книги и др.) — редакция просит предоставить их перевод, используя красный цвет шрифта. Для англоязычных публикаций и источников в этом столбце ставится прочерк	В том случае, если информация о статье не размещена на официальном сайте издания, допустимо использовать URL статьи со сторонних сайтов, в том числе системы www.e-library.ru

4. Текст набран с одинарным межстрочным интервалом; используется кегль шрифта в 14 пунктов; для выделения используется курсив, а не подчеркивание; все ссылки на иллюстрации, графики и таблицы расположены в соответствующих местах в тексте, а не в конце документа.

5. Текст соответствует стилистическим и библиографическим требованиям, описанным в Правилах для авторов, расположенных на странице «О Журнале».

6. Если вы отправляете статью в рецензируемый раздел журнала, то вы согласны с требованиями слепого рецензирования, подробнее о котором можно узнать из раздела Рецензирование, на странице «О Журнале».

Авторские права

Авторы, публикующие в данном журнале, соглашаются со следующим:

1. Авторы сохраняют за собой авторские права на работу и предоставляют журналу право первой публикации работы на условиях лицензии Creative Commons Attribution License, которая позволяет другим распространять данную работу с обязательным сохранением ссылок на авторов оригинальной работы и оригинальную публикацию в этом журнале.

2. Авторы сохраняют право заключать отдельные контрактные договорённости, касающиеся неэксклюзивного распространения версии работы в опубликованном здесь виде (например, размещение ее в институтском хранилище, публикацию в книге), со ссылкой на ее оригинальную публикацию в этом журнале.

3. Авторы имеют право размещать их работу в сети Интернет (например, в институтском хранилище или персональном сайте) до и во время процесса рассмотрения ее данным журналом, так как это может привести к продуктивному обсуждению и большему количеству ссылок на данную работу (См. The Effect of Open Access).

Приватность

Имена и адреса электронной почты, введенные на сайте этого журнала, будут использованы исключительно для целей, обозначенных этим журналом, и не будут использованы для каких-либо других целей или предоставлены другим лицам и организациям.

Вы можете оформить подписку на журнал «Российский иммунологический журнал» через отделения связи:

Каталог «Пресса России» — индекс 15590.

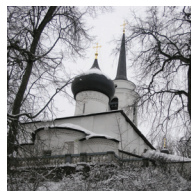
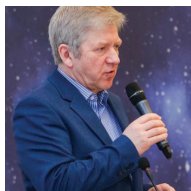
Подписка на электронную версию журнала на сайте www.elibrary.ru

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Абрамов К.С.	323	Коркмазов М.Ю.	347	Смирнов А.С.	347
Алиева А.И.	257	Корнова Н.В.	347	Смирнова С.В.	299
Афонина И.А.	279	Королевская Л.Б.	359	Смолягин А.И.	243
Барило А.А.	299	Красников В.Е.	249	Снимщикова И.А.	279
Бейкин Я.Б.	315	Криволапова И.М.	271	Соболев В.В.	257
Бурмистрова А.Л.	303, 335	Кудревич Ю.В.	353	Сташкевич Д.С.	285
Гетте И.Ф.	329	Кузнецова Е.К.	353	Сумеркина В.А.	291
Головнева Е.С.	291	Кулакова А.С.	279	Суслова Т.А.	285
Давыдова Е.В.	323	Левман Р.А.	341	Телешева Л.Ф.	291
Данилова И.Г.	329	Маркелова Е.В.	249, 341	Туманов С.В.	291
Девальд И.В.	285, 335	Матюшкина Л.С.	263	Умеренкова С.А.	263
Демьяненко А.С.	249	Меремьянина Е.А.	257	Фейзер А.А.	299
Джафаров Р.Н.	249	Мысливцова К.Ю.	335	Филиппова Ю.Ю.	303
Долгушин И.И.	353	Невежкина Т.А.	263	Ходус Е.А.	335
Дубинец И.Д.	347	Осиков М.В.	323	Хромова Е.Б.	285, 335
Евдокимов А.В.	285	Пашнина И.А.	271	Чагина Е.А.	263
Зенина А.А.	341	Пичугова С.В.	315	Челакова Ю.А.	309
Зиганшин О.Р.	353	Плотникова М.О.	279	Черешнев В.А.	315
Кныш С.В.	263	Романчук А.Л.	249	Черешнева М.В.	271
Комлева М.О.	243	Рыбина И.В.	315	Шмагель К.В.	359
Комлева Н.В.	243	Сайдакова Е.В.	359	Шуматов В.Б.	249, 341
Константинова О.Д.	243	Свитич О.А.	257	Щипачева О.В.	353
Коркмазов А.М.	347	Силаев А.А.	341		

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

абдоминальное ожирение	291	ингибиторы WNT	279	прегравидарная подготовка	264
адаптивный иммунитет	257	инсулинорезистентность	291	ранняя неонатальная пневмония	257
адипокины	291	интерлейкин 7	360	реактивная артропатия	272
адреналин	303	интерлейкин 17	286	ревматоидный артрит	286, 336
аллергены	299	интерлейкины	342	регенерация сердца	279
аллоксановый диабет	329	интерфероны	264	риносинусит	348
антиспермальные антитела	315	инфаркт миокарда	279	сенсibilизация	309
аортокоронарное шунтирование	342	инфекционные заболевания	272	Сибирь	309
атопия	299	ишемическая болезнь сердца	279	системная красная волчанка	272
аутоиммунные заболевания	272	кортизол	303	слюна	249
биоинформационный анализ	257	лимфоциты	329	сосудистая деменция	303
варикоцеле	315	матриксные металлопротеиназы	264	сперматозоиды	315
ВИЧ-инфекция	360	менструальный цикл	244	субпопуляционный состав	
внутриутробная пневмония	257	метаболический синдром	291	лимфоцитов	291
врожденный иммунитет	257	метотрексат	336	терапевтический ответ	336
высокоактивная антиретровирусная		морфотип	244	тканевые ингибиторы	264
терапия	360	мужское бесплодие	315	фагоцитоз нейтрофилов	353
гамма-глутамилгидролаза	336	нейропептиды	342	физиотерапия	348
гастроинтестинальные проявления	299	низкочастотная ультразвуковая		флегмона челюстно-лицевой области	249
генетический полиморфизм	286	кавитация	348	фракционный фототермоллиз	353
гепатит С	272	норадреналин	303	химические факторы риска	309
гормональный профиль	244	нуклеиновые кислоты	329	хронический гнойный отит	348
девочки-подростки	244	однонуклеотидный полиморфизм	336	цитокины	249, 272, 303, 324, 329, 348
дети	272, 299	озонотерапия	324	эзофагогастродуоденоскопия	299
детское население	309	папилломавирусная инфекция	264	экстракт плаценты	353
дисфункция эндотелия	291	перелом бедренной кости	324	ювенильный идиопатический артрит	272
желудочно-кишечный тракт	299	подростки	315	CD127	360
иммунная активация и воспаление	360	пожилые люди	303	CD4 ⁺ Т-лимфоциты	360
иммунный статус	244	полимеразная цепная реакция	257	WIF-1	279
иммунограмма	309	полиморфные маркеры	257		
иммуномодулятор	329	послеоперационные когнитивные			
иммунорегуляция	309	расстройства	342		



XII Всероссийская школа по клинической иммунологии

«ИММУНОЛОГИЯ ДЛЯ ВРАЧЕЙ»

Тематика «Инфекционная Иммунология»

**31 января – 6 февраля 2021 года
Пушкинские Горы, Псковская область**

Организаторы:

Министерство здравоохранения
Российской Федерации

Российская Академия Наук

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

Комитет по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга
Администрация Псковской области

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

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

В программе школы:

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

Пакет слушателя включает:

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

Всем слушателям будут выданы удостоверения о тематическом усовершенствовании установленного образца и зарегистрированные на сайте НМО www.sovetnmo.ru получают 14 зачетных единиц (кредитов) по специальности: «аллергология и иммунология»

Координатор проекта:

Председатель СПб РО РААКИ, академик РАН, Тотолян Арег Артемович

197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14

НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

тел./факс: (812) 232-00-66

e-mail: totolian@spb-raaci.ru

Заявки подавать до 1 декабря 2020 года.

Секретариат: Ракитянская Наталья Владимировна

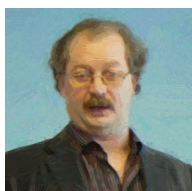
Тел./факс: (812) 233-08-58

e-mail: shkola@spb-raaci.ru

Адрес для корреспонденции: 197101, Санкт-Петербург, а/я 130, СПб РО РААКИ

www.spbraaci.ru

www.allergologi-immunologi.ru



**ПОДПИСНОЙ ИНДЕКС:
ПРЕССА РОССИИ – 15590**

ISSN 1028-7221



9 771234 567898